

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

Adalgisa Fernanda Cabral

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOLÓGICOS DO PROTISTA CILIADO
Rhabdostyla chironomi KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EPIBIONTE DE
LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS EM UM CÓRREGO URBANO DO SUDESTE DO
BRASIL**

Juiz de Fora

2009

Adalgisa Fernanda Cabral

**Aspectos morfológicos e ecológicos do protista ciliado *Rhabdostyla chironomi* kahl, 1933
(Ciliophora, Peritrichia) epibionte de larvas de quironomídeos em um córrego urbano
do sudeste do Brasil**

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

Orientadora: Profª. Dra. Marta Tavares D'Agosto

Co-orientador: Prof. Msc. Roberto Júnio Pedroso Dias

Juiz de Fora

2009

Cabral, Adalgisa Fernanda.

Aspectos morfológicos e ecológicos do protista ciliado *Rhabdostyla Chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) epibionte de larvas de quironomídeos em um córrego urbano do sudeste do Brasil / Adalgisa Fernanda Cabral. – 2009.

107 f. : il.

Dissertação (Mestrado Ciências Biológicas)—Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

1. Microbiologia. 2. Protozoários. 3. Análise da água. I. Título.

CDU 576.8

Adalgisa Fernanda Cabral

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOLÓGICOS DO PROTISTA CILIADO *RHABDOSTYLA*
CHIRONOMI KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EPIBIONTE DE LARVAS DE
QUIRONOMÍDEOS EM UM CÓRREGO URBANO DO SUDESTE DO BRASIL**

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

Aprovada em 16/02/2009

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Marta Tavares D'Agosto (Orientador)

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Msc. Roberto Júnio Pedroso Dias (Co-orientador)

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Inácio Domingos da Silva Neto

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Alfredo Hannemann Wieloch

Universidade Federal de Minas Gerais

“Consulte, não a seus medos, mas às suas esperanças e sonhos;
Pense, não sobre suas frustrações, mas sobre seu potencial não usado;
Preocupe-se, não com o que você tentou e falhou, mas com aquilo que
ainda é possível a você fazer.”

Papa João XXIII

Para os meus pais, Pedro e Magali,
Por acreditarem em mim, e no meu
potencial. SEMPRE!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, por iluminar meus passos e por colocar em meu caminho, pessoas que foram e ainda são meus “anjos da guarda”, prontos a me ajudar, acolher, aconselhar e confortar. Agradeço aos meus pais **Pedro** e **Magali** pelo amor incondicional, incentivo, dedicação, carinho, cuidado e muita paciência. Aos meus irmãos, **Arquimedes**, **Alberto** e **Ângelo**, exemplos de caráter e de sucesso obrigada pelo apoio, compreensão e carinho.

À professora **Marta D’Agosto**, um exemplo de profissional, obrigada por ter me acolhido nos primeiros passos na minha vida acadêmica, me apoiando sempre. Um agradecimento em especial ao amigo e co-orientador, **Roberto Dias**, que é um exemplo de profissional e, principalmente, de ser humano, com o qual tive a honra e o orgulho de trabalhar nos últimos anos e espero que por muitos mais. Obrigada por tudo!

Agradeço às colegas de laboratório, **Noemi Fernandes** e **Mariana Rossi** pelo prazer da convivência; **Isabella Rodrigues**, pela amizade e carinho, em especial à **Bianca Sartini** e **Raquel Tostes**, pelo auxílio no laboratório e pela confiança, muito obrigada!

À todos os amigos do Laboratório de invertebrados Bentônicos “LIB” em especial **Renato Martins**, **Vívian Oliveira** e **Gabriela Frizzera** pelo apoio na identificação dos macroinvertebrados, e ao professor **Roberto da Gama Alves**, obrigada pela disponibilidade e desprendimento em colaborar com os estudos sobre epibiose. Agradeço a todos do laboratório de Protistologia da UFRJ, em especial ao professor **Inácio Domingos da Silva-Neto**, por ter me recebido com carinho e imensa atenção durante todas minhas idas à UFRJ.

À todos os professores do programa de Pós -graduação, pelas conversas, e apoio logístico. Aos colegas da pós-graduação e, em especial aos amigos **Beatriz Vescovi**, **Haroldo Lobo**, **Mateus Clemente**, **Renato Martins** e **Vivian Oliveira**, pelos ótimos momentos que passamos juntos, dentro e fora da Pós. Um agradecimento especial ao amigo **Leonardo Rosa**, pelo apoio nos momentos difíceis e pela ótima companhia nos momentos alegres. À querida **Rosângela**, pelo carinho e cuidado, à **Marlú** e **Andréa** pela paciência e eficiência na secretaria da Pós-graduação.

Agradeço e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pela bolsa de estudos. Enfim, agradeço à todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização de mais este sonho. OBRIGADA!

RESUMO

No presente estudo, foram analisados aspectos da taxonomia e morfologia do protista ciliado epibionte *Rhabdostyla chironomi* encontrado no córrego São Pedro (Juiz de Fora, MG), bem como alguns aspectos ecológicos da relação epibiótica entre o ciliado peritríqueo de larvas de quironomídeos do gênero *Chironomus* gr. *decorus*. A presente dissertação está dividida em quatro partes. Na primeira, uma população de ciliados do gênero *Rhabdostyla* foi isolada e investigada *in vivo*, com o auxílio de técnicas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica e identificada como uma população do ciliado peritríqueo pouco conhecido *R. chironomi*. Na segunda parte, foi analisado o padrão de ocorrência espacial e temporal do ciliado epibionte *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus* em coletas ao longo de um ano em cinco estações amostrais do córrego São Pedro. As análises estatísticas demonstraram correlação entre prevalência de infestação e parâmetros como pluviosidade, disponibilidade de alimento e abundância de hospedeiros, além da heterogeneidade temporal e espacial da distribuição do ciliado. Na terceira, foi avaliada a influência da poluição orgânica na distribuição de *R. chironomi* sobre larvas de quironomídeos, por meio de dois experimentos, no primeiro, foram realizadas coletas em cinco estações ao longo de um ano de estudo e no segundo uma única coleta longitudinal em oito estações do mesmo córrego. A prevalência de infestação apresentou heterogeneidade espacial ocorrendo nas estações com maior grau de enriquecimento orgânico. Na quarta parte, foram investigados os sítios de fixação de *R. chironomi* sobre larvas de quironomídeos e quantificada a intensidade de colonização desta relação epibiótica. Todos os 26104 ciliados epibiontes encontrados colonizaram exclusivamente os túbulos ventrais das larvas de quironomídeos. A intensidade de colonização variou de um a 67 indivíduos por hospedeiro, com intensidade média de 4.86 ($\pm 1,5348$) sendo que 91,03% apresentaram entre um e dez ciliados.

Palavras-chave: Ciliado. Distribuição espacial e temporal. Ecologia. Morfologia. Poluição. Sistema lótico.

ABSTRACT

In the present study, both taxonomy and morphology aspects of the epibiont ciliate *Rhabdostyla chironomi* found in São Pedro stream (Juiz de Fora-MG), as well some ecological aspects of this epibiotic relationship between the peritrich and chironomid larvae from genus *Chironomus* gr. *decorus*. The present dissertation is divided into four parts. In the first one, a population ciliates from genus *Rhabdostyla* was isolated and investigated *in vivo* and using techniques of silver impregnation and scanning electron microscopy, being identify as a population of the the poorly know peritrich ciliate *R. chironomi*. In the second, was analyzed the spatial and temporal pattern of occurrence of *R. chironomi* as epibiont on *Chironomus* gr. *decorus* trough collections in the period of one year at five sampling stations at São Pedro Stream. Statistical analyses showed correlation between the prevalence of infestation and as rainfall, food availability and host abundance, besides the temporal and spatial heterogeneity of the ciliate. In the third one, was evaluated the influence of organic pollution in the distribution of *R. chironomi* on chironomid larvae, trough two experiments, the first one, made in five sampling stations, over a year of study and the second, was one collection in eight sampling stations in the same stream. The prevalence of infestation showed spatial heterogeneity occurring at stations with a higher degree of organic enrichment. In the fourth part, was investigated the colonization sites of *R. chironomi* as epibiont on chironomid larvae and also, quantified the colonization intensity of this relationship. All 26.104% of epibionts ciliates exclusively colonized the ventral tubules of the chironomid larvae. The colonization intensity ranged from one to 67 individuals per host, with mean intensity of 4.86 (± 1.5348) of which 91.03% had between one to ten ciliates.

Keywords: Ciliate. Ecology. Lotic system. Morphology. Pollution. Spatial and temporal distribution.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Desenho 1	Desenhos esquemáticos das espécies do gênero <i>Rhabdostyla</i> , segundo Kahl (1935), Prench (1935), Foissner (1979) e Song (1986)	50
Desenho 2	Desenho esquemático de uma larva de Chironomidae do gênero <i>Chironomus</i>	89
Fotografia 1	Fotomicrografias de <i>Rhabdostyla chironomi</i> in vivo sob microscópio de campo claro.....	38
Fotografia 2	Fotomicrografias <i>in vivo</i> do ciliado epibionte <i>Rhabdostyla chironomi</i> sobre larvas de Chironomidae observados sob microscópio interferencial diferencial, DIC.....	40
Fotografia 3	Vista frontal de <i>Rhabdostyla chironomi</i> sobre larvas de Chironomidae observados sob microscópio interferencial diferencial, DIC	42
Fotografia 4	Fotomicrografias de <i>Rhabdostyla chironomi</i> obtidas após a realização da técnica de impregnação pelo carbonato de prata amoniacal (Fernandez-galiano)(1-4) e ao protargol (5-8)	44
Fotografia 5	Fotomicrografias de <i>Rhabdostyla chironomi</i> ao protargol	46
Fotografia 6	Eletromicrografias de <i>Rhabdostyla chironomi</i>	48
Fotografia 7	Ciliados peritríqueos epibiontes <i>R. chironomi</i> (pontas de seta) sobre larvas de quironomídeos do gênero <i>Chironomus</i> gr. <i>decorus</i>	56
Fotografia 8	Micrografias do protista ciliado <i>Rhabdostyla chironomi</i> epibionte de <i>Chironomus</i> gr. <i>decorus</i>	89
Fotografia 9	Cortes histológicos de <i>Chironomus</i> gr. <i>decorus</i>	91
Gráfico 1	Valores médios de abundância de hospedeiros e prevalência de infestação dos ciliados epibiontes nas cinco estações amostrais do córrego São Pedro.	56

Gráfico 2	Valores médios de densidade bacteriana e prevalência de infestação nas cinco estações amostrais do córrego São Pedro	57
Gráfico 3	Dendograma resultante da análise de agrupamento entre as cinco estações amostrais do córrego São Pedro conforme a abundância de <i>Chironomus gr. decorus</i> (Coeficiente de correlação cofenético= 0,8725)	57
Gráfico 4	Dendograma resultante da análise de agrupamento entre as cinco estações amostrais do córrego São Pedro conforme a prevalência de infestação (Coeficiente de correlação cofenético= 0,8296)	57
Gráfico 5	Dendograma resultante da análise de agrupamento, que foi ordenada com base nos valores de prevalência de infestação em cada uma das 12 coletas (Coeficiente cofenético 0.7232), demonstrando maior similaridade entre coletas realizadas no período chuvoso* (Coletas 7-10) e entre as coletas realizadas no período seco (Coletas 1-6, 11,12)	58
Gráfico 6	Valores de prevalência em cada uma das 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais	58
Gráfico 7	Relação entre pluviosidade e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais	59
Gráfico 8	Relação entre abundância de larvas e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais	59
Gráfico 9	Relação entre densidade bacteriana e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais	59
Gráfico 10	Temperatura média aferida em cada estação amostral nas coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior temperatura média nas estações inseridas na área urbana	69

Gráfico 11	Valores médios de clorofila aferidos em cada estação amostral nas coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior concentração média de clorofila nas estações inseridas na área urbana	69
Gráfico 12	Valores médios de Condutividade elétrica da água, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior condutividade média nas estações inseridas na área urbana	70
Gráfico 13	Valores médios de pH aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro	70
Gráfico 14	Valores médios de oxigênio dissolvido, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro	71
Gráfico 15	Valores médios de Densidade Bacteriana, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior densidade bacteriana média nas estações amostrais inseridas na área urbana	71
Gráfico 16	Valores médios da temperatura da água, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior temperatura nas estações amostrais inseridas na área urbana	71
Gráfico 17	Valores de oxigênio dissolvido, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior concentração média de oxigênio nas estações inseridas na área rural em relação à média das estações inseridas na área urbana	72
Gráfico 18	Valores de Condutividade elétrica da água, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior condutividade média nas estações amostrais inseridas na área urbana	72
Gráfico 19	Valores médios de pH aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro	72

Gráfico 20	Valores de demanda bioquímica de oxigênio, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior demanda nas estações inseridas na área urbana	73
Gráfico 21	Valores de concentração de fósforo total, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior média do íon nas estações amostrais inseridas na área urbana	73
Gráfico 22	Valores de Nitrogênio total aferidos na coleta longitudinal, evidenciando maior concentração do íon em nas estações amostrais inseridas na área urbana	73
Gráfico 23	Análise de componentes principais das médias dos parâmetros oxigênio dissolvido (OD), pH, condutividade elétrica, clorofila e densidade bacteriana em cada estação de coleta das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro	74
Gráfico 24	Análise de componentes principais dos parâmetros oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, pH, nitrogênio total, fósforo total, temperatura da água e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em cada uma das oito estações de coleta no córrego São Pedro	74
Gráfico 25	Análise de correspondência obtida através da fauna de Chironomidae obtida nas 12 coletas ao longo de cinco estações amostrais no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais	75
Gráfico 26	Análise de correspondência obtida através da fauna de Chironomidae obtida nas em uma coleta ao longo de oito estações amostrais no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais	76
Gráfico 27	Porcentagem de <i>Chironomus</i> em relação à fauna total de larvas de Chironomidae nas cinco estações amostrais ao longo do córrego São Pedro, nas coletas seriadas	76

Gráfico 28	Porcentagem de <i>Chironomus</i> em relação à fauna total de larvas de Chironomidae nas oito estações amostrais ao longo do córrego São Pedro, na coleta longitudinal	77
Gráfico 29	Prevalência média da infestação em “A”, abundância média de ciliados epibiontes em “B” e abundância de larvas de quironomídeos em “C”, observados nas três estações de coleta localizadas na área urbana, nas coletas seriadas, realizadas no córrego São Pedro	78
Gráfico 30	Prevalência da infestação em “A”, abundância numérica de ciliados epibiontes em “B” e abundância de larvas de quironomídeos em “C”, observados nas cinco estações de coleta localizadas na área urbana da coleta longitudinal, realizada no córrego São Pedro	79
Gráfico 31	Intensidade de colonização de <i>Rhabdostyla chironomi</i> sobre larvas de <i>Chironomus</i> gr. <i>decorus</i> . A intensidade variou de 1 a 67 ciliados por hospedeiro	92
Mapa 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 na sub-bacia do córrego São Pedro (d) em detalhe. As estações amostrais do “Experimento 1” (E1-E5) e do “Experimento2” (E1’-E8’), estão indicadas	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Morfometria do ciliado peritríqueo <i>Rhabdostyla chironomi</i> , colonizando <i>Chironomus</i> gr. <i>decorus</i> , provenientes do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil	28
Tabela 2	Principais características que diferem as espécies do gênero <i>Rhabdostyla</i> , segundo as descrições de KAHL (1935); PRENCH (1935); FOISSNER, (1979); SONG, (1986) e FOISSNER <i>et al.</i> (1992)	35
Tabela 3	Valores médios dos parâmetros físico-químicos aferidos em cada estação amostral do córrego São Pedro	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Relações epibióticas	18
2.2	Implicações da relação epibiótica	18
2.3	Epibiose em nível de ecossistema	20
2.4	Ciliados peritríqueos epibiontes	22
2.5	O gênero <i>Rhabdostyla</i>	22
2.6	Escopo da pesquisa	23
3	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE <i>Rhabdostyla chironomi</i> KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA), EPIBIONTE DE LARVAS DE CHIRONOMIDAE E NOTAS DO GÊNERO <i>Rhabdostyla</i>	25
3.1	Material e Métodos	26
3.2	Resultados e Discussão	26
4	OCORRÊNCIA ESPACIAL E TEMPORAL DE <i>Rhabdostyla chironomi</i> KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) COMO EPIBIONTE DE LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS EM UM CÓRREGO URBANO NA REGIÃO NEOTROPICAL	51
4.1	Material e Métodos	52
4.2	Resultados	54
4.3	Discussão	60

5	INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ORGÂNICA NA DISTRIBUIÇÃO DE CILIADOS PERITRÍQUIOS EPIBIONTES AO LONGO DE UM SISTEMA LÓTICO NO SUDESTE BRASILEIRO	63
5.1	Material e Métodos	64
5.2	Resultados	68
5.3	Discussão	79
6	SÍTIO DE LOCALIZAÇÃO E INTENSIDADE DE COLONIZAÇÃO DO CILIADO EPIBIONTE <i>Rhabdostyla chironomi</i> KAHL, 1935 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) SOBRE LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)	85
6.1	Material e Métodos	86
6.2	Resultados	87
6.3	Discussão	92
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
	REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO

A epibiose é uma relação facultativa entre o epibionte e o basibionte, sendo o termo epibionte utilizado para designar indivíduos que colonizam um substrato vivo e basibionte para descrever indivíduos que hospedam epibiontes (TAYLOR, 2002). Os protistas ciliados epibiontes podem viver sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos vertebrados e invertebrados, incluindo poríferos, cnidários ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos, moluscos, peixes, girinos e cágados (KAHL, 1935; GOODRICH e JAHN, 1943; LAIRD, 1959; BALDOCK, 1986; SMITH, 1986; FOISSNER et al., 1992; 1999; MOSS et al., 2001; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004).

Os protistas ciliados epibiontes constituem um componente significativo dos ecossistemas aquáticos e desempenham importante papel na cadeia alimentar (PRATT e CAIRNS, 1985; BALDOCK, 1986). Embora a relação epibiótica entre ciliados e seus hospedeiros seja relativamente conhecida nestes ecossistemas, pouco se sabe a respeito de seus aspectos ecológicos, visto que a grande maioria dos estudos aborda novos registros e descrições de espécies de epibiontes (BALDOCK, 1986; FERNANDEZ-LEBORANS et al., 1997; DIAS et al., 2007). No presente estudo foram abordados os seguintes aspectos ecológicos da relação epibiótica entre o ciliado peritríqueo *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 e larvas de quironomídeos em um córrego urbano no município de Juiz de Fora, Minas Gerais: ocorrência temporal e espacial, influência da poluição orgânica na prevalência de infestação, sítio de localização e intensidade de colonização dos ciliados epibiontes.

Além das contribuições ecológicas apresentadas na presente proposta, foi realizado estudo morfológico da espécie *R. chironomi* utilizando técnicas modernas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica de varredura, bem como uma revisão taxonômica do gênero *Rhabdostyla*. Este gênero possui em torno de 30 espécies válidas, porém somente duas espécies foram descritas com uso de técnicas de impregnação pela prata, que atualmente são essenciais no estudo da taxonomia de protistas ciliados

O conjunto de dados sobre a morfologia e ecologia da espécie *R. chironomi* apresentados neste trabalho evidenciaram a carência de informações sobre este gênero de ciliados peritríqueos, bem como uma nova abordagem para o uso dos dados quantitativos da relação epibiótica, tal como o uso destes ciliados epibiontes como possíveis indicadores da qualidade da água de sistema lóticos tropicais. Visto que o desenvolvimento de tecnologias para o gerenciamento dos recursos hídricos é um dos grandes desafios que o desenvolvimento

econômico enfrentará no presente século, estudos tal como a presente proposta, que busquem informações de como a biota aquática responde aos fatores ambientais, apresentam-se como uma nova tecnologia em potencial para avaliar estes ecossistemas lóticos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Relações epibióticas

O termo epibionte é utilizado para designar organismos colonizando superfícies ou substratos orgânicos vivos ou mortos e entende-se que o sufixo bionte refere-se não ao organismo colonizante, mas à natureza do substrato (TAYLOR, 2002).

A epibiose pode ser considerada uma associação facultativa entre dois organismos o epibionte e o basibionte (WAHL, 1989). O termo epibiose inclui organismos que colonizam a superfície de um substrato vivo durante a fase sésil de seu ciclo de vida, enquanto os basibiontes proporcionam suporte para os epibiontes. As implicações biológicas da epibiose são de grande importância e envolvem vantagens e desvantagens para os epibiontes e basibiontes, adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais tanto dos epibiontes quanto dos basibiontes (WAHL, 1989).

Nos ambientes aquáticos diversos grupos de organismos, tais como bactérias, protistas, diatomáceas, macro-algas, macrófitas, poríferos, cnidários, ctenóforos, moluscos, rotíferos, briozoários, branquiópodos, poliquetas, equinodermos, crustáceos, hemicordados e a maioria das espécies de ascídias adotaram o modo de vida epibiótico em pelo menos uma fase do ciclo de vida (EVANS et al., 1979; HENEBRY e RIDGEWAY, 1979; CARMANN e DOBBS, 1997; ALADRO-LUBEL e MARTÍNEZ-MURILLO, 1999; FERNANDEZ-LEBORANS e SORBE, 1999; WAHL e MARK, 1999; ROSATI et al., 1999; SVAVARSSON e ÓLAFSDÓTTIR, 2000; JAYASREE et al., 2001; MOSS et al., 2001; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002; GILBERT e SCHRODER, 2003; SANFORD, 2003; FRICK et al., 2004; REGALI-SELEGUIN e GODINHO, 2004; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005).

2.2 Implicações da relação epibiótica

A presença de epibiontes modifica numerosas interações do basibionte com o meio onde vive (WAHL e MARK, 1999) e uma modificação na interface entre o organismo e o ambiente pode afetar uma ou mais interações do hospedeiro com o meio (LAUDIEN e WAHL, 2004). A relação que antes da colonização era apenas basibionte/meio passa a ser basibionte/epibionte/meio (WAHL et al., 1997).

A relação epibiótica pode resultar em perdas e ganhos tanto para os epibiontes quanto para os basibiontes. Em altas densidades, os epibiontes podem diminuir a fecundidade do hospedeiro (GREEN, 1974; HENEGBRY e RIDGEWAY, 1979; WEISSMAN et al., 1993; GILBERT e SCHRODER, 2003), tempo de sobrevivência do basibionte (XU e BURNS, 1991; GILBERT e SCHRODER, 2003), causar-lhe lesões (SCHUWERACK et al., 2001), torná-los mais suscetíveis à predação (WILLEY et al., 1993), alterar a sua locomoção (HENEGBRY e RIDGEWAY, 1979; GÖRTZ, 1996), competir com ele por alimento (KANKAALA e ELORANTA, 1987) e aumentar a demanda energética do basibionte (WEISSMAN et al., 1993).

Contudo, o basibionte pode se beneficiar com os metabólitos produzidos pelos epibiontes como o produzido pelas microalgas e diatomáceas (WAHL, 1989). O epibionte pode proteger o basibionte contra dessecação (WAHL e SONNICHSEN, 1992; WAHL e MARK, 1999) ou ainda pode auxiliar na camuflagem contra predadores (WAHL, 1989), desde que a superfície do basibionte apresente alterações (físicas ou químicas) (WAHL e HAY, 1995), podendo interferir na aceitabilidade do predador (LAUDIEN e WAHL, 2004; FARREN e DONOVAN, 2007).

Para o epibionte, as vantagens da colonização ficam evidentes em ambientes superpopulosos, onde a competição por espaço e alimento é alta e um substrato vivo pode colocá-lo em posição hidrodinâmica favorável (WAHL, 1989). O transporte fornecido pelos basibiontes pode oferecer condições nutricionais variadas e ainda facilitar a dispersão gênica entre as populações de epibiontes (EVANS et al., 1979; WAHL, 1989). Os epibiontes fototróficos podem se beneficiar do acesso mais fácil aos nutrientes dissolvidos e os heterotróficos pela constante renovação de partículas alimentares pela movimentação do hospedeiro (KUDO, 1966; THRELKELD et al., 1993; MAYÉN-ESTRADA e ALADRO-LUBEL, 2002). Alguns ciliados peritríqueos se localizam próximos à corrente de filtração de seus hospedeiros zooplanctônicos, o que reduz os custos da geração de uma corrente de alimentação (THRELKELD et al., 1993).

Por outro lado, a instabilidade do substrato, que tende a sofrer alterações morfológicas e fisiológicas durante o seu ciclo de vida, a possível competição entre epibionte e basibionte, a ocorrência de predação do epibionte pelo basibionte e a migração do basibionte, quando ocorrem mudanças drásticas de ambiente podem prejudicar ou impedir a colonização do epibionte (WAHL, 1989), e ainda, os epibiontes correm o risco de colonizar basibiontes cujo

hábitat é o mesmo de seus predadores (THRELKELD et al., 1993), podem competir com o hospedeiro por nutrientes, principalmente os dissolvidos na água, além de se exporem à predação pelo basibionte (WAHL, 1989).

Alguns epibiontes podem apresentar graus variados de especificidade por basibionte. Segundo NENNINGER (1948) e COOK et al. (1998), existem três grupos ecológicos distintos de ciliados epibiontes, classificados quanto ao grau de especificidade pelo hospedeiro. Indivíduos do grupo 0 e I colonizam uma ampla gama de substratos, tais como organismos mortos, substratos inertes, plantas, animais e não estão restritos ao modo de vida epibiótico. Os organismos do grupo II são parcialmente especializados e restritos em nível de filo, classe ou ordem do hospedeiro. No grupo III, os ciliados são epibiontes obrigatórios, com grau de especificidade maior, em nível de família, gênero ou até espécie.

A preferência por sítios de localização no hospedeiro é outra 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). Alguns fatores são responsáveis pela colonização de ciliados epibiontes em sítios de localização específicos sobre seus hospedeiros, tais como maior facilidade de obtenção de alimento em certas regiões do corpo do hospedeiro (EVANS et al., 1979; BALDOCK, 1986; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005; 2007), colonização em locais mais oxigenados (DIAS et al., 2009) e com menor atrito (COOK et al., 1998), hábitos de vida do hospedeiro (MERRITT e CUMMINS, 1984; GILBERT e SCHRODER, 2003; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005), proteção contra a predação dos epibiontes (BALDOCK, 1986), competição entre espécies de epibiontes (FENCHEL, 1965; ROBERTS e CHUBB, 1998; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002), constituição física e química de certos compartimentos do hospedeiro (GILBERT e SCHRODER, 2003) e ainda o tempo evolutivo da relação epibiótica (ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002).

2.3 Epibiose em nível de ecossistema

Os epibiontes constituem um componente significativo dos ecossistemas aquáticos e desempenham importante papel na cadeia alimentar (PRATT e CAIRNS, 1985; BALDOCK, 1986). Contudo, poucos estudos abordam os aspectos ecológicos da relação

epibionte/basibionte (BALDOCK, 1986; XU, 1992; FERNANDEZ-LEBORANS et al., 1997; HANAMURA, 2000; UTZ e COATS, 2005; DIAS et al., 2008; 2009).

Existem diversos fatores que podem influenciar a dinâmica espacial e temporal de populações de ciliados epibiontes, tais como abundância de hospedeiros (EVANS et al., 1979; HENEGBRY e HIDGEWAY, 1979; THRELKELD et al., 1993; WILEY e THRELKELD, 1993; BAREA-ARCO et al., 2001; ÒLAFSDÓTTIR e SVARVARSSON 2002; REGALI-SELEGHIM E GODINHO, 2004; UTZ e COATS, 2005), disponibilidade de alimento (THRELKELD et al., 1993; BALDOCK, 1996; ROBERTS e CHUBB, 1998; HANAMURA, 2000; BAREA-ARCO, et al., 2001; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; UTZ e COATS, 2005), grau de poluição orgânica (LAIRD, 1959; XU, 1992; UTZ e COATS, 2005), abundância dos predadores do hospedeiro (WILEY e THRELKELD, 1993) e parâmetros físico-químicos da água, tais como salinidade, matéria orgânica, temperatura, condutividade elétrica e potencial oxi-redutor (WILEY e THRELKELD, 1993; UTZ e COATS, 2005).

Mudanças nas características de um ambiente desencadeiam modificações qualitativas e quantitativas nas espécies que compõem a taxocenose de protistas ciliados de um ecossistema. O lançamento direto de esgoto *in natura* nos ecossistemas de água doce comprometem nascentes e alteram drasticamente a biota aquática que compõem estes sistemas (OLSEN e TOWNSEND, 2003). Os protistas ciliados podem ser utilizados como bioindicadores da qualidade da água, por responderem rapidamente às mudanças físico-químicas da água (SPARAGANO e GROLIÈRE, 1991). Além disso, apresentam ampla distribuição geográfica, podendo ser obtidos em quantidades estatisticamente aceitáveis (PICCINNI e GUTIÉRREZ, 1995).

Aspectos quantitativos da relação epibiótica podem ser utilizados como indicadores da qualidade de água em diversos ecossistemas aquáticos, tais como a prevalência e intensidade de colonização. Segundo HENEGBRY e RIDGEWAY (1979), existem vantagens na utilização dos ciliados epibiontes como indicadores da qualidade dos ecossistemas aquáticos, tais como a sua ampla distribuição geográfica, sua sensibilidade às alterações das condições físicas e químicas da água e por ser um método rápido e pouco oneroso. A prevalência de colonização e a abundância dos ciliados sobre crustáceos planctônicos podem ser influenciadas, segundo XU (1992), por fatores ambientais e podem ser utilizados como indicadores da poluição orgânica. Segundo LAIRD (1959), ambientes organicamente enriquecidos apresentam elevadas abundâncias de ciliados peritríqueos epibiontes.

2.4 Ciliados peritríqueos epibiontes

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

Quando colonizam substratos vivos, os epibiontes peritríqueos têm que se adaptar aos aspectos da biologia de seus hospedeiros tal como crescimento e/ou muda, sendo capazes de formar estágios livre-natantes e colonizar novos substratos quando as mudanças ocorrem (WAHL, 1989). A fase sésil do ciclo de vida dos peritríqueos é conhecida como trofonte e a fase livre-natante como telotróquio (UTZ e COATS, 2005). A formação do telotróquio pode ser desencadeada por fatores ambientais como queda brusca na concentração de oxigênio, distúrbios diretos do organismo ou, no caso dos epibiontes, morte ou muda do hospedeiro (UTZ e COATS, 2005). As principais características morfológicas usadas na distinção de espécies de peritríqueos incluem dimensões do corpo, forma da região peristomial, número de voltas da espiral adoral e da membrana ondulante, tamanho do disco peristomial, tipos de estriações na região somática e no pedúnculo, e disposição da ciliatura oral no peristômio e infundíbulo (FOISSNER, 1999; MAYÉN-ESTRADA e ALADRO-LUBEL, 2001).

O comportamento alimentar dos ciliados peritríqueos, primordialmente bacterívoro, possui implicações no sítio de localização destes ciliados em regiões particulares de seus hospedeiros e ainda em sua predileção por ambientes eutrofizados (LAIRD, 1959; EVANS et al., 1979; HENEERY e RIDGEWAY, 1979; BALDOCK, 1986; MAYÉN-ESTRADA e ALADRO-LUBEL, 2002).

2.5 O gênero *Rhabdostyla*

Os protistas do gênero *Rhabdostyla* compreendem um táxon de ciliados peritríqueos solitários em forma de sino invertido que possuem pedúnculo curto e não contrátil (KAHL, 1935). Este gênero possui em torno de 30 espécies válidas, porém é essencial a realização de estudos detalhados sobre os caracteres usados na taxonomia deste grupo, visto que são raros os

que utilizaram técnicas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica no estudo morfológicos destes ciliados. Atualmente estas técnicas são essenciais em estudos sobre a taxonomia de ciliados peritríqueos, podendo haver, portanto, sinonímias entre as espécies válidas do gênero *Rhabdostyla*.

Os ciliados deste gênero foram registrados vivendo como epibiontes de invertebrados de água doce, tais como crustáceos (cladóceros, copépodos e ostrácodos), insetos das ordens Ephemeroptera e Diptera (Chironomidae) e anelídeos Oligochaeta (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; DIAS et al., 2009). Alguns estudos ecológicos registraram ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre hospedeiros invertebrados diversos, porém, sem a identificação ao nível específico dos epibiontes (SMITH, 1986; WEISSMAN et al., 1993; FOISSNER, 2003; GILBERT e SCHRODER, 2003; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; DIAS et al., 2009).

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 e GODINHO, 2004). DIAS et al. (2007) e DIAS et al. (2009) registraram, respectivamente, *Rhabdostyla chironomi* sobre larvas de quironomídeos e *Rhabdostyla* sp. sobre oligoquetas, no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais.

2.6 Escopo da pesquisa

Na presente proposta foram abordados os seguintes aspectos ecológicos da relação epibiótica entre o ciliado peritríqueo *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 e larvas de quironomídeos em um córrego urbano no município de Juiz de Fora, Minas Gerais: ocorrência temporal e espacial, influência da poluição orgânica na prevalência de infestação, sítio de localização e intensidade de colonização dos ciliados epibiontes. Além das contribuições ecológicas a presente proposta apresenta um estudo morfológico da espécie *R. chironomi* utilizando técnicas modernas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica de varredura, bem como uma revisão taxonômica do gênero *Rhabdostyla*.

Na primeira parte, foi realizado estudo morfológico e morfométrico do ciliado epibionte *R. chironomi* utilizando informações adquiridas através de observações *in vivo*, impregnação pela prata e microscopia eletrônica de varredura. Neste capítulo foi apresentado ainda uma revisão taxonômica do gênero *Rhabdostyla*, evidenciando a necessidade de se ampliar os estudos a cerca da morfologia destes ciliados.

Na segunda, foi investigado o padrão da prevalência de colonização espacial e temporal do ciliado epibionte *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus* em um córrego urbano no sudeste brasileiro, e verificada a correlação entre a prevalência de colonização e os seguintes parâmetros ambientais: pluviosidade, abundância de hospedeiros e disponibilidade de alimento.

Na terceira, foi avaliada a influência da poluição orgânica sobre a prevalência de colonização de do ciliado epibionte *R. chironomi* sobre larvas de quironomídeos ao longo do córrego São Pedro, município de Juiz de Fora. Foram comparadas algumas variáveis físico-químicas com a prevalência de infestação dos ciliados.

Na quarta parte foi investigada a predileção de *R. chironomi* por sítios de localização sobre larvas de quironomídeos e, ainda, quantificada a intensidade de colonização destes ciliados sobre os quironomídeos.

3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE *Rhabdostyla chironomi* KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA), EPIBIONTE DE LARVAS DE CHIRONOMIDAE E NOTAS TAXONÔMICAS DO GÊNERO *Rhabdostyla* KENT, 1880

Os protistas ciliados peritríqueos vivem como epibiontes sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos, incluindo diversos grupos de invertebrados e de vertebrados (KAHL, 1935; GOODRICH e JAHN, 1943; LAIRD, 1959; CORLISS, 1979; FOISSNER et al., 1992; 1999; FERNANDEZ-LEBORANS e TATO-PORTO, 2002; MOSS et al., 2001). Os peritríqueos do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylididae) compreendem protistas solitários, em forma de sino invertido, que possuem pedúnculo curto e não contrátil (KAHL, 1935). Vivem como epibiontes de invertebrados aquáticos, tais como crustáceos (cladóceros, copépodos e ostrácodos), insetos das ordens Ephemeroptera e Diptera e anelídeos (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; SMITH, 1986; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; DIAS et al., 2007; 2009).

O gênero *Rhabdostyla* possui em torno de 30 espécies válidas, porém é essencial a realização de um estudo detalhado por meio de técnicas modernas de microscopia sobre os caracteres usados na taxonomia deste grupo, que revelam estruturas essenciais na taxonomia dos peritríqueos, podendo haver muitas sinonímias entre as espécies válidas atualmente. A maioria das espécies foi descrita a mais de 70 anos e estão relatadas no trabalho realizado por KAHL (1935). Há ainda espécies descritas por PRECHT (1935), NENNINGER (1948), FOISSNER (1979) e SONG (1986). Apenas estes dois últimos estudos utilizaram informações de espécimes impregnados pela prata na descrição de espécies do gênero *Rhabdostyla*.

Rhabdostyla chironomi Kahl, 1933 foi originalmente descrita sobre larvas de dípteros em águas salobras em Kiel, Alemanha e recentemente foi registrada sobre larvas de quironomídeos (DIAS et al., 2007) durante um estudo multidisciplinar de avaliação da qualidade da água do córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Durante um estudo dos aspectos ecológicos da relação epibiótica entre ciliados epibiontes e larvas de quironomídeos, uma população de *Rhabdostyla* foi isolada e investigada usando técnicas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica, e foi identificada como uma população do. Os resultados obtidos no presente estudo representam um nova contribuição para

a morfologia desta espécie de ciliado bem como apresenta notas taxonômicas do gênero *Rhabdostyla*.

3.1 Material e Métodos

Para obtenção das larvas de quironomídeos colonizadas por *R. chironomi* foram coletadas amostras do sedimento no córrego São Pedro, localizado na região sudoeste do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As larvas foram triadas e separadas quanto à presença de ciliados epibiontes.

As larvas colonizadas foram observadas *in vivo*, sob microscópio de campo claro e com contraste interferencial diferencial (DIC). Parte das larvas colonizadas foi fixada com formaldeído 40%, para a realização da técnica de impregnação pelo carbonato de prata amoniacal proposta por FERNANDEZ-GALIANO (1978). Outras larvas foram fixadas com bouin alcoólico e, posteriormente, raspadas para que os protistas ciliados epibiontes se desprendessem de sua superfície e fosse realizada a técnica do protargol proposta por DIECKMANN (1995). Foram fixadas ainda larvas contendo ciliados para realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura, conforme proposto por SILVA - NETO (1994). Os dados biométricos foram aferidos com auxílio do software Image Pro-Plus 5.0 Olympus e estão apresentados em micrômetros. Tanto a sistemática quanto a terminologia adotadas seguem os trabalhos de KAHL (1935), CORLISS (1979) e FOISSNER et al. (1992).

3.2 Resultados e Discussão

Classe: Oligohymenopha de Pytorac et al., 1974.

Ordem: Peritrichia Stein, 1859.

Família: Epistylididae Kahl, 1933.

Gênero: *Rhabdostyla* Kent, 1880.

Rhabdostyla chironomi Kahl, 1933 (Fotos 1-6)

Esta espécie foi descrita muito superficialmente usando apenas informações de espécimes *in vivo* não apresentando descrição de caracteres atualmente usados na diagnose de ciliados peritríqueos. No presente estudo, uma descrição mais detalhada foi apresentada, usando além

de informações *in vivo* caracteres observáveis em espécimes impregnados pela prata e preparados segundo técnicas de microscopia eletrônica.

- **Diagnose:**

Espécie encontrada tanto em água doce como salobra, constituída por indivíduos solitários (Foto 1.1- 1.3; 6.1- 6.3), com zoóide em forma de sino invertido, dimensões *in vivo* 30-67 x 22-52 μm , colar peristomial com uma volta, um vacúolo contrátil localizado à direita do vestibulo, pedúnculo não estriado e não contrátil, macronúcleo com formato de C orientado horizontalmente, micronúcleo localizado posteriormente ao macronúcleo. Cerca de 36 estriações da região oral à banda telotrocal e 30 da banda telotrocal à escópula.

- **Hospedeiro e localidade:**

Larvas de quironomídeos de gênero *Chironomus* gr. *decorus* (Foto 1.1), provenientes de três estações amostrais córrego São Pedro (S 21° 46' 38.1", W 43° 24' 0.4"; S 21° 45' 47.2", W 43° 22' 0.6" e S 21° 45' 17" , W 43° 27' 0.1"), município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

- **Morfologia:**

Apresenta o corpo em forma de sino invertido, dimensões 49,10 x 37,41 μm (Foto 1.4- 1.5), sendo que alguns zoóides apresentam tamanho consideravelmente maior (70 x 42 μm), o que pode estar relacionado com a morfogênese divisional e/ou período nutricional do ciliado (Foto 1.6).

O pedúnculo curto, aproximadamente nove vezes menor que o comprimento do corpo, apresenta largura duas vezes maior do que o comprimento, não possui estriações nem mionemas (Fotos 3.8- 3.9 ; 6.4 -6.5). Os zoóides quando estimulados contraem tanto a região oral quanto a região posterior (Foto 3.5). O citoplasma é geralmente incolor ou levemente amarelado, contendo vários vacúolos alimentares (2-10) com formato oval com dimensões 0,23-0,56 μm x 0,59 - 1,02 μm (Fotos 2.5; 3.3; 3.7). O único vacúolo contrátil, localizado à direita do vestibulo, se estende até cerca de um terço do comprimento do corpo (Fotos 2.1- 2.6; 3.1, 3.2, 3.4- 3.6, 3.8). O colar peristomial é evidente (4,83 μm) (Foto 3.3) e o disco peristomial proeminente (1,84 μm). Não foram observados grânulos corticais no citoplasma (Foto 2.4).

Os espécimes impregnados pelo protargol possuem dimensão média de 43,62 x 30,06 μm , havendo uma redução média de 8% quando comparado aos espécimes medidos *in vivo*. O sistema de mionemas se restringe ao zoóide, não ocorrendo no pedúnculo, e se inicia na

escópula e se estende até a região central do zoóide (Foto 4.7). Os mionemas formam ramos longitudinais até a banda telotrocal e se tornam irregulares até a metade do corpo. O macronúcleo em forma de “C”, orientado transversalmente, apresenta dimensões que variam entre 11-27 x 2-13 μ m (Fotos 2.1, 2.5; 4.1, 4.2, 4.6- 4.9). Em alguns espécimes foram observados macronúcleos orientados de forma diferente do padrão horizontal (Fotos 4.3, 4.4). O micronúcleo apresenta formato oval e dimensões de 0,26-1,25 x 0,19-0,80 μ m, e está localizado posterior ao macronúcleo (Fotos 4.1- 4.4; 5.1-5.3). A infraciliatura espiral adoral robusta apresenta volta única (Foto 2.3) com comprimento variando entre 5-11 μ m e largura 1,95-2,37 μ m (Fotos 4.5, 4.6) Não foi possível distinguir os penículos devido à pequena dimensão do ciliado.

A película possui estriações (silverlines) longitudinais ao redor do corpo. Foram contabilizadas, com base nas eletromicrografias realizadas (n=8), 36 estriações da região oral à banda telotrocal e 30 da banda telotrocal à escópula (Foto 6.3- 6.4).

Tabela 1. Morfometria do ciliado peritríqueo *Rhabdostyla chironomi*, colonizando *Chironomus* gr. *decorus*, provenientes do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

<i>In vivo</i>	\bar{X}	σ	Erro Padrão	CV (%)	Mín.	Máx	n
Comprimento do corpo	49,10	6,87	5,92	14,0	30,61	67,58	30
Largura do corpo	37,41	4,96	4,01	13,3	22,99	51,83	30
Comprimento do pedúnculo	5,40	1,61	0,66	29,8	2,28	8,52	15
Largura do pedúnculo	8,66	2,67	1,72	30,9	4,88	12,44	15
Largura do Colar Peristomial	4,83	0,53	0,42	10,9	4,15	5,52	10
Largura da Membrana Ondulante	15,25	2,04	1,09	13,4	12,13	18,37	15
Comprimento do vestíbulo	12,44	1,55	0,60	12,4	12,30	12,58	10
Número de vacúolos contráteis					1,00	1,00	30
Número de vacúolos alimentares	6,00	1,15	0,20	19,2	2,00	10,00	30
Comprimento de vacúolos alimentares	0,81	0,22	0,13	26,7	0,59	1,02	50
Largura de vacúolos alimentares	0,40	0,17	0,17	41,8	0,23	0,56	50
Protargol							
Comprimento do corpo	43,62	6,75	5,80	15,5	32,09	55,15	30
Largura do corpo	30,06	4,32	3,37	14,4	27,32	32,80	30
Comprimento do macronúcleo	19,68	5,39	4,44	27,4	11,56	27,80	30
Largura do macronúcleo	2,92	2,59	1,64	88,5	2,59	3,26	30
Comprimento do micronúcleo	0,76	0,29	0,17	38,2	0,26	1,25	15
Largura do micronúcleo	0,49	0,74	0,21	15,0	0,19	0,80	15
Comprimento da espiral adoral	8,54	1,53	0,58	17,9	5,76	11,33	15
Largura da espiral adoral	2,16	0,21	0,74	9,7	1,95	2,37	15
Comprimento do disco peristomial	1,84	0,36	0,19	19,6	1,48	2,20	30
Largura do disco peristomial	2,18	0,64	0,31	29,1	0,64	3,73	30

- **Comparação**

Os ciliados do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylididae) incluem protistas solitários, com corpo em forma de sino, cilíndricos, esféricos, cônicos e ovais, com pedúnculo geralmente curto e não contrátil (KAHL, 1935). Os indivíduos são geralmente epibiontes de invertebrados aquáticos tais como crustáceos, anelídeos e insetos (CURDS et al., 1983). O gênero apresenta em torno de 30 espécies válidas, sendo a maioria descrita a partir de observações dos espécimes *in vivo*, o que ressalta a importância de estudos morfológicos usando técnicas ciliatológicas modernas.

Em uma revisão bibliográfica, KAHL (1935) dividiu as espécies do gênero *Rhabdostyla* em grupos utilizando como critérios o formato do corpo, comprimento e largura do pedúnculo, tipo de hospedeiro, e comprimento do peristômio. *Rhabdostyla (Epistylis) ringuens* Müller, 1786 e *Rhabdostyla libera* Kahl, 1933 foram agrupadas, baseado na presença de um pedúnculo curto; *Rhabdostyla ephemerae* Kahl, (1935), *Rhabdostyla cyclopis* Kahl, 1935 e *Rhabdostyla conipes* Kahl, 1935 por serem epibiontes de artrópodes; *Rhabdostyla bosminae* Levander, 1907 e *Rhabdostyla congregata* Zacharias, 1903, pelo curto peristômio; *Rhabdostyla sessilis* Penard, 1922, *Rhabdostyla (Epistylis) brevipes* Lachmann, 1857 e *Rhabdostyla (Scyphidia) fromenteli* Kent, 1880 por apresentarem pedúnculo mais largo que longo e núcleo alongado *Rhabdostyla limnophili* Kent 1882 e *Rhabdostyla (Scyphidia) pyriphormis* Perty, 1852 foram agrupadas devido ao zoóide com formato oval; *Rhabdostyla (Scyphidia) patula* Perty, 1852 e *Rhabdostyla cylindrica* Stiller, 1933 por apresentarem zoóides cônicos ou em forma de sino; *Rhabdostyla (Epistylis) sphaeroides* Fromentel, 1874, *Rhabdostyla (Epistylis) nebulifera* Fromentel, 1874 e *Rhabdostyla hungarica* Stiller, 1931 por apresentarem zoóide esférico. Entretanto estes grupos compreendem um número restrito de espécies não sendo, portanto, um agrupamento natural usando caracteres que reflitam a relação filogenética entre as espécies.

Rhabdostyla chironomi Kahl, 1933 se assemelha a algumas espécies do gênero em caracteres tais como macronúcleo em forma de C e orientado horizontalmente como em *R. bosminae*, *R. cylindrica*, *R. limnophili*, *R. hungarica*, *R. cyclopis* e *Rhabdostyla dubia* Foissner, 1979; pedúnculo mais largo que longo como em *Rhabdostyla arenicolae* Fabre-Domergue, 1888, *R. brevipes*, *R. fromenteli*, *R. sessilis* e *Rhabdostyla porculus* Penard, 1922; comprimento do corpo *in vivo* em *R. arenicolae* (45-60µm), *R. conipes* (40-46µm), *Rhabdostyla inclinans* (Müller, 1786) (50-60µm), *Rhabdostyla nereicola* Precht 1948 (45-62µm), *Rhabdostyla vernalis* Stokes 1887 (50µm); formato do zoóide em *R. vernalis* e *Rhabdostyla invaginata*

Stoke, 1886, presença de um disco peristomial proeminente em *R. ephemerae*, *R. cyclopis* e *R. dubia*; e pelo grupo de epibiontes que colonizam insetos em *R. brevipes*, *R. comensalis*, *R. ephemerae* e *R. limnophili*. Entretanto, as características descritas para a espécie encontrada no presente estudo a distinguem das demais congêneres.

A espécie encontrada colonizando os túbulos ventrais das larvas de quironomídeos *Chironomus* gr. *decorus* no presente estudo foi identificada como *R. chironomi*, após comparação com descrições de diversas espécies de *Rhabdostyla*. A diagnose elaborada por KAHL (1935) é breve e baseada em características, tais como formato e comprimento do corpo, formato do pedúnculo, película com estriações transversais, disco peristomial proeminente, além de informações sobre o hábitat e hospedeiro; entretanto, estas características são semelhantes àquelas apresentadas para espécie investigada no presente estudo. Poucos estudos utilizaram técnicas de impregnação pela prata para caracterizar espécies do gênero *Rhabdostyla* (FOISSNER, 1979; SONG, 1986), entretanto, atualmente estudos demonstram que caracteres morfológicos observáveis somente em espécime impregnados são essenciais na distinção de gêneros e espécies de ciliados peritríqueos (ZAGON, 1971; SONG, 1997; UTZ, 2007). O presente estudo constitui a primeira contribuição com informações sobre a espiral adoral, mionemas, micronúcleo, banda telotrocal, com auxílio da técnica de impregnação pela prata sobre *R. chironomi* e constitui ainda a primeira contribuição sobre a morfologia da película usando a técnica de microscopia eletrônica de varredura para o gênero *Rhabdostyla*. Foram ainda ampliadas informações sobre a morfologia deste ciliado a partir de observações *in vivo*, com uso de microscopia de contraste interferencial diferencial, e de dados biométricos, usando tanto informações *in vivo* quanto de espécimes impregnados pelo protargol.

Estudos mais detalhados, incluindo análises moleculares, são necessários para determinar se as populações de *R. chironomi* coletadas na Alemanha e Brasil podem consideradas uma única unidade genética ou não, e se este ciliados constitui uma espécie com ampla distribuição geográfica ou se é endêmica.

- **Notas taxonômicas do gênero *Rhabdostyla***

As espécies do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylididae) foram revisadas a mais de 70 anos por KAHL (1935). Posteriormente a esta publicação poucos estudos descreveram novas espécies ou ampliaram as descrições de espécies do gênero *Rhabdostyla* (PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; FOISSNER, 1979, SONG, 1986,

FOISSNER et al., 1992). A seguir serão apresentadas as informações contidas nestes artigos. Foram elaboradas ainda uma tabela (Tabela 3) com as principais características que diferem as espécies do gênero e uma prancha (Desenho 1) contendo desenhos esquemáticos destes ciliados presentes na literatura consultada.

Rhabdostyla arenaria Cuénot, 1891 (56 μ m) possui pedúnculo com 10 μ m de comprimento, entretanto, a seção posterior do corpo que é interrompida por um sulco transversal tem sido considerada como parte do pedúnculo e apresenta ainda núcleo alongado em forma de faixa e vacúolo contrátil aparente, encontrado no tegumento de *Synapta inhaerens* (Desenho 1.1.).

Rhabdostyla arenicolae Fabre-Domergue, 1888 (45-60 μ m), apresenta um pedúnculo geralmente medindo metade do comprimento do corpo, núcleo cilíndrico, com torção próxima à região peristomial, vacúolo contrátil na região anterior e ainda possui a película estriada transversalmente (Desenho 1.2).

Rhabdostyla bosminae Levander, 1907 (38-44 μ m), possui corpo transversalmente estriado, pedúnculo medindo cerca de metade do tamanho do corpo, podendo medir o mesmo tamanho, possui núcleo em forma de ferradura e geralmente coloniza a região dorsal da carapaça de cladóceros do gênero *Bosmina* (Desenho 1.3).

Rhabdostyla (Epistylis) brevipes Lachmann, 1857 (80-90 μ m) apresenta forma semelhante à *Epistylis plicatilis*, provido de um rostro anterior quando contraído, núcleo oval, forma afilada, com dois sulcos transversais na região posterior, sendo encontradas em um grande número de larvas de dípteros (Desenho 1.4).

Rhabdostyla comensalis Mobius, 1888, espécie com região anterior estreitada, pedúnculo muito curto, e sem pregas transversais, núcleo pequeno e cilíndrico, encontrado em *Capitella capitata* e *Terebellides stromii*, poliquetas encontrados no mar Báltico (Desenho 1.5).

Rhabdostyla congregata Zacharias, 1903 (38-40 μ m), possui forma um pouco mais arredondada do que as demais espécies, sendo semelhante a pequenos *Epistylis*, apresenta núcleo em forma de ferradura, inclinado para a região posterior, encontrado em grande número em rotíferos do gênero *Brachionus* e em seus ovos, sendo encontrados, geralmente, mais de 25 indivíduos por basibionte (Desenho 1.6).

Rhabdostyla conipes Kahl, 1935 (40-46 μ m), espécie com pedúnculo curto e reto, forma alargada na região anterior, fracamente estriado, disco peristomial estreito, núcleo pequeno e

cilíndrico, transversalmente inclinado após o peristômio, epibionte de *Dhaphnia* sp (Desenho 1.7).

Rhabdostyla cyclopis Kahl, 1935 (30 μ m), apresenta diâmetro do corpo alargado, densamente contraído contra a borda peristomial, pedúnculo curto e com uma expansão na inserção com o corpo, para onde o corpo se volta quando contraído, encontrado sobre espécies de cladóceros, copépodos e ostrácodos (Desenho 1.8).

Rhabdostyla cylindrica Stiller, 1933, possui pedúnculo medindo um sexto da altura do corpo, núcleo localizado na região anterior do corpo, inclinado transversalmente. Epibionte de *Leptodora kindti* (Desenho 1.9).

Rhabdostyla dubia Foissner 1979 (30-35 μ m), possui forma do corpo piriforme, estriações transversais na película, pedúnculo medindo 2-5 μ m e geralmente, mais estreito do que a largura do corpo, macronúcleo em forma de ferradura, disco peristomial oblíquo e proeminente, vestibulo largo, bastante acentuado após o disco peristomial, terminando no terço proximal do corpo, ciliatura da espiral adoral longa e robusta, macronúcleo em forma de ferradura, e o citoplasma com grandes grânulos ligeiramente amarelados (Desenho 1.10).

Rhabdostyla ephemerae Kahl, 1935, (75 μ m), possui forma variável, porém não muito assimétrica, com núcleo inclinado longitudinalmente, disco peristomial oblíquo com margem dilatada e borda peristomial robusta, apresenta ainda estriações estreitamente espaçadas, sendo encontrada na região oral de larvas de efemeróptera (Desenho 1.11).

Rhabdostyla (Scyphidia) fromenteli Kent, 1880, (80 μ m) apresenta pedúnculo mais longo do que largo, com sulcos longitudinais e forma cilíndrica (Desenho 1.12).

Rhabdostyla hungarica Stiller, 1931, (35-40 μ m) apresenta núcleo anterior, inclinado transversalmente e sem estriações (Desenho 1.13).

Rhabdostyla (Gerda) inclinans (Müller, 1786) (50-60 μ m), apresenta corpo cilíndrico, afilado na extremidade posterior, um tanto inclinado ventralmente e dorsalmente convexo. Com estriações transversais muito finas, e com a borda peristomial curta, mas ligeiramente projetada, núcleo longo e cilíndrico, encontrado em associação com oligoquetas límnicos do gênero *Nais* (Desenho 1.14-17).

Rhabdostyla invaginata Stoke, 1886 (35 μ m), apresenta peristômio expandido, com disco peristomial plano, forma cônica, com vacúolo contrátil próximo da região peristomial, pedúnculo medindo de um terço a dois quintos do comprimento do corpo (Desenho 1.18).

Rhabdostyla libera Kahl, 1933 apresenta 60µm de comprimento, corpo afilado, forma extremamente parecida com a dos protistas do gênero *Vorticella*, são indivíduos marinhos, que apresentam delicadas estriações longitudinais e estriações transversais perceptíveis apenas na região posterior, núcleo inclinado longitudinalmente, pedúnculo curto, com pregas transversais (Desenho 1.19).

Rhabdostyla limnophili Kent 1882 (55µm) possui forma oval, encontrada em água doce, pedúnculo medindo cerca de dois terços o tamanho do corpo, borda peristomial elevada, podendo apresentar uma pequena ramificação de um dos lados e núcleo inclinado transversalmente (Desenho 1.20).

Rhabdostyla muscorum Kahl (1935), apresenta 40µm de comprimento, pedúnculo fino, com cerca de um terço do tamanho do corpo. Forma afilada, com duas estrias no cone basal, núcleo não suficientemente analisado, encontrada em infusões de musgos (Desenho 1.21-23).

Rhabdostyla (Epistilis) nebulifera Fromentel, 1874 (125µm), não apresenta projeções na borda peristomial e pedúnculo alargado (Desenho 1.24).

Rhabdostyla nereicola Precht 1948, (dimensões 45 x 62 µm), apresenta o corpo estreito com a extremidade inferior ainda mais fina, estriações transversais na película, apresentam grânulos na região inferior do corpo, pedúnculo não contrátil (Desenho 1.25).

Rhabdostyla (Scyphidia) patula Perty, 1852 possui corpo em forma de sino, com pedúnculo curto e fino (Desenho 1.26).

Rhabdostyla porculus Penard, 1922 (135-155µm) possui pedúnculo liso, medindo de 30 a 35µm com forma cilíndrica e com discos aderidos à base, borda peristomial delicadamente projetada, núcleo cilíndrico, pequeno e encurvado, vacúolo contrátil grande, encontrado em detritos de animais (Desenho 1.27).

Rhabdostyla pristinis Rigghi, 1973 (dimensões: 37 x 48 µm), com corpo estriado transversalmente, disco peristomial estreito e com superfície plana, membrana peristomial circular e o vestibulo ocupa cerca de metade do comprimento do corpo e apresenta uma constrição em frente ao vacúolo contrátil, o pedúnculo é um terço ou um quarto do tamanho do corpo, sendo, portanto longo e apresenta quatro ou cinco apêndices transversais (Desenho 1.28) (RIGHI, 1973).

Rhabdostyla (Scyphidia) pyriphormis Perty, 1852 (*Rhabdostyla ovum* Kent, 1882) (25-30 µm), corpo com forma arredondada ou oval, encontrada em água doce, disco peristomial largo

e achatado, borda peristomial elevada núcleo em forma de ferradura, pedúnculo fino e curto, encontrado como epibionte de rotíferos e pequenos crustáceos.

Rhabdostyla (Epistylis) ringens Müller, 1786 apresenta 80µm de comprimento, corpo cônico, afilado, com comprimento cerca de duas vezes maior do que a largura, aparentemente sem estriações, organismos dulciaquícolas, sendo identificada primeiramente como *Vorticella ringens* (Desenho 1.29).

Rhabdostyla scyphoides Song, 1986 (Dimensões 35-44µm x 24-27µm) apresenta corpo cilíndrico, disco peristomial plano, película lisa, macronúcleo em forma de “S”, localizado longitudinalmente no corpo, pedúnculo muito curto, cerca de um terço do comprimento do corpo e com alargamento na porção superior (Desenho 1.30).

Rhabdostyla sessilis Penard, 1922 (43-45µm), possui corpo estriado transversalmente, disco peristomial largo, núcleo longo, cilíndrico, tornando-se espesso na região posterior (Desenho 1.31).

Rhabdostyla (Epistylis) sphaeroides Fromentel, 1874 (60µm) possui disco peristomial convexo pedúnculo medindo cerca de metade do tamanho do corpo e é encontrado em água doce (Desenho 1.32).

Rhabdostyla variabilis, Precht 1948, o peristômio é aproximadamente a mesma largura que a maior largura do corpo, o disco peristomial é proeminente, apresenta o pedúnculo curto, característico do gênero *Rhabdostyla* (Desenho 1.33).

Rhabdostyla vernalis Stokes, 1887 (50µm), possui disco peristomial convexo, forma elíptica, vacúolo contrátil localizado no primeiro terço do corpo, pedúnculo medindo um terço do comprimento do corpo, finamente estriado (Desenho 1.34).

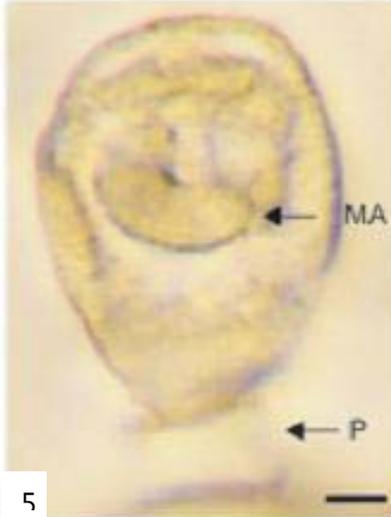
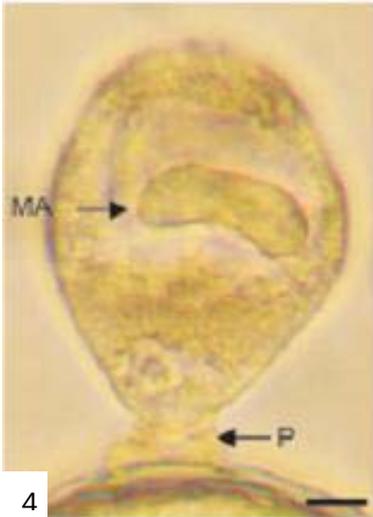
Tabela 2. Principais características que diferem as espécies do gênero *Rhabdosyla*, segundo as descrições de KAHL (1935), PRECHT (1935), FOISSNER (1979), SONG (1986) e FOISSNER et al. (1992)

Espécie	comprimento (µm)	Hospedeiro	Habitat	Forma do corpo	Pedúnculo	Disco Peristomial	Vaciolo Contrátil	Estriações no Corpo	Macronúcleo
<i>R. arenaria</i>	56	<i>Synaptra inhaerens</i>	Marinho		10 µm 1/2 do tamanho do corpo		aparente um, na região anterior		Alongado. Em forma de faixa
<i>R. arenicolae</i>	45-60	<i>Arenicola</i> sp.	Marinho		1/2 do tamanho do corpo				Cilíndrico Em forma de ferradura
<i>R. bosminae</i>	38-44	Cladóceros	Dulciaquícola					Transversais	
<i>R. brevipes</i>	80-90	Larvas de dípteros	Dulciaquícola	Semelhante à <i>Epistylis plicatilis</i>		Uma volta (1 x 2 µm)	um, do lado direito do vestibulo		Oval Em forma de ferradura
<i>R. chironomi</i>	49	<i>Chironomus</i>	Dulciaquícola	Sino invertido	Curto (5 x 8 µm)			Longitudinais	Pequeno e cilíndrico Em forma de ferradura
<i>R. comensalis</i>		Poliquetas	Marinho	Barril Semelhante à <i>Epistylis</i>	Pequeno e cilíndrico				Pequeno e cilíndrico Em forma de ferradura
<i>R. congregata</i>	38-40	Rotíferos		Alargado na região anterior	Curto			Fracamente estriado	Pequeno e cilíndrico
<i>R. conipes</i>	40-46	<i>Daphnia</i> sp.	Dulciaquícola		Curto e Reto	Estreito			
<i>R. cyclopis</i>	30-35	Crustáceos			Curto				
<i>R. cylindrica</i>	25	<i>Lepdotora kindii</i>	Dulciaquícola	Cilíndrica	1/6 do tamanho do corpo				
<i>R. dubia</i>	30-35	Ostracoda	Dulciaquícola	Piriforme	2-5 µm	Obliquo e proeminente Obliquo com margem dilatada	um, próximo ao peristômio	Transversais	Em forma de ferradura
<i>R. ephemerae</i>	75	Ephemeroptera	Dulciaquícola	Assimétrica					Inclinado longitudinalmente
<i>R. fromenteli</i>	80		Dulciaquícola		Alargado, com sulcos longitudinais				
<i>R. hungarica</i>	35-40	<i>Lepdotora kindii</i>		Esférica	Alargado				Inclinado transversalmente
<i>R. inclinans</i>	50-60	<i>Nais</i> sp.		Cilíndrica	Cilíndrico 1/3 a 2/6 do tamanho do corpo	Projetado para fora		Ausentes Transversais muito finas	Longo e cilíndrico
<i>R. invaginata</i>	35					Com borda extensa	Próximo à região peristomial		

<i>R. libera</i>	60		Marinho	Afilada	Curto com pregas transversais			Longitudinais e Transversais	Inclinado longitudinalmente
<i>R. limnophili</i>	55	Trichoptera	Dulciaquícola	Oval	2/3 do tamanho do corpo				
<i>R. muscorum</i>	40	Musgo	Terrestre	Afilada	Fino, 1/3 do tamanho do corpo			Estreitamente espaçadas	Inclinado transversalmente
<i>R. nebulifera</i>	125		Dulciaquícola	Esférica	Alargado				
<i>R. nereicola</i>	45			Afilada				Transversais	
<i>R. patula</i>			Detritos de animais	Sino invertido	Fino e curto				
<i>R. porculus</i>	135-155	Livre-natante		Cilíndrica	30-35 µm	Projetada	um, grande		Cilíndrico
					Longo, 1/4 do tamanho do corpo, com Projeções	Estreito e com superfície plana	um, próximo ao vestibulo		
<i>R. pristinis</i>	37	<i>Pristina minuta</i>	Dulciaquícola			Largo e achatado		Transversais	Em forma de ferradura
<i>R. pyriphormis</i>	25-30	Crustáceos		Oval	Fino e curto				
<i>R. rigens</i>	80	Livre-natante	Dulciaquícola	Cônico	Curto			Ausente	
<i>R. scyphoides</i>	35-44	Livre-natante	Dulciaquícola	Cilíndrica	Curto	Plano		Ausente	Em forma de "S"
<i>R. sessilis</i>	43-45	<i>Cyclops</i> sp.	Dulciaquícola		Alargado	Largo	No primeiro terço do corpo	Transversais	Longo e Cilíndrico
<i>R. sphaeroides</i>	60		Dulciaquícola	Esférica	1/2 do tamanho do corpo	Convexo			
<i>R. Variabilis</i>					Curto	Proeminente			
<i>R. vernalis</i>	50		Dulciaquícola		1/3 do tamanho do corpo	Com pequena proeminência	Primeiro terço do corpo	Finas	

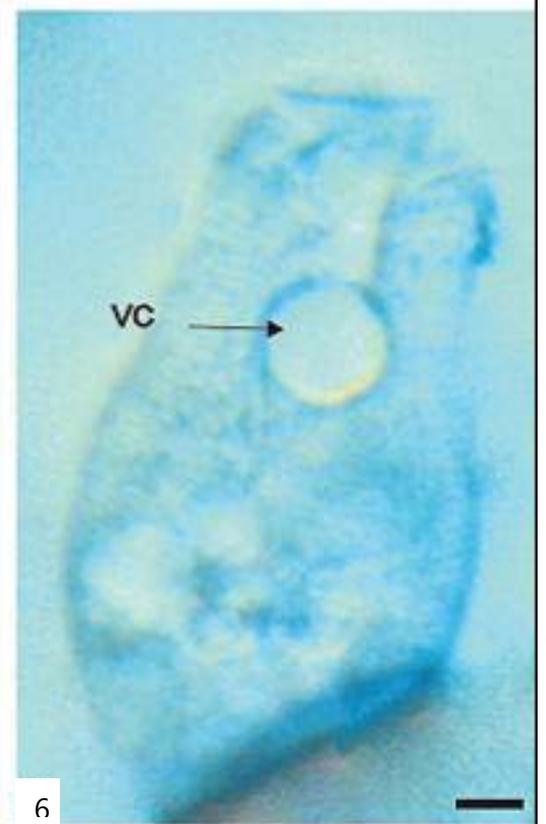
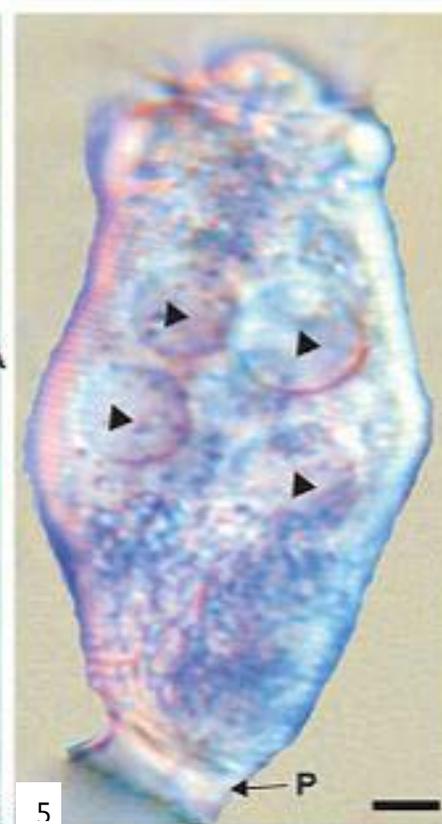
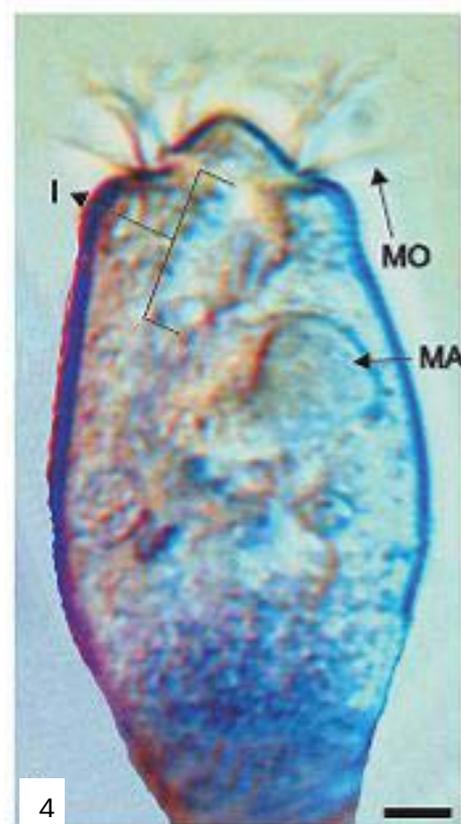
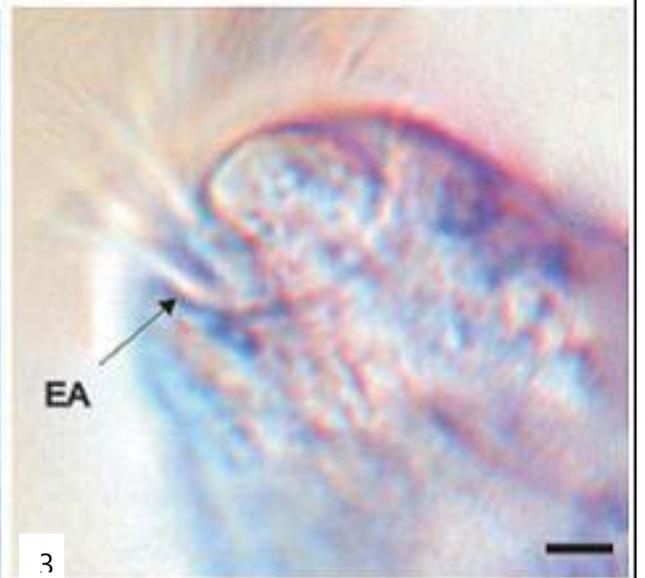
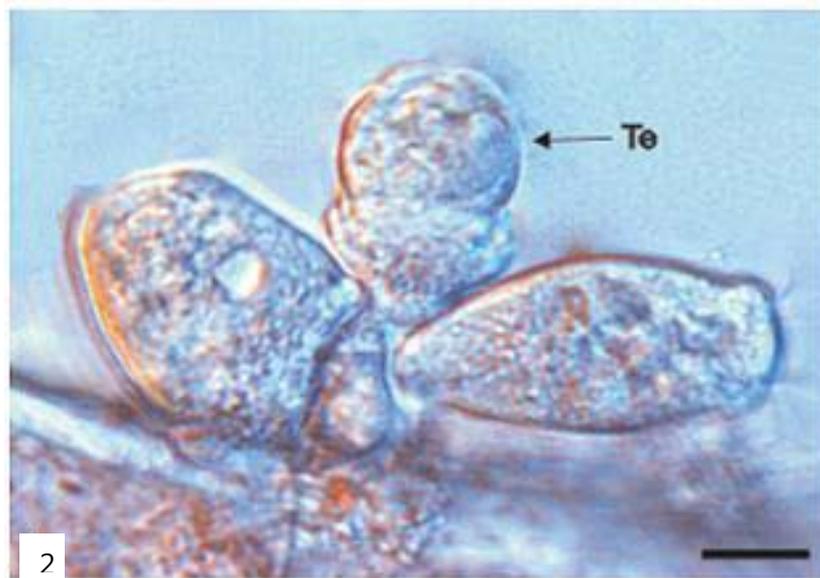
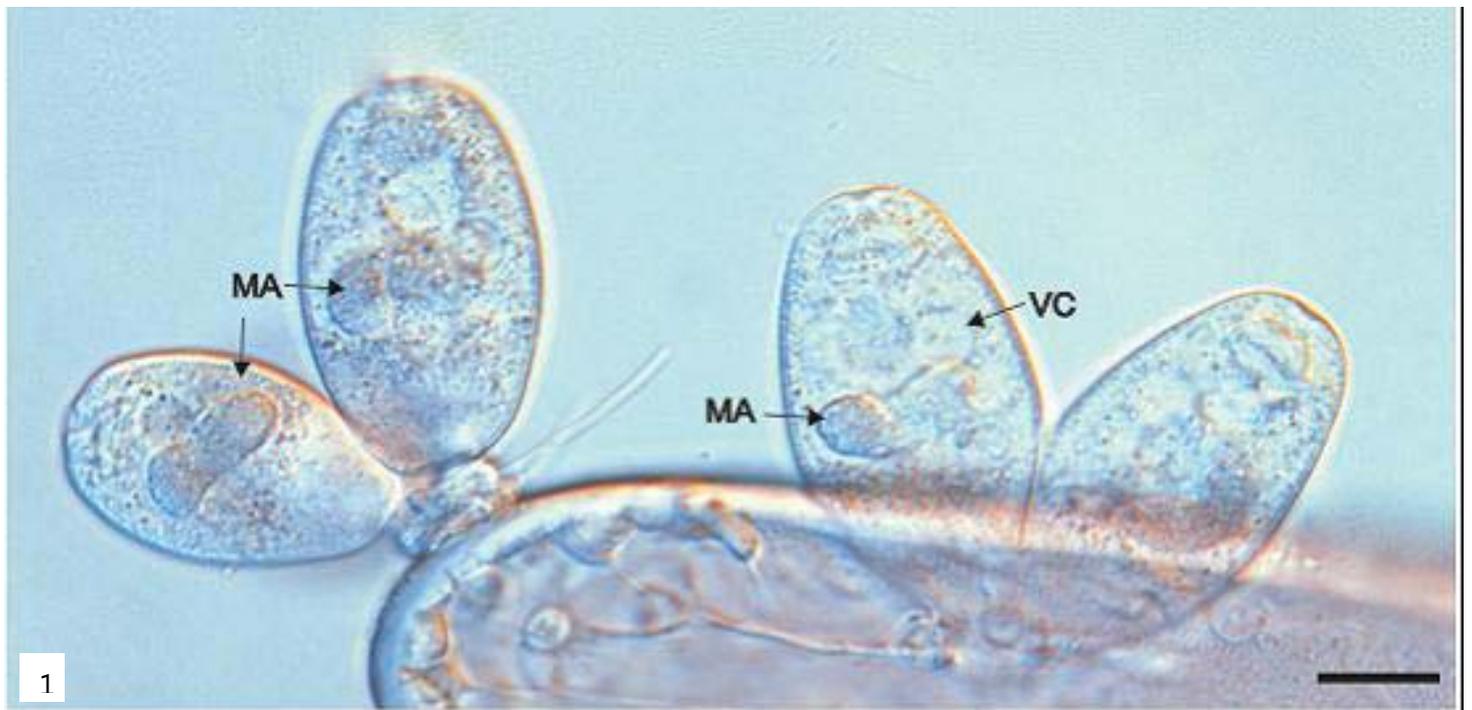
FOTOGRAFIA 1

Foto 1 (1-6). Fotomicrografias de *Rhabdostyla chironomi* in vivo sob microscópio de campo claro. 1. Detalhe da região posterior da larva com ciliados aderidos aos túbulos ventrais (Pontas de seta); **2.** Túbulo ventral da larva com 26 espécimes de *R. chironomi* aderidos à superfície externa. **3.** Detalhe de um dos túbulos abdominais colonizados pelos ciliados com um indivíduo aderido; **4-5.** Detalhe de *R.chironomi*, evidenciando o pedúnculo e macronúcleo; **6.** Detalhe de indivíduo *R. chironomi* com cerca de duas vezes o tamanho normal. **Legendas:** MA = macronúcleo; P = pedúnculo Barras: 1= 100µm; 2-3 = 50 µm; 4-6 =10 µm.



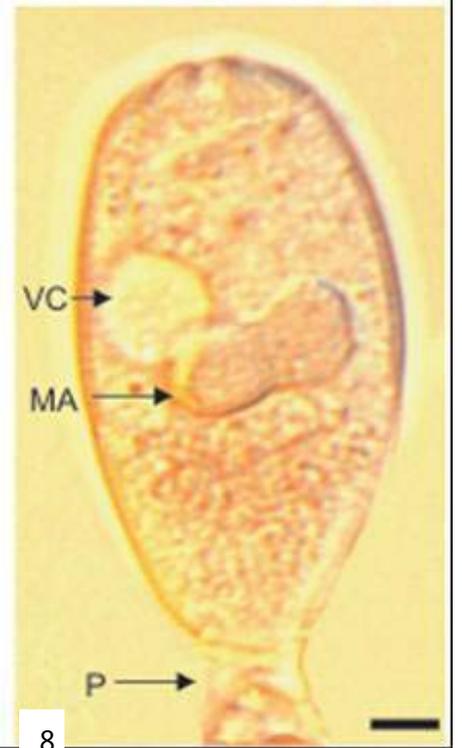
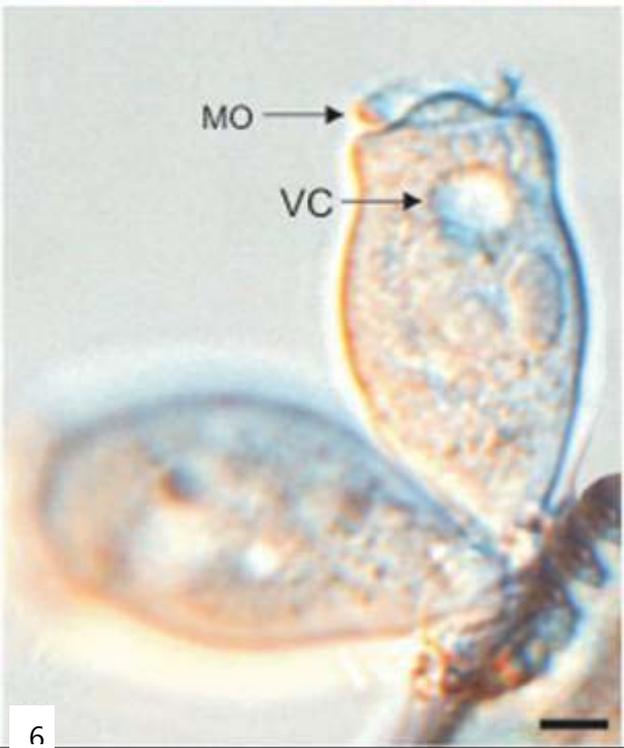
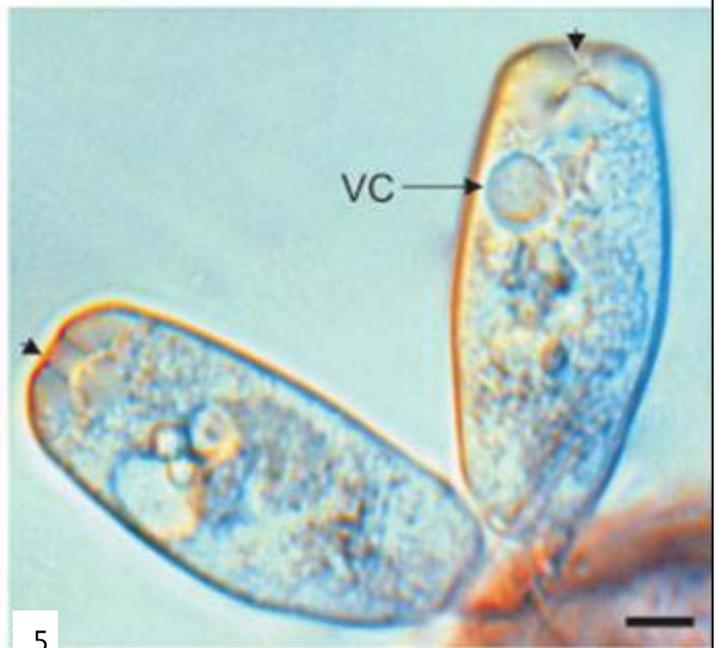
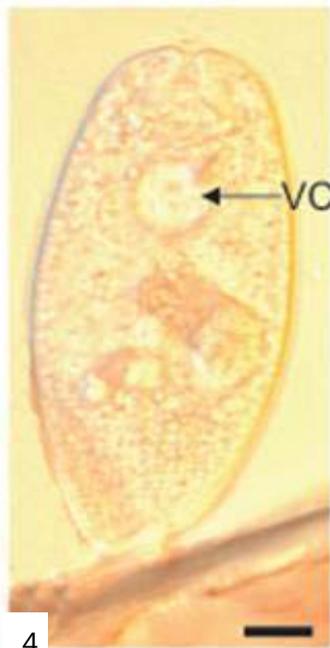
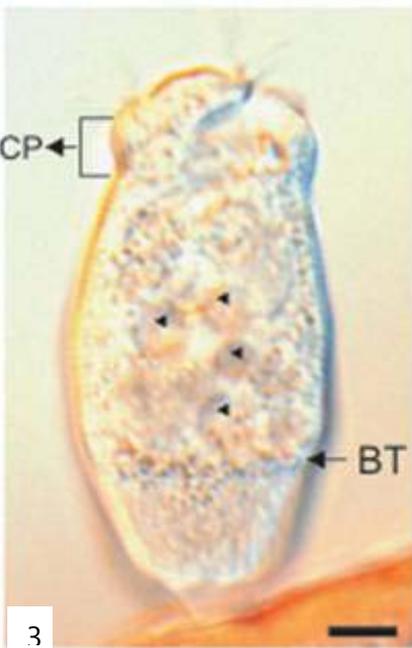
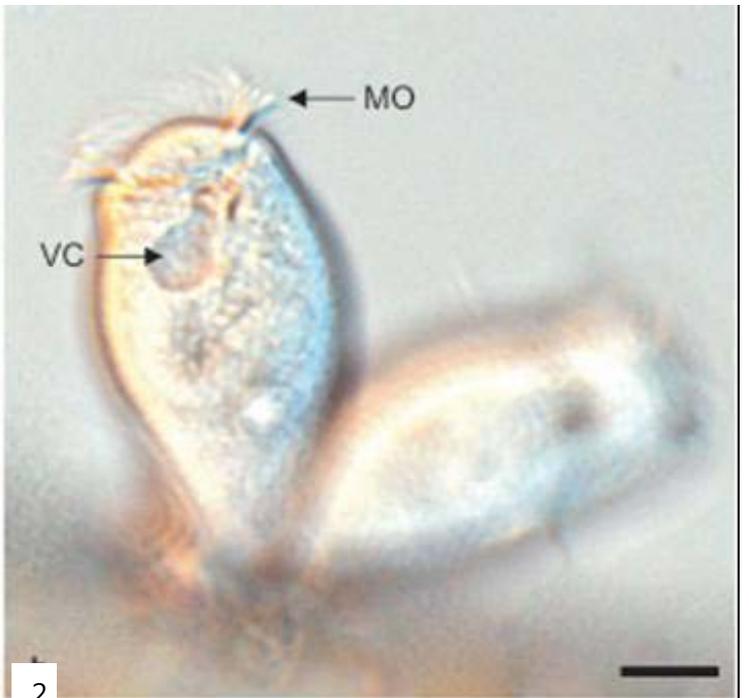
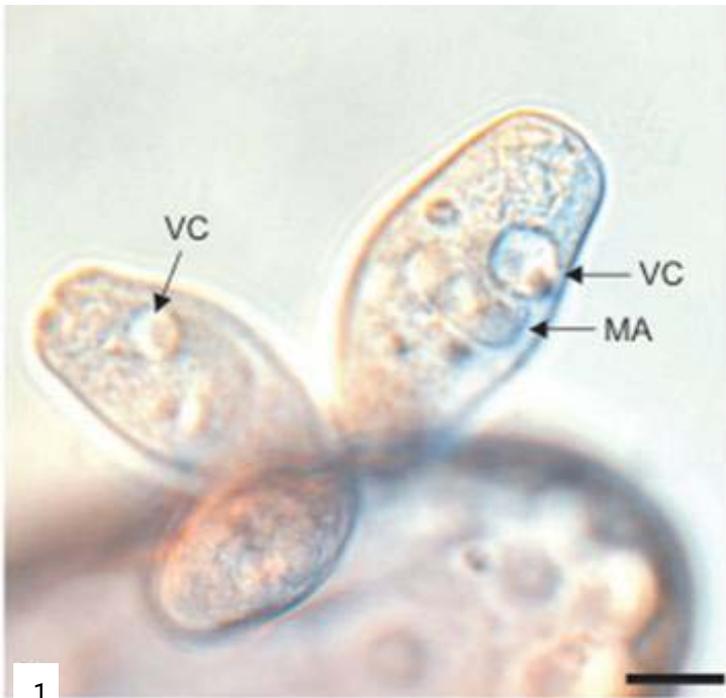
FOTOGRAFIA 2

Foto 2 (1-6). Fotomicrografias *in vivo* do ciliado epibionte *Rhabdostyla chironomi* sobre larvas de Chironomidae observados sob microscópio interferencial diferencial, DIC. 1. Detalhe de um dos túbulos abdominais colonizados pelos ciliados com indivíduos aderidos, evidenciando o macronúcleo (MA) e vacúolo contrátil (VC); **2.** Detalhe de três indivíduos *R. chironomi*, evidenciando a formação do estágio livre-natante, o telotróquio (Te); **3.** Detalhe da espiral adoral de *R. chironomi*. **4-6.** Detalhe de *R. chironomi*, mostrando o infundíbulo (I), membrana ondulante (MO), macronúcleo (MA), vacúolos alimentares (pontas de seta), e vacúolo contrátil (VC). Barras: 1=50 μ m; 2=20 μ m; 3-6= 10 μ m;



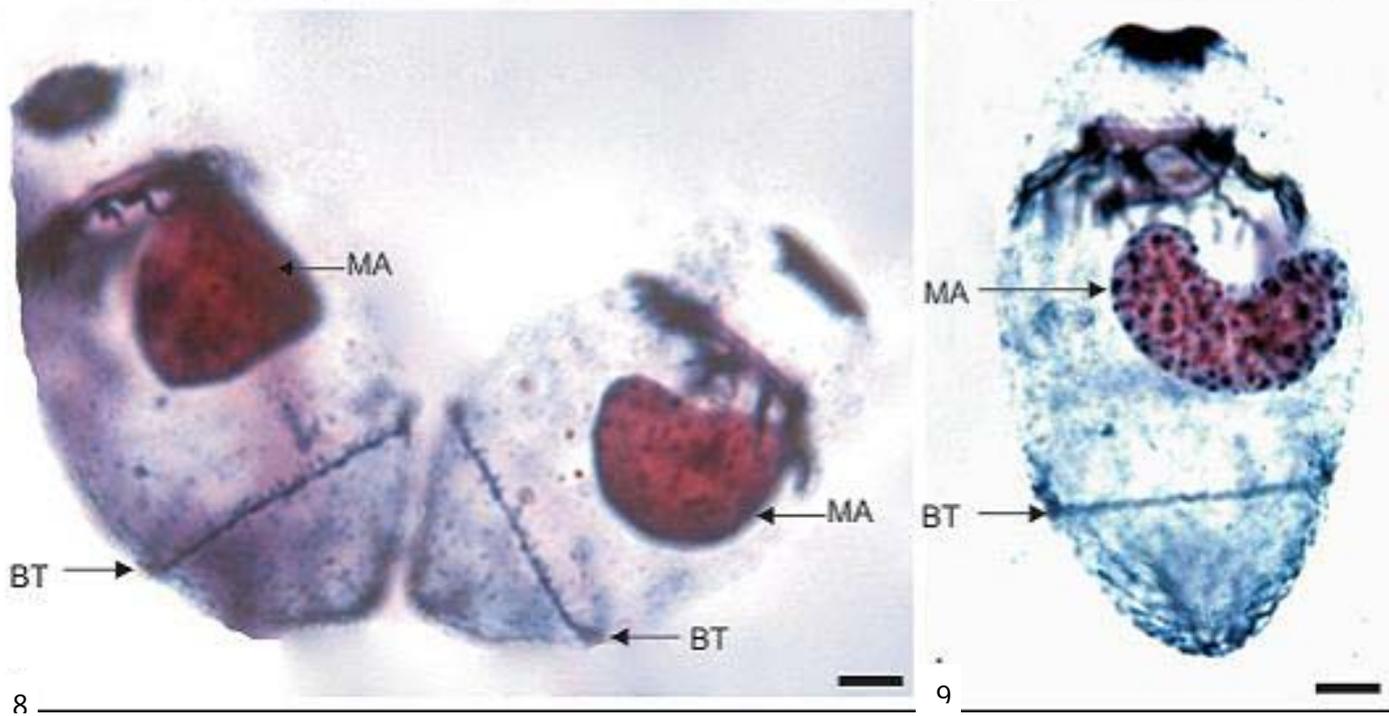
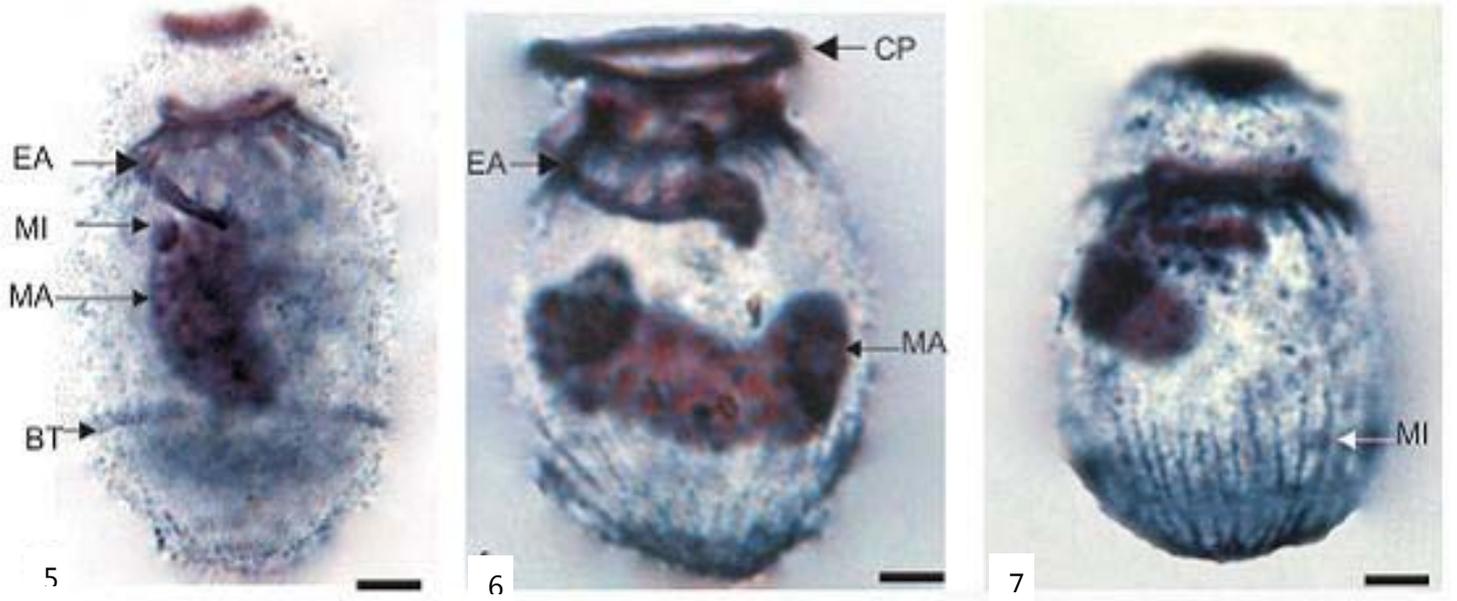
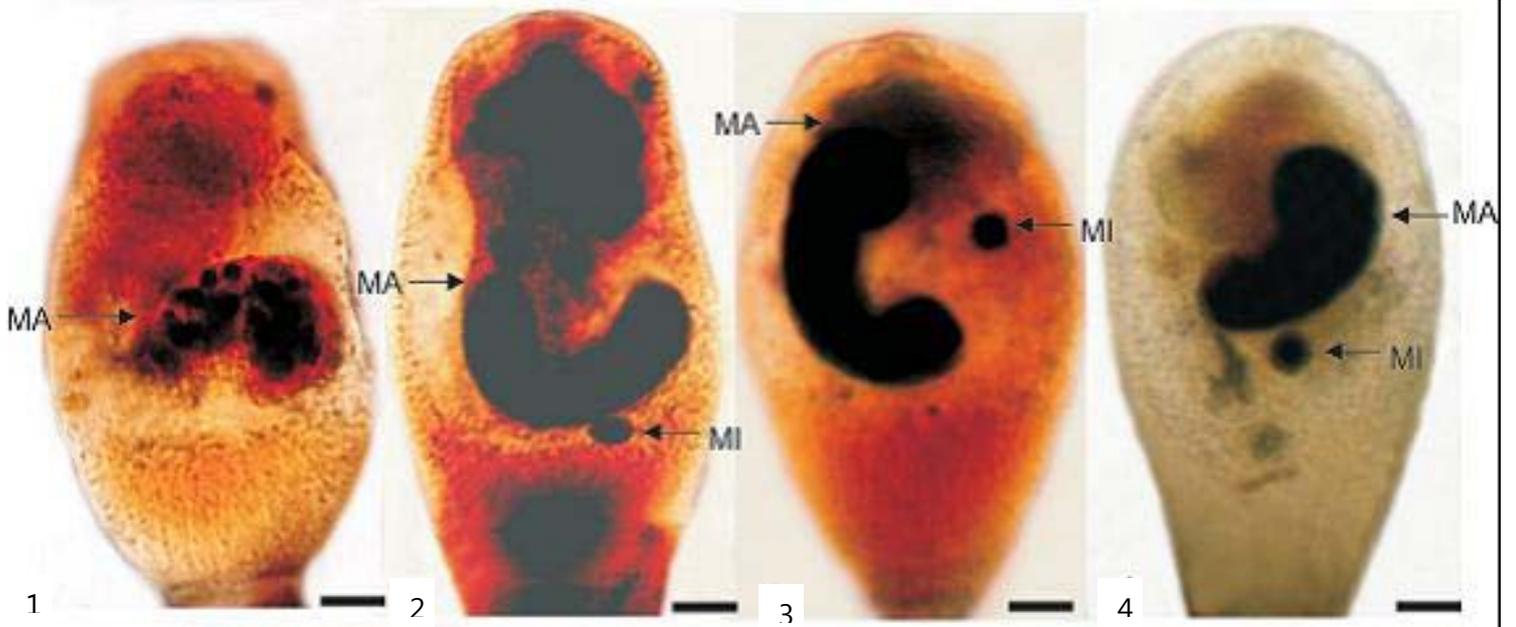
FOTOGRAFIA 3

Foto 3 (1-8). Vista frontal de *Rhabdostyla chironomi* sobre larvas de Chironomidae observados sob microscópio interferencial diferencial, DIC, mostrando: 1. O formato e posição do macronúcleo (MA) e vacúolo contrátil (VC); 2. Membrana ondulante (MO); 3. Colar peristomial (CP) e banda telotrocal (BT); 4. vacúolo contrátil (VC) 5. Região oral contraída (pontas de seta); 6. Membrana ondulante (MO); 7. Vacúolos alimentares (pontas de seta), pedúnculo (P); 8. posição do vacúolo contrátil (VC) em relação ao macronúcleo (MA). Barras: 1-8= 10µm.



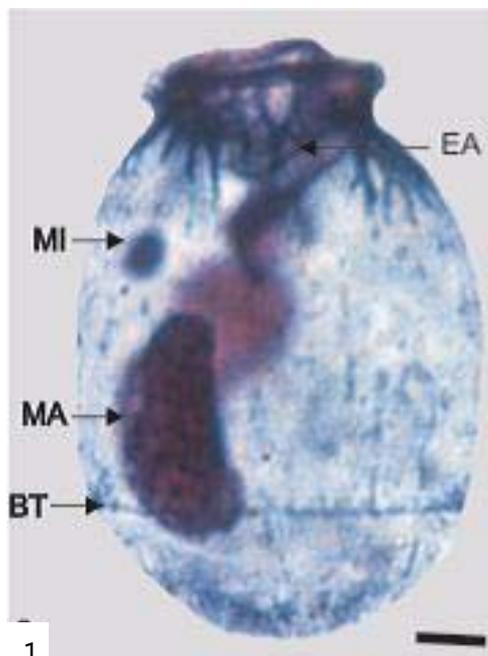
FOTOGRAFIA 4

Foto 4 (1-9). Fotomicrografias de *Rhabdostyla chironomi* obtidas após a realização da técnica de impregnação pelo carbonato de prata amoniacal (Fernandez-Galiano) (1-4) e ao protargol (5-9). 1-4. Detalhe de *R. chironomi*, evidenciando macronúcleo (MA) e micronúcleo (MI). 5. Detalhe de *R. chironomi*, mostrando macronúcleo (MA), micronúcleo (MI), banda telotrocal (BT) e espiral adoral (EA); 6. Vista lateral de *R. chironomi*, mostrando colar peristomial (CP), macronúcleo (MA) e espiral adoral (EA); 7. Vista lateral, evidenciando os mionemas (MI); 8. Dois indivíduos, onde se destaca a banda telotrocal e o macronúcleo. 9. Vista lateral, mostrando o macronúcleo (MA), com as condensações de pigmento e a banda telotrocal (BT). Barras: 1-9=10µm.

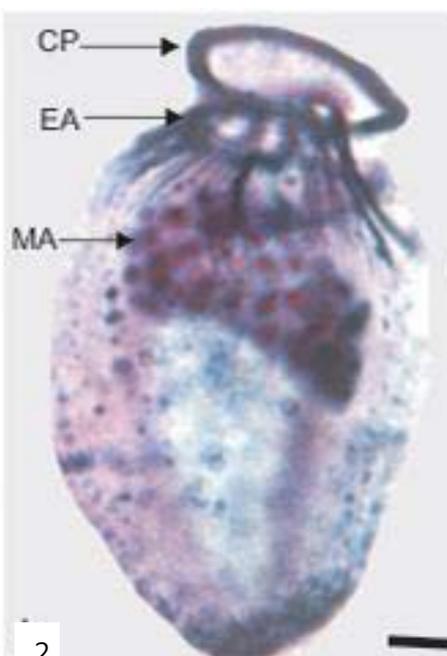


FOTOGRAFIA 5

Foto 5 (1-6). Fotomicrografias de *Rhabdostyla chironomi* ao protargol. 1-3. Detalhe de *R. chironomi*, evidenciando macro (MA) e micronúcleos (MI), espiral adoral (EA) e banda telotrocal (BT); **4.** Vista lateral, mostrando o macronúcleo (MA), com evidentes concentrações de pigmento; **5.** Vista lateral, mostrando o macronúcleo (MA) e vacúolos alimentares (pontas de seta); **6.** Vista lateral de três espécimes, mostrando, evidenciando macro (MA) e micronúcleos (MI), espiral adoral (EA) e banda telotrocal (BT). Barras: 1-6= 10µm.



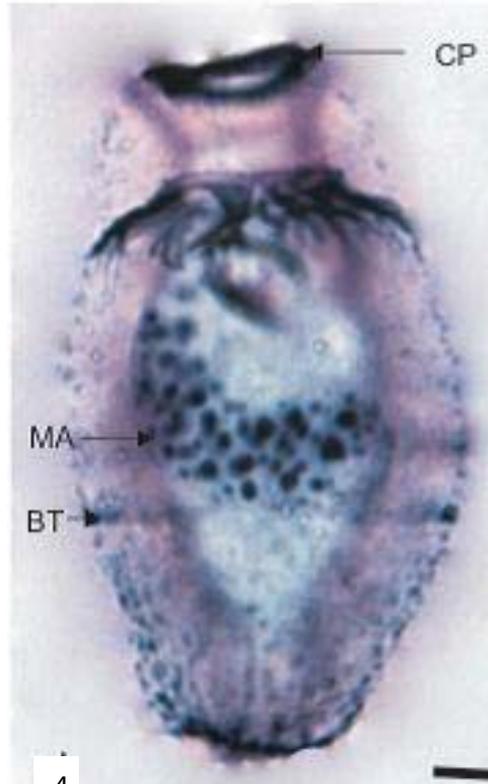
1



2



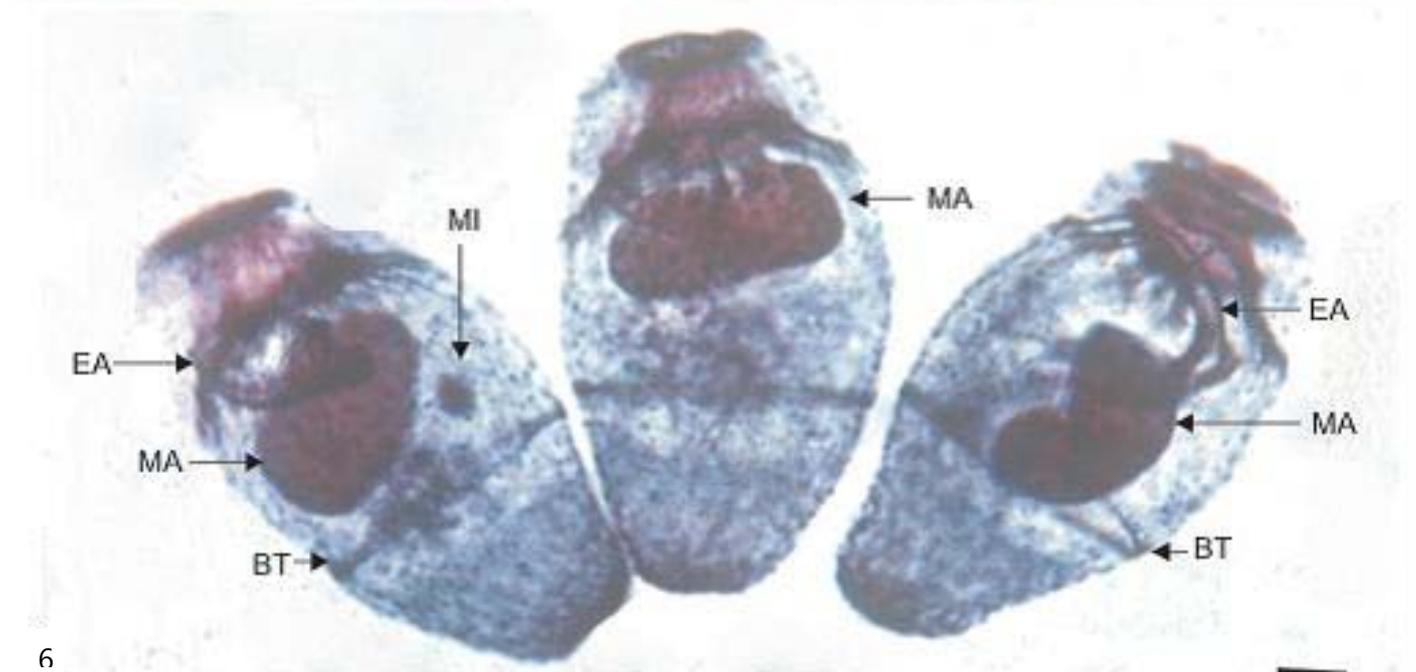
3



4



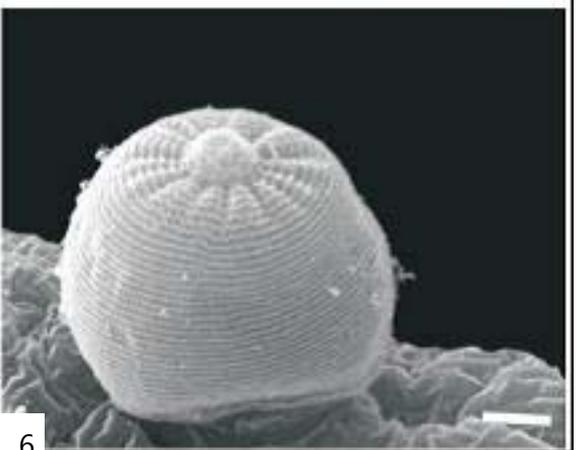
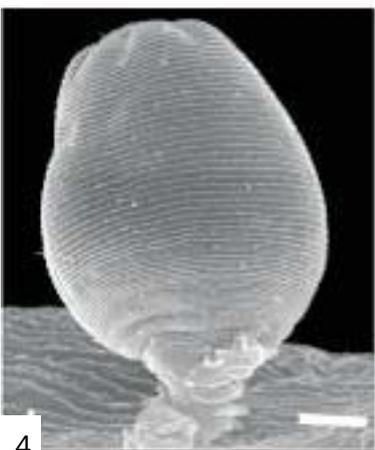
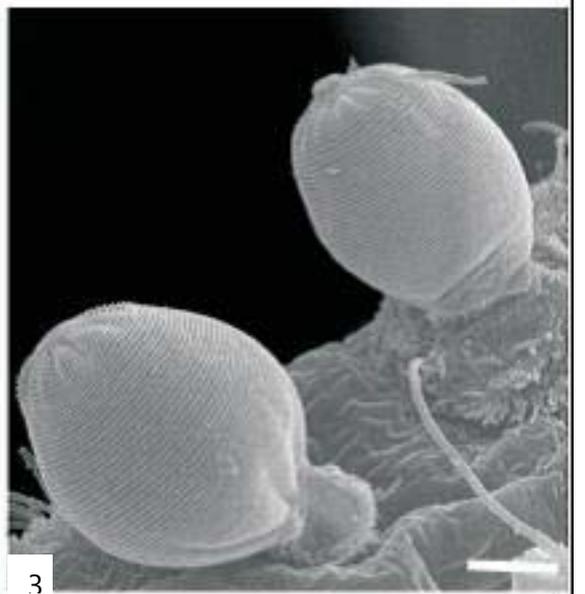
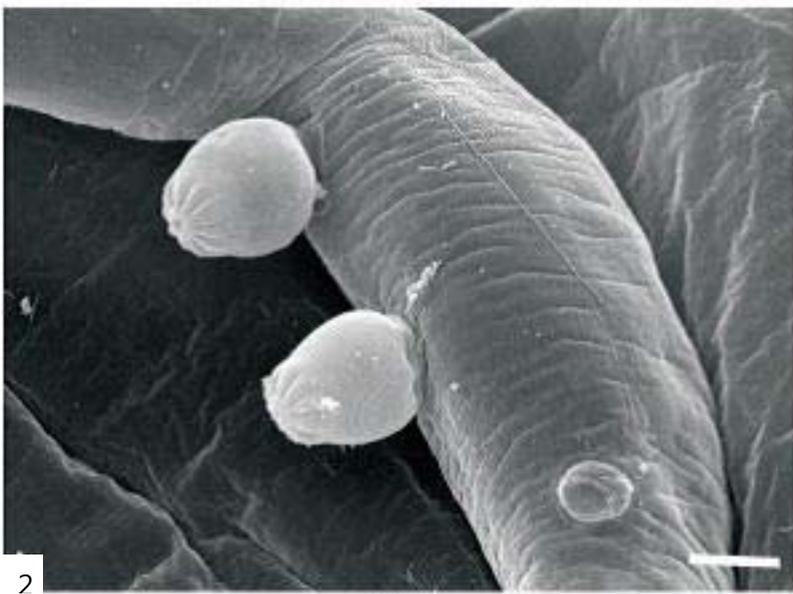
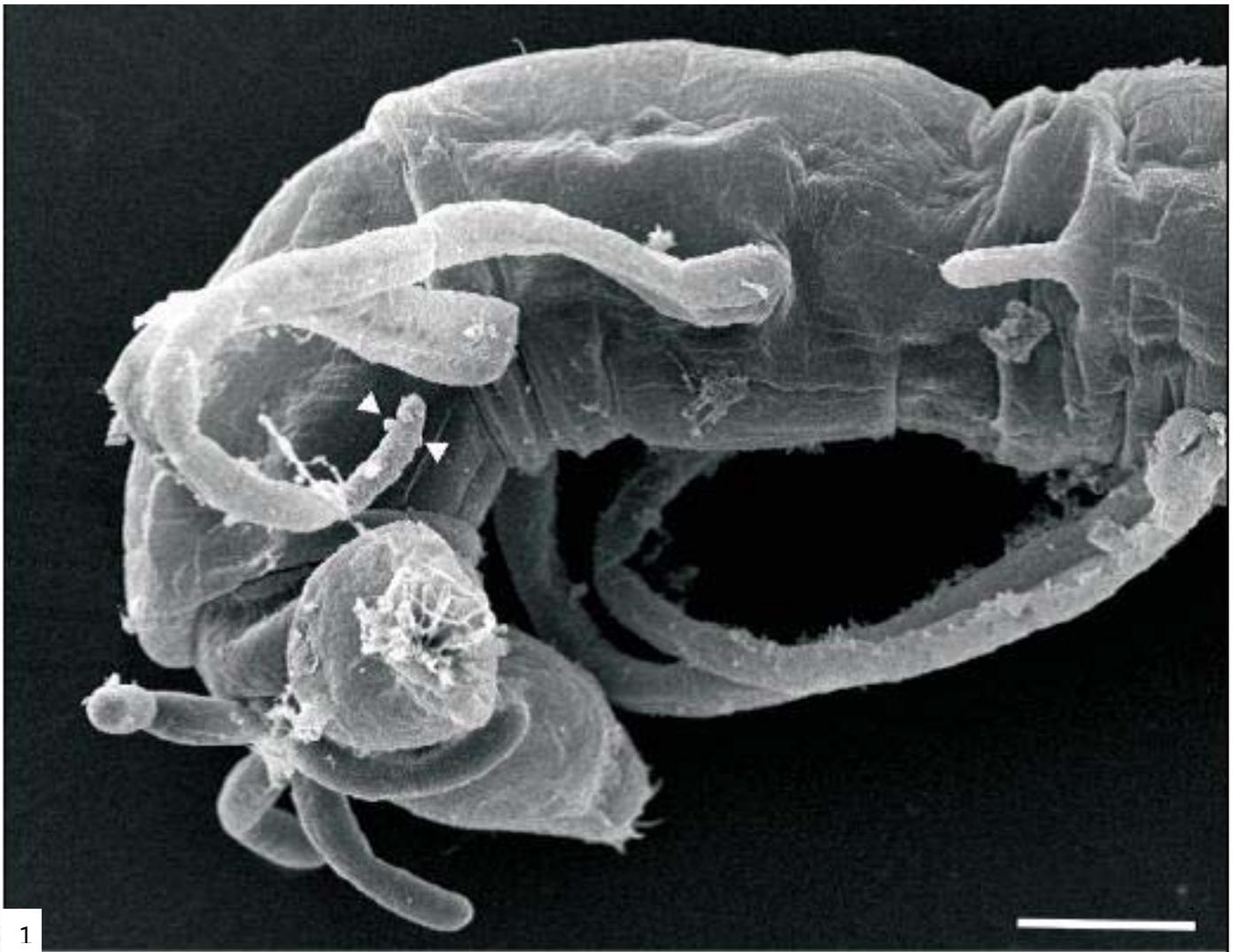
5



6

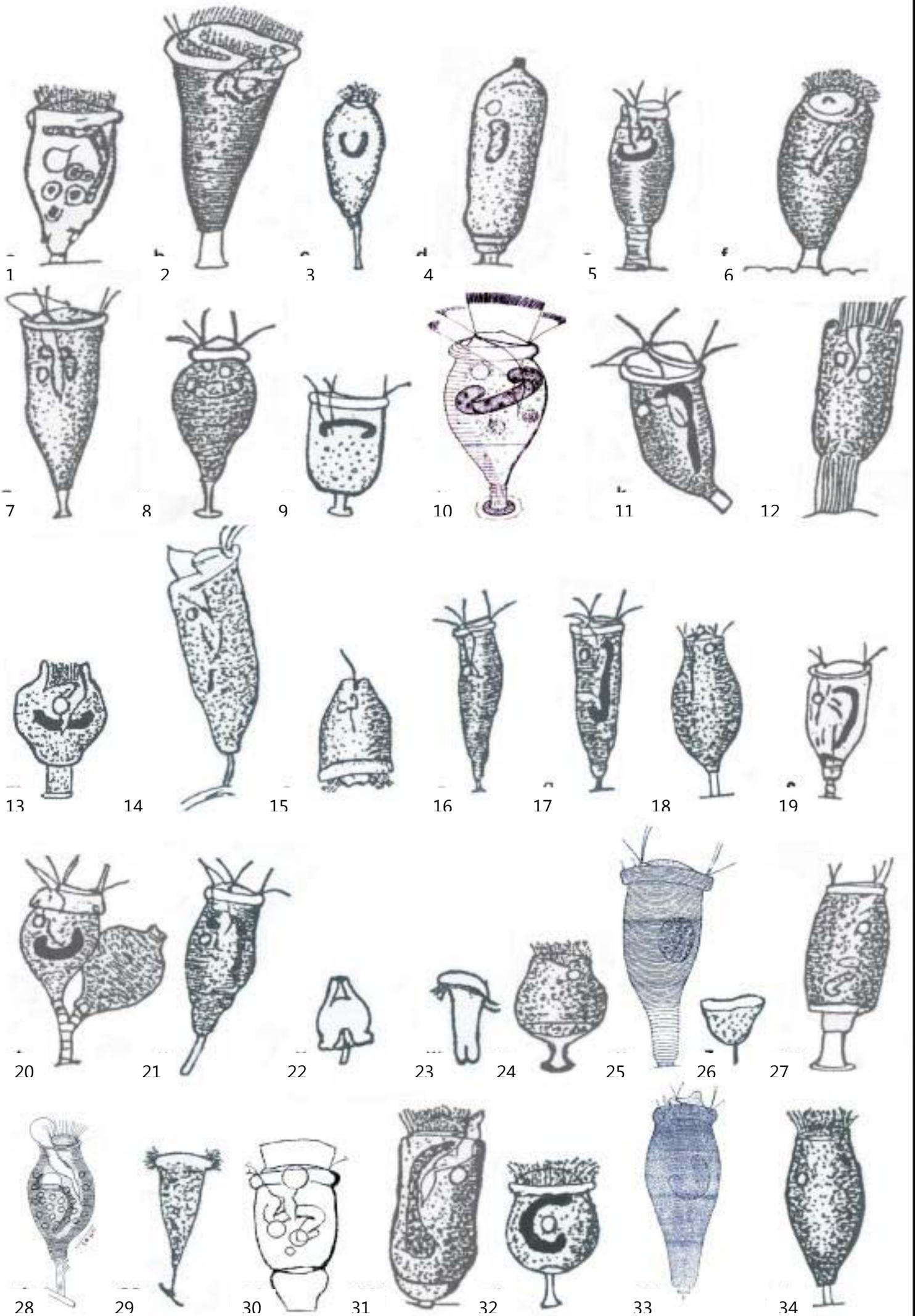
FOTOGRAFIA 6

Foto 6 (1-6). Eletromicrografias de *Rhabdostyla chironomi*. **1.** Detalhe da região posterior da larva, mostrando os epibiontes aderidos (pontas de seta) á superfície externa dos túbulos ventrais; **2-3.** Detalhe de um dos túbulos ventrais da larva colonizado por *R. chironomi*. **4-6.** Detalhe de *R. chironomi*, mostrando o sistema de estriações “Silverlines”. Barras: 1= 500µm; 2-6= 10µm.



DESENHO 1

Desenho 1 (1-34). Desenhos esquemáticos das espécies do gênero *Rhabdostyla*, segundo Kahl (1935), Precht (1935), Foissner (1979) e Song (1986). 1.1. *R. arenaria*. 1.2. *R. arenicolae*; 1.3. *R. bosminae*; 1.4. *R. brevipes*; 1.5. *R. chironomi*; 1.6. *R. comensalis*; 1.1. *R. conipes*; 1.8. *R. cyclopis*; 1.9. *R. cylindrica*; 1.10. *R. dúbia*; 1.11. *R. ephemerae*; 1.12. *R. fromnteli*; 1.13. *R. hungarica*; 1.14-17. *R. inclinans*; 1.18. *R. invaginata*; 1.19. *R. libera*; 1.20. *R. limnophili*; 1.21-23. *R. muscorum*; 1.24. *R. nebulifera*; 1.25. *R. nereicola*; 1. 26. *R. patula*; 1. 27. *R. porculus*, 1.28. *R. pristinis*; 1. 29. *R. rigens*; 1.30. *R. scyphoides*; 1.31. *R. sessilis*; 1.32. *R. sphaeroides*; 1.33. *R. variabilis*; 1.34. *R. vernalis*.



4 OCORRÊNCIA ESPACIAL E TEMPORAL DE *Rhabdostyla chironomi* KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) COMO EPIBIONTE DE LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS EM UM CÓRREGO URBANO NA REGIÃO NEOTROPICAL

A epibiose é a relação facultativa entre o epibionte e o basibionte (WAHL, 1989), sendo o termo epibionte utilizado para designar indivíduos que colonizam um substrato vivo e basibionte para descrever indivíduos que hospedam epibiontes (TAYLOR, 2002). Os protistas ciliados epibiontes podem viver sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos incluindo poríferos, cnidários ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos moluscos, peixes, girinos e cágados (KAHL, 1935; GOODRICH e JAHN, 1943; LAIRD, 1959; BALDOCK, 1986; SMITH, 1986; FOISSNER et al., 1992, 1999; MOSS et al., 2001; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004). Entretanto, existe escassez de trabalhos que relatem o padrão de ocorrência espacial e temporal de ciliados epibiontes, sendo a maioria dos estudos de cunho morfológico e taxonômico, e poucos estudos relatam outros aspectos consideráveis (BALDOCK, 1986; XU, 1992; FERNANDEZ-LEBORANS et al., 1997; HANAMURA, 2000; UTZ e COATS, 2005; DIAS et al., 2008; DIAS et al., 2009).

A família Chironomidae constitui um grupo de insetos dípteros cujos representantes participam significativamente da composição faunística nos mais variados biótopos lacustres e fluviais onde, geralmente, ocorrem em elevadas densidades numéricas na condição de larva (TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO, 1995; LENCIONI e ROSSARO, 2005). O gênero *Chironomus* Meigen, 1803 apresenta ampla distribuição geográfica e tem sido utilizado como indicador eficiente de corpos d'água enriquecidos por matéria orgânica (ROQUE, 2004).

Os ciliados peritríqueos do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 foram relatados associados a invertebrados aquáticos, tais como crustáceos (cladóceros, copépodos e ostrácodos), insetos (Trichoptera e Diptera) e anelídeos (Oligochaeta e Polichaeta) (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; DIAS et al., 2009). A espécie *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933, como epibiontes de larvas de dípteros em águas salobras na Alemanha, foi recentemente registrada sobre larvas de quironomídeos no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Brasil (DIAS et al., 2007), onde se realizou o presente estudo.

O objetivo deste estudo foi investigar o padrão de ocorrência espacial e temporal do ciliado epibionte *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus* em um córrego urbano

no sudeste brasileiro.

4.1 Material e Métodos

- **Área de estudo**

A sub-bacia do córrego São Pedro, localizada na região sudoeste da área urbana do município de Juiz de Fora 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 13.250m (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).

- **Obtenção das amostras**

Foram realizadas coletas mensais, entre maio de 2005 e abril de 2006, em cinco estações amostrais ao longo do córrego São Pedro, localizado na região sudoeste do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As estações amostrais E1 (S 21° 46' 51.9", W 43° 26' 29.6") e E2 (S 21° 46' 40.9", W 43° 26' 18.7") localizam-se em zona rural, próximos às nascentes. As estações E3 (S 21° 46' 38.1", W 43° 24' 0.4"), E4 (S 21° 45' 47.2", W 43° 22' 0.6") e E5 (S 21° 45' 17" , W 43° 27' 0.1") localizam-se em uma região com ampla ocupação humana, onde foi observado lançamento direto de esgoto doméstico.

Os sistemas lóticos tropicais são caracterizados por apresentarem duas estações climáticas bem definidas, as estações seca e chuvosa. No presente estudo os períodos seco (coletas 1-6, 11-12) e chuvoso (coletas 7-10) foram estabelecidos conforme NIMER (1979).

Amostras do sedimento foram coletadas em tréplicas, em cada estação amostral, utilizando-se draga de Petersen (189 cm²), totalizando 180 amostras, fixadas em formaldeído a 7% no local da coleta, armazenadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório. A fixação das amostras no local da coleta evita que os protistas ciliados epibiontes se desprendam dos hospedeiros (FERNANDEZ-LEBORANS, 2004). Foram coletadas ainda, em cada estação, amostras frescas para posterior observação *in vivo* dos ciliados, essencial para a identificação destes protistas (FOISSNER e BERGER, 1996).

Em cada estação amostral foi coletada uma alíquota de 5mL de água, imediatamente fixada em formol a 10% para a quantificação da densidade bacteriana (HOBBIE et al., 1977). 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.

- **Processamento e identificação**

As amostras do sedimento foram lavadas em peneiras com 210 μm de abertura de malha e os quironomídeos foram triados e transferidos para recipientes contendo álcool 70%.

As larvas de quironomídeos foram identificadas segundo EPLER (1992) e TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO (1995). As larvas infestadas, provenientes das amostras frescas, foram triadas no dia da coleta, observadas *in vivo*, sob microscópio de campo claro e com contraste interferencial diferencial (DIC) e processadas segundo técnicas ciliatólogicas (FERNANDEZ-GALIANO, 1978) para identificação dos ciliados epibiontes (KAHL, 1935).

- **Análise estatística**

Para realização da análise estatística foram utilizados os softwares Biostat versão 5.0 e Past versão 1.49. Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$.

Ocorrência espacial

Para se investigar possíveis diferenças na prevalência de infestação, abundância de hospedeiros e densidade bacteriana entre as estações amostrais foi utilizado o teste de comparação de proporções de Tukey ($p < 0,01$). Os valores de prevalência de infestação foram correlacionados com abundância de hospedeiros e densidade bacteriana, em cada estação amostral, por meio do teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$).

O grau de similaridade entre as estações amostrais foi determinado pela análise de agrupamento, usando-se o método de ligação simples com distância Euclidiana, com base na abundância de hospedeiros e na prevalência de infestação.

Ocorrência temporal

Para investigar possíveis diferenças na prevalência de infestação entre as coletas realizadas nos períodos seco e chuvoso foi utilizado o teste de comparação de proporções de Tukey ($p < 0,01$).

Os parâmetros abundância de hospedeiros, densidade bacteriana e pluviosidade foram correlacionados entre si e com a prevalência de infestação, ao longo das 12 coletas, por meio do teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$).

O grau de similaridade entre as coletas do período seco e chuvoso foi determinado com base na prevalência de infestação em cada coleta pela da análise de agrupamento, usando-se o método de ligação simples com distância Euclidiana.

4.2 Resultados

Apenas as larvas de *Chironomus* gr. *decorus* foram colonizadas por ciliados e, portanto, todo o estudo temporal e espacial da relação epibiótica refere-se a este gênero.

A relação epibiótica entre *R. chironomi* (Foto 7) e larvas de *Chironomus* gr. *decorus* foi registrada somente nas estações amostrais inseridas na área urbana (E3, E4 e E5) da sub-bacia do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais. Foram coletadas 23542 larvas, das quais 3964 (16,84%) estavam colonizadas pelo ciliado epibionte.

Ocorrência espacial

A abundância média de *Chironomus* gr. *decorus* variou entre as estações amostrais, sendo maior na estação E5 (970,33 ±112,9), seguido pelos valores das estações E4 (892,91 ±182,69), E3 (96,08 ±69,57), E2 (3,75 ±10,71) e E1 (2,91 ±5,37) (Gráfico 1). Os valores de prevalência de infestação também variaram, em média, entre as estações amostrais, porém, a maior prevalência média foi observada na estação E4 (19,64% ±1,2%) quando comparados aos valores obtidos para as estações E5 (18,03% ±1,97%) e E3 (4,78% ± 2,72%) (Gráfico 1).

Houve diferença significativa (Teste de Tukey ($p < 0,01$)) entre os valores de prevalência de infestação obtidos para estações E3 e E4 ($p = 0,002$) e para as estações E3 e E5 ($p = 0,003$). Não houve diferença significativa entre os valores de prevalência de infestação obtidos para as estações E4 e E5 ($p = 0,0515$). Houve diferença significativa (Teste de Tukey ($p < 0,01$)) entre os valores de abundância de hospedeiros obtidos para as estações E3 e E4 ($p = 0,007$) e para as estações E3 e E5 ($p = 0,008$). Não houve diferença significativa entre os valores de densidade bacteriana obtidos para as estações E4 e E5 ($p = 0,0715$). Houve diferença significativa (Teste de Tukey ($p < 0,01$)) entre os valores de abundância de hospedeiros obtidos para as estações E3 e E4 ($p = 0,009$) e para as estações E3 e E5 ($p = 0,002$). Não houve diferença significativa entre os valores de prevalência de infestação obtidos para as estações E4 e E5 ($p = 0,139$).

Houve correlação positiva entre prevalência de infestação e disponibilidade de hospedeiros nas estações E3 ($p = 0,002$; $r_s = 0,519$), E4 ($p = 0,0384$; $r_s = 0,234$) e E5 ($p = 0,007$; $r_s = 0,334$) (Gráfico 1). Houve correlação positiva entre prevalência de infestação e densidade bacteriana nas estações E3 ($p = 0,0322$; $r_s = 0,353$), E4 ($p = 0,002$; $r_s = 0,121$) e E5 ($p = 0,0295$; $r_s = 0,233$) (Gráfico 2).

A análise de agrupamento ordenada com base na abundância de hospedeiros, nas cinco estações amostrais, demonstra elevada similaridade entre as estações E4 e E5 e entre as

estações E1 e E2, com a estação E3 permanecendo em posição intermediária (Gráfico 3). A análise de agrupamento ordenada com base na prevalência de infestação confirmou a elevada similaridade entre as estações E4 e E5, tal como evidenciado para os valores de abundância de hospedeiros (Gráfico 4).

Ocorrência temporal

Os valores de prevalência de infestação, obtidos no estudo ao longo de um ano, apresentaram heterogeneidade. Os valores médios de prevalência de infestação no período seco foi 17,9% ($\pm 4,55\%$) e no período chuvoso de 7,45% ($\pm 3,42\%$), sendo a maior prevalência relatada na quinta coleta (35,22%) e a menor na oitava coleta (4,59).

Houve diferença significativa (Teste de Tukey ($p < 0,01$)) entre as coletas realizadas no período seco e no período chuvoso ($p = 0,008$), o que foi corroborado pela análise de agrupamento, que ressaltou maior similaridade entre as coletas realizadas no período seco e entre aquelas realizadas no período chuvoso, o que pode indicar o efeito perturbador da pluviosidade sobre a dinâmica das populações de ciliados bentônicos viventes em águas correntes superficiais (Gráfico 5).

Houve correlação negativa entre pluviosidade e abundância de larvas ($p = 0,004$; $r_s = -0,217$), entre pluviosidade e densidade bacteriana ($p = 0,0304$; $r_s = -0,252$) e correlação positiva entre abundância de larvas e densidade bacteriana ($p = 0,0160$; $r_s = 0,151$) (Gráfico 6). Houve correlação negativa (correlação de Spearman) entre pluviosidade e prevalência de infestação ($p = 0,0235$; $r_s = -0,212$) de ciliados epibiontes ao longo das 12 coletas (Gráfico 7). Houve correlação positiva entre prevalência de infestação e abundância de larvas ($p = 0,002$; $r_s = 0,1069$) (Gráfico 8) e entre prevalência de infestação e densidade bacteriana ($p = 0,0184$; $r_s = 0,0258$) (Gráfico 9).

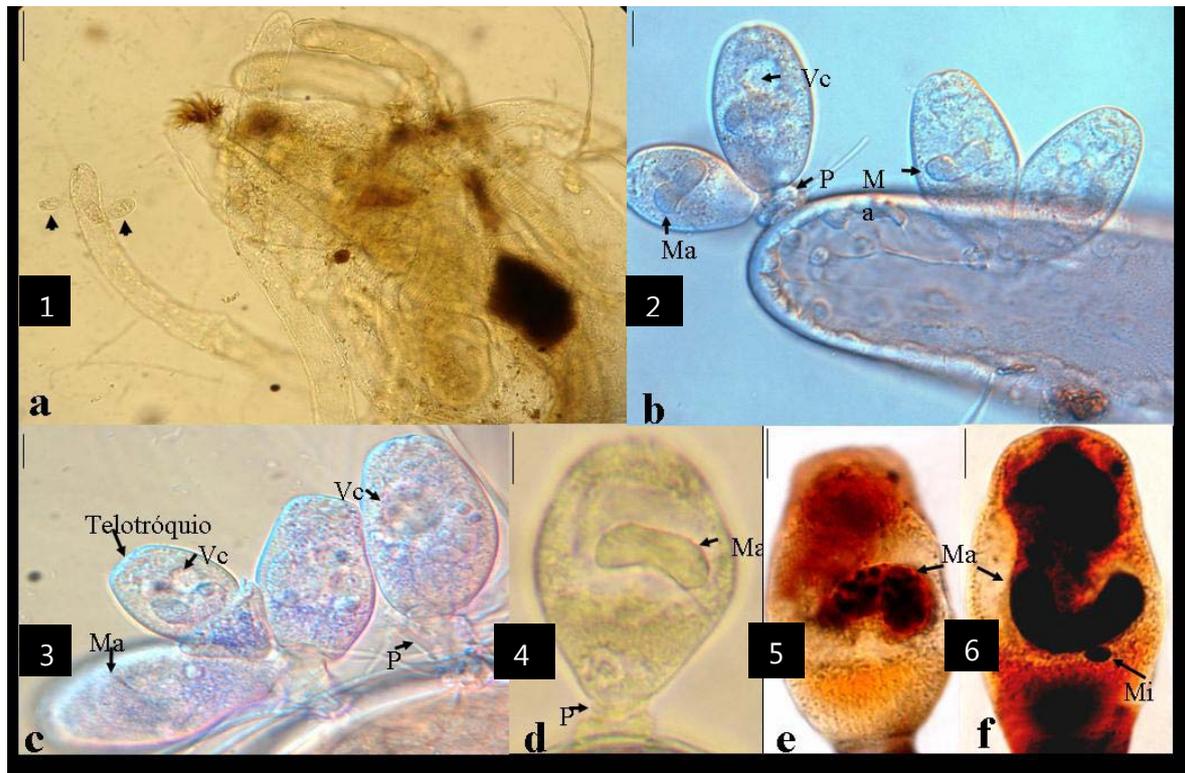


Foto 7. Ciliados peritríqueos epibiontes *R. chironomi* (pontas de seta) sobre larvas de quironomídeos do gênero *Chironomus* gr. *decorus*. **Foto 1.** Detalhe da região posterior da larva com ciliados aderidos aos túbulos ventrais da larva. **Fotos 2-3.** Túbulos ventrais de *Chironomus* gr. *decorus* infestados por *R. chironomi* observados sob contraste interferencial diferencial (DIC). **Foto 4.** Detalhe de *R. chironomi* observada sobre microscópio de campo claro. **Fotos 5-6.** Detalhe de *R. chironomi* após a técnica de impregnação por carbonato de prata amoniacal. Barras: 50 μ m (Fig. 1); 20 μ m (Fig. 2). 10 μ m (Figs. 3-6). **Ma-** Macronúcleo, **Vc-** vacúolo contrátil, **P-** pedúnculo, **Mi-** Micronúcleo.

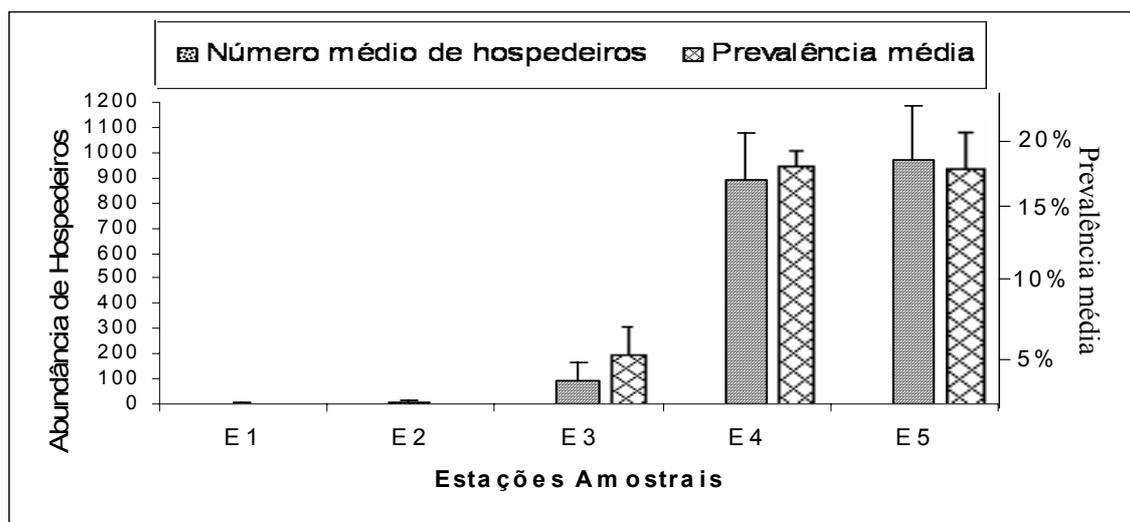


Gráfico 1. Valores médios de abundância de hospedeiros e prevalência de infestação dos ciliados epibiontes nas cinco estações amostrais do córrego São Pedro.

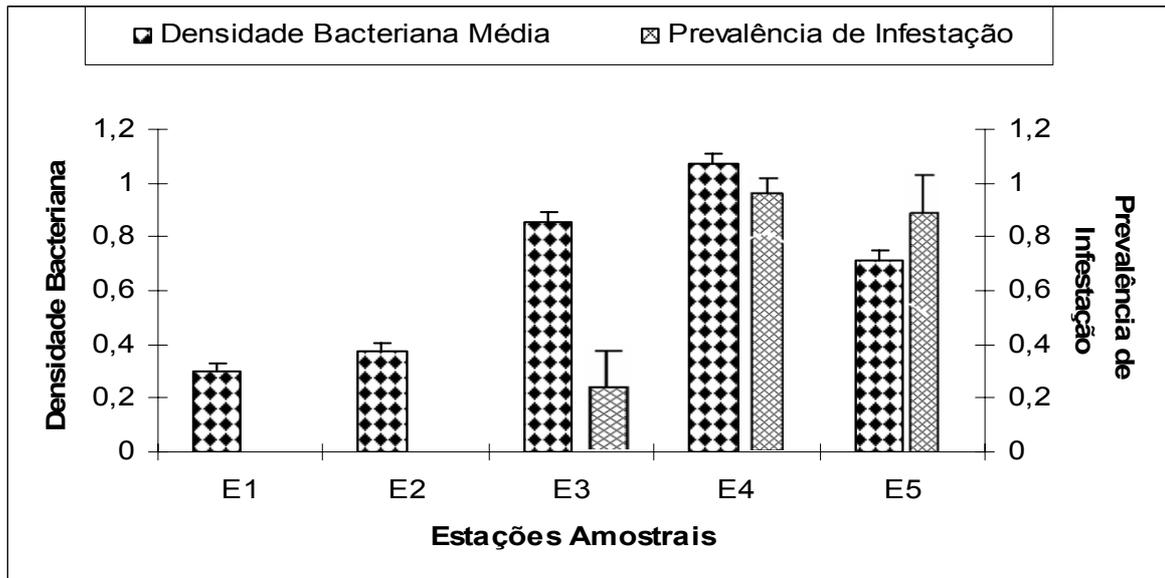


Gráfico 2. Valores médios de densidade bacteriana e prevalência de infestação nas cinco estações amostrais do córrego São Pedro.

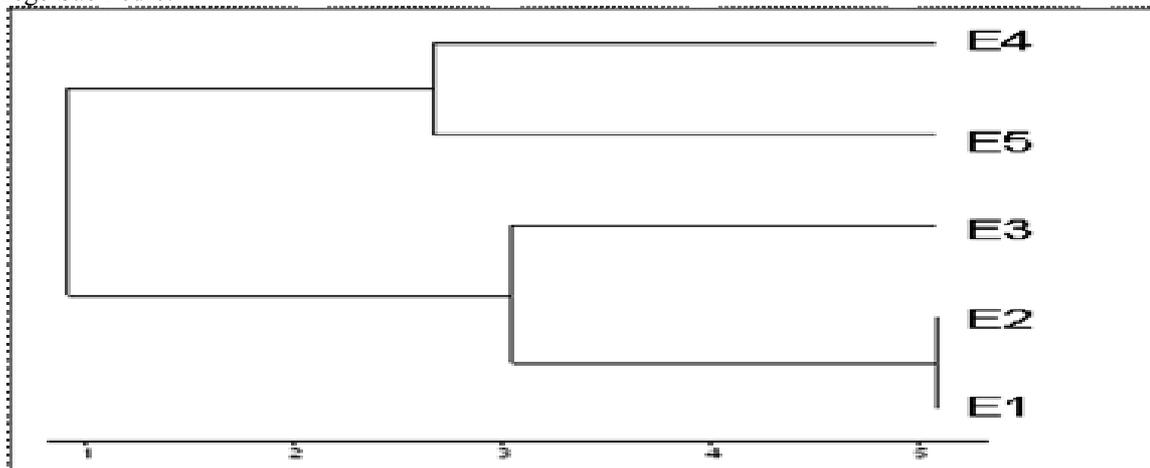


Gráfico 3. Dendograma resultante da análise de agrupamento entre as cinco estações amostrais do córrego São Pedro conforme a abundância de *Chironomus gr. decorus* (Coeficiente de correlação cofenético= 0,8725).

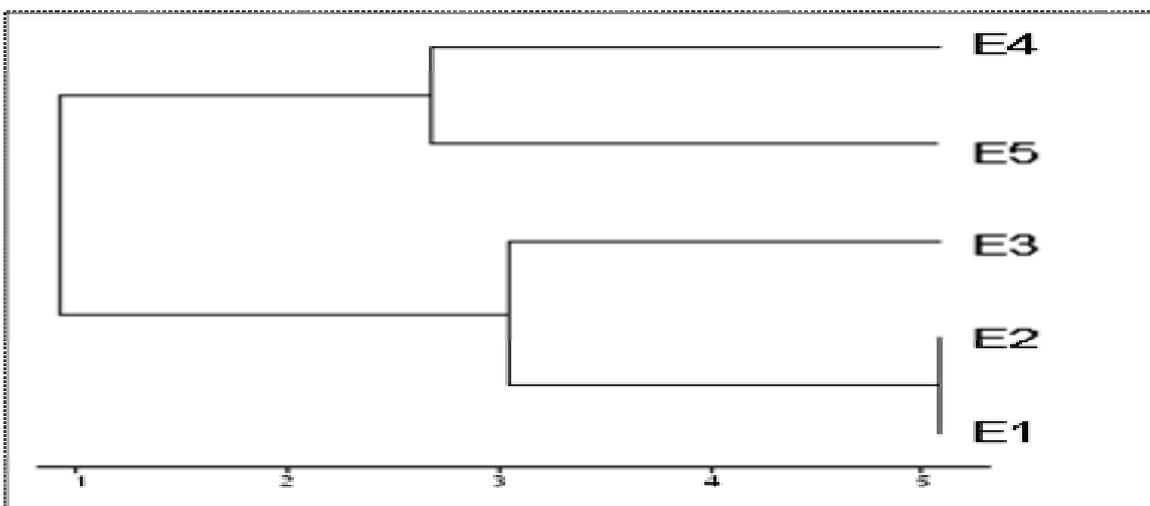


Gráfico 4. Dendograma resultante da análise de agrupamento entre as cinco estações amostrais do córrego São Pedro conforme a prevalência de infestação (Coeficiente de correlação cofenético= 0,8296).

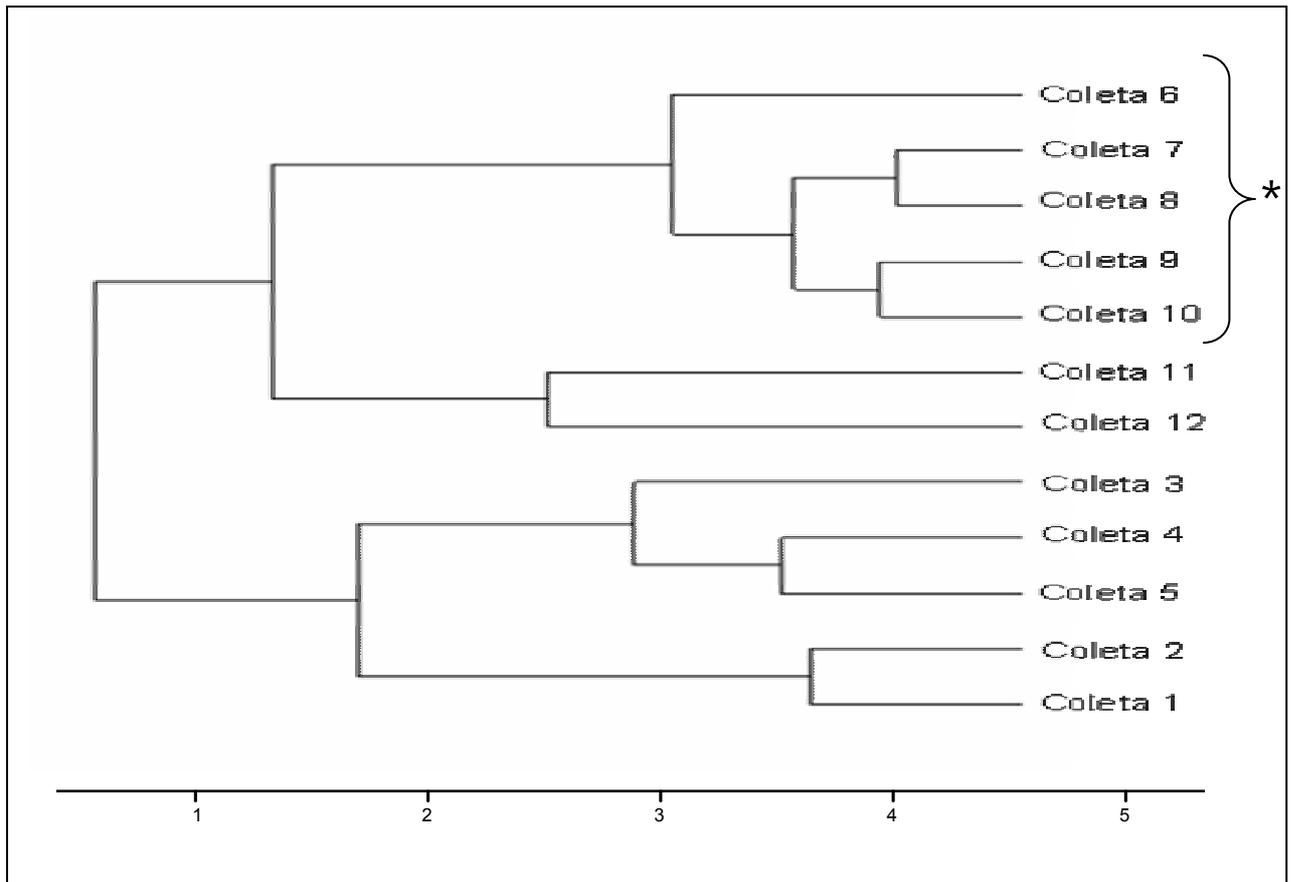


Gráfico 5. Dendrograma resultante da análise de agrupamento, que foi ordenada com base nos valores de prevalência de infestação em cada uma das 12 coletas (Coeficiente covenético 0.7232), demonstrando maior similaridade entre coletas realizadas no período chuvoso* (Coletas 7-10) e entre as coletas realizadas no período seco (Coletas 1-6, 11,12).

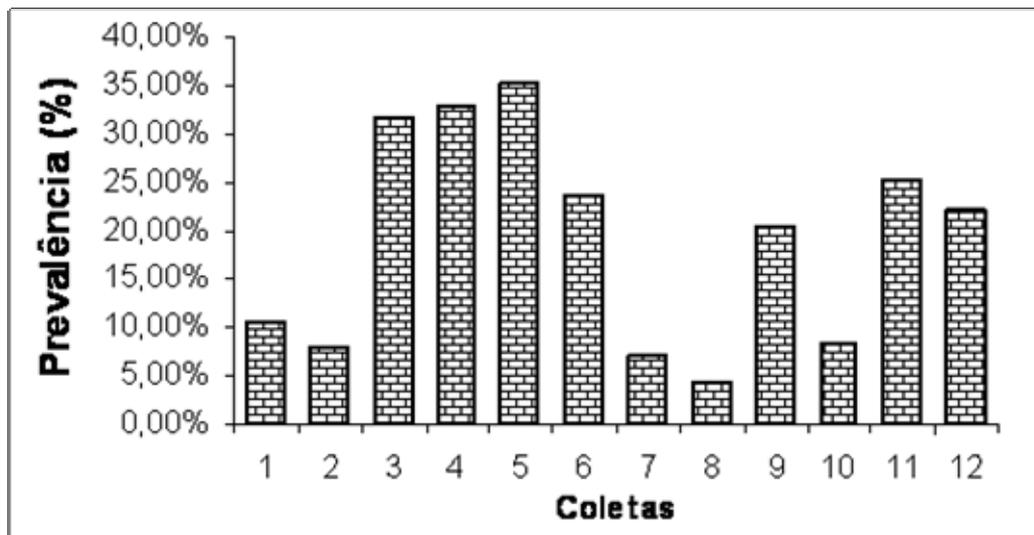


Gráfico 6. Valores de prevalência em cada uma das 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

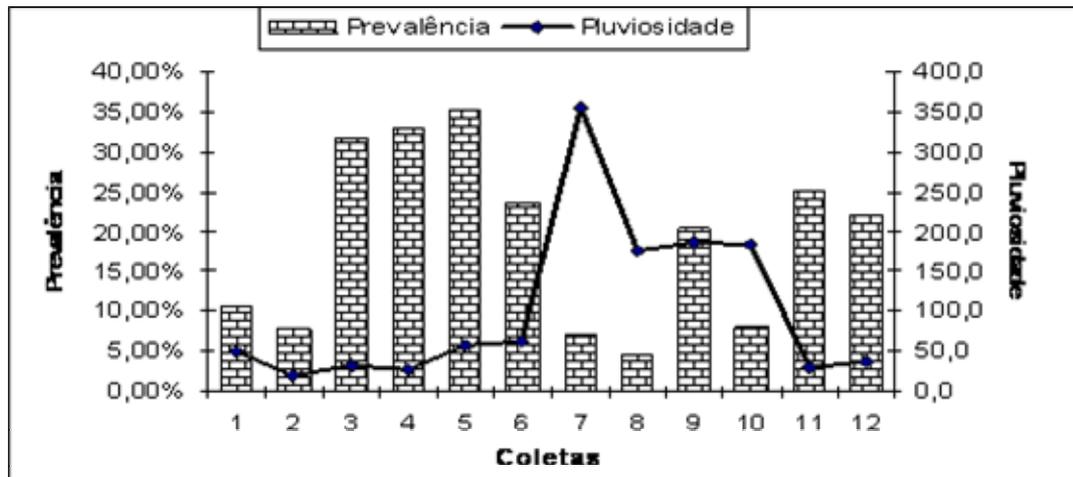


Gráfico 7. Relação entre pluviosidade e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

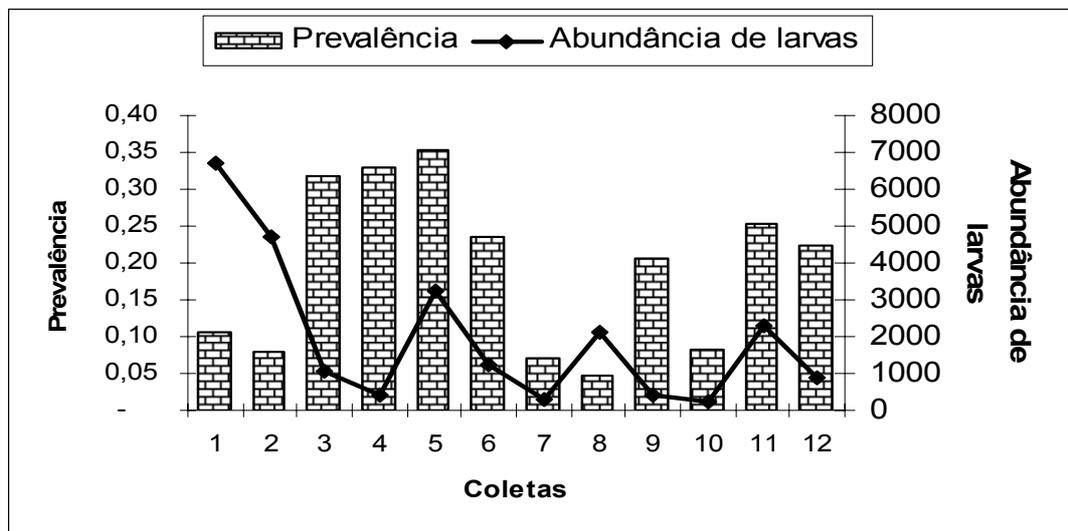


Gráfico 8. Relação entre abundância de larvas e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

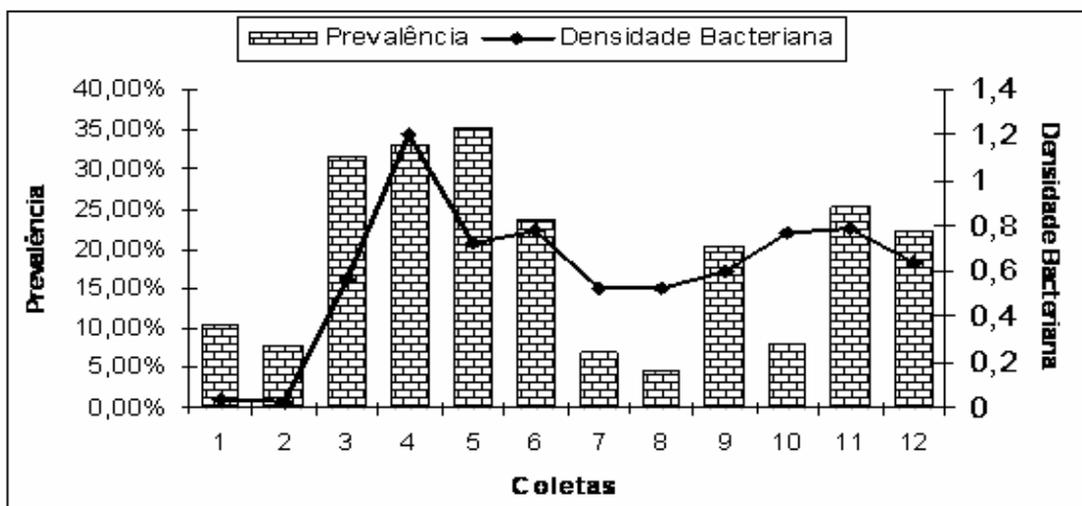


Gráfico 9. Relação entre densidade bacteriana e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes ao longo de 12 coletas realizadas no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

4.3 Discussão

Os ciliados epibiontes são um importante componente da biota bentônica em sistemas lóticos, desempenhando importante papel ecológico nestes ecossistemas, porém estudos que abordem os aspectos quantitativos da relação epibiótica entre ciliados e invertebrados são escassos na literatura (BALDOCK, 1986; XU, 1992; COOK et al., 1998; HANAMURA, 2000; UTZ e COATS, 2005, DIAS et al., 2009). Pouco se sabe sobre a relação ecológica entre protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* e seus hospedeiros, uma vez que quase a totalidade dos estudos trata de registros de ocorrência e descrições de espécies (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; FOISSNER et al., 1992). No Brasil, foram registradas as espécies *R. pristinis* Righi, 1973 sobre *Pristina minuta* (Stephenson, 1914) (Oligochaeta, Naididae) em amostras de solo da Serra do Cipó, Minas Gerais (RIGHI, 1973), *Rhabdostyla* sp. sobre organismos do metazooplâncton no reservatório Monjolinho, São Paulo (REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004), *R. chironomi* sobre larvas de quironomídeos e *Rhabdostyla* sp. sobre oligoquetas límnicos, ambos no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais (DIAS et al., 2007; 2009). O presente trabalho constitui o primeiro estudo quantitativo sobre a dinâmica espacial e temporal de uma espécie do gênero *Rhabdostyla*.

Existem diversos fatores que podem influenciar a dinâmica espacial e temporal de populações de ciliados epibiontes, tais como abundância de hospedeiros (EVANS, 1979, HENEERY e HIDGEWAY, 1979; THRELKELD et al., 1993; WILEY e THRELKELD, 1993; BAREA-ARCO, 2001; ÒLAFSDÓTTIR e SVARVARSSON 2002; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; UTZ e COATS, 2005), disponibilidade de alimento (THRELKELD et al., 1993; BALDOCK, 1996; ROBERTS e CHUBB, 1998; HANAMURA, 2000; BAREA-ARCO et al., 2001; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004; UTZ e COATS, 2005), grau de poluição orgânica (LAIRD, 1959; XU, 1992; UTZ e COATS, 2005), abundância dos predadores do hospedeiro (WILEY e THRELKELD, 1993) e parâmetros físico-químicos da água, tais como salinidade, temperatura, condutividade elétrica e potencial oxi-redutor (WILEY e THRELKELD, 1993; UTZ e COATS, 2005).

Na natureza, destacam-se dois tipos de reguladores populacionais: fatores extrínsecos tais como precipitação e parâmetros físico-químicos da água, e fatores intrínsecos tais como disponibilidade de alimento e patógenos (BEGON et al., 2007). No presente estudo, fatores extrínsecos como a pluviosidade e fatores intrínsecos como densidade bacteriana e abundância

de hospedeiros correlacionaram-se positivamente com a ocorrência espacial e temporal de *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus*.

O aumento do fluxo da água no período chuvoso em sistemas lóticos provoca relevantes perturbações na estrutura do sedimento e, conseqüentemente, na composição e estrutura da biota associada (PALMER e POFF, 1997). No presente estudo foi relatada correlação negativa entre pluviosidade e abundância de larvas de quironomídeos e de alimento. Os menores valores de prevalência de infestação nas coletas realizadas no período chuvoso podem estar relacionados ao menor número de hospedeiros disponíveis e à menor disponibilidade de alimento neste período. Segundo DINIZ-FILHO et al. (1998) os macroinvertebrados bentônicos apresentam maior densidade numérica nos períodos de estiagem, quando os organismos bentônicos encontram-se agregados devido à redução dos níveis de água e maior acúmulo de matéria orgânica no sistema. O presente estudo constitui a primeira investigação da influência direta de pluviosidade sobre a dinâmica de uma população de ciliados epibiontes, ressaltando a importância de se incluir esta variável em estudos acerca das relações epibióticas em ecossistemas tropicais. O regime pluvial é um importante fator que altera a distribuição das populações de protistas ciliados bentônicos em ecossistemas lóticos (TAYLOR, 1981; GRACIA et al., 1989; PRIMC-HABDIJA et al., 1996; SOLA et al., 1996). Segundo STÖSSEL (1987) a densidade de ciliados peritríqueos é afetada diretamente pelo aumento da precipitação em águas correntes, o que ressalta a importância da abundância do hospedeiro na dinâmica das populações de ciliados epibiontes peritríqueos, tal como evidenciado no presente trabalho.

A correlação positiva entre prevalência de infestação e abundância de hospedeiros corrobora alguns estudos que ressaltam relação direta entre prevalência de infestação e disponibilidade do substrato vivo (HENEERY e HIDGEWAY, 1979; SMITH, 1986; XU, 1992; CHIAVELLI et al., 1993; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004). A oscilação espacial e sazonal da prevalência de infestação de ciliados pode ser explicada pela alteração da abundância de hospedeiros, que pode estar relacionadas às condições físico-químicas do meio e com a sazonalidade de seus ciclos reprodutivos (CHIAVELLI et al., 1993). UTZ e COATS (2005) relataram correlação positiva entre prevalência de infestação de ciliados peritríqueos e abundância de copépodos calanóides, ressaltando que outros fatores tais como flutuações da densidade bacteriana e poluição orgânica, podem alterar o padrão de ocorrência espacial e temporal destes ciliados epibiontes. Segundo THRELKELD et al. (1993) a sincronia das

oscilações das abundâncias das populações de epibiontes e hospedeiros reflete a alta especificidade da relação epibiótica.

A disponibilidade de alimento é um importante fator biótico que controla a abundância das populações de ciliados nos variados ecossistemas (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). Segundo TAYLOR (1983), em estudo acerca da colonização de ciliados peritríqueos em substratos artificiais, a formação de um biofilme bacteriano no substrato é essencial para a colonização dos peritríqueos, evidenciando a importância da disponibilidade de alimento para estes protistas. Em sistemas lóticos enriquecidos organicamente o aumento das concentrações de fosfatos e outros nutrientes alteram a abundância das comunidades bacterianas e, conseqüentemente, a abundância das populações de ciliados peritríqueos, que dependem diretamente destas bactérias como alimento (PRIMC, 1988). A maior prevalência de infestação dos ciliados epibiontes nos meses com maior disponibilidade de alimento relatada no presente trabalho corrobora estudo realizado em um ecossistema tropical por REGALI-SELEGHIM e GODINHO (2004), que relataram maior prevalência de infestação de ciliados epibiontes peritríqueos sobre organismos do metazooplâncton que se alimentam de partículas em suspensão, e que favorecem a colonização de ciliados bacterívoros filtradores. Os ciliados do gênero *Rhabdostyla* são bacterívoros e, portanto, apresentam predileção por ecossistemas eutrofizados e conseqüentemente com maiores densidades bacterianas, tal como relatado no presente estudo.

No contexto dos dados apresentados foi observado um padrão na ocorrência espacial e temporal da prevalência de infestação de *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus* em um córrego urbano do sudeste brasileiro. Este padrão indica que a disponibilidade de recursos alimentares, a abundância de hospedeiros e a pluviosidade são fatores que contribuíram para oscilação na dinâmica desta população de ciliados. A ampliação do conhecimento acerca dos fatores ecológicos responsáveis pela oscilação da dinâmica da relação epibionte-hospedeiro é essencial para a proposição de futuros índices para a avaliação da qualidade da água em ecossistemas lóticos, visto que o desenvolvimento de tecnologias para o gerenciamento dos recursos hídricos são alguns dos grandes desafios que o desenvolvimento econômico enfrentará no próximo século.

5 INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ORGÂNICA NA DISTRIBUIÇÃO DE CILIADOS PERITRÍQUEOS EPIBIONTES AO LONGO DE UM SISTEMA LÓTICO NO SUDESTE BRASILEIRO

Os estudos referentes ao efeito da poluição sobre ambientes dulciaquícolas têm sido baseados, tradicionalmente, na observação das características físicas e químicas da água (NORRIS e 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 (MADONI e BASSANINI, 1999).

Dentro deste contexto, merecem destaque os protistas ciliados, pois os distúrbios causados pela poluição podem alterar profundamente a cadeia alimentar aquática e, conseqüentemente, a distribuição das populações daqueles protistas (CZAPIK, 1982; PRIMC, 1988; PRIMC-HABDIJA et al., 1998; MADONI e BASSANINI, 1999). O aumento da poluição orgânica em sistemas lóticos altera significativamente a densidade bacteriana, induzindo alterações qualitativas e quantitativas nas populações de protistas ciliados (MADONI e BASSANINI, 1999; MADONI, 2005).

A grande sensibilidade à variação dos fatores físico-químicos pode ser explicada pelo fato de muitos protistas apresentarem exigências específicas em relação às características do meio, como a quantidade de matéria orgânica, temperatura, pH, condutividade elétrica, teor de oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio, quantidade de compostos nitrogenados e fósforo (NOLAND, 1925; KUDO, 1966; SLEIGH, 1988).

Os protistas ciliados peritríqueos são, em sua maioria, organismos tolerantes à poluição sendo encontrados em elevadas abundâncias em ecossistemas dulciaquícolas enriquecidos organicamente, onde há elevada carga de lançamento de esgoto doméstico e, conseqüentemente ocorre elevada densidade bacteriana, o que leva à maior abundância de ciliados bacterívoros, tal como a grande maioria das espécies de ciliados peritríqueos (KUSKOA e WATABE, 1987). Segundo HENEGBRY e RIDGEWAY (1979), ciliados peritríqueos epibiontes apresentam grande potencial na avaliação da qualidade de águas

continentais, porém os trabalhos, geralmente, relacionam a influência da poluição orgânica sobre a distribuição destes ciliados.

Outro grande grupo importante na avaliação da qualidade da água é o dos insetos dípteros da família Chironomidae. Esses organismos, em sua fase larval, têm sido usados com sucesso para se avaliar impactos associados com o enriquecimento orgânico. Esses organismos apresentam características que lhes conferem referências de bons indicadores da qualidade ambiental: possuem diversos táxons em ecossistemas de água doce, apresentam diferentes níveis de tolerância às condições do meio, não estão sujeitos a migrações rápidas, possuem ciclo de vida relativamente longo, variando de semanas até alguns anos, e por fim, são facilmente coletados.

O lançamento de esgoto doméstico em sistemas lóticos em áreas urbanizadas resulta na alteração da composição e estrutura da taxocenose de quironomídeos, favorecendo o aumento da abundância de gêneros tolerantes, tal como o gênero *Chironomus* Meigen, 1803 (BEESON et al., 1998; WILCOCK et al., 1999; MARQUES et al., 1999; PAUL e MEYER, 2001; CALLISTO et al., 2002; LENCIONI e ROSSARO, 2005).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da poluição orgânica sobre a relação epibiótica entre ciliados peritríqueos e larvas de quironomídeos ao longo de um córrego urbano no sudeste brasileiro.

5.1 Material e Métodos

- **Área de estudo**

A bacia do rio Paraíba apresenta uma população da ordem de 600.000 habitantes, o que acarreta a degradação constante de tal ecossistema. O gradiente de poluição desse rio se dá principalmente pelo acúmulo de esgoto doméstico *in natura* proveniente de seus afluentes enriquecidos organicamente, tal como o córrego São Pedro, localizado na região sudoeste da área urbana do Município de Juiz de Fora. Este córrego abriga a represa do São Pedro, responsável por 9% do abastecimento de água para a cidade, que divide a sub-bacia do córrego São Pedro em duas regiões distintas, a área rural, onde predominam atividades de pastagem, e a área urbana com grande ocupação humana (LATUF, 2004) (Mapa 1).

No primeiro experimento, denominado “coleta seriada”, foram realizadas 12 coletas mensais, entre maio de 2005 e abril de 2006, ao longo de cinco estações amostrais do córrego

São Pedro e no segundo, “coleta longitudinal” foi realizada uma coleta, em agosto de 2007, em oito estações amostrais ao longo do mesmo córrego, sendo quatro estações as mesmas analisadas no primeiro experimento (E1= E1’; E3= E4’, E4= E6’ e E5= E7’) (Mapa 1).

Nas coletas seriadas, as estações amostrais E1 (S 21° 46’ 51.9”, W 43° 26’ 29.6”) e E2 (S 21° 46’ 40.9”, W 43° 26’ 18.7”) localizam-se em zona rural, próximos às nascentes. As estações E3 (S 21° 46’ 38.1”, W 43° 24’ 0.4”), E4 (S 21° 45’ 47.2”, W 43° 22’ 0.6”) e E5 (S 21° 45’ 17” , W 43° 27’ 0.1”) localizam-se em uma região com ampla ocupação humana, onde foi observado, lançamento direto de esgoto doméstico. Na coleta longitudinal três das oito estações amostrais localizam-se na área rural E1’ (S 21° 46’ 51.9”, W 43° 26’ 29.6”), E2’ (S 21° 46’ 36.9”, W 43° 26’ 07.7) e E3’ (S 21° 47’ 01.4”, W 43° 25’ 24.1”) localizam-se próximas à nascente e as estações E4’ (S 21° 46’ 38.1”, W 43° 24’ 0.4”), E5’ (S 21° 46’ 16.2”, W 43° 22’ 39.4”), E6’ (S 21° 45’ 47.2”, W 43° 22’ 0.6”), E7’ (S 21° 45’ 17”, W 43° 27’ 0.1”) e E8’ (S 21° 44’ 55.7”, W 43° 21’ 45.1”) localizam-se na área urbana com variados graus de ação antrópica.

- **Obtenção das amostras**

Amostras do sedimento foram coletadas em tréplicas, em cada estação amostral, utilizando-se draga de Petersen (189 cm²), totalizando 180 amostras, fixadas em formaldeído a 7% no local da coleta, armazenadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório. A fixação das amostras no local da coleta evita que os protistas ciliados epibiontes se desprendam dos hospedeiros (FERNANDEZ-LEBORANS, 2004). Foram coletadas ainda, em cada estação, amostras frescas (não fixadas) para posterior observação *in vivo* dos ciliados, essencial para a identificação destes protistas (FOISSNER e BERGER, 1996). Em cada estação amostral foi coletada uma amostra em que as larvas colonizadas pelos ciliados epibiontes foram mantidas vivas para a posterior realização de técnicas utilizadas na identificação dos ciliados.

Nas coletas seriadas ao longo de um ano foram aferidos, no momento de coleta, com o auxílio e um multímetro digital, os seguintes parâmetros físico-químicos: teor de oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica. Foi coletada ainda uma alíquota de 5mL de água nestas estações amostrais que foi processada segundo HOBBIÉ et al. (1977) para a quantificação da densidade bacteriana. Outra alíquota de 5mL de água foi coletada, acondicionada em caixas térmicas com gelo, para a obtenção dos dados de clorofila a (APHA, 1998). 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.

Na coleta longitudinal foram aferidos, no momento de coleta, com o auxílio de um multímetro digital, os seguintes parâmetros físico-químicos: teor de oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica. Foram coletados ainda dois litros da água, em cada estação amostral, acondicionados em caixas térmicas, levados para a Companhia de Saneamento Municipal de Juiz de Fora - MG (CESAMA) para análise dos seguintes parâmetros: demanda bioquímica de oxigênio, fósforo total, nitrogênio total e densidade de bactérias heterotróficas.

- **Processamento e identificação**

As larvas de quironomídeos foram processadas e identificadas segundo EPLER (1992) e TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO (1995). A prevalência de quironomídeos colonizados pelos ciliados foi calculada segundo BUSH et al. (1997) e a abundância numérica, como sendo o número total de ciliados colonizando os hospedeiros em cada estação amostral, tal como calculado por diversos autores em estudos a cerca da relação epibiótica entre ciliados e invertebrados (BALDOCK, 1986; XU, 1992; HANNAMURA, 2000; ÓLAFSDÓTTIR e SVARVARSSON, 2002).

As larvas colonizadas pelos ciliados epibiontes, provenientes das amostras não fixadas, foram observadas *in vivo* sob microscópio de campo claro e sob microscópio com contraste interferencial diferencial (DIC), fixadas em Formaldeído 40% para realização da técnica de impregnação pelo carbonato de prata amoniacal (FERNANDEZ-GALIANO, 1978).

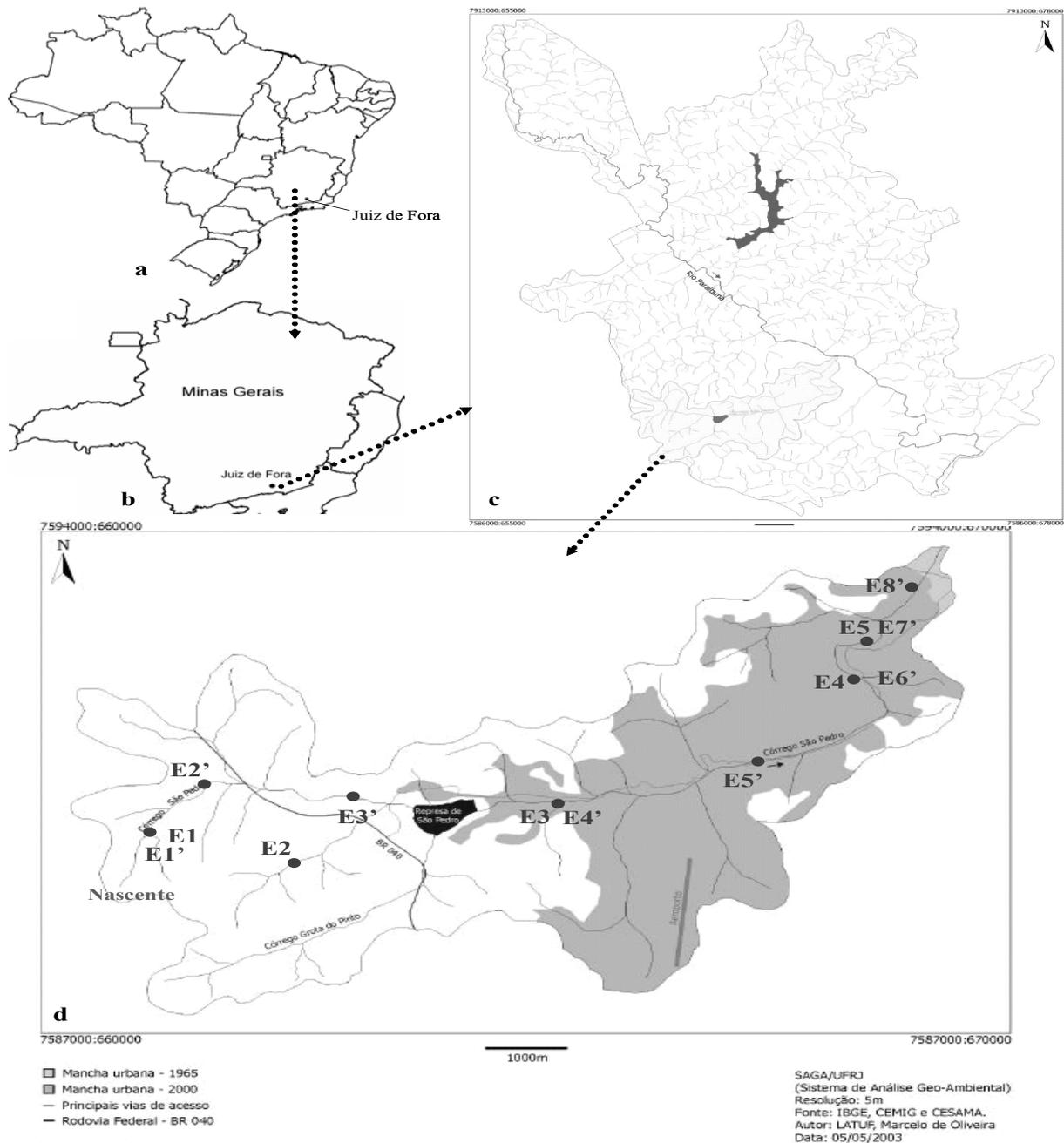
- **Análise estatística**

Para realização da análise estatística foram utilizados os softwares Biostat versão 5.0 e Past versão 1.49 e Fitopac versão 1.5. Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em $\sqrt{\arcsin x}$.

Para verificar a heterogeneidade entre as estações de coleta com base nos parâmetros físico-químicos da água foi ordenada uma análise de componentes principais com a análise da tendência dos vetores em relação aos dois eixos principais. A análise foi ordenada utilizando-se, os parâmetros teor de oxigênio dissolvido, pH, condutividade, clorofila e densidade bacteriana, no primeiro experimento e os parâmetros condutividade elétrica, pH, nitrogênio total, fósforo total e demanda bioquímica de oxigênio no segundo experimento. As diferenças entre os indicadores físico-químicos da água em cada estação amostral foram verificadas por meio da análise da variância (ANOVA- 1 critério) e posterior teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para verificar a influência da poluição sobre a estrutura e composição da taxocenose de

quironomídeos nos dois experimentos foi ordenada uma análise de correspondência utilizando-se abundância dos diferentes gêneros de Chironomidae nas estações de coleta analisadas.



Mapa 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. As estações da amostragem do “Experimento 1” (E1-E5) e do “Experimento 2” (E1’-E8’) estão indicadas.

demonstraram que os eixos 1 e 2 explicam 94,43% da variância dos resultados, sendo

ressaltada a similaridade entre as estações amostrais inseridas na área urbana através da proximidade entre as variáveis pH, condutividade elétrica, clorofila, densidade bacteriana, nitrogênio total, fósforo total e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) visto que tais parâmetros podem indicar o enriquecimento orgânico do ambiente. O oxigênio dissolvido relacionado principalmente com as estações de coleta localizadas próxima à nascente também apresentou relação com a estação amostral

5.2 Resultados

- **Variáveis ambientais**

Houve diferença estatística entre os valores médios dos parâmetros físico-químicos aferidos na área rural dos aferidos na área urbana. Os valores médios obtidos para cada estação amostral estão apresentados na Tabela 3.

Nas estações de coleta inseridas na área urbana, a jusante da represa, foram aferidos, em ambas as coletas seriada e longitudinal, os maiores valores médios de temperatura da água, clorofila, condutividade elétrica, pH, densidade bacteriana, demanda bioquímica de oxigênio, fósforo total, nitrogênio total e os menores valores de teor de oxigênio dissolvido, os valores médios dos parâmetros físico-químicos obtidos na área rural e urbana em cada uma das estações amostrais estão apresentados nos gráficos 10 a 22. Foram registrados altos valores para a densidade bacteriana na coleta longitudinal ($0,65 \text{ cels} \times 10^{-6} / \text{ml}$) para as estações inseridas da área urbana (E4'-E8') quando comparados aos valores obtidos para a área rural da sub-bacia do córrego São Pedro (E1'= $0,35 \text{ cels} \times 10^{-6} / \text{ml}$; E2'=E3'= $0,40 \text{ cels} \times 10^{-6} / \text{ml}$).

As análises de componentes principais referentes às coletas seriadas e longitudinal demonstraram que os eixos 1 e 2 explicam, respectivamente, 94,49% e 93,25% da variabilidade dos dados, sendo ressaltada a similaridade entre as estações amostrais inseridas na área urbana através da proximidade entre as variáveis pH, condutividade elétrica, clorofila, densidade bacteriana, nitrogênio total, fósforo total e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) visto que tais parâmetros indicam o enriquecimento orgânico do ambiente. O oxigênio dissolvido relacionado principalmente com as estações de coleta localizadas próxima à nascente também apresentou relação com a estação amostral E5=E7'. Em torno de 100 metros a montante desta estação há uma queda d'água de 30 metros de altura, aproximadamente, o que

explica a alta oxigenação mesmo estando inserida em local com amplo lançamento de esgoto doméstico (Gráficos 23-24).

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros físico-químicos aferidos em cada estação amostral do córrego São Pedro.

	Temperatura °C	Condutividade (μScm^{-1})	pH	OD (mg/l)	Clorofila ($\mu\text{g/l}$)	Bactéria ($\text{cels} \times 10^6/\text{ml}$)	DBO (mg/l)	P total ($\mu\text{g/l}$)	N total ($\mu\text{g/l}$)
E1	19,4 ($\pm 2,38$) a	23,4 ($\pm 3,5$) a	5,92 ($\pm 0,7$) a	6,2 (\pm) a	33,67 ($\pm 14,1$) a	0,30 ($\pm 0,3$) a	-	-	-
E2	18,8 ($\pm 2,82$) a	25,6 ($\pm 2,5$) a	6,09 ($\pm 0,3$) a	3,7 (\pm) a	46,26 ($\pm 19,4$) a	0,38 ($\pm 0,2$) a	-	-	-
E3	20,9 ($\pm 2,77$) b	89,7 ($\pm 2,8$) b	6,52 ($\pm 0,2$) b	2,3 (\pm) b	48,28 ($\pm 25,1$) b	0,86 ($\pm 0,3$) b	-	-	-
E4	22,4 ($\pm 2,03$) b	195,6 ($\pm 5,6$) b	7,16 ($\pm 0,2$) b	4,3 (\pm) b	62,69 ($\pm 15,3$) b	1,07 ($\pm 0,4$) b	-	-	-
E5	21,4 ($\pm 2,31$) b	161,8 ($\pm 2,9$) b	7,58 ($\pm 0,3$) b	5,9 (\pm) b	57,01 ($\pm 18,6$) b	0,71 ($\pm 0,3$) b	-	-	-
E1'	16,7 a	18,6 a	5,8 a	8,35 a	-	-	4,5 a	0,39 a	0,1 a
E2'	15,7 a	20,2 a	6,5 a	7,12 a	-	-	3,2 a	0,46 a	3,9 a
E3'	16,5 a	20,2 a	6,2 b	7,46 a	-	-	14,2 a	0,40 a	2,1 a
E4'	16,7 b	66,6 b	6,8 b	2,01 b	-	-	25,6 b	1,41 b	5,2 b
E5'	19,3 b	191,6 b	7,3 b	0,66 b	-	-	78,0 b	3,50 b	12,0 b
E6'	20,7 b	231,3 b	7,3 b	3,81 b	-	-	55,9 b	3,5 0b	18,6 b
E7'	18,7 b	197,8 b	8,1 b	7,67 b	-	-	35,5 b	3,5 0b	15,8 b
E8'	18,8 b	222,9 b	7,8 b	2,65 b	-	-	40,8 b	3,50 b	13,7 b

* letras iguais, indica ausência estatística de diferenças nas variâncias, letras diferentes indica diferença estatística entre as variâncias.

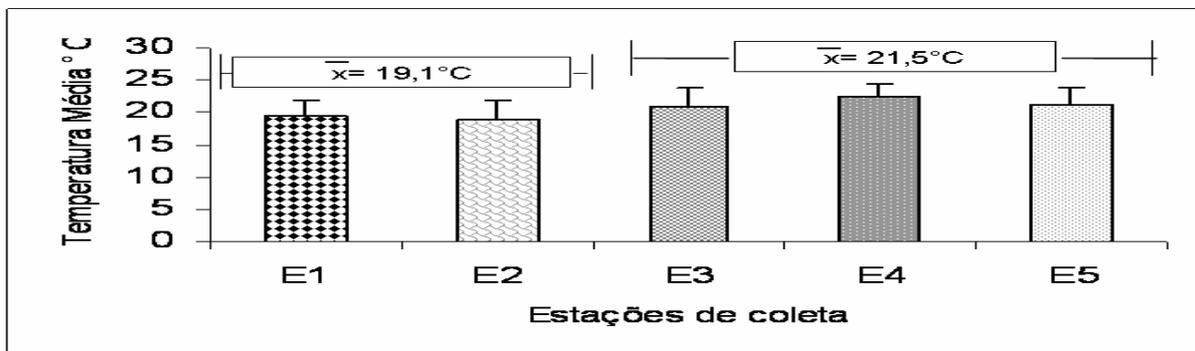


Gráfico 10. Temperatura média aferida em cada estação amostral nas coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior temperatura média nas estações inseridas na área urbana.

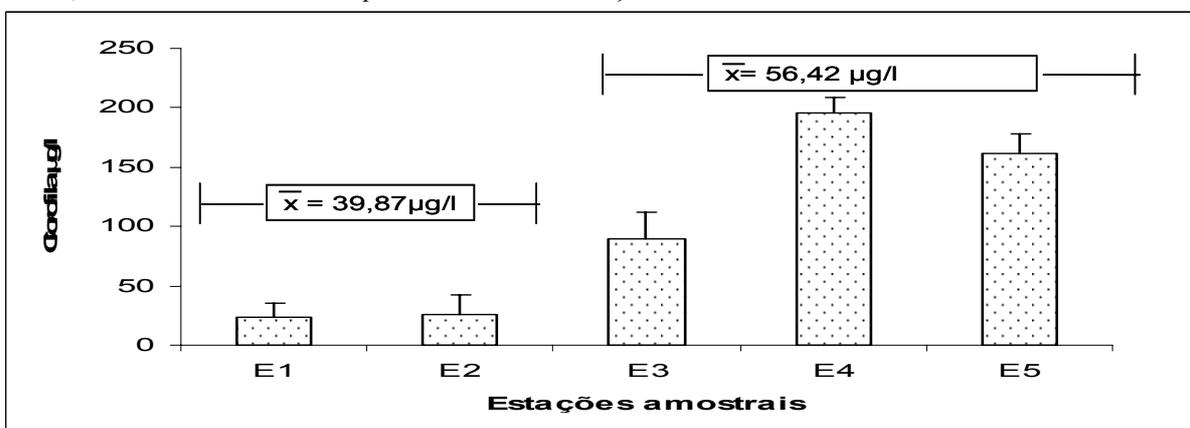


Gráfico 11. Valores médios de clorofila aferidos em cada estação amostral nas coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior concentração média de clorofila nas estações inseridas na área urbana.

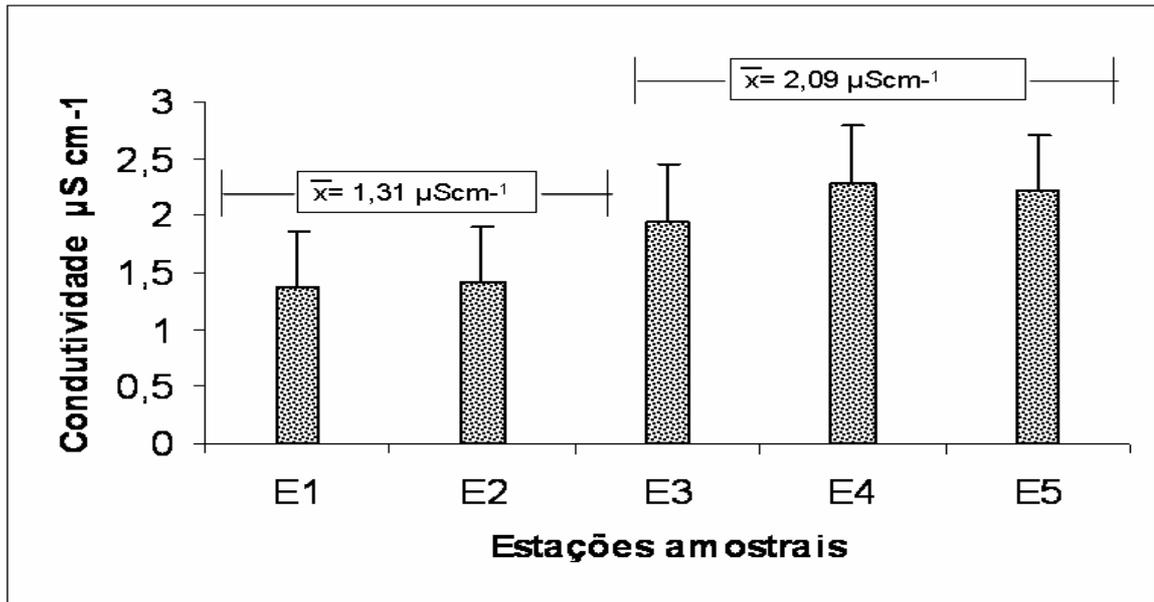


Gráfico 12. Valores médios de Condutividade elétrica da água, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior condutividade média nas estações inseridas na área urbana.

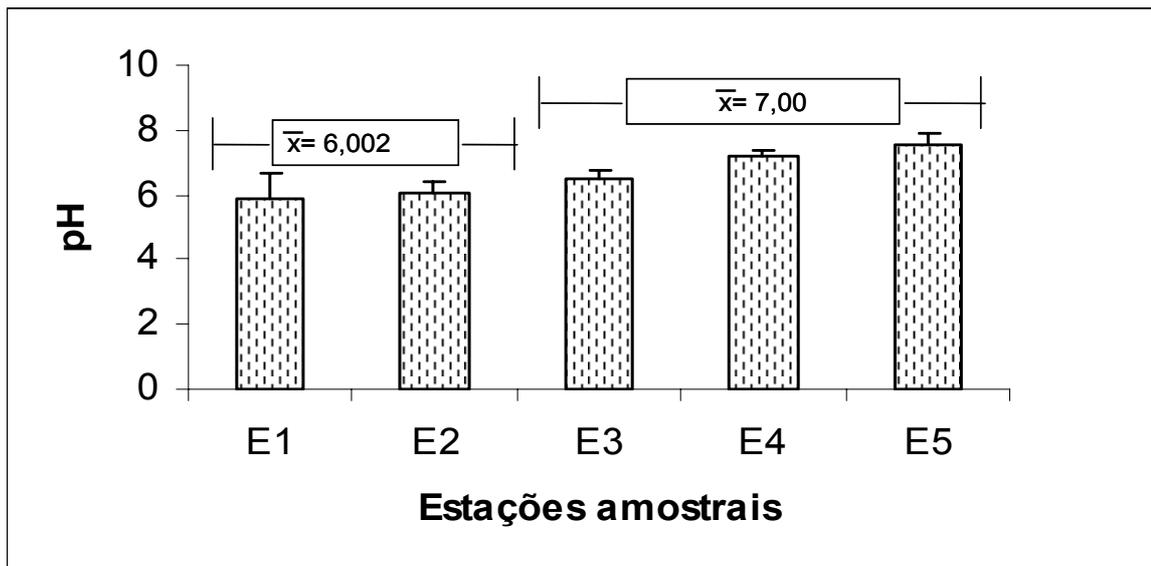


Gráfico 13. Valores médios de pH aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro.

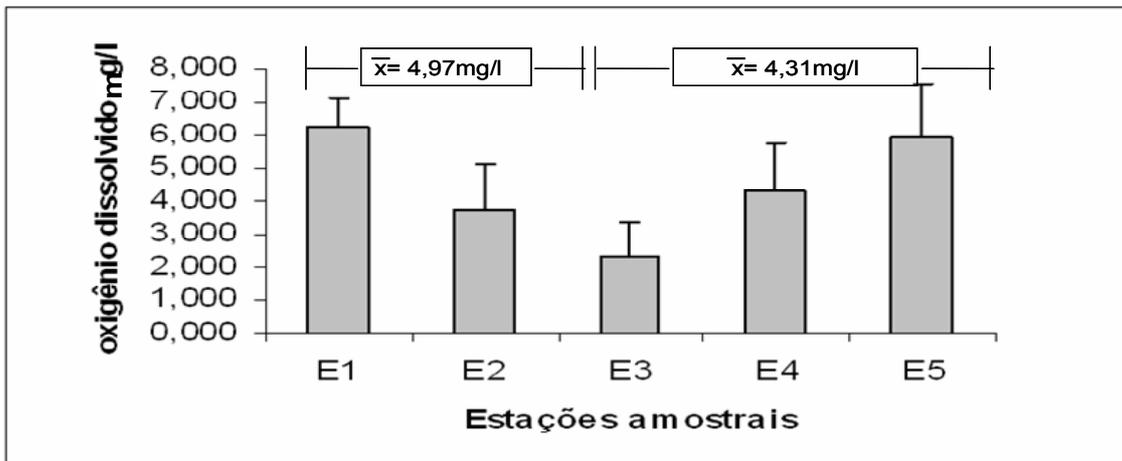


Gráfico 14. Valores médios de oxigênio dissolvido, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro.

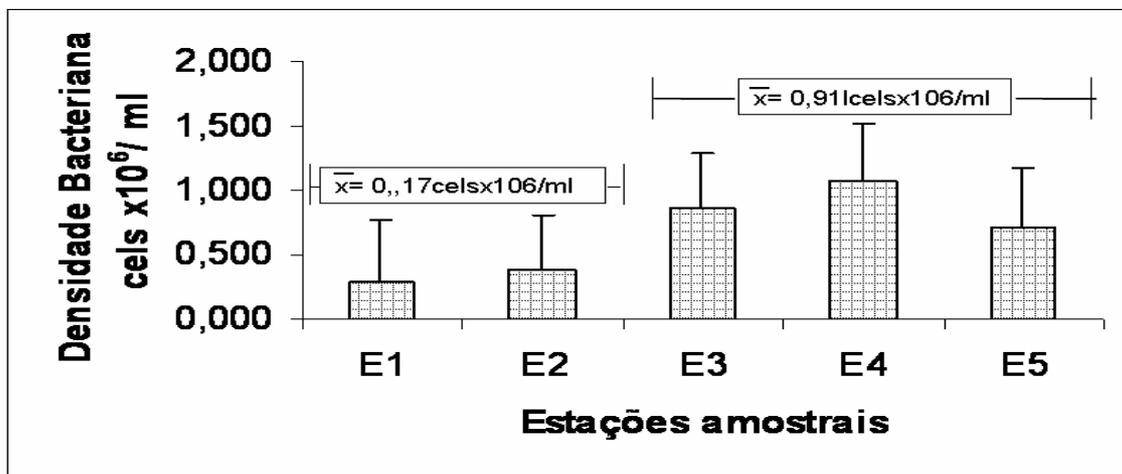


Gráfico 15. Valores médios de Densidade Bacteriana, aferidos em cada estação amostral das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro, evidenciando a maior densidade bacteriana média nas estações amostrais inseridas na área urbana.

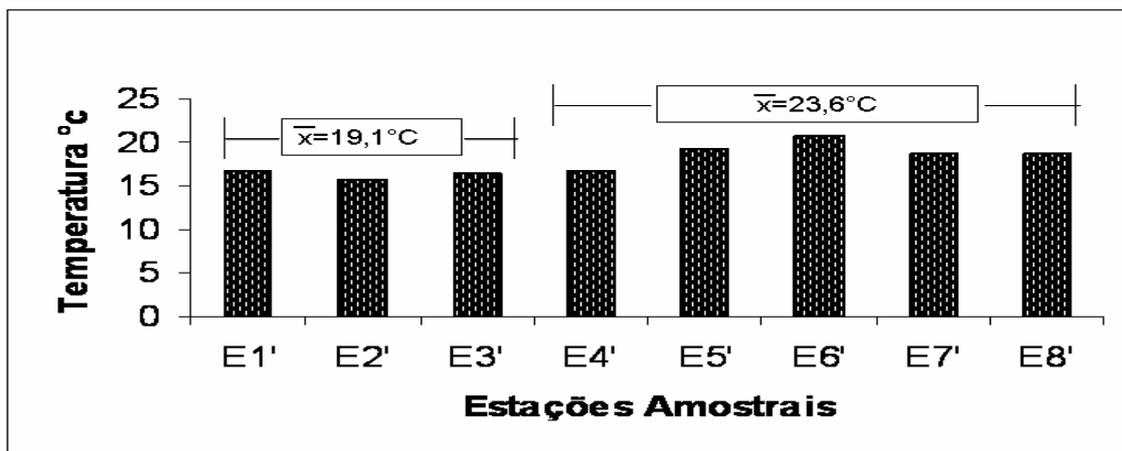


Gráfico 16. Valores médios da temperatura da água, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior temperatura nas estações amostrais inseridas na área urbana.

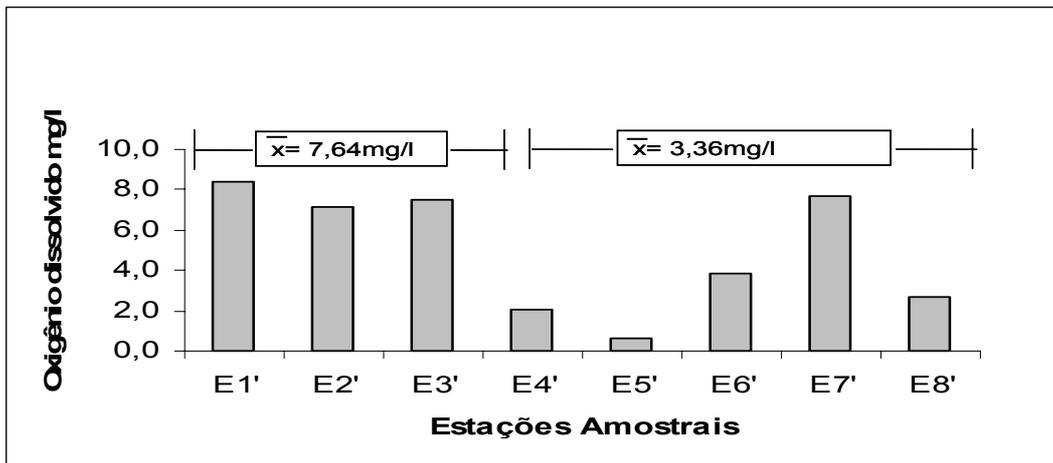


Gráfico 17. Valores de oxigênio dissolvido, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior concentração média de oxigênio nas estações inseridas na área rural em relação à média das estações inseridas na área urbana.

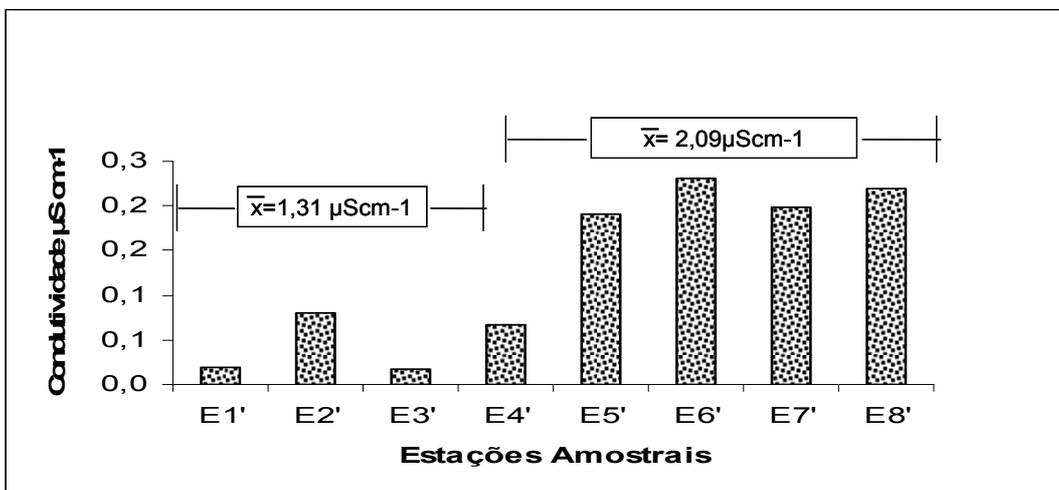


Gráfico 18. Valores de Condutividade elétrica da água, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior condutividade média nas estações amostrais inseridas na área urbana.

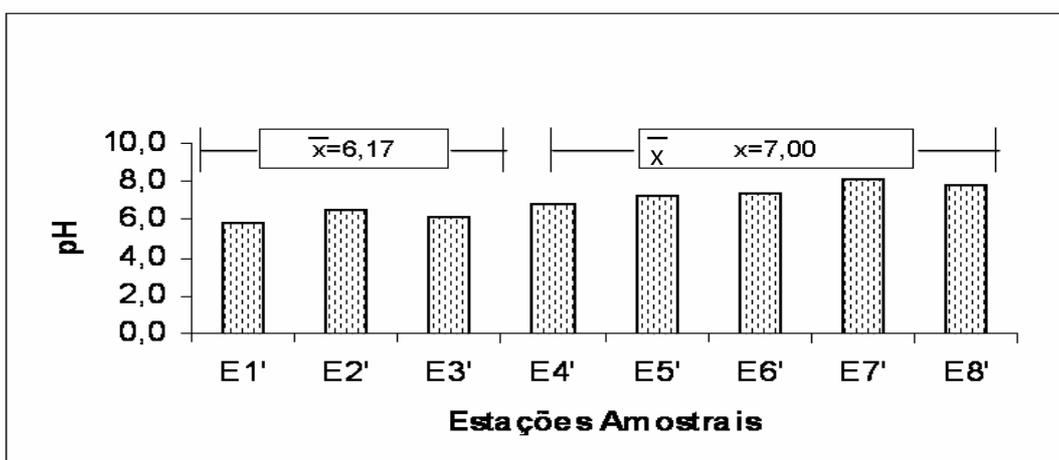


Gráfico 19. Valores médios de pH aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro.

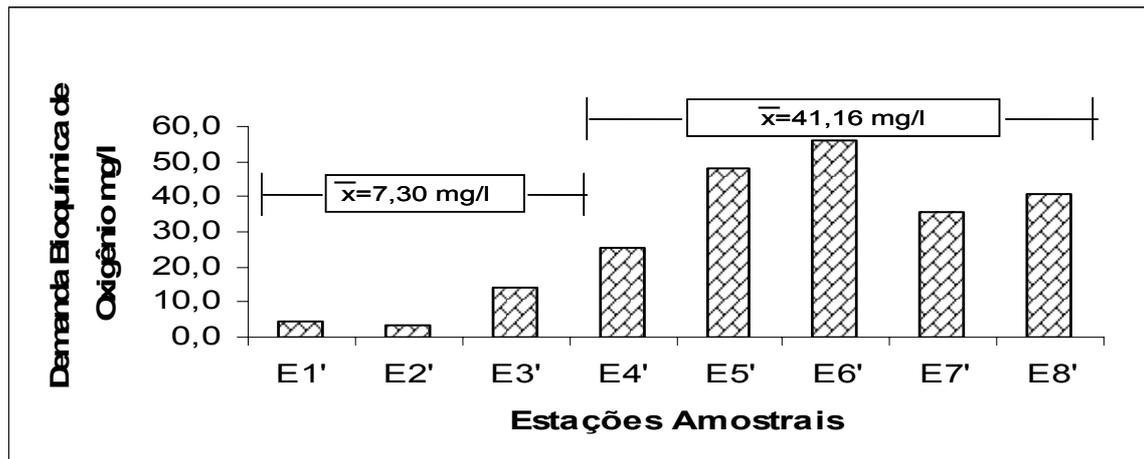


Gráfico 20. Valores de demanda bioquímica de oxigênio, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior demanda nas estações inseridas na área urbana.

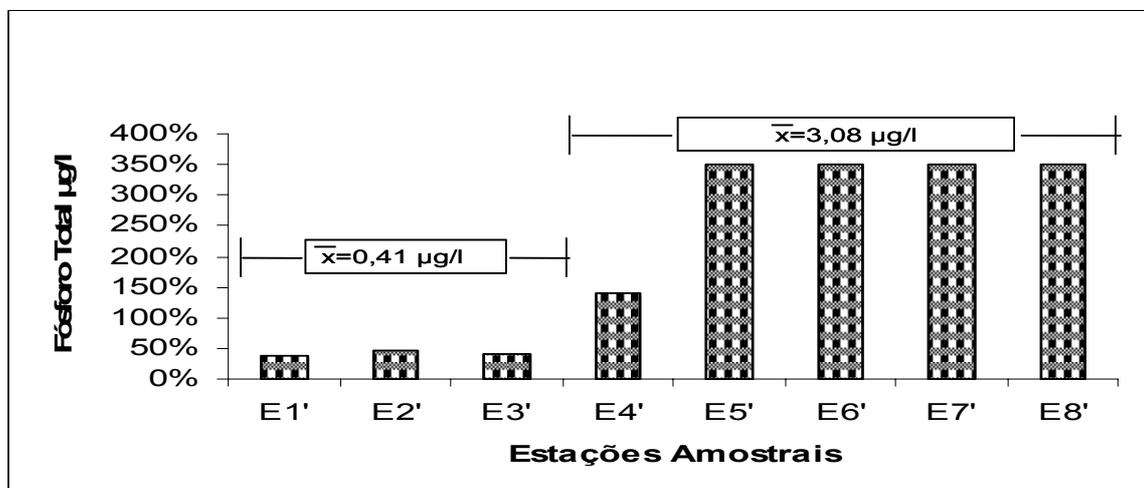


Gráfico 21. Valores de concentração de fósforo total, aferidos em cada estação amostral da coleta longitudinal realizada no córrego São Pedro, evidenciando a maior média do íon nas estações amostrais inseridas na área urbana.

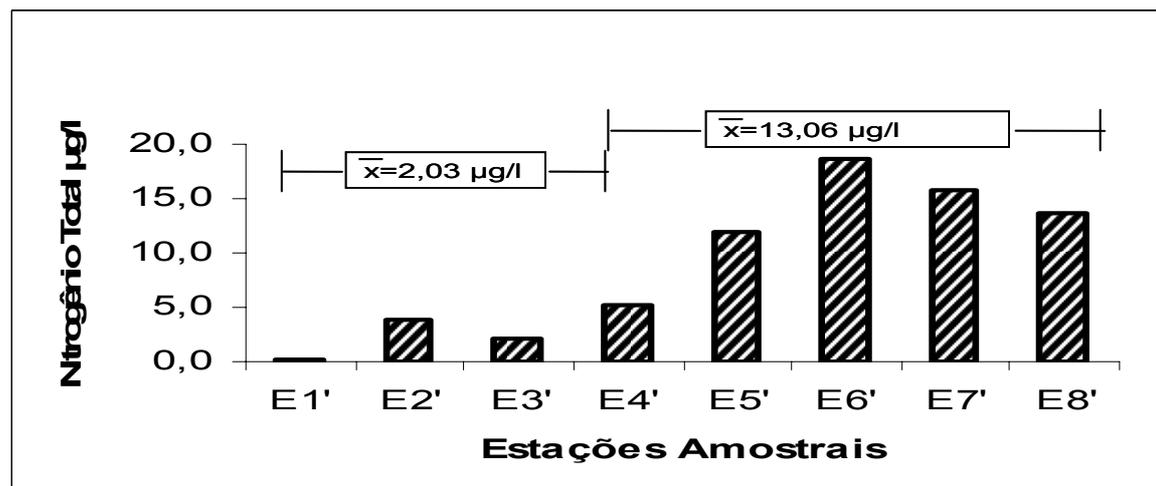


Gráfico 22. Valores de Nitrogênio total aferidos na coleta longitudinal, evidenciando maior concentração do íon em nas estações amostrais inseridas na área urbana.

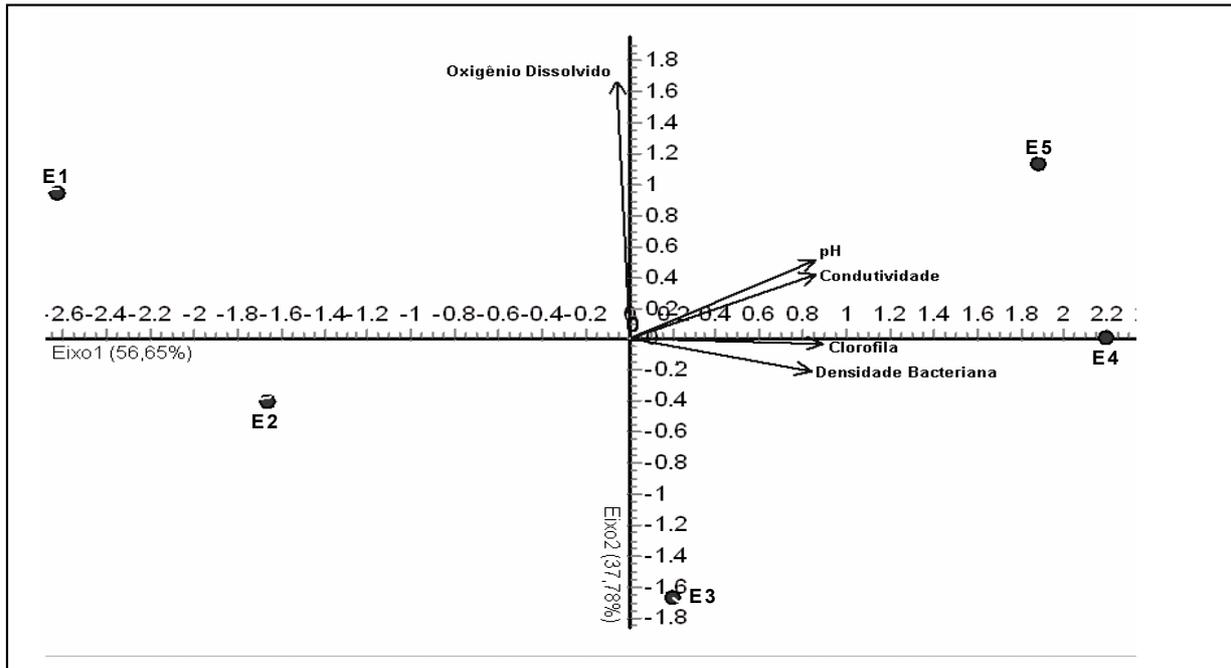


Gráfico 23. Análise de componentes principais das médias dos parâmetros oxigênio dissolvido (OD), pH, condutividade elétrica, clorofila e densidade bacteriana em cada estação de coleta das coletas seriadas realizadas no córrego São Pedro.

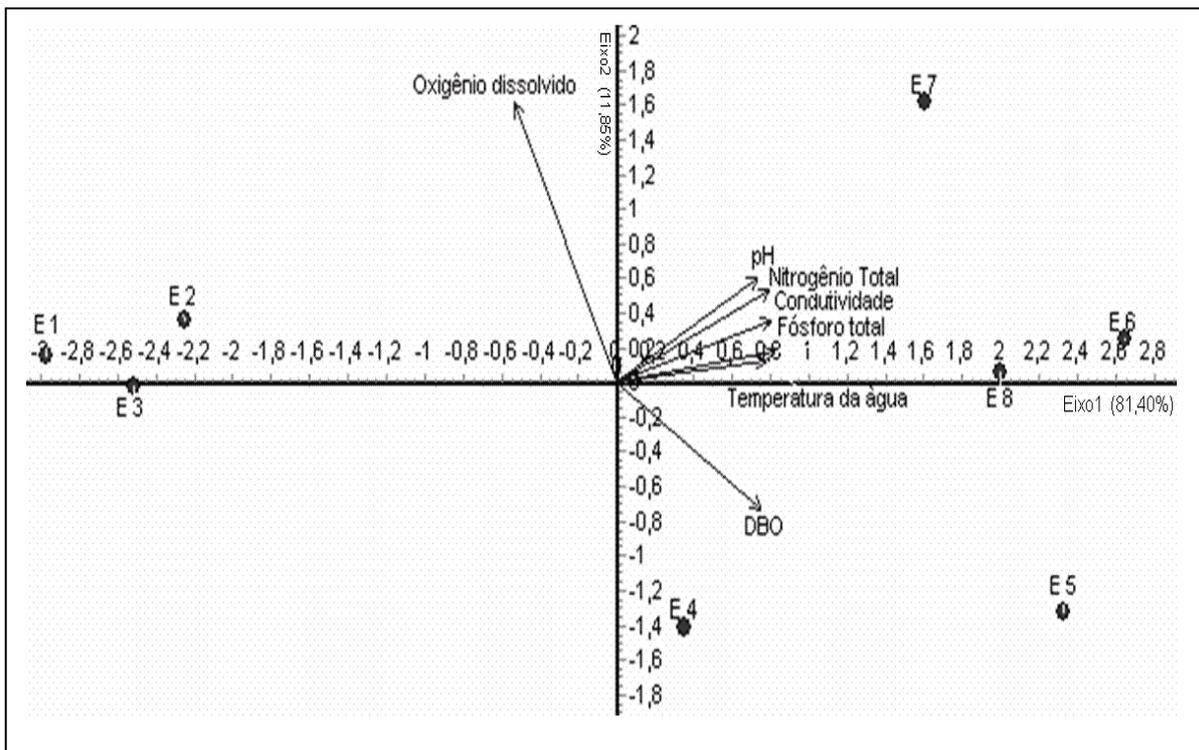


Gráfico 24. Análise de componentes principais dos parâmetros oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, pH, nitrogênio total, fósforo total, temperatura da água e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em cada uma das oito estações de coleta no córrego São Pedro.

- **Composição e estrutura da fauna de quironomídeos**

Foram analisadas 31976 larvas de Chironomidae pertencentes às subfamílias Chironominae (tribos Chironomini e Tanytarsini), Orthoclaadiinae e Tanypodinae, distribuídas em 24 gêneros. O gênero *Chironomus* foi o gênero mais abundante (30738 larvas), representando 96,12% da fauna de quironomídeos analisada.

As alterações da composição e estrutura da fauna de Chironomidae ao longo das estações de coleta com diferentes graus de poluição orgânica estão representadas nos gráficos 25 e 26. Conforme as análises de correspondência (CA) realizada para as coletas seriadas e longitudinal, onde os eixos 1 e 2 explicaram, respectivamente, 96,43% e 93,13% da variabilidade dos dados, verificou-se que o eixo 2 separou as estações de coleta localizadas na área rural daquelas inseridas na macha urbana da sub-bacia do córrego São Pedro.

Nas estações de coleta próximas às nascentes foi registrado um maior número de táxons enquanto que nas estações inseridas na mancha urbana larvas do gênero *Chironomus*, tolerantes à poluição, foram as mais abundantes nas coletas seriadas e exclusivas na coleta longitudinal. Nas coletas seriadas constatou-se a presença de gêneros da subfamília Tanypodinae, típicos de ambientes preservados e sensíveis à poluição orgânica, nas duas estações da área rural. Na coleta longitudinal constatou-se a presença de gêneros da tribo Tanytarsini, encontrados em ambientes bem conservados e sensíveis à poluição orgânica, nas três estações da área rural.

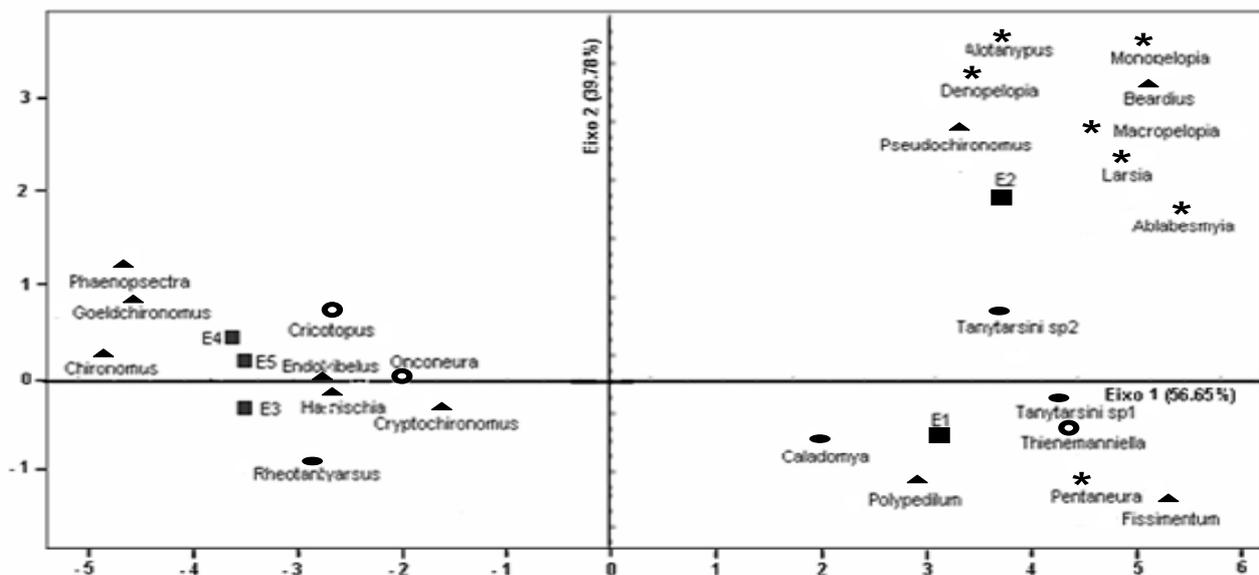


Gráfico 25. Análise de correspondência obtida através da fauna de Chironomidae obtida nas 12 coletas ao longo de cinco estações amostrais no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais. * Subfamília Tanypodinae, * Subfamília Chironominae, tribo Chironomini ▲; Subfamília Chironominae, tribo Tanytarsini ●; Subfamília Orthoclaadiinae ○.

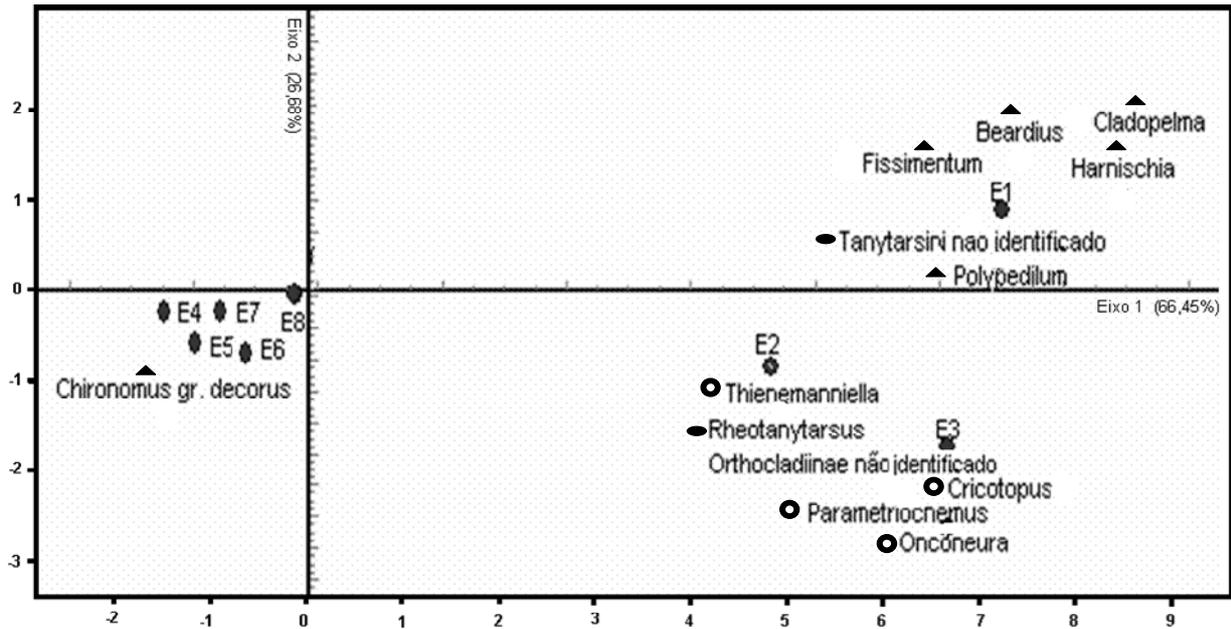


Gráfico 26. Análise de correspondência obtida através da fauna de Chironomidae obtida nas em uma coleta ao longo de oito estações amostrais no córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais. Subfamília Chironominae tribo Chironomini ▲; Subfamília Chironominae tribo Tanytarsini ●; Subfamília Orthoclaadiinae ○.

A percentagem das larvas de *Chironomus gr. decorus* em relação à fauna de Chironomidae foi heterogênea ao longo das estações amostrais, nas coletas seriadas e longitudinal, chegando a 100% dos quironomídeos encontrados em todas as estações da área urbana na coleta longitudinal (Gráficos 27-28). A abundância de *Chironomus gr. decorus*, nos dois experimentos, variou de 97 indivíduos registrados nas estações amostrais inseridas na área rural para 30686 naquelas estações inseridas na mancha urbana.

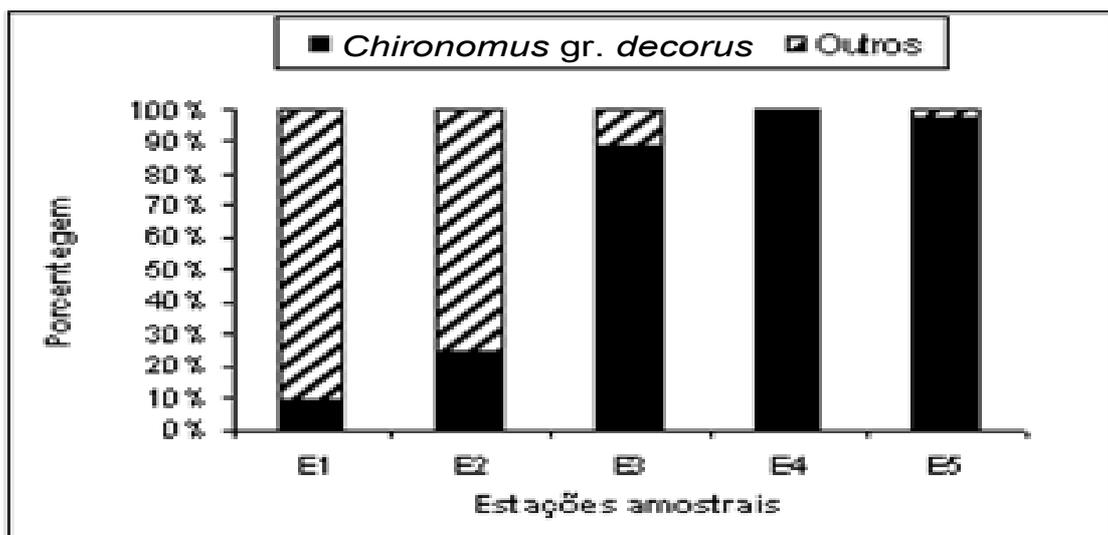


Gráfico 27. Percentagem de *Chironomus* em relação à fauna total de larvas de Chironomidae nas cinco estações amostrais ao longo do córrego São Pedro, nas coletas seriadas.

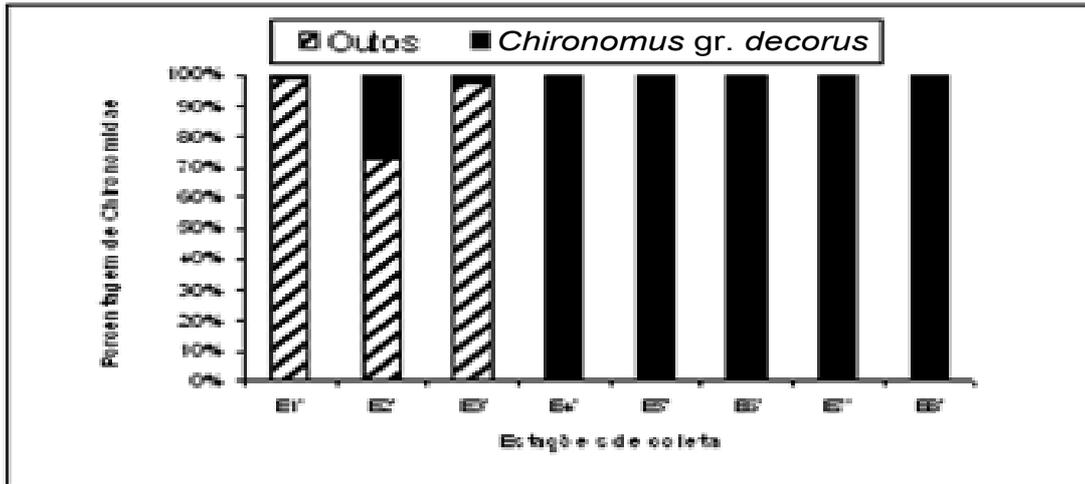


Gráfico 28. Porcentagem de *Chironomus* em relação à fauna total de larvas de Chironomidae nas oito estações amostrais ao longo do córrego São Pedro, na coleta longitudinal.

- **Ciliados epibiontes**

Dentre 24 gêneros de quironomídeos investigados quanto à presença de ciliados epibiontes, somente as larvas do gênero *Chironomus* apresentaram-se colonizadas por ciliados. Das 30738 larvas de *Chironomus gr. decorus* coletadas 16,95% (5212) apresentaram ciliados epibiontes da espécie *Rhabdostyla chironomi*. Esta relação epibiótica foi observada somente nas estações de coleta inseridas na mancha urbana da sub-bacia do córrego São Pedro, a jusante da represa. Embora as larvas de *Chironomus gr. decorus* tenham sido registradas em todas as estações de coleta, foram encontrados ciliados epibiontes colonizando estas larvas coletadas somente na área urbana, o que corrobora a hipótese de que ciliados peritríqueos possuem predileção por locais enriquecidos organicamente.

Os maiores valores de prevalência de infestação foram observados nas estações amostrais com maior grau de enriquecimento orgânico tal como confirmado pelos parâmetros físico-químicos nestas estações. Na estação amostral (E4/E6') com os mais elevados valores de condutividade elétrica, clorofila a, demanda bioquímica de oxigênio, concentrações de nitrogênio e fósforo e maior densidade bacteriana, parâmetros que indicam enriquecimento orgânico, foram observados elevados valores de prevalência de infestação, 19,64% no primeiro experimento e 19,1% no segundo experimento. Houve correlação positiva entre densidade bacteriana e prevalência de infestação das estações de coleta E3 ($p=0,0322$; $rs=0,353$), E4 ($p=0,002$; $rs=0,121$) e E5 ($p=0,0295$; $rs=0,233$), investigadas no primeiro experimento.

Os valores de abundância de ciliados epibiontes também foram mais elevados nas estações com elevado grau de poluição orgânica, entretanto o maior valor de abundância de ciliados foi registrado para a estação amostral E5/E7' onde se registraram os mais elevados

valores de teor de oxigênio dissolvido e de larvas de quironomídeos. Dos 26104 ciliados epibiontes contabilizados nos dois experimentos realizados, 68,56% pertenciam à estação amostral E5=E7'. Houve correlação positiva ($p=0.002$ coletas seriadas, $p=0.045$ coleta longitudinal) entre a abundância de ciliados e a abundância de larvas de quironomídeos ao longo das estações amostrais inseridas na área urbana (Gráficos 29 e 30).

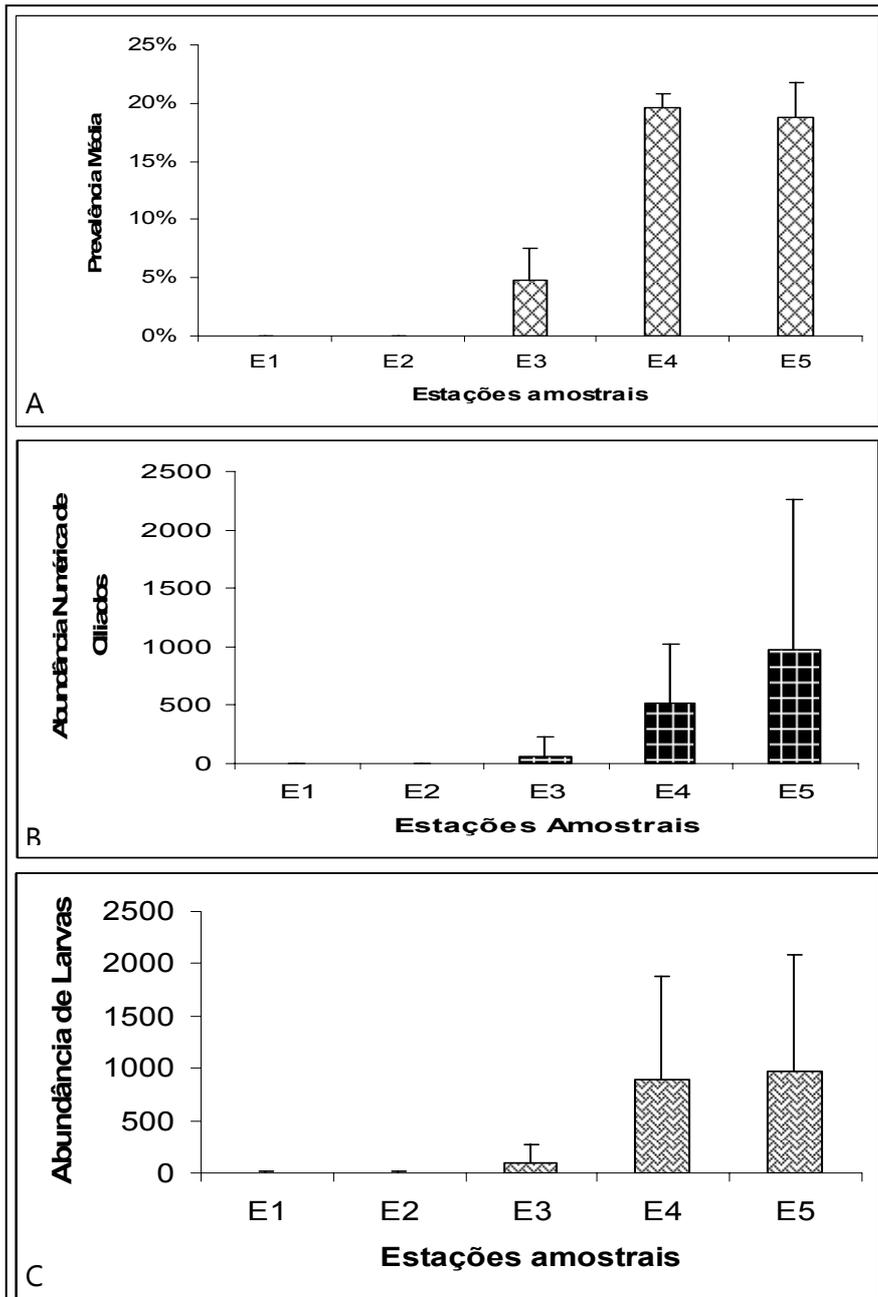


Gráfico 29. Prevalência média da infestação em “A”, abundância média de ciliados epibiontes em “B” e abundância de larvas de quironomídeos em “C”, observados nas três estações de coleta localizadas na área urbana, nas coletas seriadas, realizadas no córrego São Pedro.

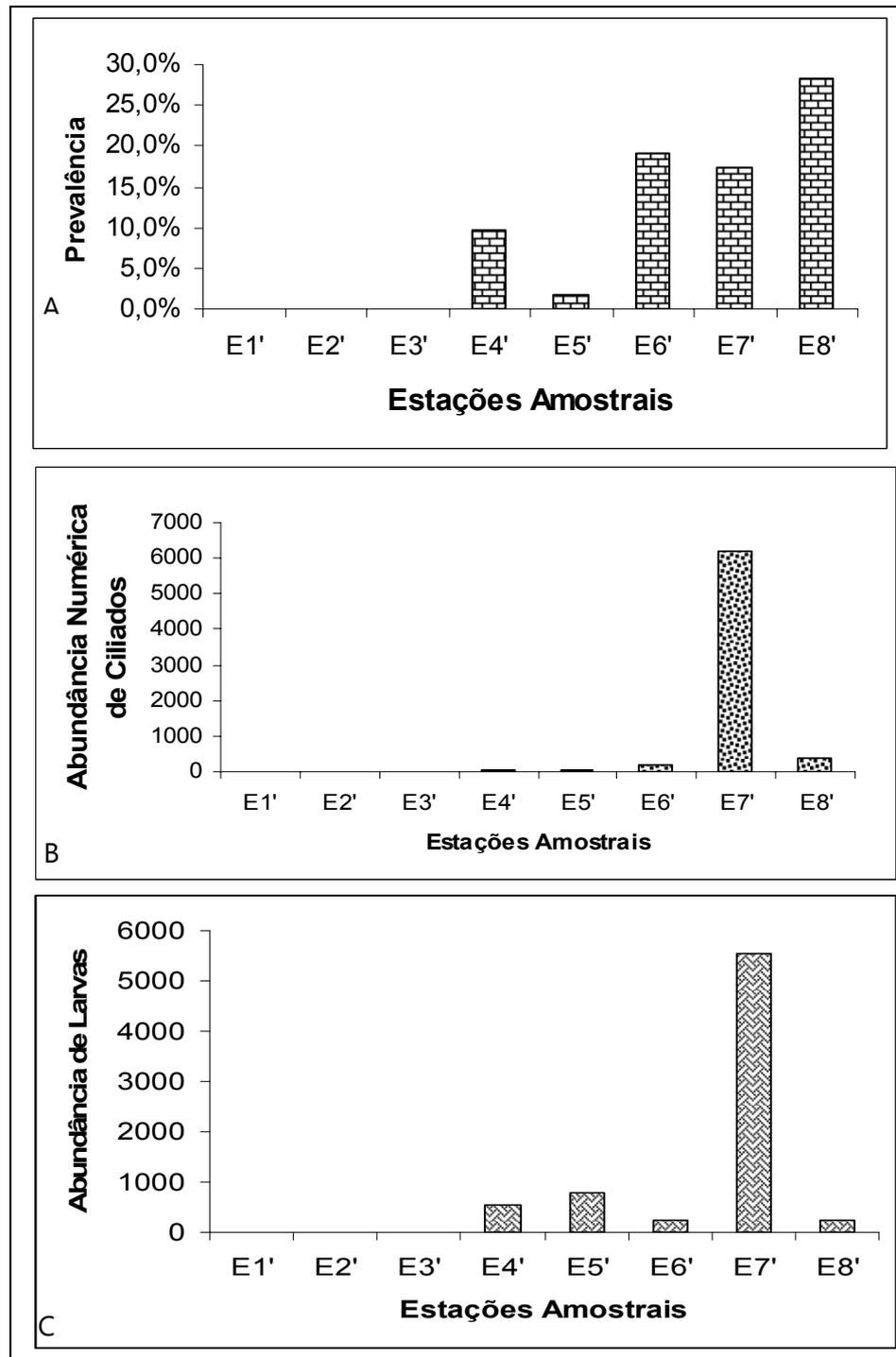


Gráfico 30. Prevalência da infestação em “A”, abundância numérica de ciliados epibiontes em “B” e abundância de larvas de quironomídeos em “C”, observados nas cinco estações de coleta localizadas na área urbana da coleta longitudinal, realizada no córrego São Pedro

5.3 Discussão

Os elevados valores dos parâmetros físico-químicos indicadores de poluição orgânica analisados no presente estudo, tal como as baixas concentrações de oxigênio dissolvido e

elevados valores de condutividade elétrica, clorofila a, demanda bioquímica de oxigênio, concentrações de nitrogênio e fósforo, são parâmetros utilizados em estudos a cerca da influência da poluição orgânica sobre a dinâmica das populações de ciliados bentônicos em ecossistemas de águas correntes continentais e do possível uso destes protistas como indicadores da qualidade destes sistemas (SOLA et al., 1996; MADONI e BASSANINI, 1999; MADONI, 2005; MADONI e BRAGHIROLI, 2007). Pela análise de componentes principais pode-se admitir, pela proximidade entre as estações de coleta inseridas na área urbana e pelos parâmetros físico-químicos indicadores de enriquecimento orgânico, o maior grau de poluição destas estações da mancha urbana.

Dentre os estudos acerca dos aspectos quantitativos da relação epibiótica entre protistas ciliados e seus hospedeiros poucos autores investigam a influência dos parâmetros físico-químicos da água sobre os aspectos qualitativos e quantitativos desta relação (CHIAVELLI et al., 1993; WILLEY e THRELKELD, 1993; FERNANDEZ-LEBORANS e TATO-PORTO, 2000; DIAS et al., 2009). Nos estudos de CHIAVELLI et al., 1993 e WILLEY e THRELKELD (1993) foram constatadas ausência de correlação entre prevalência de infestação de ciliados epibiontes de organismos do zooplâncton e concentração de nutrientes na água, tais como nitrito, nitrato e amônia. Em estudo sobre a ocorrência de ciliados epibiontes em diferentes pontos de um estuário, FERNANDEZ-LEBORANS (2000) observou que os principais fatores responsáveis pela heterogeneidade na ocorrência espacial nesta relação foram os parâmetros abióticos salinidade, condutividade elétrica e potencial oxi-redutor. DIAS et al. (2009) relataram a influência de fatores tais como clorofila, pH, condutividade elétrica e teor de oxigênio dissolvido na ocorrência e prevalência de infestação de ciliados peritríqueos do gênero *Rhabdostyla* colonizando oligoquetas límnicos ao longo do córrego investigado, como no presente estudo, o córrego São Pedro. Embora alguns estudos tenham investigado a influência de alguns parâmetros físico-químicos da água sobre a relação epibiótica entre ciliados e invertebrados aquáticos, o presente trabalho apresenta uma proposta pioneira de investigar a influência do grau de poluição orgânica sobre a abundância e prevalência de infestação de ciliados epibiontes em ecossistemas lóticos.

Existem estudos que relatam a influência do grau de poluição orgânica da água sobre a composição e estrutura da fauna de quironomídeos em sistemas lóticos (DAVIES e HAWKES, 1980; DYER et al., 1998; BARBOSA e CALLISTO, 2000; BAZZANTI, 2000; GALDEAN et al., 2000; SERVIA et al., 2000; SÍMIC e SÍMIC, 2002; AZRINA et al., 2006), tal como

relatado no presente estudo. A elevada percentagem de larvas do gênero *Chironomus* dentre os quironomídeos encontrados no presente estudo bem como sua elevada abundância nas estações amostrais inseridas na área urbana da sub-bacia do córrego São Pedro indicam o potencial deste grupo como indicador da má qualidade da água, tal como relatado por MARQUES et al.(1999).

A alteração na composição e estrutura da comunidade de quironomídeos investigada no presente estudo fica evidente ao se analisar os resultados das análises de correspondência. Nas estações inseridas na área rural foi observada maior riqueza de espécies e predomínio de táxons sensíveis à poluição orgânica. No primeiro experimento foram registrados gêneros da subfamília Tanyptodinae somente nas estações da área rural. Segundo REAL e PRAT (1992) e MARQUES et al.(1999) indivíduos da subfamília Tanyptodinae apresentam maior abundância em ambientes preservados onde são registradas maiores concentrações de oxigênio dissolvido e baixas concentrações de nutrientes na água.

No segundo experimento, a coleta longitudinal, foram registrados gêneros da tribo Tanyptarsini somente nas estações de coleta inseridas na área rural. Segundo DYER et al.(1998) e GALDEAN et al.(2000) indivíduos da tribo Tanyptarsini são organismos sensíveis à poluição orgânica sendo considerados organismos indicadores de ecossistemas preservados ou com baixos níveis de poluição orgânica. Nas estações inseridas na área urbana foi observada menor riqueza táxons no primeiro experimento e exclusividade do gênero *Chironomus* no segundo experimento. Os organismos que compõem o gênero *Chironomus* são considerados tolerantes à poluição por efluentes domésticos e industriais (BARBOSA e CALLISTO, 2000; SERVIA et al., 2000; AZRINA et al., 2006), tendo sido encontrados em ambientes com baixas concentrações de oxigênio dissolvido (BAZZANTI, 2000), elevadas concentrações de nutrientes (SÍMIC E SÍMIC, 2002) e elevada condutividade elétrica (DAVIES e HAWKES, 1980).

Um importante fator capaz de influenciar a distribuição espacial de populações de ciliados epibiontes é a alteração da abundância das populações de hospedeiros (EVANS, 1979; HENEERY e HIDGEWAY, 1979; BALDOCK, 1986; XU, 1992; THRELKELD et al., 1993; WILEY e THRELKELD, 1993; UTZ e COATS, 2005). A oscilação espacial da prevalência de infestação e abundância de ciliados relatadas no presente estudo pode ser explicada pela alteração na composição e estrutura da comunidade de quironomídeos ao longo do córrego, que pode ter ocorrido como uma resposta ao gradiente de poluição. A dominância numérica de

quironomídeos tolerantes do gênero *Chironomus* e sua correlação direta com a prevalência de infestação e a abundância de ciliados ressaltam a predileção de ciliados peritríqueos e larvas de *Chironomus* por ambientes enriquecidos organicamente, e instigam a discussão do possível uso desta relação ecológica como indicadora da qualidade da água.

Os maiores valores de prevalência de infestação foram registrados na estação de coleta onde os parâmetros físico-químicos indicam poluição orgânica elevada nas estações E4=E6'. A maior abundância dos ciliados epibiontes e das larvas na estação amostral E5=E7' pode estar relacionada também à elevada carga de esgoto doméstico *in natura* associada ao elevado teor de oxigênio dissolvido nesta estação. Há uma queda d'água a montante desta estação que modifica a concentração de oxigênio dissolvido influenciando diretamente a abundância dos ciliados epibiontes. NOLAND e GOGJICS (1967) relataram que ambientes que recebem elevada carga orgânica e apresentam elevado teor de oxigênio dissolvido são ideais para o desenvolvimento de ciliados peritríqueos, tal como na estação E5=E7'. A disparidade entre os valores de prevalência de infestação e abundância de ciliados entre as estações amostrais analisadas ressaltam a importância de se avaliar um maior número de parâmetros das populações de ciliados epibiontes em estudos futuros sobre o potencial destes protistas epibiontes como indicadores da qualidade da água.

A disponibilidade de alimento é um importante fator biótico que controla a distribuição das populações de protistas ciliados nos mais variados ecossistemas (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). A entrada de esgoto doméstico em um sistema fluvial conduz ao aumento de fosfatos e outros nutrientes no sistema, favorecendo o crescimento das comunidades bacterianas que sustentam numerosas populações de ciliados bacterívoros, tal como os ciliados peritríqueos (MADONI, 2005). A correlação positiva entre densidade bacteriana, prevalência de infestação e abundância de ciliados reflete a alta carga de poluentes orgânicos das estações de coletas inseridas na mancha urbana da sub-bacia do córrego. Diversos estudos têm evidenciado o efeito da poluição sobre abundância das populações de ciliados bacterívoros em águas correntes continentais, registrando correlação positiva entre a ocorrência e abundância de ciliados epibiontes e a densidade bacteriana (PRIMC, 1988; FERNANDEZ-LEBORANS e NOVILO, 1996; MADONI e BASSANINI 1999; MADONI, 2005; HANNAMURA, 2000; REGALI-SELEGHIM e GODINHO, 2004).

Os ciliados peritríqueos são considerados indicadores de ambientes enriquecidos organicamente, sendo relatados por diversos autores correlação positiva entre o grau de

poluição orgânica de um sistema lótico e a abundância destes ciliados (NOLAND e GOGJICS, 1967; PRIMC-HABDIJA et al., 1998; SOLA et al. 1996; MADONI e BASSANINE, 1999; MADONI e BRAGHIROLI, 2007). Os ciliados do gênero *Rhabdostyla* são bacterívoros e, portanto, tal como os demais peritríqueos, provavelmente se estabelecem melhor em ecossistemas com maior grau de poluição orgânica, fato constatado no presente estudo, que constitui a primeira contribuição desta natureza na literatura. São raros estudos que abordem aspectos da auto-ecologia de ciliados peritríqueos do gênero *Rhabdostyla* (FOISSNER et al., 1992; FOISSNER e BERGER, 1996). Na lista de espécies de ciliados indicadores da qualidade de ecossistemas dulciaquícolas, elaborada por FOISSNER e BERGER (1996), a única espécie do gênero *Rhabdostyla* presente é *R. inclinans* Roux, 1901, indicadora ambientes alfa-mesossapróbios, ou seja, muito poluídos.

Historicamente, o potencial dos ciliados epibiontes como indicadores da qualidade da água teve início com as observações de LAIRD (1959) que constatou que algumas espécies de insetos aquáticos colonizadas por ciliados epibiontes específicos ocorriam somente em sistemas lênticos com elevado grau de poluição orgânica. Posteriormente HENEGBRY e RIDGEWAY (1979), em estudo acerca dos aspectos quantitativos da relação epibiótica entre ciliados epibiontes e microcrustáceos plactônicos em um lago eutrofizado, registraram correlação entre o número de zoóides por colônia e o grau de saprobidade do sistema. Os referidos autores destacaram algumas vantagens na utilização dos ciliados epibiontes como indicadores, tal como ausência da necessidade da identificação tanto dos ciliados epibiontes quanto dos hospedeiros e a rapidez e o baixo custo deste método. Os autores propuseram que valores de prevalência de infestação de ciliados sobre organismos do zooplâncton superior a 10% indicam um ambiente eutrofizado, com elevado grau de poluição orgânica. Trabalhos com este enfoque são escassos na literatura, destacando-se o trabalho de XU (1992) que encontrou elevados valores de prevalência de infestação de ciliados epibiontes sobre cladóceros em um sistema lótico urbano e ressaltou o potencial desta associação em futuros estudos de monitoramento da qualidade da água.

No presente trabalho conclui-se que mudanças no uso e ocupação do solo da sub-bacia do córrego São Pedro, a liberação de esgoto doméstico, tal como revelado pelos parâmetros físico-químicos da água, têm impacto não só na estrutura e composição da fauna de quironomídeos e na prevalência de infestação, mas também na abundância de ciliados epibiontes neste ecossistema.

Os resultados do presente estudo corroboram o potencial dos ciliados peritríqueos epibiontes como indicadores da qualidade dos ecossistemas de águas correntes continentais e instigam a investigação desta relação em um maior número de sistemas lóticos tropicais. Com o elevado crescimento e desenvolvimento das populações humanas e a conseqüente degradação dos recursos hídricos, faz-se necessário utilização de novas metodologias de avaliação dos ecossistemas aquáticos, tal como o uso dos ciliados epibiontes, a fim de se propor medidas para sua conservação e recuperação (MARQUES e BARBOSA, 2001). Entretanto, para que o uso dos ciliados epibiontes de invertebrados bentônicos se torne uma metodologia de avaliação da qualidade da água mediante a proposição de um índice biótico são necessários futuros estudos que investiguem os aspectos quantitativos desta relação em diferentes sistemas lóticos com características ambientais distintas, sendo essencial ampliar o esforço amostral em ecossistemas preservados. A ampliação do conhecimento da biologia dos ciliados epibiontes, tal como os estudos iniciados por UTZ (2005b), permitirá ainda a realização de bioensaios em laboratório para avaliação da qualidade de águas continentais, tal como realizado para ciliados associados ao sedimento em sistemas lóticos (MADONI et al., 1996; 2006).

6. SÍTIO DE LOCALIZAÇÃO E INTENSIDADE DE COLONIZAÇÃO DO CILIADO EPIBIONTE *Rhabdostyla chironomi* KAHL, 1935 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) SOBRE LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

A epibiose é a relação facultativa entre o epibionte e o basibionte (WAHL, 1989). O termo epibionte é utilizado para designar indivíduos que colonizam um substrato vivo, e basibionte para descrever o indivíduo que hospeda o epibionte (TAYLOR, 2002). De acordo com COOK et al. (1998) esta relação ecológica pode ser oportunista, facultativa, de natureza não especializada ou pode ser obrigatória e fortemente específica, com adaptações morfofisiológicas e comportamentais entre epibionte e basibionte (hospedeiro) que promovem condições ideais para este modo de vida.

Alguns ciliados vivem intimamente relacionados a certas regiões dos hospedeiros, estando adaptados para viverem como epibiontes. Contudo, a escassez de espécies de epibiontes em regiões específicas do hospedeiro é, de certa forma, intrigante, visto que qualquer adaptação que facilite o processo de colonização de um hospedeiro se tornaria uma vantagem competitiva em relação a outros epibiontes (WAHL e MARK, 1999).

Existem diversos fatores responsáveis pela colonização de ciliados epibiontes em sítios de localização específicos sobre seus hospedeiros, tais como maior facilidade de obtenção de alimento em certas regiões do corpo do hospedeiro (EVANS et al., 1979; BALDOCK, 1986; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2007), colonização em locais mais oxigenados (DIAS et al., 2009), e com menor atrito (COOK et al., 1998), hábitos de vida do hospedeiro (MERRITT e CUMMINS, 1984; GILBERT e SCHRODER, 2003; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005), proteção contra a predação dos epibiontes (BALDOCK, 1986), competição entre espécies de epibiontes (FENCHEL, 1965; MAYÉN-ESTRADA e ALADRO-LUBEL, 1998; ROBERTS e CHUBB, 1998; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002), constituição física e química de certos compartimentos do hospedeiro (GILBERT e SCHRODER, 2003) e ainda o tempo evolutivo da relação epibiótica (ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002).

Embora alguns estudos acerca dos aspectos quantitativos da relação epibiótica entre protistas ciliados e seus hospedeiros relatem a abundância da colonização pelos ciliados

(BALDOCK, 1986; HANNAMURA, 2000), são raros os que apresentam dados de intensidade da colonização por hospedeiro (ÓLAFSDÓTTIR e SVARVARSSON, 2002), dados estes importantes, por exemplo, para a avaliação do potencial dano que estes organismos podem causar aos seus hospedeiros.

O objetivo do presente estudo foi investigar os sítios de fixação de *Rhabdostyla chironomi* (Ciliophora, Peritrichia) sobre larvas de quironomídeos e quantificar a intensidade de colonização desta relação epibiótica.

6.1 Material e Métodos

Para a obtenção de larvas de quironomídeos foram realizadas coletas do sedimento em um córrego urbano localizado na região sudoeste do Município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As coletas foram feitas em diferentes períodos do ano e em distintas estações amostrais inseridas nas áreas rural e urbana da sub-bacia do córrego.

As amostras do sedimento, coletadas em réplicas e totalizando 204 amostras, foram coletadas com auxílio de uma draga de Petersen (189 cm²), fixadas em formaldeído (7%) no local da coleta, armazenadas em sacos plásticos, e conduzidas ao laboratório. A fixação das amostras realizada no local de coleta é indicada para que os ciliados epibiontes não se desprendam de seus hospedeiros (FERNANDEZ-LEBORANS, 2004). Em cada estação amostral nos diferentes períodos do ano foram coletadas amostras do sedimento que não foram fixadas. Nestas amostras, os epibiontes foram mantidos vivos para posteriores observações em laboratório dos caracteres morfológicos essenciais à sua identificação.

As larvas de quironomídeos triadas das amostras do sedimento fixadas foram observadas sob microscópio de campo claro e identificadas segundo os critérios adotados por TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO (1995). A análise da presença de epibiontes foi feita somente nas larvas do gênero *Chironomus* gr. *decorus*, que representaram 96,12% da fauna de quironomídeos encontrada nas amostras do sedimento. Para quantificação e determinação do sítio de localização dos protistas ciliados epibiontes foram analisados os seguintes compartimentos corporais das larvas: região cefálica, segmentos corporais, túbulos ventrais, túbulos anais e pseudópodes (TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO, 1995) (Desenho 2).

Os ciliados epibiontes provenientes das amostras não fixadas foram observados *in vivo*, sob microscópio de campo claro e com contraste interferencial diferencial (DIC), e processados segundo SILVA-NETO (1994) para a realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura. Os ciliados epibiontes foram identificados segundo KAHL (1935).

Para se investigar possíveis diferenças morfofisiológicas entre os compartimentos corporais das larvas de *Chironomus* gr. *decorus* que possam explicar sítios de localização específicos, cinco indivíduos foram submetidos à análise histológica, sendo fixados em formol a 10%, desidratados em seqüência gradual crescente de álcool etílico a diferentes diluições, clarificados em xilol e, posteriormente, incluídos em parafina. Foram feitos cortes transversais, com 5µm de espessura, e o material foi corado com hematoxilina e eosina seguindo metodologia proposta por BEHMER (1974).

Os dados de médias apresentados nos resultados estão acompanhados dos respectivos valores de desvio padrão. A intensidade de colonização foi calculada segundo BUSH et al. (1997)

6.2 Resultados

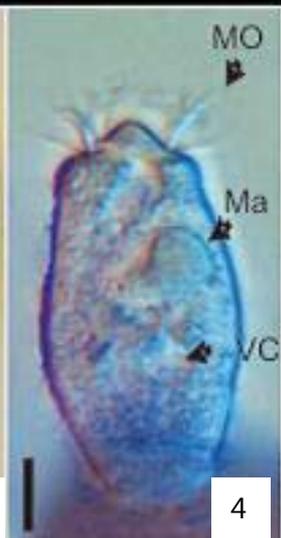
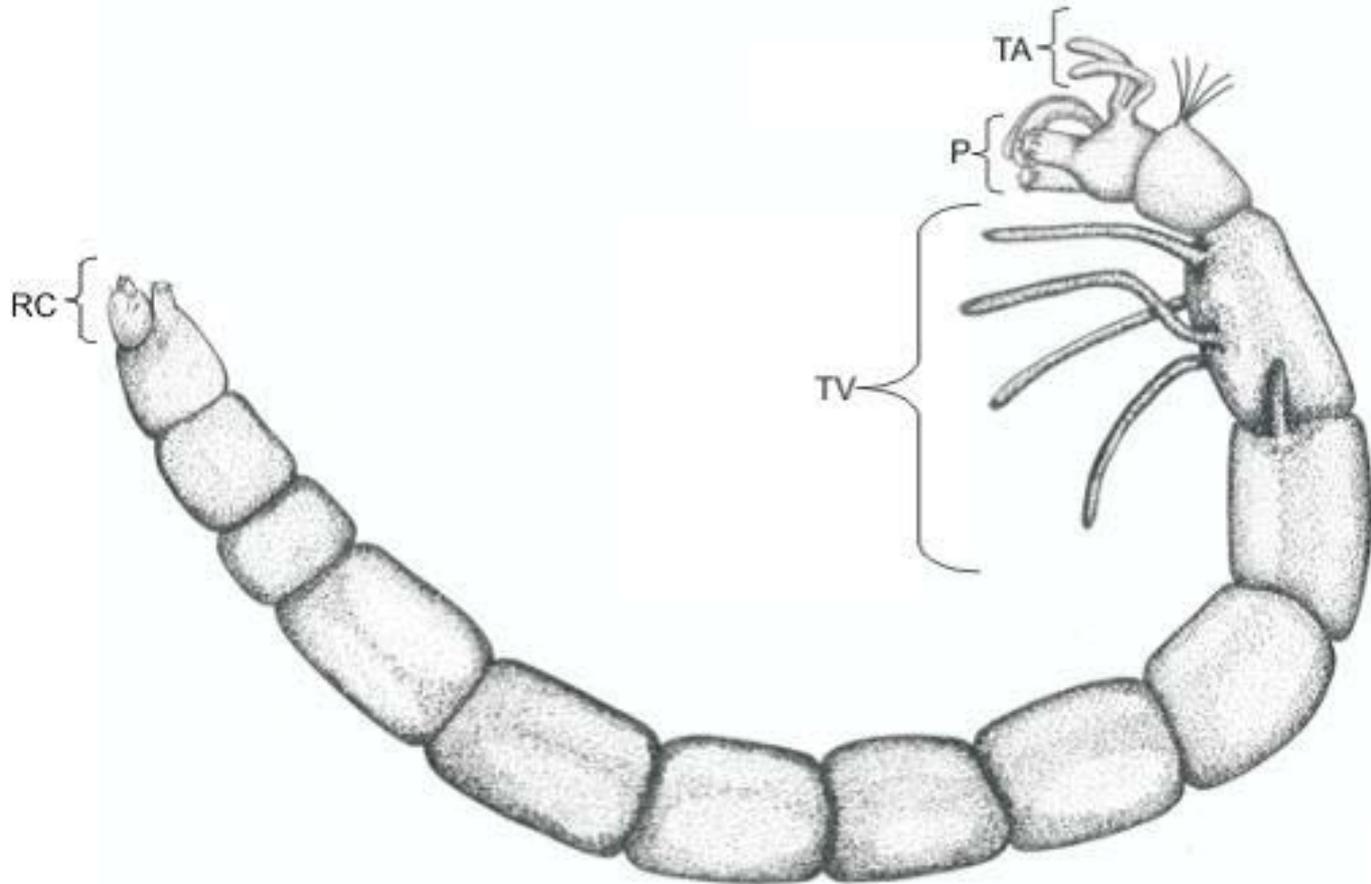
Dentre as 30738 larvas de *Chironomus* gr. *decorus* analisadas, 16,95% (5212) estavam colonizadas por protistas ciliados da espécie *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Peritrichia, Epistylididae). Todos os 26104 ciliados epibiontes encontrados colonizaram exclusivamente os túbulos ventrais das larvas de quironomídeos (Foto 8.1-6).

O estudo histológico possibilitou verificar diferenças morfológicas entre os compartimentos das larvas. Os túbulos ventrais ($5,16\mu\text{m} \pm 1,53$, n=15) e anais ($5,79\mu\text{m} \pm 1,79$, n=15) e os pseudópodes ($8,74\mu\text{m} \pm 2,82$ n= 15) apresentam cutícula com menor espessura quando comparado com a região cefálica ($14,06\mu\text{m} \pm 4,99$, n=15) e com os segmentos corporais ($9,19\mu\text{m} \pm 1,78$, n=15) (Foto 9.1-5), além de apresentarem o interior preenchido exclusivamente por células da hemolinfa (Foto 9.4). Nos túbulos ventrais e anais, tanto a fina espessura da cutícula quanto a presença exclusiva de hemolinfa, confirmam sua participação na troca gasosa e no transporte de oxigênio das larvas de quironomídeos, tal como relatado na literatura (MERRITT e CUMMINS, 1984). Foram observados ainda feixes musculares mais desenvolvidos nos últimos segmentos corporais, local de realização dos movimentos vigorosos responsáveis que auxiliam a troca gasosa que ocorre por difusão na região posterior (túbulos abdominais) das larvas e que requerem reforço muscular (Foto 9.3-5).

A intensidade de colonização variou de um a 67 indivíduos por hospedeiro, com intensidade média de 4.86 ($\pm 1,5348$). Dentre as larvas colonizadas 91,03% apresentaram entre um e dez ciliados, 6,46% apresentaram entre onze e 20 ciliados, 1,73% entre 21 e 30 e apenas 0,78% apresentaram mais de 30 ciliados por hospede

DESENHO 2 FOTOGRAFIA 8

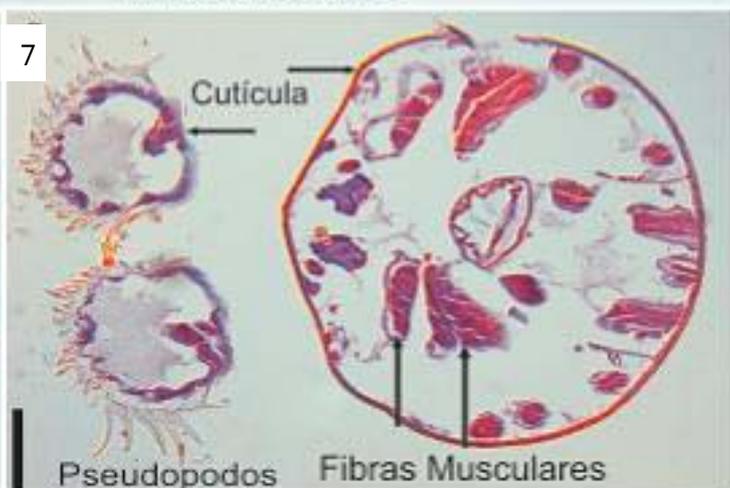
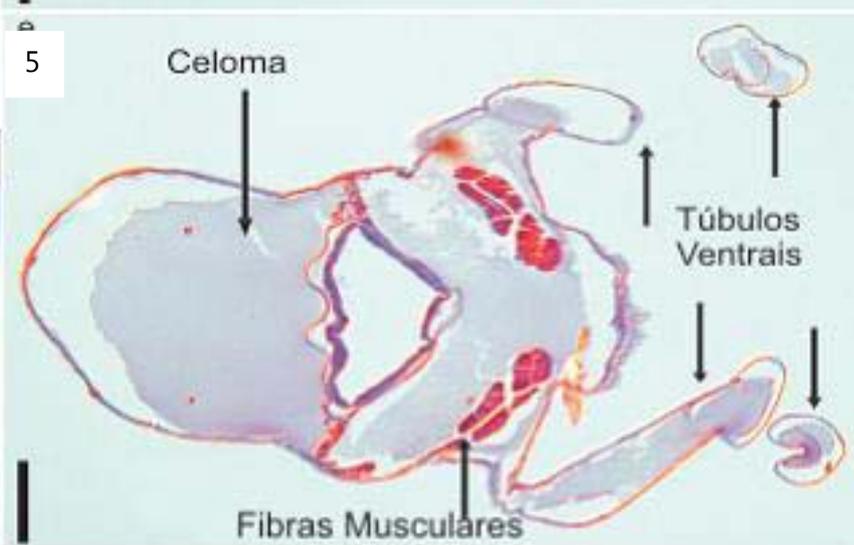
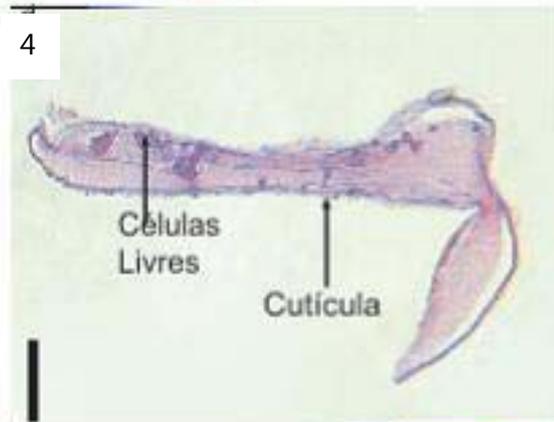
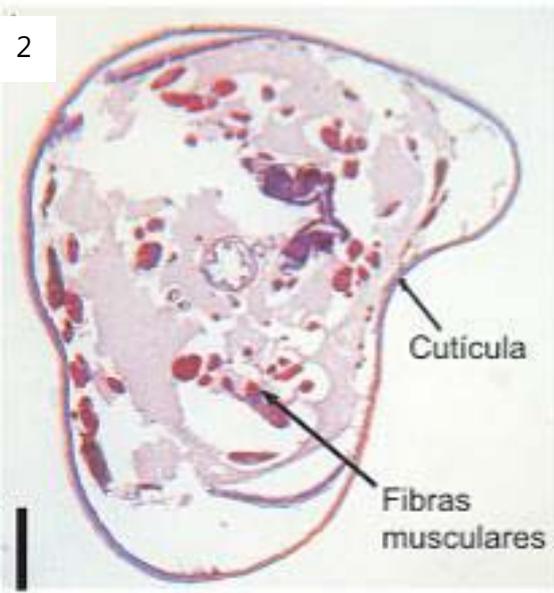
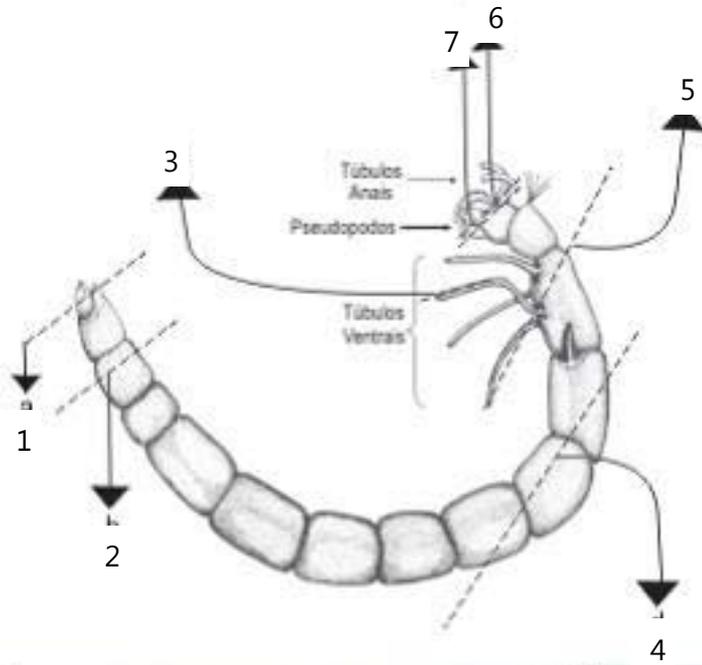
Desenho 2. Desenho esquemático de uma larva de Chironomidae do gênero *Chironomus* gr. *decorus*, mostrando a região cefálica (RC), localização dos túbulos abdominais (VT) e túbulos anais (AT) e pseudópodes (P) (Segundo DIAS et al., 2007). **Foto 8 (1-5). Micrografias do protista ciliado *Rhabdostyla chironomi* epibionte de *Chironomus* gr. *decorus*.** 1. Vista da região posterior do quironomídeo evidenciando uma alta infestação nos túbulos ventrais por 67 ciliados epibiontes (pontas de seta). 2. Eletromicrografia de varredura de um espécime de *Chironomus* gr. *decorus* evidenciando dois ciliados epibiontes aderidos aos túbulos ventrais (pontas de seta). 3. detalhe dos túbulos ventrais da larva com 67 ciliados aderidos à sua superfície externa. 4. Detalhe do epibionte *R. Chironomi* observado sob microscópio de campo claro. e. Detalhe do epibionte *R. Chironomi* observado sob contraste diferencial interrefencial (DIC). 5. Eletromicrografia de varredura de um ciliado epibionte. **Ma:** Macronúcleo, **Vc:** Vacúolo Contrátil, **MO:** Membrana Ondulante, **P:** Pedúnculo, **E:** estriações. Barras = 1-2: 500µm, 3: 100 µm, 4-5: 25 µm.



FOTOGRAFIA 9

Foto 9 (1-7). Cortes histológicos de *Chironomus gr. decorus*. 1. Detalhe de cortes transversais da larva: da região cefálica (a), segmento corporal (b), túbulos (c) e pseudópodes (d), evidenciando as variadas espessuras observadas para a cutícula nestes segmentos corporais. 2. corte longitudinal da região anterior da larva evidenciando fibras musculares e o espessamento da cutícula. 3. corte transversal da região mediana do corpo da larva evidenciando vários feixes musculares e a luz do intestino. 4. Corte longitudinal do túbulo ventral da larva destacando as células livres e a hemolinfa no interior do túbulo. 5. Corte transversal da região posterior do corpo da larva evidenciando os dois pares de túbulos ventrais, e a presença de fibras musculares. 6-7. Cortes longitudinais na porção final do corpo da larva, evidenciando musculatura densa e os pseudópodes sem fibras musculares.

Barras = 1-2: 50µm, 3: 30 µm, d- 20 µm., 4-7: 50 µm.



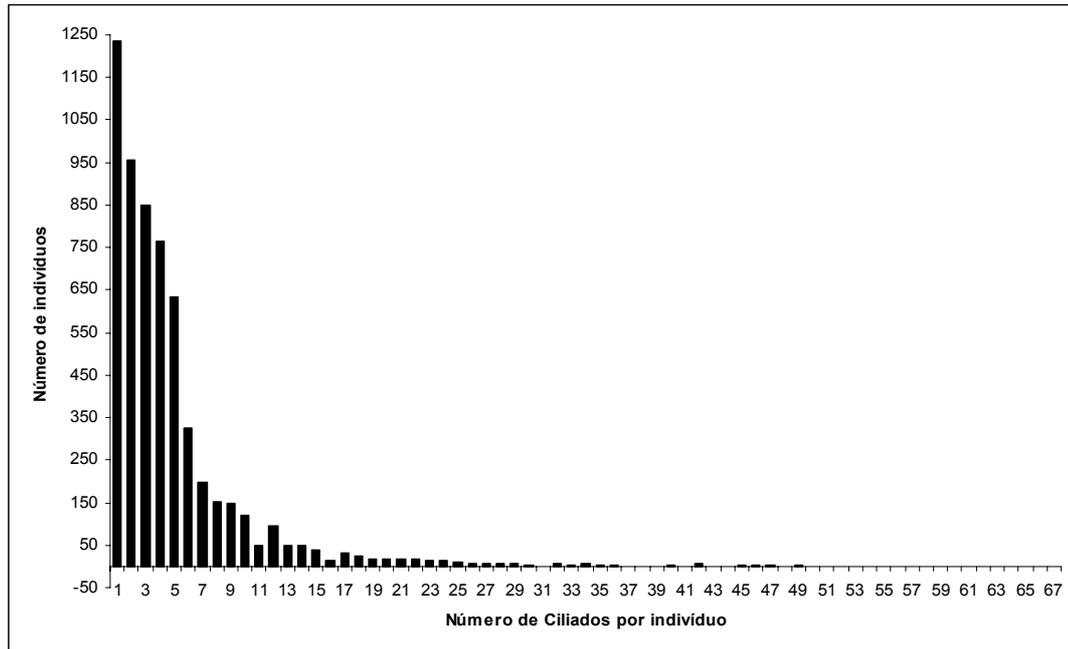


Gráfico 31. Intensidade de colonização de *Rhabdostyla chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus*. A intensidade variou de 1 a 67 ciliados por hospedeiro.

6.3 Discussão

A espécie *R.chironomi*, quando descrita, foi registrada sobre os túbulos respiratórios de quironomídeos em um lago de água salobra em Kiel, na Alemanha (KAHL, 1935). O autor não especificou em qual tipo de túbulo respiratório (ventral ou anal) e nem em qual táxon de quironomídeo os ciliados foram encontrados. DIAS et al. (2007) registraram esta espécie de ciliado sobre os túbulos ventrais de *Chironomus* gr. *decorus* no mesmo córrego do presente estudo.

A predileção por sítios de localização no hospedeiro é uma característica das espécies que compõem as comunidades epibióticas e reflete suas necessidades ecológicas, que são determinadas tanto pelas condições ambientais quanto pela biologia, ecologia, fisiologia e comportamento dos hospedeiros (FENCHEL, 1965; FERNANDEZ-LEBORANS et al., 1997). Segundo GÖRTZ (1996), alguns ciliados epibiontes são altamente específicos quanto ao sítio de localização, sendo os hospedeiros não apenas possíveis substratos a serem colonizados na fase sésil do ciclo de vida dos epibiontes, mas organismos aos quais os epibiontes estariam estrutural e fisiologicamente adaptados. A localização de *R. chironomi* exclusivamente sobre os túbulos ventrais das larvas de *Chironomus* gr. *decorus* pode estar relacionada com duas

características fisiológicas do hospedeiro, a troca gasosa por difusão e a excreção de compostos nitrogenados, ambas possivelmente realizadas por estes túbulos.

O maior suprimento de oxigênio em regiões específicas dos hospedeiros tem sido apontado como um importante fator responsável pela localização de ciliados em sítios de colonização específicos (SMITH, 1986; DIAS et al., 2009), tal como registrado no presente estudo. As trocas gasosas nas larvas de *Chironomus* sp. ocorrem por difusão pela superfície do corpo, principalmente nos túbulos ventrais e anais (MERRITT e CUMMINS, 1984; BRACKENBURRY, 2000). Estes túbulos apresentam cutícula menos espessa que outros compartimentos corporais, como foi demonstrado nos cortes histológicos analisados no presente estudo. As larvas de quironomídeos movimentam vigorosamente a região posterior do corpo, em comportamento denominado de “natação respiratória” (BRACKENBURRY, 2000), que amplia significativamente o fluxo de água nesta região viabilizando a difusão do oxigênio dissolvido na água para dentro dos túbulos abdominais. O estudo histológico revelou maior concentração e espessura de feixes musculares observados em cortes transversais da região posterior das larvas quando comparados com os cortes da região anterior, o que corrobora a informação da movimentação principalmente da região posterior dessas larvas (MERRITT e CUMMINS, 1984; BRACKENBURRY, 2000).

Estudos sobre a colonização por ciliados em sítios específicos de hospedeiros invertebrados têm demonstrado que ciliados peritríqueos epibiontes, por serem, em sua grande maioria, bacterívoros colonizam com maior frequência apêndices expostos a maior quantidade de alimento (EVANS et al., 1979; HENEERY e RIDGEWAY, 1979; BALDOCK, 1986; ROBERTS e CHUBB, 1998; ÓLAFSDÓTTIR e SVAVARSSON, 2002; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2005; FERNANDEZ-LEBORANS e GABILONDO, 2007; DIAS et al., 2009), tal como os túbulos abdominais de *Chironomus* gr. *decorus*. Segundo SHOBANOV (2001) os túbulos abdominais além de estarem envolvidos nas trocas respiratórias realizam excreção de compostos nitrogenados que favorecem o desenvolvimento de comunidades bacterianas nesta micro-região. O acúmulo de bactérias pode favorecer, portanto, a colonização preferencial de *R. chironomi* nos túbulos ventrais de *Chironomus* gr. *decorus*, já que são ciliados peritríqueos que se alimentam de bactérias (MADONI, 2005)

A alta especificidade por sítio de localização e a baixa intensidade de colonização de *R. chironomi* sobre *Chironomus* gr. *decorus* podem estar relacionadas com o sucesso e/ou tempo co-evolutivo desta relação. Segundo WAHL e MARK (1999) relações altamente específicas,

embora raras na literatura, podem estar relacionadas com uma colonização ligada ao bem estar do basibionte, tal como a baixa intensidade de ciliados epibiontes relatada no presente estudo, e com a capacidade do ciliado de reconhecer e se adaptar às condições impostas pelo basibionte, tal como os aspectos morfofisiológicos dos túbulos ventrais discutidos anteriormente.

Embora altas intensidades de colonização tenham sido relatadas em baixas frequências, no presente trabalho, foram registradas larvas com até 67 ciliados. Apesar de muitos ciliados epibiontes não serem nocivos aos seus hospedeiros, em altas densidades podem diminuir sua fecundidade (GREEN, 1974; HENEERY e RIDGEWAY, 1979; WEISSMAN et al., 1993; GILBERT e SCHRODER, 2003), seu tempo de sobrevivência (XU e BURNS, 1991; GILBERT e SCHRODER, 2003), causar-lhes lesões (SCHUWERACK et al., 2001), torná-los mais suscetíveis à predação (WILLEY et al., 1993), alterar sua locomoção (HENEERY e RIDGEWAY, 1979; GÖRTZ, 1996), competir com ele por alimento (KANKAALA e ELORANTA, 1987) e aumentar a demanda energética do hospedeiro (WEISSMAN et al., 1993).

Alguns estudos têm demonstrado problemas causados pela colonização por ciliados epibiontes em regiões onde ocorrem trocas gasosas, reduzindo severamente a captação de oxigênio nestes microhabitats (SCHUWERACK et al. 2001). Segundo SCHUWERACK et al. (2001) altas densidades de ciliados colonizando o epitélio branquial do crustáceo *Potamonautes warreri* promove o crescimento das populações bacterianas nesta região, causando espessamento do epitélio branquial e conseqüente diminuição do canal hemal, com conseqüente redução da captação de oxigênio pelas branquiais colonizadas. De acordo com FERNANDEZ-LEBORANS et al. (2006) a colonização por ciliados em altas densidades, causa destruição do epitélio branquial de decápodes, além destes epibiontes poderem se tornar parasitos oportunistas em tanques de carcinicultura com baixas concentrações de oxigênio.

A alta especificidade do ciliado epibionte *R. chironomi* pelos túbulos ventrais de *Chironomus* gr. *decorus* suscita a necessidade de ampliação de estudos que investiguem a função dos túbulos abdominais presentes em alguns táxons de Chironomidae, bem como estudos sobre os aspectos co-evolutivos desta relação e dos pré-requisitos conceituais de uma relação epibiótica.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo ampliou as informações acerca da morfologia do ciliado *Rhabdostyla chironomi*, a partir de observações *in vivo*, com uso de microscopia de contraste interferencial diferencial, e de dados biométricos, usado tanto informações *in vivo* quanto de espécimes impregnados pelo protargol e ainda usando a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Entretanto, estudos mais detalhados, incluindo análises moleculares, são necessários para determinar se as populações de *R. chironomi* coletadas na Alemanha e Brasil podem ser consideradas uma única unidade genética ou não, e se este ciliados constitui uma espécie com ampla distribuição geográfica. O estudo desta população ressalta a falta de informações existente na literatura sobre os aspectos morfológicos dos ciliados do gênero *Rhabdostyla*, sendo raros estudos que utilizem técnicas de impregnação pela prata e de microscopia eletrônica neste grupo de ciliados peritríqueos.

Foi observado, um padrão heterogêneo na ocorrência espacial e temporal da prevalência de infestação de *R. chironomi* sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus*, indicando que a disponibilidade de recursos alimentares, a abundância de hospedeiros e a pluviosidade são fatores que contribuem para oscilação na dinâmica da população de ciliados neste sistema lótico.

No presente trabalho concluiu-se também que mudanças no uso e ocupação do solo da sub-bacia do córrego São Pedro, tal como revelado pelos parâmetros físico-químicos da água, têm impacto não só na estrutura e composição da fauna de quironomídeos, mas também na prevalência de infestação e abundância de ciliados epibiontes neste ecossistema. A ampliação do conhecimento a cerca dos fatores ecológicos responsáveis pela oscilação da dinâmica da relação epibiótica é essencial para a proposição de futuros índices para a avaliação da qualidade da água em ecossistemas lóticos, visto que o desenvolvimento de tecnologias para o gerenciamento dos recursos hídricos são alguns dos grandes desafios que o desenvolvimento econômico enfrentará no próximo século.

Foi relatada ainda, a alta especificidade do ciliado epibionte *R. chironomi* pelos túbulos ventrais de *Chironomus* gr. *decorus*, e a baixa intensidade média de infestação, ressaltando a necessidade de ampliação de estudos que investiguem a função dos túbulos abdominais

presentes em alguns táxons de Chironomidae assim como ressaltada a necessidade de estudos que apontem os fatores intrínsecos a esta relação epibiótica.

O presente estudo elucidou, alguns aspectos sobre a morfologia e ecologia destes protistas ciliados pouco estudados e ainda evidenciou o grande potencial da associação destes ciliados em larvas quironomídeos no monitoramento de sistemas aquáticos, mediante a realização de estudos em diferentes sistemas lóticos com características ambientais distintas.

REFERÊNCIAS

- ALADRO-LUBEL, M. A.; M. E. MARTINEZ-MURILO. Epibiotic protozoa (Ciliophora) on a community of *Thalassia testudinum* Banks ex Konig in a coral reef in Veracruz, Mexico. **Aquatic Botany**. Amsterdam. 65: 239-254. 1999.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (Apha). **Standards Methods for the Examination of water and wastewater**. 17^o ed. Washington, 1992.
- AZRINA, M. Z. et al. Anthropogenic impacts on the distribution and biodiversity of benthic macroinvertebrates and water quality of the Langat River, Peninsular Malaysi. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. New York. 64:337-347. 2006.
- BALDOCK, B. M. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. **Hydrobiologia**. Netherlands.132: 125-131. 1986.
- BARBOSA, F. A. R.; M. CALLISTO. Rapid assessment of water quality and diversity of benthic macroinvertebrates in the upper and middle Paraguay River using the Aqua-Rap approach. **Verh Internat Verein Limnol**. Germany. 27: 2688-2692. 2000.
- BAREA-ARCO, J. et al. Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont and its host *Daphnia pulex*. **Limnology and Oceanography**. Baltimore. 46(4): 871-881. 2001.
- BAZZANTI, M. Ecological requirements of Chironomids (Diptera: Chironomidae) on the soft bottom of the River Arrone, Central Italy. **Journal of Freshwater Ecology**. La Crosse. 15: 397-409. 2000.
- BEESON, D. R. et al. Effects of pollutants on freshwater organisms. **Water Environment Research**. Alexandria 70(4): 921-931. 1998.
- BEHMER, O. A.; E. M. C. TOLORA. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e patologia**. Edart: São Paulo Livraria e Editora LTDA. São Paulo, 241p. 1974.

- BRACKENBURY, J. Locomotory modes in the larva and pupa of *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae). **Journal of Insect Physiology**. Oxford 46: 1517-1527. 2000.
- BUSH, J. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**. Lawrence. 83: 575-583. 1997.
- CALLISTO, M. et al. Diversity and biomass of Chironomidae (Diptera) larvae in an impacted coastal lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. São Carlos 62 (1): 77-84. 2002.
- CARMANN, K. R.; F. DOBBS. Epibiotic microorganisms on copepods and other marine crustaceans. **Microscopy Research and Technique**. New York 37: 116-135. 1997.
- CHIAVELLI, D. A. et al. Host preference, seasonality, and community interactions of zooplankton epibionts. **Limnology and Oceanography**. Baltimore 38(3): 574-583. 1993.
- COOK, J. A.; CHUBB, J. C. E J. VELTKAMP. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. **Freshwater Biology**. Oxford. 39: 423-438. 1998.
- CORLISS, J. O. **The ciliated protozoa**. Pergamon Press. London, 455p. 1979.
- CURDS, C.R. et al. **British and other freshwater Ciliated Protozoa. Part II**. Cambridge University Press, London. 1983.
- CZAPIK, A. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemsza River. **Acta Hydrobiologica**. Krakow. 24(1): 29-37. 1982.
- DAHL, J. K. et al. Detection of organic pollution of streams in southern Sweden using benthic macroinvertebrates. **Hydrobiologia**. Netherlands. 516: 161–172. 2004.
- DAVIES, L. J.; H. A. HAWKES. Some effects of organic pollution on the distribution and seasonal incidence of Chironomidae in riffles in the River Cole. **Freshwater Biology**. Oxford. 11(6): 549 – 559. 1980.
- DIAS, R. J. P. et al. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) Epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. São Carlos 67(4): 783-785. 2007.
- DIAS, R. J. P. et al. Occurrence of peritrich ciliates on limnic oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri* in Neotropics. **Journal of Natural History**. London. 43(1): 1-15. 2009.

- DIAS, R. J. P. et al. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of southeast Brazil. **Journal of Natural History**. London. 42(19): 1409 – 1420. 2008.
- DIECKMANN, J. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **European Journal of Protistology**. Stuttgart. 31: 372-382. 1995.
- DYER, S. D. et al. Determining the influence of habitat and chemical factors on instream biotic integrity for a Southern Ohio watershed. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**. Netherlands. 6: 91–110. 1998.
- EPLER, J. H. **Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of Florida**. Florida: Department of Environmental Regulation, 427p. 1992.
- EVANS, M. S. et al. Seasonal occurrence of *Tokophrya quadripartita* (Suctorina) as epibionts on adult *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) in southeastern Lake Michigan. **Transactions of the American Microscopical Society**. Lawrence 98(1): 102-109. 1979.
- FARREN, M. H.; D. A. DONOVAN. Effects of sponge and barnacle encrustation on survival of the scallop *Chamys hastate*. **Hydrobiologia**. Netherlands. 612:21-27. 2007.
- FENCHEL, T. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus* J.G. Fabricius. **Ophelia**. Helsinki. 2: 281-303. 1965.
- FERNANDEZ-GALIANO, D. Silver impregnation of ciliated protozoa: procedure yielding good results with the pyridinated silver carbonate method. **Transactions of the American Microscopical Society**. Lawrence. 95(4): 557-560. 1978.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. et al. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater shrimp *Caridina* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from the Malili lake system on Sulawesi (Indonesia). **Journal of Natural History**. London. 40(35-37): 1983-2000. 2006.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; A. NOVILLO. Protozoan communities and contamination of several fluvial systems. **Water Environment Research**. Alexandria. 68(3):311-319. 1996.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; J. C. SORBE . A new chonotrichid, protozoan, epibiont of a bathyal mysid from the Capbreton canyon (SE Bay of Biscay). **Cytobios**. Cambridge. 100: 73-83. 1999.

- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; M. L. TATO-PORTO. A review of the species of Protozoan Epibionts on Crustaceans. I. Peritrich ciliates. **Crustaceana**. Leiden. 73(6): 643-683. 2000.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; M. L. TATO-PORTO. Distribution of the *Ophryodendron mysidacii* (Ciliophora, Suctorina) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). **Journal of Natural History**. London. 36: 505-513. 2002.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; R. GABILONDO. Inter-annual variability of the epibiotic community on *Pagurus bernhardus* from Scotland. **Estuarine Coastal and Shelf Science**. London. 7: 1-19. 2005.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; R. GABILONDO. Invertebrate and protozoan epibionts on the velvet swimming crab *Liocarcinus puber* (Linnaeus, 1767) from Scotland. **Acta Zoologica**. Stockholm. 88: 21-29. 2007.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. Protozoan epibionts on *Mysis relicta* Loven, 1862 (Crustacea, Mysidacea) from Lake Lūsiai (Lithuania). **Acta Zoologica**. Stockholm. 85: 101–112. 2004.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. et al. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). **Invertebrate Biology**. Lawrence. 116: 171-177. 1997.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. et al. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). **Invertebrate Biology**. Lawrence. 116: 171-177. 1997.
- FOISSNER, W. Peritriche ciliaten (Protozoa: Ciliophora) aus alpinen kleingewässern. **Systematische Zoologie**. Stuttgart. 1979.106: 529-558.
- FOISSNER, W.; H. BERGER. 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**. Oxford. 35: 375-498. 1996.
- FOISSNER, W. et al. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida**, Vol 5/92. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft. Munich 502. 1992.

- FOISSNER, W. et al. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates**. Bavariae State Office for Water Mannagement, Munich. 793p. 1999.
- FOISSNER, W. et al. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. **European Journal of Protistology**. Stuttgart. 39(4): 365-372. 2003.
- FRICK, M. G. et al. New records and observations of epibionts from loggerhead sea turtles. **Southeast Naturalist**. Washington. 3(4): 613-620. 2004.
- GALDEAN, N. et al. Lotic ecosystems of Serra do Cipó, southeast Brazil: water quality and a tentative classification based on the benthic macroinvertebrate community. **Aquatic Ecosystem Health and Management**. Duluth. 3: 545-552. 2000.
- GILBERT, J. J.; T. SCHRODER. The ciliate epibiont *Epistylis pigmaeum*: selection for zooplankton hosts, reproduction and effect on two rotifers. **Freshwater Biology**. Oxford. 48: 878-896. 2003.
- GOODRICH, J. P.; T. L. JAHN. Epizoic Suctoria (Protozoa) from turtles. **Transactions of the American Microscopical Society**. Lawrence. 62: 245-253. 1943.
- GÖRTZ, H. D. Symbiosis in ciliates, pp. 441-462. In: HAUSMANN, K. e P.C. BRADBURY (Eds.). **Ciliates: cells as organisms**. Gustav Fischer, Stuttgart, 485p. 1996.
- GREEN, J. Parasites and epibionts of Cladocera. **Transactions of the Zoological Society of London**. London. 32: 417-515. 1974.
- HANAMURA, Y. 2000. Seasonality and infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. **Hydrobiologia**. Netherlands. 427: 121-127. 1974.
- HENEERY, M. S.; B. T. RIDGEWAY. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution. **Transactions of the American Microscopical Society**. Lawrence. 98(4): 495-508. 1979.
- JAYASREE, L. et al. Epibionts and parasites of *Macrobrachium rosenbergii* and *Metapenaeus dobsoni* from Gosthani estuary. **Journal of Natural History**. London. 35: 157-167. 2001.
- KAHL, A. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-885. In: **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p. 1935.

- KANKAALA, P.; P. ELORANTA. Epizootic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake. **Oecologia**. Berlin. 73: 203-206. 1987.
- KUDO, R. R. **Protozoology**. Illinois, Charles C. Thomas, 786p. 1966.
- KUSUOKA, Y; Y. WATANABE. Growth and survival of peritrich ciliates in an urban stream. **Oecologia**. Berlin. 73: 16-20. 1987.
- LAIRD, M. Parasites of Singapore mosquitoes with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology**. Tempe. 40: 206-221. 1959.
- LATUF, M. O. Diagnóstico das águas superficiais do Córrego São Pedro, Juiz de Fora–Minas Gerais. **Geografia**. Londrina. 13(1)18-55. 2004.
- LAUDIEN, J.; M. WAHL. Indirect effects of epibiosis on host mortality: seainstar predation on differently fouled mussels. **Marine ecology**. Berlin. 20(1): 35-47. 2004.
- LENCIONI, V.; B. ROSSARO. Microdistribution of chironomids (Diptera: Chironomidae) in Alpine streams: an autoecological perspective. **Hydrobiologia**. Netherlands. 33 (5): 61–76. 2005.
- MADONI, P.; M. G. ROMEO. Acute toxicity of heavy metals towards freshwater ciliated protists. **Environmental Pollution**. London. 141 (1): 1-7. 2006.
- MADONI, P.; N. BASSANINI. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology**. Stuttgart. 35: 391-402. 1999.
- MADONI, P. Ciliated protozoan communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of Po river (northern Italy). **Hydrobiologia**. Netherlands. 541: 55-69. 2005.
- MADONI, P.; BARGHIROLI, S. Changes in the ciliate assemblage along a fluvial system related to physical, chemical and geomorphological characteristics. **European Journal of Protistology**. Stuttgart. 43: 67-75. 2007.
- MADONI, P. et al. Toxic effect of heavy metals on the activated sludge protozoan community. **Water Research**. New York. 30(1): 135-141. 1996.

- MARQUES, M. M.; F. BARBOSA. Na fauna do fundo, o retrato da degradação. **Ciência Hoje**. São Paulo. 175: 72-75. 2001.
- MARQUES, M. S. M., et al. Distribution and abundance of Chironomidae (Diptera, Insecta) in an impacted watershed in south-east Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**. Rio de Janeiro. 59:553-561. 1999.
- MAYÉN-ESTRADA, R.; M. A. ALADRO-LUBEL. Distribution and prevalence of 15 species of epibiont peritrich ciliates on the crayfish *Camabarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 in lake Pátzcuaro, Michoacán, México. **Crustaceana**. Leiden. 74(11): 1213-1224. 2002.
- MAYÉN-ESTRADA, R.; M. A. ALADRO-LUBEL. Distribution and prevalence of 15 species of epibiont peritrich ciliates on the crayfish *Camabarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 in lake Pátzcuaro, Michoacán, México. **Crustaceana**. Leiden. 2002. 74(11): 1213-1224.
- MAYÉN-ESTRADA, R.; M. A. ALADRO-LUBEL. Epibiont peritrichids (Ciliphora: Peritrichida: Epistylidae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. **Journal of Crustacean Biology**. Woods Hole, Mass. 21 (2): 426-434. 2001.
- MERRITT, R. W.; K. W. CUMMINS. **An introduction to the aquatic insects of the North America**. Dubuque, Kendall/Hunt Publish Company, 772p. 1984.
- MOSS, A. G. et al. Protistan epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. **Hydrobiologia**. Netherlands. 451: 295-304. 2001.
- NENNINGER, U. Die Peritrichen der Umgebung von Erlangen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Wirtsspezifität. **Zoologische Jahrbuecher. Abteilung fuer Systematic Oekologie und Geographie der Tiere**. Germany. 77 (3-4): 169-266. 1948.
- NOLAND, L. E.; M. GOGJICS. **Ecology of free-living Protozoa**. In: Chen, TT ed., Research in Protozoology, 12, Pergamon Press, London, pp215-266. 1967.
- NORRIS, R.; M. THOMs. What is river health? **Freshwater Biology**. Oxford. 41: 197-209. 1999.

- ÓLAFSDÓTTIR, S. H.; J. SVAVARSSON. Ciliate (Protozoa) of deep-water *Asellote isopods* (Crustacea): pattern and diversity. **Journal of crustacean biology**. Woods Hole, Mass. 22(3): 607-618. 2002.
- OLSEN, D. A.; C. R. TOWNSEND. Hyporheic community composition in a gravel-bed stream: influence of vertical hydrological exchange, sediment structure and physicochemistry. **Freshwater Biology**. Oxford. 48: 1363–1378. 2003.
- PAUL, M. J.; J. L. MEYER. Streams in the Urban Landscape. *Annual Review of Ecology and Systems*. Palo Alto. 32:333–65. 2001.
- PICCINNI, E.; J. GUTIÉRREZ. Protists as bioindicators in the environment. **Protistological Actualities**. Clermont-Ferrand. 1: 173-184. 1995.
- PRATT, J. R.; J. CAIRNS JR. Functional groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems. **Journal of Protozoology**. Lawrence. 32: 415-422. 1985.
- PRECHT, H. Epizoen der Kieler Bucht. **Nova Acta Leopoldina**. Halle. 3(15): 405-475. 1935.
- PRIMC, B. Trophic relationship of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologum**. Zagreb. 90(3): 349-353. 1988.
- PRIMC-HABDIJA, B. et al. Seasonal changes in trophic structure of periphytic ciliates in relation to discharge regime. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie**. Germany. 26:1116-1119. 1998.
- REAL, M.; N. PRAT. Factors influencing the distribution of chironomids and oligochaetes in profundal areas of spanish reservoirs. **Netherlands Journal of Aquatic Ecology**. Germantown. 26(2-4):405-410. 1992.
- REGALI-SELEGHIM, M. H.; M. J. L. GODINHO. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research**. London. 26(5): 501-508. 2004.
- RIGHI, G. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil and its epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). **Zoologischer Anzeiger**. Germany. 191(5/6): 295-299. 1973.

- ROBERTS, G. N.; J. C. CHUBB. The distribution and location of the symbiont *Lagenophrys aselli* on the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. **Freshwater Biology**. Oxford. 40:671-677. 1998.
- ROSATI, G. et al. Epixenosomes: Peculiar Epibiontes of the Hypotrich Ciliate *Euplotidium itoi* Defend Their Host against Predators. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. Lawrence. 46(3): 278-282. 1999.
- SANDFORD, F. Population dynamics and epibiont associations of hermit crabs (Crustacea: Decapoda: Paguroidea) on Dog Island, Florida. **Memoirs of Museum Victoria**. Melbourne. 60(1): 45-52. 2003.
- SCHUWERACK, P. M. M. et al. Pathological and physiological changes in the south African freshwater crab *Potamonautes warreri* Calman induced by microbial gill infestations. **Journal of Invertebrate Pathology**. San Diego. 77: 269-279. 2001.
- SERVIA, M. J. et al.. Seasonal and interannual variations in the frequency and severity of deformities in larvae of *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) and *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) collected in a polluted site. **Environmental Monitoring and Assessment**. Dordrecht. 64:617-626. 2000.
- SHOBANOV, N. A. Function of ventral and lateral processes in larvae of *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). **Journal of evolutionary Biochemistry and Physiology**. New York. 37(4): 290-292. 2001.
- SILVA-NETO, I. D. Observations sur l'ultrastructure du cilié hétérotriche, *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, épibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles Zoologie**. Paris. 15: 49-62. 1994.
- SIMIĆ, V.; S. SIMIĆ. Structure of the macrozoobenthos as an indicator of different types of pollution in running waters. **Archives of Biology Science**. Belgrade. 54(3-4): 79-86. 2002.
- SLEIGH, M. **Protozoa and other Protists**. Chapman and Hall, New York. 399p. 1988.
- SMITH, M. E. Distribution Patterns and Seasonal Occurrence of *Rhabdostyla* sp. on *Dero nivea* (Oligochaeta, Naididae). **American Midland Naturalist**. Notre Dame. 116: 348-355. 1986.

- SOLA, A. et al. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia**. Netherlands. 24: 237-252. 1996.
- SONG, W. Descriptions of seven new species of peritrichs on *penaeus orientalis*. **Acta Zootaxonomica Sinica**. Beijing. 11(3): 225-235. 1986.
- SONG, W. A new genus and two new species of marine peritrichous ciliates (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida) from Qingdao, China. **Ophelia**. Helsinki 47: 203-214. 1997.
- SPARAGANO, O.; C. A. GROLILÈRE. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Applique**. Germany. 1: 43-62. 1991.
- SVAVARSSON, J.; S. H OLAFSDÓTTIR. Foraminiferan (Protozoa) epizoites on deep-water arcturids (Crustacea, Isopoda). **Hydrobiologia**. Netherlands. 440: 239-247. 2000.
- TAYLOR, P. D. A new terminology for marine organisms inhabiting hard substrates. **Palaios**. Tulsa. 17: 522-525. 2002.
- THRELKELD, S. T. et al. The organization of zooplankton epibiont communities. **Trends in Ecology Evolution**. Cambridge. 8(9): 317-321. 1993.
- TRIVINHO-STRIXINO, S.; G. STRIXINO. **Larvas de Chironomidae (Diptera) do Estado de São Paulo: Guia de identificação e diagnoses dos gêneros**. PPG-ERN/Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 299p. 1995.
- UTZ L R. P. First record of *Epistylis plicatilis* (Ciliophora: Peritrichia) attached to *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Gastropoda) in southern Brazil. **Zootaxa**. Auckland. 1454:49-57. 2007.
- UTZ, L. R. P.; W. COATS. Spatial and temporal patterns in the occurrence of peritrich ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. San Francisco. 52: 236-244. 2005.
- UTZ, L. R. P.; W COATS. The role of motion in the formation of free-living stages and attachment of the peritrich epibiont *Zoothamnium intermedium* (Ciliophora, Peritrichia). **Biociências**. Porto Alegre. 13 (1):69-74. 2005b.

- WAHL, M.; H. SONNICHSEN. Marine epibiosis. IV. The periwinkle *Littorina littorea* lacks typical antifouling defenses - why are some populations so little fouled? **Marine Ecology Progress Series**. Morehead. 88: 225-235. 1992.
- WAHL, M.; M. E. HAY. Associational resistance and shared doom: effects of epibiosis on herbivory. **Oecologia**. Berlin.102: 329-340. 1995.
- WAHL, M.; O. MARK. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. **Marine Ecology Progress Series**. Morehead. 187: 59-66. 1999.
- WAHL, M. Marine Epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series**. Morehead. 58: 175-189. 1989.
- WAHL, M. et al. Effects of epibiosis on consumer-prey interactions. **Hydrobiologia**. Netherlands. 355: 49-59. 1997.
- WEISSMAN, P. et al. The effect of peritrich ciliates on the production of *Acartia hudsonica* in Long Island Sound. **Limnology and Oceanography**. Baltimore. 38: 613-622. 1993.
- WILCOCK, R. J. et al. Water quality of a lowland stream in a New Zealand dairy farming catchment. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**. Wellington. 33: 683-696. 1999.
- WILLEY, R. L.; S. T. THRELKELD. Colonization, interaction, and organization of cladoceran epibiont communities. **Limnology and Oceanography**. Baltimore. 38(3):584-591. 1993.
- WILLEY, R. L. et al. Planktivore effects on zooplankton epibionte community: epibionte pigmentation effects. **Limnology and oceanography**. Baltimore. 38(8): 1818- 1822. 1993.
- XU, Z; C. W. BURNS. Effects of the epizoic ciliate, *Epistylis daphniae* on growth, reproduction and mortality of *Boeckella triarticulata* (Thomson) (Copepoda: Calanoida). **Hydrobiologia**. Netherlands. 209: 183-189. 1991.
- XU, Z. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina macrocopa* in an urban stream. **Journal of Invertebrate Pathology**. London. 60: 197-200. 1992.
- ZAGON, I., 1971. Scanning electron microscope observation on some life history stages of *Carchesium polypinum* (Ciliata, Peritrichia). **Journal of Protozoology**. Lawrence. 18(2):328-332.