



SÍTIO DE LOCALIZAÇÃO DE PROTISTAS CILIADOS PERITRÍQUIOS (CILIOPHORA: PERITRICHIA) EPIBIONTES SOBRE NINFAS DE *KEMPNYIA KLAPÁLEK*, 1914 (INSECTA: PLECOPTERA: PERLIDAE)

Avelino - Capistrano, F.S.^{1,3}

R.J.P. Dias^{2,4}; I.D. Silva - Neto⁴; J.M. Costa³

1. Programa de Pós - Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2. Programa de Pós - Graduação em Zoologia, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 3. Laboratório de Insetos Aquáticos, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 4. Laboratório de Protistologia, CCS, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. * fernandaacsilva@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A relação epibiótica é uma associação facultativa entre dois organismos: o epibionte, que coloniza superfícies de substratos vivos, e o basibionte, que hospeda os epibiontes (Dias *et al.*, 2008). Historicamente, a epibiose era entendida como uma relação comensal entre dois ou mais organismos. Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que os epibiontes podem causar efeitos deletérios aos seus hospedeiros (Xu, 1992; Puckett & Carman, 2002). Segundo Cook *et al.*, (1998) esta relação ecológica possui dois extremos. Em um extremo, ela pode ter natureza oportunista, facultativa e não especializada, com os epibiontes colonizando substratos inertes, animais e plantas. No outro extremo, estão as associações obrigatórias e altamente específicas, havendo adaptações morfológicas e comportamentais entre epibionte e basibionte que proporcionam este modo de vida.

Os protistas ciliados epibiontes constituem um componente significativo dos ecossistemas aquáticos e desempenham importante papel na cadeia alimentar. Entretanto, a maioria dos estudos é de cunho morfológico e taxonômico, sendo que em poucos casos os aspectos ecológicos têm sido considerados (Baldock, 1986; Xu, 1992; Cook *et al.*, 1998; Dias *et al.*, 2008). Apesar dos estudos sobre registros de ciliados epibiontes serem abundantes na literatura, pouco se sabe sobre os aspectos ecológicos desta relação em ecossistemas tropicais (Regali - Selegim & Godinho, 2004).

Os plecópteros são insetos que vivem em ambientes aquáticos dulcícolas íntegros, geralmente de água corrente e bem oxigenada. Os exemplares da família Perlidae são encontrados debaixo de pedras e no folhicho depositado em áreas de correnteza e poções. São predadores e por isso, estão sempre migrando em busca de alimento (Ribeiro, 2005). Nos últimos trinta anos os aspectos da ecologia destes insetos têm ganhado um pouco mais de atenção em virtude do seu uso em programas de monitoramento am-

biental, uma vez que os plecópteros são muito sensíveis a pequenas alterações na demanda bioquímica de oxigênio da água (Crisci - Bispo *et al.*, 2007).

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo registrar e analisar o sítio de localização de protistas ciliados peritríquios (Ciliophora, Peritrichia) colonizando ninfas de insetos plecópteros (Plecoptera, Perlidae) provenientes de sistemas lóticos da Estação Biológica de Santa Lúcia, no município de Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

A área de estudo está localizada na Estação Biológica de Santa Lúcia (EBSL) (19°57'55,9"S, 40°32'24,4"W), no município de Santa Teresa, Estado do Espírito Santo. A estação possui 440 ha e está inserida no bioma mata atlântica. A temperatura média anual é de 19,9°C e o clima da região é definido como 'tropical subsequente superúmido com subseca'. Segundo os dados da Estação Santa Teresa (código 83647) localizada dentro da EBSL, a média pluviométrica anual é de 1.404mm, sendo a estação mais chuvosa o verão e novembro o mês mais chuvoso, e a seca o inverno sendo junho o mais seco (Mendes & Pandovan, 2000).

2.2. Amostragem em campo

As coletas foram realizadas no período de julho a novembro de 2008, em dois riachos da EBSL. Para tanto foram utilizados dois tipos de método: coleta manual (com pinças de relojoeiro) e com peneira (malha 50mm). Os insetos amostrados foram fixados em etanol 70% no local de coleta. A fixação das amostras realizada no local de coleta é uma

metodologia indicada para que os ciliados epibiontes não se desprendam de seus hospedeiros.

Além disso, os imaturos foram separados pelos microhabitat de origem: areia com folhinho, pedra, pedra com musgo, folhinho retido e folhinho de fundo. Concomitante as amostragens, foram mensurados o pH, o oxigênio dissolvido e as temperaturas da água e do ar antes da coleta dos imaturos. Para tanto, foi utilizado um kit ecológico, da marca Al-fakit®.

2.3. Processamento das amostras e identificação de insetos e ciliados

Os plecópteros imaturos foram, a priori, identificados em nível de gênero com o auxílio das chaves de Olifiers *et. al.* (2005), Froehlich (1987) e Lecci & Froehlich (2007). Após a identificação dos gêneros, estes foram morfotipados de acordo com as características marcantes de cada exemplar ou do grupo.

Para quantificação da prevalência de infestação e determinação do sítio de localização dos protistas ciliados epibiontes sobre plecópteros imaturos foram analisados os seguintes compartimentos corporais: região cefálica, brânquias, tórax abdome e pernas. Os ciliados epibiontes registrados nas amostras fixadas foram observados sob microscópio de campo claro e com contraste interferencial diferencial (DIC), e algumas colônias foram processadas segundo Dieckmann (1995) para a realização da técnica de impregnação pela prata.

RESULTADOS

Foram registrados ciliados peritríquios do gênero *Epistylis* Ehrenberg, 1830 colonizando plecópteros imaturos do gênero *Kempnyia* Klapálek, 1914 em dois sistemas lóticos da Estação Biológica de Santa Lúcia, no município de Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil. Este é o primeiro relato desta associação epibiótica.

Dentre as 211 ninfas de *Kempnyia sp.* coletadas durante o período amostral, 24,6% (n=52) estavam colonizadas por *Epistylis sp.* (Peritrichia, Epistylidae). Nas 52 ninfas infestadas por ciliados foram registradas 399 colônias de *Epistylis sp.* As colônias de ciliados foram registradas em cinco compartimentos corporais: cabeça (10%), brânquias (74%), tórax (3,8%), abdome (1,9%) e pernas (10,3%).

Os cinco sítios de localização dos protistas foram subdivididos em 24 sítios tendo a seguinte distribuição: (i) brânquias: brânquia subcoxal 1 direita (9,5%), brânquia subcoxal 1 esquerda (10%), brânquia subcoxal 2 direita (3,5%), brânquia subcoxal 2 esquerda (3%), brânquia subcoxal 3 direita (2,5%), brânquia subcoxal 3 esquerda (2,2%), brânquia intratorácica 1 direita (7,7%), brânquia intratorácica 1 esquerda (8,5%), brânquia intratorácica 2 direita (7,5%), brânquia intratorácica 2 esquerda (7,7%), brânquia intratorácica 3 direita (4,5%), brânquia intratorácica 3 esquerda (3,7%), brânquia anal (3,5%); (ii) cabeça: olhos (3%), palpo labial (0,5%), base da antena (1,5%), base da cabeça (5%); (iii) tórax: esterno (0,7%), pronoto (1%), mesonoto (1,2%), metanoto (0,7%); (iv) abdome (1,7%); (v) pernas: coxa (9,5%), tarso (0,7%).

A predileção por determinados sítios de localização no hospedeiro é uma característica das espécies que compõem

as comunidades epibióticas e reflete suas necessidades ecológicas, sendo determinada tanto pelas condições ambientais quanto pela biologia, ecologia, fisiologia e comportamento dos hospedeiros (Fenchel, 1965; Fernandes - Leborans *et al.*, 1997). A localização de *Epistylis sp.* predominante na região ventral, principalmente sobre as brânquias, de *Kempnyia sp.* pode estar relacionada com a colonização preferencial de ciliados epibiontes em locais mais oxigenados e com menor atrito, tal como relatados por outros estudos (Roberts & Chubb, 1998; Dias *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2009).

Alguns autores citam o suprimento de oxigênio como sendo um importante fator responsável pela localização dos ciliados em sítios específicos sobre o hospedeiro (Smith, 1986; Dias *et al.*, 2009). Smith (1986) atribuiu à ventilação gerada pelas brânquias ciliadas, localizadas na região posterior oligoquetas naídídeos, o maior número de ciliados (80%) localizados na porção final destes oligoquetas. Dias *et al.*, (2009) registraram o ciliado *Rhabdostyla chironomi* sobre os túbulos abdominais de larvas de quironomídeos e relataram que a localização dos ciliados pode estar relacionada com o comportamento de ventilação exibido pelo hospedeiro, que ao vibrar os túbulos respiratórios ampliam as trocas respiratórias que ocorrem entre a superfície destes apêndices e o oxigênio dissolvido na água. Os Perlídeos são conhecidos por suportarem um pouco melhor o estresse respiratório se comparados com outras famílias, pois possuem um típico comportamento chamado "push - up". Neste há realização de movimentos flexionados com as pernas, subindo e descendo, similar a uma flexão de braços. Isto faz com que a água circule com maior velocidade pelas brânquias, aumentando assim a quantidade de oxigênio a passar por elas (Genkai - Kato *et al.*, 2000). Desta forma, é bem provável que a grande presença destes ciliados nas brânquias esteja associada a esta característica respiratória dos plecópteros. As regiões de maior atrito nos hospedeiros são evitadas pelos protistas ciliados e influenciam a ocorrência em sítios específicos de localização sobre os basibiontes (Green, 1974; Utz & Coats, 2005). Segundo Green (1974), o movimento das antenas nos cladóceros causa a contração dos zoóides de ciliados coloniais, impedindo que estes se alimentem. Utz & Coats (2005) observaram menores densidades de ciliados peritríquios nas antenas e pernas de copépodos, devido à maior mobilidade destas regiões. O registro, no presente estudo, de ciliados epibiontes somente na região ventral de imaturos de *Kempnyia sp.* pode estar relacionado ao maior atrito desta região com o substrato que estes insetos vivem associados.

A predileção de *Epistylis sp.* pela região ventral, principalmente sobre as brânquias, de *Kempnyia sp.* pode estar relacionada com a colonização preferencial de ciliados epibiontes em locais mais oxigenados e com menor atrito.

CONCLUSÃO

No presente estudo foi registrada pela primeira vez a ocorrência do ciliado *Epistylis* Ehrenberg, 1830 colonizando ninfas de *Kempnyia* Klapálek 1914 na Região Neotropical. Os ciliados colonizaram preferencialmente a região ventral dos insetos, tendo sido encontrados principalmente sobre

as brânquias. Esta predileção pode estar relacionada com a colonização preferencial de ciliados epibiontes em locais mais oxigenados e com menor atrito.

5. Agradecimentos

Ao Sr. Eduardo Barros responsável pela EBSL, Sr. José Molina funcionário da EBSL, Sra. Suely Pereira e César Carriço. Ao Msc. Leandro Silva Barbosa pela leitura crítica deste manuscrito. À CAPES pela bolsa de mestrado, CNPQ pela bolsa de produtividade e a FAPERJ pelo apoio financeiro à conservação do acervo da Coleção de Insetos Aquáticos do Museu Nacional-UFRJ.

REFERÊNCIAS

- Baldock BM. 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Trichoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. *Hydrobiologia*, 132:125–131.
- Cook JA, Chubb JC, Veltkamp J. 1998. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. *Freshwater Biol.* 39:423–438.
- Crisci - Bispo, V.L., Bispo, P.C. & Froehlich, C.G. 2007. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages in two Atlantic Rainforest streams, Southeastern Brazil, *Revista Brasileira de Zoologia*, 24(2): 312 - 318.
- Dias, R.J.P., Cabral, A.F., Stephan, N.N.C., Martins, R.T., Silva - Neto, I.D. Alves, R.G. & D'Agosto, M. 2007. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) Epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil, *Braz.J.Biol.*, 67(4):783 - 785.
- Dias, R.J.P., D'ávila, S., Wieloch, A.H., D'Agosto, M. 2008. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of south - east Brazil, *Journal of Natural History*, vol.42, nos. 19 - 20, 1409 - 1420.
- Fenchel, T. 1965. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus* J.G.Fabricius. *Ophelia*. 2:281–303.
- Fernandez - Leborans G, Cordoba MJH, Arco PG. 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Lio-carcinus depurator* (Decapoda, Brachyura). *Invertebr Biol.*, 116:171–177.
- Froehlich, C.G. 1984. Brazilian Plecoptera 4. Nymphs of perlid genera from southeastern Brazil, *Annls Limnol.*, 20(1 - 2); 43 - 48.
- Genkai - Kato, M, Nozaki, K., Mitsunashi, H., Kohmatsu, Y., Miyasaka, H. & Nakanishi, M. 2000. Push - up response of stonefly larvae in low - oxygen conditions, *Ecological Research*, 15:175 - 179.
- Green J. 1974. Parasites and epibionts of Cladocera. *Trans Zoolog Soc Lond.* 32:417–515.
- Harlioglu, M.M. 1999. The first record of *Epistylis niagarae* on *Astacus leptodactylus* in Crayfish Rearing Unit, *Cip, Tr.J.of Zoology*, 23:13 - 15.
- Hüseyin, S. & Selcuk, B. 2005. Prevalence of *Epistylis* sp. Ehrenberg, 1832 (Peritrichia, Sessilida) on the Narrow - clawed Crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) from Manyas Lake in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(9): 789 - 793.
- Lecci, L.S. & Froehlich, C.G. 2007. Plecoptera. In: Guia on - line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo. Froehlich, C.G. (org.). Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>.
- Mendes, S.L. & Pandovan, M.P. 2000. A Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa, Espírito Santo, *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, Nova Série, Santa Teresa*, v. 11/12, p. 7 - 34.
- Olifiers, M.H., Dorvillé, L.F.M.; Nessimian J.L. & Hamada. N, 2004. A key to Brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs, *Zootaxa*, 651: 1 - 15.
- Puckett GL, Carman KR. 2002. Ciliate epibiont effects on feeding, energy reserves, and sensitivity to hydrocarbon contaminants in an estuarine harpacticoid copepod. *Estuaries*, 25:372–381
- Regali - Selegim, M.H. And Godinho, M.J.L., 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). *J. Plankton Res.*, vol. 26, no. 5, p. 501 - 508.
- Ribeiro, J.M.F. 2003. Plecoptera (Insecta) adultos da Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Amazonas, *Dissertação de Mestrado, INPA*, pp.73.
- Roberts GN, Chubb JC. 1998. The distribution and location of the symbiotic *Lagenophryaselli* on the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. *Freshwater Biol.* 40:671–677.
- Utz L.R.P., Coats D.W. 2005. Spatial and temporal patterns in the occurrence of peritrichsciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. *J Eukar Microbiol.* 52:236–244.
- Utz, L.R.P. 2007. First record of *Epistylis plicatilis* (Ciliophora: Peritrichia) attached to *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Gastropoda) in Southern Brazil, *Zootaxa*, 1454:49 - 57.
- Xu Z. 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their host *Moina macrocopa* in an urban stream. *J Invertebr Pathol.* 60:197–200.