



# SELEÇÃO DE MICROALGAS BENTÔNICAS POR COPEPODA HARPACTICOIDA.

P.J.P. Santos<sup>1</sup>

A.N. Moura<sup>2</sup>; R.L. Trindade<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Zoologia, Av. Prof. Moraes Rêgo s/n, 50670 - 420, Recife, Pernambuco. <sup>2</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171 - 900, Recife, Pernambuco Email - pjp.santos@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Na natureza, a eficiência com que um organismo utiliza uma determinada fonte de alimento depende não somente da habilidade do consumidor de digerir o material, mas também do alimento específico disponível e de sua abundância (Hicks & Coull, 1983). Entretanto, a possibilidade de consumir determinados alimentos (por exemplo, os maiores) pode não somente depender da disponibilidade dos mesmos, mas também da morfologia e do tamanho de seus consumidores (De Troch *et al.*, 006). Em laboratório, Vanden Berghe & Bergmans (1981), testando três espécies de *Tisbe* mostraram que *Tisbe furcata* apresentou preferência por bactérias enquanto as outras duas espécies (*Tisbe holothuriae* e *Tisbe battagliai*) não apresentaram seletividade. Em campo, Carman & Thistle (1985), através de marcações radioativas para bactérias e microalgas verificaram que três espécies de Copepoda utilizam diferentes recursos alimentares. *Thompsonula hyaenae* alimenta - se de microalgas, *Halicyclops coulli* alimenta - se de bactérias e *Zausodes arenicolus* alimenta - se de microalgas e bactérias. Decho & Castenholz (1986), utilizando métodos semelhantes, demonstraram que a espécie *Leptocaris brevicornis* ingere diatomáceas e organismos heterotróficos, não assimilando diatomáceas, já a espécie *Mesochra lilljeborgi* ingere *Spirulina* sp. (cianobactéria), *Thiocapsa* sp. (bactéria) e organismos heterotróficos, apenas assimilando a bactéria *Thiocapsa* sp. Pace & Carman (1996), através de marcações radioativas e análise do conteúdo intestinal sugeriram que as quatro espécies de Harpacticoida estudadas *Coullana* sp., *Cletocamptus deitersti*, *Microarthridion littorale*, e *Pseudostenhelix wellsii* exploram diferentes microalgas. Outros estudos em campo (Alongi, 1988; Sandulli & Pinckney, 1999), porém, não detectaram nenhuma correlação entre os Harpacticoida e suas possíveis fontes alimentares.

Recentemente, De Troch *et al.*, (2006), através de marcação de <sup>13</sup>C testaram se tamanho morfológico de quatro espécies de Copepoda Harpacticoida influenciava a seleção da diatomácea *Seminavis robusta*, cultivada em laboratório em

diferentes tamanhos, e sugeriram que a seletividade de diatomáceas não esteve relacionada ao seu tamanho corporal. Já Azovsky *et al.*, (2005), mostraram que a seletividade dos Harpacticoida pode ser influenciada pelo tamanho da sua abertura oral.

A maioria dos estudos de alimentação do microfítobentos pelos Copepoda Harpacticoida é baseada em métodos de marcação radioativa ou análise do pigmento em seu intestino. Embora estas técnicas sejam uma evidência importante da fonte de produção primária para níveis mais altos, elas pouco informam sobre as interações específicas entre os produtores primários e consumidores (pastadores). Portanto, o foco principal destes estudos é o cálculo do consumo de alimento total, e a contribuição de diferentes espécies de microalgas na dieta de Harpacticoida permanece praticamente desconhecida.

## OBJETIVOS

Este trabalho pretende verificar em laboratório quais espécies de microalgas disponíveis no ambiente natural são selecionadas por quatro espécies de Copepoda Harpacticoida isoladas do mesmo ambiente.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sedimento superficial do mediolitoral e de água da região estuarina do Canal de Santa Cruz (Pernambuco) foram coletadas no dia 10 de agosto de 2006. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos para transporte ao laboratório para a realização do experimento. A amostra de sedimento coletada para o experimento foi dividida em duas partes. A primeira foi utilizada para separação de adultos de Copepoda Harpacticoida. Para tal o sedimento foi peneirado em malha de 0,250mm e o material retido colocado em placas de Petri e imediatamente levado ao microscópio estereoscópico onde foram separadas 30 fêmeas de Harpacticoida ovadas. Em seguida cada fêmea foi colocada

em recipiente de vidro com água filtrada em papel de filtro e com salinidade 33UPS proveniente do Canal de Santa Cruz. A segunda parte do sedimento foi colocada em uma peneira geológica com abertura de malha de 0,040mm. Em seguida o sedimento foi filtrado com água proveniente do Canal de Santa Cruz a fim de separar a fauna e também parte do sedimento, ambos retidos na peneira, das microalgas. Em seguida o filtrado contendo as microalgas bentônicas foi colocado em sacos plásticos fechados.

Os recipientes com as fêmeas ovadas e os sacos plásticos contendo as microalgas foram mantidos sob iluminação constante e temperatura de +25°C. Os Copepoda Harpacticoida foram analisados diariamente, sendo observados a eclosão dos ovos e o desenvolvimento dos náuplius até sua fase adulta. No 12<sup>o</sup> dia quando foi observado um grande número de adultos nos cultivos individuais foi então separado um organismo de cada recipiente e verificado quantas espécies haviam sido efetivamente isoladas. Durante este período foi fornecido às espécies de Harpacticoida, a cada dois dias, 1ml de água de cultivo das microalgas bentônicas, colocadas em suspensão por agitação vigorosa. Quatro espécies de Copepoda Harpacticoida foram isoladas da amostra natural de sedimento do Canal de Santa Cruz: *Cletocamptus deitersi* Richard 1897 (Família Canthocamptidae); *Mesochra* sp. Boeck 1864 (Família Canthocamptidae); *Robertsonia mourei* Nogueira 1961 (Família Miracidae); *Metis holothuriae* Edwards 1891 (Família Metidae).

Para montagem do experimento propriamente dito 10 organismos de cada espécie de Harpacticoida foram colocados por recipiente (28,3cm<sup>2</sup>), sendo efetuadas quatro réplicas (totalizando 40 indivíduos por espécie), contendo 10ml de água do Canal de Santa Cruz com salinidade de 33UPS filtrada. Em seguida foram adicionados 10ml de suspensão de microalgas dos sacos plásticos em cada recipiente. Também foram realizadas quatro réplicas de controle inicial e quatro réplicas de controle final (sem Copepoda Harpacticoida) com 10ml de água do Canal filtrada e 10ml de suspensão de microalgas. No início do experimento, 13 dias após a separação dos Harpacticoida e das microalgas do sedimento, as réplicas do controle inicial foram fixadas com formol a 4%. O tempo do experimento foi de 24 horas e posteriormente os tratamentos com as espécies de Harpacticoida e o controle final foram fixados em formol a 4%.

Para a identificação das cianobactérias foram retiradas com conta gotas subamostras posteriormente preparadas lâminas. Já para as identificações das diatomáceas também foram retiradas subamostras com auxílio de conta gotas onde foram preparadas lâminas permanentes, para melhor visualização das frústulas das diatomáceas. A quantificação das espécies do microfítobentos foi efetuada de acordo com o método de sedimentação (período de 24 horas). O procedimento da contagem por meio de números de campos foi realizado por transectos, utilizando - se um microscópio invertido, com aumento máximo de 400 vezes. Cada célula, colônia ou filamento foi considerado como um indivíduo e os resultados foram expressos em céls.ml<sup>-1</sup>.

Para verificar o tamanho corpóreo e a abertura oral dos Copepoda Harpacticoida, foram realizadas medições, sob microscópio óptico, do tamanho do corpo (x116) e da abertura oral (x1600) em 10 indivíduos de cada espécie.

Para verificar se houve diferença significativa nas densidades das microalgas entre o final do experimento e os tratamentos com as quatro espécies de Copepoda Harpacticoida foi utilizado o teste não paramétrico de Mann - Whitney (unilateral) com  $\alpha=0,05$ .

## RESULTADOS

Foram identificadas 24 espécies de microalgas bentônicas, sendo duas de Cyanophyta e 22 de Bacillariophyta. No controle inicial a espécie com maior densidade foi *Cymbella* sp.1 (17,9% da abundância relativa - Ab). Após 24 horas no controle final (CF) do experimento esta espécie continuou sendo a mais abundante (AbCF=13,3%). Houve aumento na densidade de todas as espécies de microalgas no controle final após o período de 24 horas, variando de 14% de aumento para *Cymbella* sp.1 a 76% para *Nitzschia longa*.

Comparando o controle final e os tratamentos que continham as espécies de Copepoda Harpacticoida, houve uma diminuição na densidade de algumas espécies de microalgas, exceto para o tratamento de *Metis holothuriae* que não apresentou diferença significativa para nenhuma espécie de microalgas quando comparado ao controle final. Meyer & Susan (1989), descreveram as peças bucais desta espécie de Harpacticoida e verificaram que esta possui a mandíbula, a primeira e a segunda maxila altamente reduzidas. Através destas observações concluíram que as peças bucais de *M. holothuriae* são especializadas para se alimentar de detritos associados às macroalgas marinhas.

Quando analisadas as amostras do tratamento que continham a espécie *Mesochra* sp. observou - se que a microalga *Diploneis bombus* (AbCF=2,5%) apresentou a maior redução de densidade com relação ao controle final (94%). Houve diferença significativa ( $p=0,0104$ ) para as microalgas *Diploneis bombus* e *Navicula longa* (AbCF=8,7%), comparando suas densidades na presença da espécie *Mesochra* sp. e no controle final.

Já para o tratamento com *Robertsonia mourei* a espécie de microalga que teve a maior diminuição comparada ao controle final foi *Navicula* sp. (86%). Nesta espécie observou - se diferenças significativas ( $p=0,0104$ ) para as microalgas *Navicula* sp. (AbCF=4,3%), *Tryblionella coarctata* (AbCF=0,8%) e *Tryblionella punctata* (AbCF=1,7%).

Em *Cletocamptus deitersi* a espécie *Cymbella* sp.2 foi a que teve a maior redução (78%). Diferenças significativas ( $p=0,0104$ ), para as microalgas *Cymbella* sp.1 (AbCF=13,3%), *Cymbella* sp.2 (AbCF=6,5%) e *Gomphonema* sp. (AbCF=6,3%) foram observadas na comparação entre as amostras contendo *Cletocamptus deitersi* e o controle final.

As três espécies de Copepoda apresentaram seletividade ativa na alimentação não havendo ingestão relacionada apenas à maior disponibilidade de alimento, pois as espécies de diatomáceas selecionadas variaram em abundância no Controle Final de 0,8 (a quarta menor abundância relativa) a 13,3% (maior abundância relativa no Controle Final).

O tamanho corporal das espécies de Copepoda Harpacticoida foi de 0,5, 0,6 e 0,67mm para *Cletocamptus deitersi*,

*Mesochra* sp. e *Robertsonia mourei*, respectivamente. Entre as espécies de Harpacticoida, *Robertsonia mourei* apresentou o maior tamanho da abertura oral, com diâmetro de 11,7  $\mu\text{m}$ , seguida de *Mesochra* sp. com 8,8  $\mu\text{m}$  e *Cletocamptus deitersi* com 4,7  $\mu\text{m}$ . Não houve uma evidente seleção relacionada ao tamanho das características medidas nos Harpacticoida embora a menor espécie, *Cletocamptus deitersi*, tenha mostrado seletividade por diatomáceas menores (de 3,2 a 7,2  $\mu\text{m}$  de largura). Por outro lado, a maior espécie, *Robertsonia mourei*, selecionou diatomáceas com os segundos menores tamanhos (de 8,2 a 12  $\mu\text{m}$  de largura) e a espécie *Mesochra* sp. selecionou as diatomáceas de tamanhos médios (12,4 a 17,6  $\mu\text{m}$  de largura). Resultado semelhante foi encontrado por De Troch *et al.*, (2006), no qual a espécie *Paramphiacella fulviofasciata*, que era a segunda maior usada no experimento, mostrou uma maior seletividade por células de diatomáceas menores.

A contagem das pelotas fecais nos recipientes experimentais das espécies de Copepoda Harpacticoida, permitiu verificar que *Cletocamptus deitersi* apresentou maior número de pelotas fecais (média=55 pelotas/recipiente.indivíduo), não sendo registrada a presença de pelotas fecais na espécie *Metis holothuriae*. A média de pelotas fecais para as outras espécies durante o experimento foi de 11 e 39 pelotas/recipiente.indivíduo para *Mesochra* sp. e *Robertsonia mourei*, respectivamente. Quando analisadas sob microscópio óptico foram observados apenas fragmentos de frústulas de microalgas nas pelotas fecais, não sendo possível a identificação das mesmas. Neste trabalho não foram observadas frústulas de diatomáceas intactas nas pelotas fecais como foi observado por Azovsky *et al.*, (2005) e De Troch *et al.*, (2006). Estes mesmos autores também encontraram pacotes e agregados de diatomáceas. De Troch *et al.*, (2006) afirmaram que o fato dos Copepoda quebrarem as frústulas favorece uma ingestão e assimilação mais eficazes. Já Azovsky *et al.*, (2005), estudaram três espécies de Harpacticoida (*Paraleptastacus kliei*, *Heterolaophonte minuta*, *Huntemania jadensis*) que pastavam sobre microalgas bentônicas e, através da análise do seu conteúdo intestinal, identificaram as microalgas que foram ingeridas. No conteúdo intestinal da espécie *Paraleptastacus kliei* não foi encontrada nenhuma frústula de diatomácea e estes autores concluíram que esta espécie alimentava - se de outras partículas (flagelados, ciliados, bactérias ou detritos). Os resultados obtidos aqui indicam que apenas observações de conteúdo intestinal ou das pelotas fecais não são suficientes para concluir que espécies de Harpacticoida não se alimentam de diatomáceas.

As espécies de diatomáceas maiores não foram utilizadas por nenhuma espécie de Copepoda Harpacticoida. O presente trabalho mostrou que há a seleção de espécies das microalgas pelos Copepoda Harpacticoida e que o tamanho das microalgas parece ser um fator importante para sua seleção. Mas esse fator provavelmente não é o único, pois havia a presença de microalgas de tamanhos semelhantes que não foram selecionadas pelas espécies de Copepoda Harpacticoida. Como exemplos: *Mesochra* sp. ingeriu *Diploneis bombus* (largura de 17,6  $\mu\text{m}$ ) e *Navicula longa* (largura 12,4  $\mu\text{m}$ ) não ingerindo *Tryblionella punctata* (largura 12  $\mu\text{m}$ ); *Robertsonia mourei* ingeriu *Navicula* sp. (largura 8,2  $\mu\text{m}$ ),

*Tryblionella coarctata* (largura 12  $\mu\text{m}$ ) e *Tryblionella punctata* (largura 12  $\mu\text{m}$ ) não ingerindo *Gomphonema* sp.1 (7,2  $\mu\text{m}$ ) com tamanho próximo. Uma possível explicação seria que diatomáceas desenvolveram defesas antipastagem, uma delas seria frústulas com mais sílica para proteção mecânica (Hamm *et al.*, 003). Além de defesas estruturais, certas diatomáceas têm também a capacidade para produzir defesas químicas (Ianora *et al.*, 003). Ianora *et al.*, (2003), mostraram que a mesma espécie de microalga (diatomáceas) pode induzir efeitos diferentes em espécies pastadoras diferentes. Em contraste, outros estudos não acharam uma relação negativa entre sucesso na eclosão de ovos e ingestão de diatomáceas (Irigoien *et al.*, 002). Isto sugere que nem todas as espécies de diatomáceas são tóxicas para todas as espécies de Copepoda. Ianora *et al.*, (2004), sugerem que algumas espécies de Copepoda podem ter evoluído mecanismos para se desintoxicar dos aldeídos das diatomáceas.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que a alimentação de Copepoda Harpacticoida seja influenciada por uma combinação de diferentes fatores como o tamanho das diatomáceas e uma possível defesa das diatomáceas através da produção de substâncias químicas.

## REFERÊNCIAS

- Alongi, D., 1988. Microbial-meiofaunal interrelationships in some tropical intertidal sediments. *J. Mar. Res.*, **46**:349-365.
- Azovsky, A.I.; Saburova, M.A.; Chertoprood E.S.; Polikarpov I.G., 2005. Selective feeding of littoral harpacticoids on diatom algae: hungry gourmands? *Mar. Biol.*, **148**(2):327 - 337.
- Carman, K.R. & Thistle, D., 1985. Microbial food partitioning by three species of benthic copepods. *Mar. Biol.*, **88**:143 - 148.
- Decho, A.W. & Castenholz, R.W., 1986. Spatial patterns and feeding of meiobenthic harpacticoid copepods in relation to resident microbial flora. *Hydrobiologia*, **131**:87 - 96.
- De Troch, M.; Chepurnov, V.; Gheerardyn, H.; Vanreusel A.; Ólafsson, E., 2006. Is diatom size selection by harpacticoid copepods related to grazer body size? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **332**:1-11.
- Hamm, C.E.; Merket, R.; Springer, O.; Jurkojc, P.; Maier, C.; Precthel, K.; Smetacek, V., 2003. Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. *Nature*, **421**:841-843.
- Hicks, G.R.F. & Coull, B.C., 1983. The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **21**:67 - 175.
- Ianora, A; Poulet, S.A.; Miralto, A., 2003. The effects of diatoms on copepod reproduction: a review. *Phycologia*, **42**:351-363.
- Ianora, A.; Miralto, A.; Poulet, S.A.; Carotenuto, Y. and 8 others, 2004. Aldehyde suppression of copepod

recruitment in blooms of a ubiquitous planktonic diatom. *Nature*, **429**:403–407.

**Irigoien, X.; Harris, R.P.; Verheye, H.M.; Joly, P.; and 14 others, 2002.** Copepod hatching success in marine ecosystems with high diatom concentrations. *Nature*, **419**:387–389.

**Meyer H.A. & Susan, S.B., 1989.** Mouthparts of the Marine Harpacticoid Copepod *Metis holothuriae*. *Trans. Am. Micr. Soc.*, **108** (4):414 - 418.

**Pace, M.C. & Carman, K.R., 1996.** Interspecific differ-

ences among meiobenthic copepods in the use of microalgal food sources. *Mar. Ecol.–Progr. Ser.*, **143**:77–86.

**Sandulli, R. & Pinckney, J., 1999.** Patch sizes and spatial patterns of meiobenthic copepods and benthic microalgae in sandy sediments: a microscale approach. *J. Sea Res.*, **41**:179 - 187.

**Vanden Berghe, W. & Bergmans, M., 1981.** Differential food preferences in three co - occurring species of *Tisbe* (Copepoda Harpacticoida). *Mar. Ecol.–Progr. Ser.*, **4**:213 - 219.