

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE  
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

ADALGISA FERNANDA CABRAL

**Protozoários epibiontes de Copepoda (Crustacea) na planície de inundação  
do alto rio Paraná: taxonomia, ecologia e distribuição**

Maringá  
2013

ADALGISA FERNANDA CABRAL

**Protozoários epibiontes de Copepoda (Crustacea) na planície de inundação do alto rio Paraná: taxonomia, ecologia e distribuição**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Laura Roberta Pinto Utz

Maringá  
2013

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

C117p Cabral, Adalgisa Fernanda, 1983-  
Protozoários epibiontes de Copepoda (Crustacea) na planície de inundação do alto rio Paraná : taxonomia, ecologia e distribuição / Adalgisa Fernanda Cabral. -- Maringá, 2013.  
97 f. : il. (algumas color.).  
Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2013.  
Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho.  
Coorientadora: Profª. Drª. Laura Roberta Pinto Utz.  
1. Ciliophora (Phylum) - Copepoda (Crustacea) - Relação epibiótica - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 2. Zooplâncton de água doce - Comunidades. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -579.49176409816  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

ADALGISA FERNANDA CABRAL

**Protozoários epibiontes de Copepoda (Crustacea) na planície de inundação do alto rio Paraná: taxonomia, ecologia e distribuição**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Dr. Luiz Felipe Machado Velho (Presidente)  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

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

Prof. Dr. Roberto Júnio Pedrosa Dias  
Universidade Federal de Itajubá

Prof. Dr. Fábio Amodêo Lansac-Tôha  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Dr. Ricardo Massato Takemoto  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 02 de setembro de 2013.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

*Dedico esta tese a meus pais Pedro e Magali, pelo apoio, encorajamento, paciência, carinho, amor e pelos ensinamentos que formaram os alicerces da minha história ...*

## AGRADECIMENTOS

*Sempre que penso na minha trajetória até aqui, desde “criança pequena no interior de Minas Gerais”, sempre vejo a minha vida cercada de pessoas especiais, que cuidam de mim, de modos diferentes, sempre ao meu lado, cada um de sua maneira, é claro. Então, aproveitando a “total liberdade de expressão” desta parte da tese gostaria de agradecer a todos esses anjos que me guiaram até aqui. É muito difícil me despedir, mais difícil ainda definir em palavras todos os meus sentimentos e toda a minha gratidão a cada uma destas pessoas, mas prometo tentar nomear e me lembrar de todos os que fizeram parte desta trajetória, todos aqueles que, de alguma forma, me doaram seu tempo, amizade, ombros, sorrisos, abraços, mesas de bar, lágrimas e muita paciência durante esta trajetória. A todos vocês, meu sincero MUITO OBRIGADA!!!*

*Aos meus anjos maiores, **Pedro e Magali**, pai e mãe, que me deram a vida, valores, educação, cuidados... Me criaram, me protegeram e de repente se viram de mãos atadas, como expectadores nesta minha nova jornada, não podiam fazer mais do que observar e torcer pra que tudo desse certo. Ah, e ouvir, é claro, e se alegrar com cada vitória e aconselhar e acalantar, em cada derrota, sempre com um sorriso no rosto e a palavra certa a ser dita. Aos meus irmãos, **Arquimedes, Alberto e Ângelo**, exemplos de caráter e de sucesso obrigada pelo apoio, compreensão e carinho. MUITO OBRIGADA!!!*

*Meu “anjo querido” meu orientador e desorientador (porque são tantas ideias ao mesmo tempo) **Dr. Luiz Felipe Machado Velho**, ou somente **Fê**, um amigo sempre, um exemplo, uma inteligência admirável, um carisma extremo, meu cartão de visitas quando cheguei ao Nupélia (era só dizer “oi, eu sou a nova aluna do Fê!!”, que todo mundo abria um sorriso enorme), aprendi muito com as nossas inúmeras conversas, quase congelando na sua sala (ar condicionado à 16°C, SEMPRE). Tenho muito orgulho e muita sorte de ter sido sua aluna, de ter a oportunidade de aprender com você, não só ecologia, mas como tratar bem quem quer que seja, sempre com um sorriso no rosto, mesmo quando as coisas não estão lá muito bem. Que um dia eu seja como você!! MUITO OBRIGADA!!!*

*Minha co-orientadora queridíssima, **Pfa. Dra. Laura Roberta Pinto Utz**, que me ajudou desde o primeiro esboço do meu projeto de Doutorado, mesmo antes da seleção e que já era uma das minhas principais referências, mas depois de ter me recebido tão bem em seu laboratório em Porto Alegre me mostrou que um bom pesquisador pode sim, continuar sendo bom (e ela é ótima) e ter uma família, um gato, uma vida. Que um dia eu também seja como você!! MUITO OBRIGADA!!!*

Ao **Prof. Dr. John Clamp** da “North Carolina Central University”, muito obrigada por ter me recebido tão carinhosamente em seu laboratório e por ter dividido tão generosamente seu conhecimento comigo durante o doutorado sanduíche.

Aos membros da banca **Dr. Fábio Amodêo Lansac Tôha e Dr. Ricardo Massato Takemoto** pela disponibilidade em avaliar o trabalho, por aceitarem de bom grado o desafio de contribuir com este trabalho, mesmo que este não representasse o foco da pesquisa de vocês. Ao **Dr. Inácio Domingos da Silva-Neto e ao Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias**, anjos da guarda de longa data, que acompanharam e me guiaram, nos primeiros passos na protistologia, tive muita sorte de poder aprender com vocês, meus exemplos não só de pesquisadores, mas exemplos de vida. **MUITO OBRIGADA!!!**

Ao meu anjo da calma, “meu bem”, tão pouco tempo juntos, e já são tantas histórias, com a sua paciência infinita e seu jeito doce, até mesmo nos momentos de dizer o que eu precisava ouvir, me cativou e me lembrou de sentimentos que eu já tinha esquecido. **Prof. Dr. Natan Medeiros Maciel**, obrigada por me ensinar a viver um dia de cada vez, a estabelecer metas e organizar prioridades. Obrigada, meu bem, por acreditar em mim, no meu potencial, por não desistir nunca, nem quando eu já achava que não aguentava mais. Sem a sua ajuda intelectual e emocional, esta tese não teria sido terminada a tempo. **MUITO OBRIGADA!!!**

Aos meus anjos da guarda disfarçados de amigos (em ordem cronológica), que sempre cuidaram de mim, me apoiaram, me aguentaram com muita paciência (ou não), que riram comigo, dividiram suas vidas, mesas de bar, comilanças, academia, risos, choros, medos... Enfim, me fizeram encontrar uma nova família, foram tantos e tão bons momentos e amigos. **Bruna Ponciano e Mariana Farias**, companheiras de república, de baladas, na hora de dividir as contas, de chorar de tanto rir, irmãs. **Deise Moraes e Natália Siqueira**, amigas pra vida inteira, sem as quais não resistiria ao meu primeiro ano em Maringá. **Priscilla Gambale, Jascieli Bortolini, Bárbara Dunk, Paula Bustamante**, cuja importância na minha vida é tão grande, que eu não me lembro do exato momento em que nos tornamos amigas, parece que conheço vocês desde sempre. Amo vocês!! **MUITO OBRIGADA!!!**

Aos meus anjos da guarda disfarçados de amigos há mais tempo... Aqueles, de longa data, que sempre me perdoaram por ter perdido aniversários, batizados, despedidas de solteiro, Natal, por não estar presente nos melhores momentos e principalmente por não ter um ombro a oferecer nos piores dias. Muito Obrigada **Anna Carolina Barbosa, Andréa Lima, Valéria Éfrem, Franciane Rudgero**, por me apoiarem, por me entenderem e por torcerem por mim, mesmo de longe. E a cada visita a Juiz de fora, obrigada por terem

*sempre um ombro amigo, uma taça de vinho (ou um chopp bem gelado) e os braços (e o coração) sempre abertos.*

*A todos do laboratório de Zooplâncton (são tantos nomes, que não me atreverei a escrevê-los), minha primeira estadia no NUPÉLIA, obrigada a cada um de vocês, pela acolhida, pelas risadas, pela companhia nas coletas e no PELD. Aos meus colegas do Laboratório de Protozooplâncton **Paulo Buosi, Bianca Trevizan, Fernando Lansac Tôha, Bianca Ramos**. Vocês que me aturaram quase três anos, muito obrigada pelo convívio, paciência, amizade, companheirismo. Foram tantas coletas, viagens, risadas, tantas vezes acordando de madrugada e passando as noites contando cílios. Aprendi muito com cada um de vocês e espero aprender ainda mais!!*

*Às secretárias do PEA, **Aldenir Oliveira e Jocemara dos Santos**, meu muito obrigada pela presteza e disponibilidade na solução de muitos problemas, pela atenção de sempre e pelo carinho ao esclarecer todas as minhas dúvidas.*

*Ao **Curso de Pós de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA)** e ao **Núcleo de Pesquisa em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura (Nupélia)** pela logística e infra-estrutura disponibilizadas, essenciais para a realização deste trabalho. À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-PROEX)** pela bolsa de estudos no país e pela bolsa de doutorado sanduíche. Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pela aprovação do projeto referente ao este estudo, que policiou a compra de materiais e viagens para a identificação dos protozoários. Não são exatamente anjos, mas com certeza, me deram asas pra alçar voos cada vez mais longos.*

*Aos funcionários da biblioteca setorial do Nupélia, **Maria Salete Ribelatto Arita e João Fábio Hildebrandt** sempre atentos e dispostos a ajudar, sempre com sorrisos e bom humor. Aos funcionários da Base de Pesquisa Avançada do Nupélia, **Sebastião Rodrigues e Alfredo da Silva**, fundamentais para as coletas. Muito obrigada pela ajuda, dicas, companhia. A **Maria do Carmo Roberto**, por disponibilizar os dados físico-químicos utilizados na tese, além da excelente companhia em campo!*

*Finalmente, e não menos importante, a **Deus**, que enviou cada um desses anjos pra cuidar de mim, me deu uma ótima família, grandes e verdadeiros amigos, muitas oportunidades.*

*Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização de mais este sonho. OBRIGADA!!!*



“Há um tempo em que é preciso  
Abandonar as roupas usadas  
Que já têm a forma do nosso corpo  
E esquecer os nossos caminhos  
Que nos levam sempre aos mesmos lugares  
É o tempo da travessia  
E se não ousarmos fazê-la  
Teremos ficado para sempre  
À margem de nós mesmos ”

Fernando Teixeira de Andrade

# **Protozoários epibiontes de Copepoda (Crustacea) na planície de inundação do alto rio Paraná: taxonomia, ecologia e distribuição**

## **RESUMO**

Este estudo é pioneiro ao relatar os aspectos morfológicos, taxonômicos, moleculares e ecológicos de protozoários ciliados epibiontes de copépodes em 36 unidades amostrais, que incluem diversos tipos ambientes, pertencentes à planície de inundação do alto rio Paraná, PR/MS, Brasil, durante períodos limnofase e potamofase. Foi realizado um estudo morfológico, morfométrico e molecular, com a descrição de duas espécies de ciliados epibiontes observados colonizando os copépodes, reunindo informações adquiridas através de observações *in vivo*, impregnação pela prata, microscopia eletrônica de varredura e biologia molecular. Posteriormente, foi avaliada a influência dos fatores abióticos locais, associados às flutuações do pulso hidrológico, e os efeitos significativos dos tipos de hábitat e dos sistemas sobre a ocorrência de espécies de protistas ciliados epibiontes na planície de inundação do Alto rio Paraná. E ainda, foi registrada a primeira ocorrência no Brasil do euglenídeo *Colacium vesiculosum* Ehrenberg 1853, como epibionte de copépodes. As abordagens acrescentaram informações taxonômicas às já existentes sobre a subclasse Peritrichia, através da descrição de duas novas espécies. Detectou-se diferenças espaço-temporais na prevalência de infestação, indicando que a disponibilidade de recursos alimentares e a abundância de hospedeiros são fatores que contribuem para oscilação da dinâmica das populações de ciliados epibiontes, evidenciando diferenças estatísticas significativas entre os ambientes estudados. Observou-se que o pulso de inundação e seu efeito homogeneizador nos ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná, exerce um efeito positivo sobre a relação epibiótica, favorecendo a colonização de um maior número de ambientes e uma maior prevalência de infestação.

**Palavras-chave:** Ciliados. Comunidade zooplanctônica. Distribuição espacial e temporal. Ecologia. Morfologia. Relação epibiótica. Planície de inundação.

## **Protozoan epibionts of copepods (Crustacea) in the Upper Parana River floodplain: taxonomy, ecology e distribution**

### ***ABSTRACT***

A breakthrough study was conducted concerning morphological, taxonomic, molecular e ecological features of epibiont protozoan ciliates in 36 sampling sites, of floodplain upper Paraná River, Paraná e Mato Grosso do Sul states, Brazil, for the periods of limnophasis e photamophasis. First of all, were presented a morphological, morphometrical, e molecular study, with the description of two epibiont ciliate species found colonizing copepods. To describe the species we gather information of *in vivo* observations, silver impregnation, scanning electron microscopy and molecular biology. After that, we tested the influence of abiotic local factors, associated to fluctuations of hydrological pulse e the signification effects of habitat types e systems under the species occurrence y of epibiont ciliate protists in both potamophase e limnophase of Upper Paraná River floodplain. We also registered the first occurrence in Brazil of the euglenid *Colacium vesiculosum* Ehrenberg 1853, as epibiont of copepods. This proposal gathers new taxonomic information to the already accessible in literature regarding subclass Peritrichia, through the description of two new species. We detected space-temporal differences in the infestation prevalence, indicating that the availability of food resources e abundance of hosts could be factors that contribute for the oscillation of population dynamic of epibiont ciliates e observed significant statistic differences among the study environments. We verified that the inundation pulse e its homogenizer effect in floodplain environments of upper Paraná River employ a positive effect under the epibiotic relationship, favoring the colonization of a higher number of environments e also a higher prevalence of infestation.

**Keywords:** Ciliates. Zooplankton community. Spatial and temporal distribution. Ecology. Morphology. Epibiotic relationship. Floodplain.

Tese elaborada e formatada conforme as normas da revista científica *European Journal of Protistology*, disponível em: [http://www.elsevier-data.de/journals/ejp\\_instructions.pdf](http://www.elsevier-data.de/journals/ejp_instructions.pdf)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	14
1.1	A RELAÇÃO EPIBIÓTICA	14
1.2	EPIBIOSE EM NÍVEL DE ECOSSISTEMA	14
1.3	VANTAGENS E DESVANTAGENS DA RELAÇÃO EPIBIÓTICA	15
1.4	EPIBIOSE EM CRUSTÁCEOS	17
1.5	PROTOZOÁRIOS CILIADOS EPIBIONTES	18
1.6	EPIBIOSE NO BRASIL	19
1.7	METODOLOGIA DA TESE	20
	REFERÊNCIAS	20
<b>2</b>	<b>DESCRIÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Vorticella</i> LINNAEUS, 1767 (CILIOPHORA, PERITRICHIA), EPIBIONTES DE COPÉPODES, NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ.</b>	29
	Resumo	29
	<i>Abstract</i>	30
2.1	INTRODUÇÃO	31
2.2	METODOLOGIA	33
2.2.1	Área de estudo	33
2.2.2	Amostragem de campo	34
2.2.3	Identificação	34
2.2.4	Análises Moleculares	35
2.2.5	Análises Filogenéticas	35
2.3	RESULTADOS	36
2.4	DISCUSSÃO	51
	REFERÊNCIAS	53
<b>3</b>	<b>ESTRUTURA DAS ASSEMBLÉIAS DE PROTOZOÁRIOS CILIADOS EPIBIONTES DE COPEPODA (CRUSTACEA) NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ.</b>	61
	Resumo	61
	<i>Abstract</i>	62
3.1	INTRODUÇÃO	63
3.2	METODOLOGIA	64
3.2.1	Área de estudo	64
3.2.2	Amostragem de campo	65
3.2.2.1	<i>Organismos zooplanctônicos hospedeiros em potencial</i>	65
3.2.2.2	<i>Parâmetros físico-químicos</i>	66
3.2.2.3	<i>Bacteriologia</i>	66
3.2.3	Processamento das amostras	66
3.2.3.1	<i>Identificação dos copépodes</i>	66
3.2.3.2	<i>Identificação dos ciliados epibiontes</i>	66
3.2.3.3	<i>Contagem das bactérias</i>	66
3.2.4	Tratamento dos dados	67
3.2.4.1	<i>Prevalência da relação epibiótica</i>	67

3.2.4.2	<i>Análise estatística</i>	67
3.3	RESULTADOS	68
3.4	DISCUSSÃO	78
	REFERÊNCIAS	82
<b>4</b>	<b>REGISTRO DO EUGLENÍDIO EPIBIONTE <i>Colacium Vesiculosum</i> EHRENBERG 1853 (EUGLENOPHYCEAE), EM COPÉPODES PLANCTÔNICOS (CRUSTACEA), DE UMA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO BRASILEIRA</b>	<b>89</b>
	Resumo	89
	<i>Abstract</i>	89
4.1	INTRODUÇÃO	89
4.2	METODOLOGIA	90
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
	REFERÊNCIAS	93
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>96</b>

## 1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 A RELAÇÃO EPIBIÓTICA

Devido à características físicas da água, em relação ao ar, o modo de vida sésil é possível e muitas vezes favorável aos organismos consumidores aquáticos (Wahl et al. 1997). Naturalmente os organismos que adotaram este modo de vida, desenvolveram adaptações para suportar as variações diárias ambientais, tais como a resistência à dessecação ou às alterações na composição física e química do ambiente (Wahl e Mark 1999). O termo epibiose se refere a organismos que colonizam a superfície de um substrato vivo durante a fase sésil de seu ciclo de vida, enquanto que os basibiontes constituem o substrato que proporciona suporte para os epibiontes (Taylor 2002; Wahl 1989).

Nos ambientes aquáticos, diversos grupos de organismos, tais como bactérias (Edgcomb et al. 2010); ciliados (Cabral et al. 2010); diatomáceas (Fernandes e Calixto-Feres 2012); macro-algas (Manríquez e Cancino 1996); macrófitas (Murison et al. 1990), antozoários e hidrozoários (Grohmann 2009; Di Camillo et al. 2010); ctenóforos (Ohtsuka et al. 2009); moluscos (Dias et al. 2010); briozoários (Lescinsky 1997); branquiópodes, poliquetas (Arana e Díaz 2006); equinodermos (Aladro-Lubel e Martínez-Murillo 1999); hemicordados (Zalasiewicz et al. 2013) e ascídias (Wahl 1995), adotaram o modo de vida epibiótico em pelo menos uma fase do ciclo de vida. Existem relatos desta relação até mesmo em organismos fósseis, tais como, trilobitas (Brandt 1996; Taylor e Brett 1996), cefalópodes (Baird et al. 1989; Seilacher 1968) e equinoides (Schneider 2003).

### 1.2 EPIBIOSE EM NÍVEL DE ECOSSISTEMA

Engenheiros do ecossistema (do inglês “*physical ecosystem engineering*”) são organismos que, direta ou indiretamente, controlam a disponibilidade de recursos para outros organismos, causando mudanças físicas em materiais bióticos ou abióticos (Jones et al. 1997). Este importante tipo de interação ecológica possui fundamental relevância e apresenta efeitos em praticamente todos os ecossistemas. Estes efeitos podem ser mudanças de estado físico, que influenciam diretamente recursos não alimentares, tais como habitats, ou podem ainda controlar diretamente os recursos abióticos modulando indiretamente forças que afetam o uso dos recursos por outros organismos (Boogert et al. 2006; Byers et al. 2006; Crooks 2002; Cuddington et al. 2007; Jones et al. 2010; Rosemond e Anderson 2003; Wright e Jones 2006).

A presença de epibiontes modifica numerosas interações do basibionte com o meio onde vive, podendo afetar uma ou mais interações do hospedeiro com o meio (Laudien e Wahl 2004; Wahl e Mark 1999). A relação que antes da colonização era apenas basibionte/meio passa a ser basibionte/epibionte/meio, tendo impactos negativos e/ou positivos para ambos (Wahl et al. 1997). A epibiose pode atuar, então, como uma alavanca ecológica amplificando ou tamponando o stress biótico e abiótico enfrentado pelo hospedeiro (Wahl 2008). Dentre os fatores que podem influenciar a dinâmica espacial e temporal de populações de ciliados epibiontes, pode-se destacar a abundância de hospedeiros (Regali-Selegim e Godinho 2004; Utz e Coats 2005; Souissi et al. 2013), disponibilidade de alimento (Barea-Arco et al. 2001; Hanamura 2000), grau de poluição orgânica (Laird 1959; Xu 1992), abundância dos predadores do hospedeiro (Willey et al. 1993), parâmetros físico-químicos da água (Cabral et al. 2010) e competição por substrato (Quintanilla et al. 2013).

### 1.3 VANTAGENS E DESVANTAGENS DA RELAÇÃO EPIBIÓTICA

Como ressaltado anteriormente, relações epibióticas podem apresentar um efeito negativo ou serem benéficas ao hospedeiro, ou podem ainda ser neutras, dependendo do contexto ecológico (Wahl, 2008). Em relação ao hospedeiro, os epibiontes podem atuar negativamente, diminuindo sua fecundidade (Eschweiler e Buschbaum 2011; Green 1974), seu tempo de sobrevivência (Gilbert e Schroder 2003; Xu e Burns 1991), causando-lhe lesões (Schuwerack et al. 2001), alterando a fisiologia e movimentação (Görtz 1996; Henebry e Ridgeway 1979; Rothäusler et al. 2011), ou podem, ainda, torná-los mais suscetíveis à predação (Willey e Threlkeld 1993). Além disso, o epibionte pode competir com o hospedeiro por alimento (Kankaala e Eloranta 1987), aumentar sua demanda energética (Weissman et al. 1993), levando a uma redução do peso corporal (Eschweiler e Buschbaum 2011). No caso do basibionte ser um organismo fotossintetizante, os epibiontes podem reduzir o acesso à luz e, consequentemente, reduzir as taxas fotossintéticas (Rohde et al. 2008). Estes efeitos podem ser mais ou menos intensos, dependendo da susceptibilidade do basibionte, da espécie e/ou da densidade dos epibiontes.

Um exemplo de relação epibiótica benéfica para o hospedeiro, pode ser observada entre o molusco epibionte *Mimachlamys varia* e seu hospedeiro, o decápoda *Galathea strigosa*. Nesta relação, o basibionte consegue manter todas as suas funções, tais como, nadar e se fixar em diferentes substratos, independente da presença dos epibiontes (Albano e Favero 2011). O epibionte pode ainda, fornecer proteção contra a radiação UV ou contra o contato do hospedeiro com toxinas (Dougherty e Russell 2005; Rothäusler et al., 2011). Em outras



situações, o basibionte pode se beneficiar dos metabólitos produzidos pelos epibiontes (Wahl 1989) ou ainda, se alimentar do epibionte (Chatterjee et al. 2013). O epibionte pode prover proteção mimética contra predadores (Wahl 1989; Maldonado e Uriz 1992) e/ou camuflagem táctil, como no caso dos epibiontes de hidrozoários (Enderlein 2000). O epibionte pode proteger o basibionte contra dessecação (Wahl e Sonnichsen 1992; Wahl e Mark 1999), podendo interferir, ainda, na aceitabilidade do predador (Laudien e Wahl 2004; Farren e Donovan 2007).

Para o epibionte, uma das maiores vantagens deste modo de vida, em detrimento ao modo de vida sésil convencional, seria a possibilidade de obtenção de recursos alimentares mais variados e em maior quantidade, estabelecendo uma condição hidrodinâmica favorável em relação aos demais organismos sésseis, através da possibilidade de explorar um maior número de ambientes, e diminuindo a competição interespecífica (Schneider 2003; Wahl 1989). Além disso, a cinética do movimento da água em pequena escala, em torno do basibionte, formam um micro-habitat rico em alimento e oxigênio e se tornam um fator importante na colonização e na distribuição dos epibiontes no hospedeiro (Fernandez-Leborans et al. 2006). 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; Mayén-Estrada e Aladro-Lubel 2002; Threlkeld et al. 1993). Por exemplo, organismos zooplancônicos, ao se movimentarem, criam um fluxo de água sobre a superfície do corpo, permitindo que seus epibiontes se alimentem em um ritmo mais elevado (Bickel et al. 2012). Quando estes epibiontes são ciliados peritríqueos, geralmente se localizam próximos à corrente de filtração de seus hospedeiros, favorecendo-se do fluxo gerado por eles (Cabral et al. 2010).

Entretanto, apesar de sua ampla ocorrência, e dos vários estudos sobre a relação epibiótica envolvendo crustáceos, tal relação ainda é pouco compreendida até os dias de hoje no que diz respeito às suas implicações ecológicas, tanto para o basibionte quanto para o epibionte (Bickel et al. 2012). As pesquisas têm apontado que existe um investimento energético expressivo na produção de apêndices ou estruturas especializadas na fixação do epibionte em um substrato instável e possivelmente efêmero (Bickel et al. 2012; Wahl 1989). Os epibiontes podem ser levados para ambientes desfavoráveis ou com um maior número de predadores, podem ainda ser predados pelo basibionte ou competir com eles por nutrientes, principalmente os dissolvidos na água (Chatterjee et al. 2013; Schneider 2013; Threlkeld et al. 1993; Wahl 1989).

#### 1.4 EPIBIOSE EM CRUSTÁCEOS

As relações epibióticas envolvendo crustáceos são um fenômeno generalizado na vida marinha, estuarina e em ambientes de água doce e abrangem uma variedade de microrganismos epibiontes incluindo protistas, bactérias, hidrozoários, cracas, e rotíferos (Bickel et al. 2012; Bozkurt e Genc 2009; Caro et al. 2012; Gilbert e Schröder 2003; Hanamura 2000; Thurber et al. 2011; Utz e Coats 2005). Muitos grupos de crustáceos podem ser ainda, hospedeiros de invertebrados macroepibiontes (Ross 1983), por exemplo, Porifera, Cnidaria, Platyhelminthes, Nemertea, Rotifera, Nematoda, Polychaeta, Cirripedia, Decapoda, Gastropoda, Bivalvia, Phoronids, Bryozoa, Ascidiacea, (Amato et al. 2006; Ayres-Peres et al. 2010; Di Camillo et al. 2008; Dvoretzky 2012; Mantelatto et al. 2003; Schejter et al. 2011; Vianna e Melo 2002).

Os ciliados constituem um dos grupos mais frequentemente encontrado como epibiontes em crustáceos. Tendo em vista esta alta frequência, foram realizadas algumas revisões, com foco específico neste grupo (Fernandez-Leborans 2001; 2009; Fernandez-Leborans e Tato-Porto 2000; Morado e Small 1995; Williams e McDermott 2004). Fernandez-Leborans & Tato-Porto, (2000), em sua revisão que reuniu exclusivamente ciliados epibiontes pertencentes à sub-classe Peritrichia, registraram 268 espécies de ciliados peritríqueos colonizando diferentes espécies de copépodes. Fernandez-Leborans (2009) atualizou a lista de espécies de ciliados que foram observados como epibiontes de copépodes, incluindo 87 novos registros, ocorridos desde a sua última revisão.

Entretanto, apesar de sua ampla ocorrência, e dos vários estudos acerca da da relação epibiótica envolvendo crustáceos, esta ainda é pouco compreendida no que diz respeito às suas implicações ecológicas, tanto para o basibionte quanto para o epibionte (Carman e Dobbs 1997). Em geral, esses estudos têm enfatizado aspectos da ecologia e história de vida do hospedeiro, com menos ênfase no epibionte. Contudo, sabe-se que um exame de composição de espécies, abundância e história de vida epibionte em ambientes aquáticos é uma importante ferramenta para melhor compreender a ocorrência sazonal de epibiose, dinâmica populacional epibiontes/basibionte e especificidade epibionte substrato (Fenchel 1965; Hanamura 2000; Threlkeld et al. 1993; Wahl 1989). É importante ressaltar ainda que a maioria dos estudos sobre epibiose em crustáceos não considerou a relação do ponto de vista do epibionte (Utz e Coats 2005).

## 1.5 PROTOZOÁRIOS CILIADOS EPIBIONTES

Os ciliados peritríqueos são conhecidos há mais de 300 anos como um grupo distinto, por apresentar um aparato ciliar oral proeminente e ciliatura somática reduzida a uma banda telotrocal (Miao et al. 2001). A subclasse Peritrichia (Ciliophora) reúne protozoários ciliados, quase sempre pedunculados, os quais se aderem a diferentes substratos, como rochas, algas e/ou animais, podendo viver como epibiontes sobre um grande número de espécies de metazoários aquáticos, incluindo diversos grupos de invertebrados, tais como Nematoda, Porifera, Cnidaria, Ctenophora, Rotifera, Tardigrada, Turbellaria, Crustacea, Annelida, Insecta e Mollusca. Alguns vertebrados também já foram observados carregando protozoários epibiontes, entre estes podem-se citar peixes, girinos e cágados (Cabral et al. 2010; Chatterjee et al. 2013; Corliss 1979; Dias et al. 2006; 2007; 2008; 2009; Fard et al. 2011; Fernandez-Leborans e Tato-Porto 2002; Fernandez-Leborans e von Rintelen 2010; Foissner et al. 1999; Goodrich e Jahn 1943; Kahl 1935; Laird 1959; Moss et al. 2001; Regali-Seleghim e Godinho 2004; Utz e Coats 2005). De acordo com Fenchel (1987), é provável que praticamente todos os metazoários aquáticos sejam hospedeiros em potencial para ciliados epibiontes.

Apesar de sua ampla ocorrência, a maioria dos estudos têm enfatizado aspectos morfológicos e taxonômicos do epibionte, com apenas alguns trabalhos enfocando aspectos ecológicos desta relação. Estudos enfatizando a influência do ambiente na relação epibionte/basibionte ainda são incipientes (Baldock 1986; Cabral et al. 2010; Dias et al. 2008; 2009; Fernandez-Leborans et al. 1997; Hanamura 2000; Utz e Coats 2005; Xu 1992).

Quando colonizam substratos vivos, os epibiontes peritríqueos precisam se adaptar a aspectos da biologia de seus hospedeiros tais como crescimento e/ou muda, sendo capazes de formar estágios livre-natantes e colonizar novos substratos quando as mudanças ocorrem (Wahl, 1989). Os mecanismos de reconhecimento de um basibionte específico por parte do epibionte ainda são desconhecidos, mas acredita-se que sinais químicos, mecânicos, ou até mesmo sinais elétricos podem estar envolvidos no reconhecimento do hospedeiro, bem como no processo de formação dos estágios de vida livre (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).

## 1.6 EPIBIOSE NO BRASIL

No Brasil, os estudos sobre os ciliados epibiontes tiveram início em 1970, quando Righi (1973) registrou a ocorrência do peritríqueo *Rhabdostyla pristinis* (Peritrichia) colonizando o oligoqueta *Pristina minuta* em um ambiente edáfico nas margens do rio Capivara, na Serra do Cipó, Minas Gerais.

Depois de uma lacuna de 31 anos, Regali-Seleghim e Godinho (2004) estudaram o padrão de colonização de duas espécies de ciliados peritríqueos sobre organismos do metazooplâncton (rotíferos, cladóceros e copépodes) no reservatório Monjolinho, São Carlos, SP. Dias et al. (2006) registraram, pela primeira vez, sete gêneros de ciliados sésseis epibiontes de moluscos prosobrânquios da espécie *Pomacea lineata* Spix, 1827 (Ampullariidae) em valas de irrigação no município de Juiz de Fora (Minas Gerais).

Utz (2007) registrou a ocorrência do protozoário ciliado *Epistylis plicatilis* sobre o molusco *Pomacea canaliculata* na região sul do Brasil. Dias et al. (2007) relataram a ocorrência de *Rhabdostyla chironomi* (Peritrichia) sobre larvas de *Chironomus decorus* (Diptera, Chironomidae) em um córrego urbano, no município de Juiz de Fora, MG. Neste estudo, foram também reportados os fatores envolvidos na localização dos ciliados sobre os túbulos abdominais dos hospedeiros e a possível utilização desta relação como indicadora da qualidade da água. Dias et al. (2010), realizaram um estudo morfométrico acerca do epibionte *Carchesium polypinum* (Ciliophora: Peritrichia) em uma alta infestação sobre o molusco *Pomacea figulina*. Da Gama et al. (2008) testaram a atividade anti-incrustantes de produtos naturais de 42 espécies de algas marinhas que ocorrem na costa brasileira, em resposta à epibiose, incluindo ciliados.

Dias et al. (2009) observaram 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 de um córrego urbano em Minas Gerais. Cabral et al. (2010) observaram padrões temporais e espaciais de ocorrência do ciliado *Rhabdostyla* cf. *chironomi* sobre larvas de chironomídeo em um córrego urbano do sudeste brasileiro. Rodrigues et al. (2011) realizaram um estudo acerca das mudanças longitudinais na prevalência de infestação de protistas ciliados epibiontes sobre oligoquetas ao longo do rio Paraibuna, município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Silva-Neto et al. (2012) redescreveram a espécie *Licnophora chattoni* associada ao cnidário *Zyzzyzus warreni*. Pádua et al. (2013) observaram uma alta infestação de ciliados do gênero *Epistylis* sobre bagres na região central do Brasil.

## 1.7 METODOLOGIA DA TESE

Foi realizado um estudo pioneiro acerca dos aspectos morfológicos, taxonômicos, moleculares e ecológicos de protozoários ciliados epibiontes de copépodes na planície de inundação do alto rio Paraná. Para isto a tese foi dividida em três metodologias além de uma fundamentação teórica.

Na primeira, conduziu-se um estudo morfológico, morfométrico e molecular, com a descrição de duas espécies de ciliados epibiontes observados colonizando os copépodes, reunindo informações adquiridas através de observações *in vivo*, impregnação pela prata, microscopia eletrônica de varredura e biologia molecular. Foi apresentada ainda uma breve revisão taxonômica do gênero encontrado, a fim de evidenciar a necessidade de se ampliar os estudos a cerca da morfologia destes ciliados.

Na segunda, foi avaliada a influência dos fatores abióticos locais, associados às flutuações do pulso hidrológico, e os efeitos significativos dos tipos de hábitat e dos sistemas sobre a ocorrência de espécies e diversidade alfa e beta de protistas ciliados epibiontes tanto na potamofase quanto na limnofase na planície de inundação do Alto rio Paraná.

Na terceira, foi registrada a primeira ocorrência no Brasil do euglenídeo *Colacium vesiculosum* Ehrenberg, 1853, como epibionte de copépodes na planície de inundação do alto rio Paraná.

## REFERÊNCIAS

- Aladro-Lubel, M.A., Martínez-Murillo, M.E., 1999. Epibiotic Protozoa (Ciliophora) on a community of *Thalassia testudinum* Banks ex König in a coral reef in Veracruz, Mexico. *Aquat.Bot.* 65, 239–254.
- Albano, P.G., Favero, F., 2011. *Mimachlamys varia* (Mollusca, Bivalvia) epibiontic on *Galathea strigosa* (Decapoda, Galatheidae) in the North Adriatic Sea. *Crustaceana*. 84, 107–115.
- Amato, J.F.R., Amato, S.B., Seixas, S.A., 2006. A new species of *Temnocephala Blanchard* (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Trichodactylus fluviatilis* Latreille (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae) from southern Brazil. *Rev. Bras. Zool.* 23, 796–806.

- Arana, L.I., Díaz, O.D., 2006. Poliquetos (Annelida: Polychaeta) epibiontes de *Spondylus americanus* (Bivalvia: Spondylidae) en el Parque Nacional Mochima, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 54, 765–772.
- Ayres-Peres, L., Mantelatto, F.L., 2010. Epibiont occurrence on gastropod shells used by the hermit crab *Loxopagurus loxochelis* (Anomura: Diogenidae) on the northern coast of São Paulo, Brazil. *Zoologia.* 27, 222–227.
- Baird, G.C., Brett, C.E., Frey, R.C., 1989. “Hitchhiking” epizoans on orthoconic cephalopods: preliminary review of the evidence e its implications. *Neues. Jahrb. Geol. P-A.* 69, 439–465.
- Baldock, B.M., 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. *Hydrobiologia.* 132, 25–131.
- Barea-Arco, J. Pérez-Martinez, C., Morales-Baquero, R., 2001. Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont e its host *Daphnia pulex*. *Limnol. Oceanogr.* 46, 871–881.
- Bickel, S.L., Tang, K.W., Grossart, H.P., 2012. Ciliate epibionts associated with crustacean zooplankton in German lakes: distribution, motility and bacterivory. *Front. Microbiol.* 3, 243–248.
- Boogert, N.J., Paterson, D.M., Laland, K.N., 2006. The implications of niche construction e ecosystem engineering for conservation biology. *BioScience.* 6, 570–578.
- Bozkurt, A., Genc, E., 2009. First record of the epibiont protozoan *Epistylis* sp. on zooplankton (Copepoda, Cladocera, e Rotifera) from the Asi River, Turkey. *Crustaceana.* 82, 515–530.
- Brandt, D.S., 1996. Epizoans on Flexicalymene (Trilobita) e implications for trilobite paleoecology. *J. Paleo.* 70, 442–449.
- Byers, J.E., Cuddington, K., Jones, C.G., Talley, T.S., Hastings, A., Lambrinos, J.G., 2006. Using ecosystem engineers to restore ecological systems. *Trends Ecol. Evol.* 21, 493–500.
- Cabral, A.F., Dias, R.P., Utz, L.P., Alves, R.G., D'agosto, M., 2010. Spatial e temporal occurrence of *Rhabdostyla* cf. *chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) as an epibiont on chironomid larvae in a lotic system in the neotropics. *Hydrobiologia.* 644, 351–359.
- Carmann, K.R., Dobbs, F., 1997. Epibiotic microorganisms on copepods e other marine crustaceans. *Microsc. Res. Tech.* 37, 116–135.

- Caro, A., Escalas, A., Bouvier, C., Grousset, E., Lautredou-Audouy, N., Roques, C., Charmantier, M., Gros, G., 2012. Epibiotic bacterial community of *Sphaeroma serratum* (Crustacea, Isopoda): relationship with molt status. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 457, 11–27.
- Chatterjee, T., Fernandez-Leborans, G., Ramteke, D., Ingole, B.S., 2013. New records of epibiont Ciliates (Ciliophora) from Indian coast with descriptions of six new species. *Cah. Biol. Mar.* 54, 143–159.
- Corliss, J.O., 1979. *The ciliated protozoa—Characterization, Classification e Guide to the Literature.* Pergamon Press, Oxford.
- Crooks, K.R., 2002. Relative sensitivities of mammalian carnivores to habitat fragmentation. *Conserv. Biol.* 16, 488–502.
- Cuddington, J.T., Ludema, R., Jayasuriya, S.A. 2007. Prebisch-Singer Redux. In: Lederman, D., Maloney, W.F. (Eds.) *Natural Resources: Neither Curse not Destiny*, Stanford University Press.
- Di Camillo, G.C., Bo, M., Bartolucci, I., Betti, F., Calcinai, B., Cerrano, C., Coppari, M., Martinelli, M., Puce, S., Bavestrello, G., 2010. The benthic assemblage of Conero Promontory: a model for the study of seasonal cycles in the North Adriatic Sea. *Biol. Mar. Medit.* 17, 112–115.
- Di Camillo, C., Bo, M., Lavorato, A., Morigi, C., Reinach, M. S., Puce, S., & Bavestrello, G. 2008. Foraminifers epibiotic on *Eudendrium* (Cnidaria: Hydrozoa) from the Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* . 88(03), 485-489.
- 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 sytem in Brazil. *Braz. J. Biol.* . 67, 783–785.
- Dias, R.J.P., Cabral, A.F., Martins, R.T., Stephan, N.N.C., Silva-Neto, I.D., Alves, R.G., D'agosto, M., 2009. Occurrence of peritrich ciliates on the limnic oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) in the neotropics. *J. Nat. His.* 43, 1–15.
- Dias, R.J.P., D'avila, S., Wieloch, H., D'agosto, M., 2008. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of southeast Brazil. *J. Nat. His.* 42, 1409–1420.

- Dias, R.J.P., D'ávila, S., D'agosto, M., 2006. First record of epibionts Peritrichids e Suctorians (Protozoa, Ciliophora) on *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Mollusca, Ampullariidae). *Braz. Arch. Biol. Techn.* 49, 807–812.
- Dougherty, J.R., Russell, M.P., 2005. The association between the coquina clam *Donax fossor* Say e its epibiotic hydroid *Lovenella gracilis* Clarke. *J. Shellfish Res.* 24, 35–46.
- Dvoretzky, A.G., 2012. Epibionts of the great spider crab, *Hyas araneus* (Linnaeus, 1758), in the Barents Sea. *Polar Biol.* 35, 625–631.
- Edgcomb, V.P., Breglia, S.A., Yubuki, N., Beaudoin, D., Patterson, D.J., Leander, B. S., Bernhard, J.M., 2010. Identity of epibiotic bacteria on symbiontid euglenozoans in O<sub>2</sub>-depleted marine sediments: evidence for symbiont e host co-evolution. *The ISME journal*. 5, 231–243.
- Enderlein, P. 2000. Direkte und indirekte Wechselwirkungen zwischen Konsumenten, Beute und deren Aufwuchs in *Mytilus* Gemeinschaften der westlichen Ostsee. PhD thesis, Univ. Kiel.
- Evans, M.S., Sicko-Goad, L.M., Omair, M, 1979. Seasonal occurrence of *Tokophrya quadripartita* (Suctorina) as epibionts on adult *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) in southeastern Lake Michigan. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 98, 102–109.
- Eschweiler, N., Buschbaum, C. 2011. Alien epibiont(*Crassostrea gigas*) impacts on native periwinkles(*Littorina littorea*). *Aq. Invasions*, 6(3), 281-290.
- Fard, N.A., Motalebi, A.A., Jafari, J.B., Meshgi, A.M., Azadikhah, D., Afsharnasab, M., 2011. Survey on fungal, parasites e epibionts infestation on the *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823), in Aras Reservoir West Azarbaijan, Iran. *Iranian J. Fis. Sci.* 10, 266–275.
- Farren, M.H., Donovan, D.A., 2007. Effects of sponge e barnacle encrustation on survival of the scallop *Chamys hastate*. *Hydrobiologia*. 612, 21–27.
- Fenchel, T., 1965. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus J.G. Fabricius*. *Ophelia*. 2, 281–303.
- Fenchel, T., 1987. The ecology of Protozoa. Sci. Tec. Inc., London.
- Fernandes, L.F., Calixto-Feres, M., 2012. Morphology e distribution of two epizoic diatoms (Bacillariophyta) in Brazil. . *Acta Bot. Bras.* 26, 836–841.
- Fernandez-Leborans, G., 2001. A review of the species of protozoan epibionts on crustaceans. III. Chonotrich ciliates. *Crustaceana*. 74, 581–607.
- Fernandez-Leborans, G., 2009. A review of recently described epibioses of ciliate protozoa on crustacea. *Crustaceana*. 82, 167–189.



- Fernandez-Leborans, G., Tato-Porto, M.L., 2000. A review of the species of Protozoan Epibionts on Crustaceans. I. Peritrich ciliates. *Crustaceana*. 73, 643–683.
- Fernandez-Leborans, G., Tato-Porto, M.L., 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidacii* (Ciliophora, Suctorina) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). *J. Nat. Hist.* 36, 505–513.
- Fernandez-Leborans, G., Von Rintelen, K., 2010. Biodiversity e distribution of epibiotic communities on *Caridina ensifera* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from Lake Poso: comparison with another ancient lake system of Sulawesi (Indonesia). *Acta Zool.* 91, 163–175.
- Fernandez-Leborans, G., Córdoba, M.J.H., Del Arco, P.G., 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). *Invertebr. Biol.* 116, 171–177.
- Fernandez-Leborans, G., Zitzler, K., Gabilondo, R., 2006. Epibiont protozoan communities on *Caridina lanceolata* (Crustacea, Decapoda) from the Malili lakes of Sulawesi (Indonesia). *Zool. r Anz.* 245, 167–191.
- Foissner, W., Berger, H., Schaumburg, J., 1999. Identification e Ecology of Limnetic Plankton Ciliates. Bavarian State Office for Water Management, Munich.
- Gama, B.A., Carvalho, A.G., Weidner, K., Soares, A.R., Coutinho, R., Fleury, B. G., Pereira, R.C., 2008. Antifouling activity of natural products from Brazilian seaweeds. *Bot. Mar.* 51, 191–201.
- Gilbert, J.J., Schroder, T., 2003. The ciliate epibiont *Epistylis pigmaeum*: selection for zooplankton hosts, reproduction e effect on two rotifers. *Freshwater Biol.* 48, 878–896.
- Goodrich, J.P., Jahn, T.L., 1943. Epizoic Suctorina (Protozoa) from turtles. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 62, 245–253.
- Görtz, H.D., 1996. Symbiosis in ciliates. In: Hausmann, K., Bradbury, P.C. (Eds.), *Ciliates: cells as organisms*. Gustav Fischer, Stuttgart, pp. 441–462.
- Green, J., 1974. Parasites e epibionts of Cladocera. *Trans. Zool. Soc. Lon.* 32, 417–515.
- González Carman, V., Falabella, V., Maxwell, S., Albareda, D., Campagna, C., Mianzan, H., 2012. Revisiting the ontogenetic shift paradigm: The case of juvenile green turtles in the SW Atlantic. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.* 429, 64–72.
- Grohmann, P.A., 2009. Hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) of the intertidal zone of Governador e Paquetá islands, Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia. Série Zool.* 99, 291–294.

- Hanamura, Y., 2000. Seasonality e infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. *Hydrobiologia*. 427, 121–127.
- Henebry, M.S., Ridgeway, B.T., 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods e cladocerans e their possible use as indicators of organic pollution. *Trans. Am. Microsc. Soc.*. 98, 495–508.
- Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1997. Positive e negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*. 78, 1946–1957.
- Jones, B. D., Paretti, M. C., Hein, S. F., & Knott, T. W. 2010. An Analysis of Motivation Constructs with First-Year Engineering Students: Relationships Among Expectancies, Values, Achievement, and Career Plans. *JEE* , 99(4), 319-336.
- Kahl, A., 1935. Peritrichia und Chonotricha. In: *Urtiere Oder Protozoa*. Gustav Fischer, Deutschlands, pp. 651–885.
- Kankaala, P., Eloranta, P., 1987. Epizooic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake. *Oecologia*. 73, 203–206.
- Kudo, R.R., 1966. *Protozoology*. Charles C. Thomas, Illinois.
- Laird, M., 1959. Parasites of Singapore mosquitoes with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. *Ecology*. 40, 207–241.
- Laudien, J., Wahl, M., 2004. Indirect effects of epibiosis on host mortality: seainstar predation on differently fouled mussels. *Mar. Ecol.*. 20, 35–47.
- Lescinsky, H.L., 1997. Epibiont communities: recruitment e competition on North American Carboniferous brachiopods. *J. Paleo.*. 71, 34–53.
- Maldonado, M., Uriz, M.J., 1992. Relationships between sponges e crabs: patterns of epibiosis on *Inachus aguiarii* (Decapoda: Majidae). *Marine Biology*. 113, 281–286.
- Manríquez, P.H., Cancino, J.M., 1996. Bryozoan-macroalgal interactions: do epibionts benefit? *Mar. Ecol. Progress. Series*. 138, 189–197.
- Mantelatto, F.L., O'Brien, J.J., Biagi, R., 2003. Parasites e symbionts of crabs from Ubatuba bay, Sao Paulo State, Brazil. *Comp. Parasitol.*. 70, 211–214.
- Mayén-Estrada, R., Aladro-Lubel, M.A., 2002. Distribution e prevalence of 15 species of epibiont petrich ciliates on the crayfish *Camabarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 in lake Pátzcuaro, Michoacán, México. *Crustaceana*. 74, 1213–1224.
- Miao, W., YU, Y. H., & SHEN, Y. F. 2001. Phylogenetic relationships of the subclass Peritrichia (Oligohymenophorea, Ciliophora) with emphasis on the genus *Epistylis*, inferred from small subunit rRNA gene sequences. *J. Eukar. Microbiol.*. 48(5), 583-587.

- Morado, J.F., Small, E.B., 1995. Ciliate parasites e related diseases of Crustacea: a review. *Revi. Fish. Sci.* 3, 275–354.
- Moss, A.G., Estes, A.M., Muellner, L.A., Morgan, D.D., 2001. Protistian epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. *Hydrobiologia*. 451, 295–304.
- Murison, D.J., Moore, D.C., Davies, J.M., Gamble, J.C., 1990. Survey of invertebrate communities in the vicinity of salmon farm cages in Scottish west coast sea lochs. *Scott. Fish. Work. Pap.*, 11: 90.
- Ohtsuka, S., Koike, K., Lindsay, D., Nishikawa, J., Miyake, H., Kawahara, M., ... & Komatsu, H. 2009. Symbionts of marine medusae and ctenophores. *Plank. Benthos Res.* 4(1), 1-13.
- Pádua, S.B., Ishikawa, M.M., Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Martins, M.L., Tavares, L.E.R., 2013. Brazilian catfish parasitized by *Epistylis* sp. (Ciliophora, Epistylidae), with description of parasite intensity score. *Parasitol. Res.* 112, 443–446.
- Quintanilla, E., Gili, J.M., López-González, P.J., Tsounis, G., Madurell, T., Fiorillo, I., Rossi, S., 2013. Sexual reproductive cycle of the epibiotic soft coral *Alcyonium coralloides* (Octocorallia, Alcyonacea). *Aquatic Biology*. 18, 113–124.
- Regali-Selegim, M.H., 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.* 26, 501–508.
- Righi, G., 1973. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil e its epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). *Zool. Anz.* 191, 295–299.
- Rodrigues, E.M., Rogério, I.T.S., Oliveira, E.E., 2011. Mudança longitudinal na prevalência de infestação de protistas ciliados epibiontes sobre oligoquetas ao longo do rio Paraibuna, município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Bras. Biocienc.* 9, 477.
- Rohde, S., Hiebenthal, C., Wahl, M., Karez, R., Bischof, K., 2008. Decreased depth distribution of *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae) in the Western Baltic: effects of light deficiency e epibionts on growth e photosynthesis. *Eur. J. Phycol.* 43, 143–150.
- Rosemond, A.D., Anderson, C.B., 2003. Engineering role models: do non-human species have the answers? *Ecol. Engin.* 20, 379–387.
- Ross, D. M. 1983. Symbiotic relations. Pages 163-212 in D. E. Bliss, ed. *The biology of Crustacea*, Volume 7. Academic Press, New York.

- Rothäusler, E., Gómez, I., Hinojosa, I.A., Karsten, U., Miranda, L., Tala, F., Thiel, M., 2011. Kelp rafts in the Humboldt Current: Interplay of abiotic e biotic factors limit their floating persistence e dispersal potential. *Limnol. Oceanogr.* 56, 1751–1763.
- Schejter, L., Escolar, M., Bremec, C., 2011. Variability in epibiont colonization of shells of *Fusitriton magellanicus* (Gastropoda) on the *Argentinean shelf*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 91, 897–906.
- Schneider, C.L., 2013. Hitchhiking on Pennsylvanian echinoids: epibionts on Archaeocidaris. *Palaios*. 18, 435–444.
- Schuwerack, P.M., Lewis, J.W., Jones, P.W., 2001. Pathological e physiological changes in the South African freshwater crab *Potamonautes warreni* calman induced by microbial gill infestations. *J. Invert. Pathol.* 77, 269–79.
- Seilacher, A., 1968. Swimming habits of belemnites recorded by boring barnacles. *Palaeog. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 4, 279–285.
- Silva-Neto, I.D., da Silva Paiva, T., Pedroso Dias, R.J., Alexandre Campos, C.J., Migotto, A.E., 2012. Redescription of *Licnophora chattoni* Villeneuve-Brachon, 1939 (Ciliophora, Spirotrichea), associated with *Zyzyzus warren* Calder, 1988 (Cnidaria, Hydrozoa). *Eur. J. Protistol.* 48, 48–62.
- Souissi, A., Souissi, S., Hwang, J.S., 2013. The effect of epibiont ciliates on the behavior e mating success of the copepod *Eurytemora affinis*. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.* 445, 38–43.
- Taylor, W.L., Brett, C.E., 1996. Taphonomy e paleoecology of echinoderm lagerstätten from the Silurian (Wenlockian) Rochester Shale. *Palaios*. 11, 118–140.
- Taylor, P.D., 2002. A new terminology for marine organisms inhabiting hard substrates. *Palaios*. 17, 522–525.
- Threlkeld, S.T., Chiavelli, D.A., Willey, R.L., 1993. The organization of zooplankton epibiont communities. *Trends Ecol. Evol.* 8, 317–321.
- Thurber, A.R., Jones, W.J., Schnabel, K., 2011. Dancing for food in the deep sea: bacterial farming by a new species of yeti crab. *PLoS One*. 6, e26243.
- 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.
- Utz, L.R.P., Coats, W., 2005. The role of motion in the formation of free-living stages e attachment of the peritrich epibiont *Zoothamnium intermedium* (Ciliophora, Peritrichia). *Biociências*. 13, 69–74.

- Vianna, G.J., Melo, A.L., 2002. Aquatic Heteroptera as host of *Temnocephala Blanchard* (Platyhelminthes: Temnocephalidae) in Minas Gerais, Brazil. *Lundiana*. 3, 151–153.
- Wahl, M., Sönnichsen, H., 1992. Marine epibiosis. IV. The periwinkle *Littorina littorea* lacks typical antifouling defences-why are some populations so little fouled? *Mar. Ecol.-Progress Series*. 88, 225–225.
- Wahl, M., 2008. Ecological leverage interface ecology: epibiosis modulates the interactions between host and environment. *Biofouling*. 24, 427–438.
- Wahl, M., 1989. Marine Epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Mar. Ecol.-Progress Series*. 58, 175–189.
- Wahl, M., 1995. Bacterial epibiosis on Bahamian and Pacific ascidians. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 191, 239–255.
- Wahl, M., Mark, O., 1999. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. *Mar. Ecol. Progress Series*. 187, 59–66.
- Weissman, P., Lonsdale, D.J., Yen, J., 1993. The effect of peritrich ciliates on the production of *Acartia hudsonica* in Long Island Sound. *Limnol. Oceanogr.* . 38, 613–622.
- Willey, R.L., Threlkeld, S.T., 1993. Organization of crustacean epizoan communities in a chain of subalpine ponds. *Limnol. Oceanogr.* . 38, 623–627.
- Willey, R.L., Willey, R.B., Threlkeld, S.T., 1993. Planktivore effects on illelzooplankton epibionte community: epibionte pigmentation effects. *Limnol. Oceanogr.* . 38, 1818–1822.
- Williams, J.D., McDermott, J.J., 2004. Hermit crab biocoenoses: a worldwide review of the diversity and natural history of hermit crab associates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 305, 1–128.
- Wright, J.P., Jones, C.G., 2006. The concept of organisms as ecosystem engineers ten years on: progress, limitations, and challenges. *Bioscience*. 56, 203–209.
- Xu, Z., Burns, C.W., 1991. Effects of the epizoic ciliate, *Epistylis daphniae* on growth, reproduction and mortality of *Boeckella triarticulata* (Thomson) (Copepoda: Calanoida). *Hydrobiologia*. 209, 183–189.
- Xu, Z., 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina* macrocopa in an urban stream. *J. Invertebr. Pathol.* 60, 197–200.
- Zalasiewicz, J.A., Page, A., Rickards, R.B., Williams, M., Wilby, P.R., Howe, M.P.A., Snelling, A.M., 2013. Polymorphic organization in a planktonic graptoloid (Hemichordata: Pterobranchia) colony of Late Ordovician age. *Geol. Magazine*. 150,

## 2 DUAS NOVAS ESPÉCIES DE *Vorticella* LINNAEUS, 1767 (CILIOPHORA, PERITRICHIA), EPIBIONTES DE COPÉPODES, NO SISTEMA RIO-PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ-PR BRASIL

### RESUMO

Os protozoários ciliados peritríqueos são formas amplamente distribuídas e incluem organismos pedunculados e sedentários, podendo ser solitários ou coloniais e/ou lorizados. No entanto, tem sido difícil estabelecer relações filogenéticas entre os peritríqueos apenas com base em características morfológicas, devido a sua grande diversidade. Os protistas ciliados peritríquios vivem como epibiontes sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos. Entretanto, apesar de sua ampla ocorrência e dos vários estudos acerca da relação epibiótica envolvendo protozoários ciliados e crustáceos em âmbito mundial, pouco se sabe sobre esta relação na região neotropical. Este trabalho foi realizado através da combinação (taxonomia integrativa) da morfologia e análises moleculares com utilização de fragmento gênico específico (18S rDNA) para a elaboração das diagnoses. Os protozoários ciliados estudados são epibiontes de copépodes zooplancônicos na planície de inundação do alto rio Paraná. *Vorticella* sp. n. 1 apresenta colar peristomial relativamente fino, pedúnculo não estriado e não contrátil, com mionema vestigial na base do pedúnculo, macronúcleo com formato de C. *Vorticella* sp. n. 2, possui colar peristomial evidente, pedúnculo não estriado e não contrátil, com mionema vestigial na base do zooóide, macronúcleo com formato de E invertido, orientado horizontalmente, micronúcleo oval, localizado posteriormente ao macronúcleo. Ambas as espécies epibiontes descritas neste trabalho se mostraram relacionadas com as espécies previamente descritas do gênero *Vorticella*, *Opisthonecta*, *Astylozoon*, *Vorticellides* e *Carchesium*.

**Palavras-chave:** Ciliados, epibiontes, taxonomia integrativa, região neotropical, 18SrDNA.

*ABSTRACT*

The peritrich ciliated are a widely distributed group of protozoa e include the stalked e sedentary organisms, that may be solitary or colonial e /or loricate. However, it has been difficult to establish phylogenetic relationships among peritrichs just based on morphological characteristics, due to its great diversity. This work was carried out by combining (integrative taxonomy) morphological e molecular analysis using a peritrich gene-specific fragment (18S rDNA) for the the diagnoses. The ciliated protozoa described belong to the genus *Vorticella* e live as epibiont attached to zooplankton copepods in the upper Parana River floodplain. *Vorticella* sp. n. 1 shows relatively thin peristomial collar, non-striated e non-contractile stalk, with vestigial myonema on the basis of the stalk, macronucleus C-shaped. *Vorticella* sp. n. 2, has a evident peristomial collar, non-striated e non-contractile stalk with myonema trace, on the bottom of the zooid, macronucleus E-shaped e inverted horizontally oriented, micronucleus oval, located posteriorly to macronucleus. Both species epibionts described in this work are shown related to previously described species of the genus *Vorticella*, *Opisthonecta*, *Astylozoon* e *Vorticellides*, *Carchesium*.

**Keywords:** ciliates, epibionts, integrative taxonomy, Neotropics, 18SrDNA.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os ciliados peritríqueos se caracterizam por serem organismos sésseis, em pelo menos uma fase do desenvolvimento, por apresentarem uma região bucal expandida e um peristômio rodeado por duas fileiras proeminentes de cílios que são inseridos no sentido anti-horário (Corliss 1968). Estes organismos estão entre os mais especiosos e comumente observados dentre todos os ciliados, com mais de 50 gêneros, representados por mais de 1.000 espécies (Li et al. 2008a). A subclasse Peritrichia é tradicionalmente subdividida em duas ordens com base no modo de fixação. A Ordem Sessilida (Kahl 1933) inclui em sua maioria representantes sésseis, que apresentam uma escópula como estrutura de fixação, enquanto que a Ordem Mobilida (Kahl 1933) inclui principalmente as formas livre-natantes, embora agrupe também os representantes parasitos, que possuem um disco adesivo aboral como um órgão de fixação (Gong et al. 2006). Mais recentemente, foram feitos estudos que fundamentam a realocação, das ordens Mobilida e Sessilida em duas subclasses (Peritrichia e Mobilia), tendo como principal argumento, as possíveis homoplasias entre o aparelho bucal dos dois grupos, que teria ocorrido devido à uma evolução convergente, impulsionada pelos seus estilos de vida e estratégias de alimentação semelhantes (Zhan et al. 2009). No entanto as relações filogenéticas entre muitas espécies de peritríqueos continuam desconhecidas (Clamp e Williams 2006; Corliss 1979; Lynn e Small 2002; Miao et al. 2001; Miao et al. 2004, Utz e Eizirik, 2010).

Espécies de *Vorticella* Linnaeus, 1767 são organismos bem conhecidos, pertencentes à subclasse Peritrichia, pedunculados, podendo ser coloniais ou solitários, com zoóide altamente contrátil, podendo ser observados em biótopos marinhos e dulciaquícolas em todo o mundo (Jankowski 1976; Kahl 1935; Noland e Finley 1931; Precht 1935; Sommer, 1951; Song 1991; Stiller 1971). Apesar de mais de 200 espécies já terem sido observadas para este gênero, menos de um terço dos artigos que descreveram espécies de *Vorticella* utilizaram técnicas usadas recentemente na descrição destes organismos (e.g. Foissner et al. 1992; Song 1991; Warren 1986). Como demonstrado por alguns estudos, a infraciliatura oral, mais especificamente as policinécias infundibulares do aparato oral dos peritríqueos, revelada através de técnicas de impregnação pela prata, desempenha um papel essencial na determinação das espécies de peritríqueos (Clamp 1990a, 1992, 1997; Foissner et al. 1992; Ji e Song 2005a; Ji et al. 2005a, b). No entanto, é difícil estabelecer as suas relações filogenéticas apenas com base nas características morfológicas (Utz et al. 2010). Convencionalmente, a



sistemática da maioria dos organismos da subclasse Peritrichia é baseada em descrições antigas, o que torna complicada a escolha de um caractere morfológico como um possível marcador filogenético (Miao et al. 2001). Tradicionalmente, o sistema de “*silverline*” e as policinécias do aparato infundibular, têm sido utilizados como bons caracteres taxonômicos não somente para descrever muitas espécies de ciliados peritríqueos, mas como provável marcador filogenético dos clados destes organismos (Foissner et al. 1992).

No entanto, como ressaltado anteriormente, é difícil estabelecer relações filogenéticas com base apenas em características morfológicas, portanto, os dados de sequências de genes, como o SSrRNA (pequenas subunidades do DNA ribossomal) fornecem um método alternativo para estabelecer as relações de parentesco entre as espécies de peritríqueos (Miao et al. 2001). A aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR) para estudos filogenéticos de ciliados criou oportunidades para a aquisição de sequências moleculares e melhor acurácia nas inferências sobre a história evolutiva dos ciliados (Li et al. 2008b). “*Primers*” específicos para ciliados têm sido desenvolvidos e utilizados com sucesso para amostras de solo (Lara et al. 2007; Puitika et al. 2007); no entanto, ferramentas moleculares específicas na determinação da diversidade de ciliados ecologicamente importantes em ambientes aquáticos, com um desempenho altamente específico, são ainda escassos (Liu e Gong 2012).

Os protistas ciliados peritríqueos vivem como epibiontes sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos, incluindo diversos grupos de invertebrados e de vertebrados (Chatterjee et al. 2013; Dias et al. 2009; Fard 2011; Fernandez-Leborans e von Rintelen 2010; Ingole et al. 2010; Regali-Selegim e Godinho 2004; Utz e Coats 2005). De acordo com Fenchel (1987), é provável que praticamente todos os metazoários aquáticos apresentem ciliados epibiontes. Os crustáceos são os organismos mais frequentemente observados como hospedeiro de ciliados epibiontes (Fernandez-Leborans 2001; 2009; Fernandez-Leborans e Tato-Porto 2000b; Morado e Small 1995; Williams e McDermott 2004).

Entretanto, apesar de sua ampla ocorrência e dos vários estudos acerca da relação epibiótica envolvendo protozoários ciliados e crustáceos em âmbito mundial, pouco se sabe sobre esta relação na região neotropical (Mayén-Estrada et al. 2013). Nas revisões mais recentes acerca dos protistas epibiontes de crustáceos (Fernandez-Leborans e Tato-Porto 2000; Fernandez-Leborans 2001), foram registradas 380 espécies de protistas epibiontes de crustáceos, entre indivíduos da classe Peritrichia e Chonotrichia. Destas espécies, apenas duas descrições se originaram no Brasil *Lagenophrys aegleae* Mouchet-Bennati 1932 e *Lagenophrys antichthos* Clamp 1988. Onde foi apresentada a descrição de duas novas espécies

do gênero *Vorticella*. Este trabalho foi realizado através da combinação (taxonomia integrativa) da morfologia dos organismos e análises moleculares com utilização de fragmento gênico específico (18S rDNA) para a subclasse Peritrichia para a elaboração das diagnoses e entender relações de parentesco evolutivo entre as espécies.

## 2.2 METODOLOGIA

### 2.2.1 Área de estudo

O trecho estudado do vale aluvial do alto rio Paraná apresenta um amplo canal anastomosado, com extensa planície aluvial, atingindo até 20 km de largura. Nela se encontram numerosos canais secundários, lagoas e tributários, incluindo os rios Ivinhema e Baía. (Agostinho e Zalewski 1996). A área de estudo abrange uma variedade de lagoas com diferentes graus de conectividade com o rio, além de diferenças morfológicas e morfométricas. Amostras foram tomadas em três rios, três canais, 16 lagoas abertas e 14 lagoas fechadas (Figura 1). Esses 36 ambientes foram amostrados durante um período de potamofase (dezembro de 2010) e um de limnofase (junho de 2011). Além disso, coletas adicionais foram realizadas a fim de aumentar o número de ciliados a serem submetidos tanto às técnicas ciliatológicas quanto às análises moleculares.

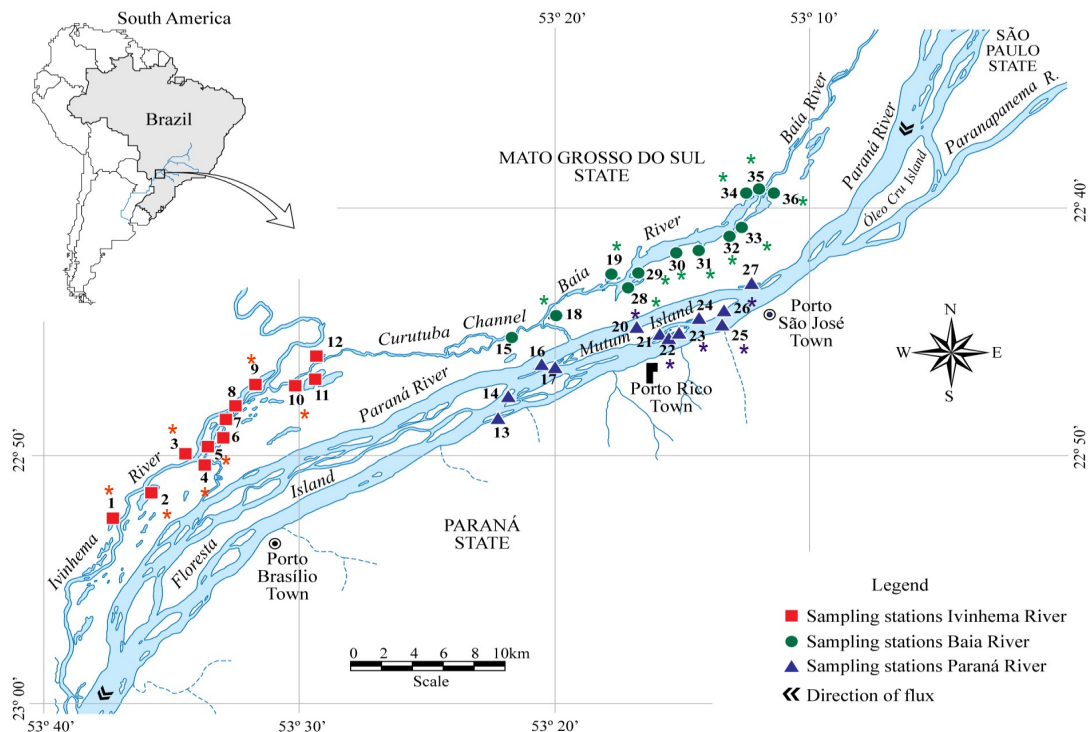


Figura 1. Localização da área de estudo evidenciando os 36 locais de coleta que incluem lagoas conectadas e isoladas, canais e rios. Números representam a demarcação de cada local de coleta.

### 2.2.2 Amostragem de campo

Em cada ambiente foram coletadas duas amostras que foram obtidas através de arrastos com rede de plâncton de 100 µm de abertura de malha. Uma das amostras foi fixada imediatamente com bouin, para posterior quantificação e identificação tanto dos epibiontes quanto dos hospedeiros. A outra amostra foi acondicionada em caixas térmicas com gelo, sendo mantida viva, e levada até a Base Avançada de Pesquisas do Nupélia no município de Porto Rico, Estado do Paraná, onde foi separada em três alíquotas. Com uma das alíquotas foram realizadas análises e registros fotográficos dos organismos *in vivo*, imprescindível para a identificação dos ciliados peritríqueos. A outra alíquota foi fixada, segundo Silva-Neto (2012) para a realização de técnicas de microscopia eletrônica de varredura e a terceira alíquota foi fixada em etanol 95% para posterior realização de técnicas de biologia molecular e reconstrução filogenética.

As amostras provenientes de coletas adicionais foram realizadas com a finalidade de maximizar a abundância de copépodes colonizados por epibiontes. Os organismos foram mantidos vivos em caixas térmicas com gelo e levados para o “Laboratório de Protozooplâncton” da Universidade Estadual de Maringá- Maringá/PR.

### 2.2.3 Identificação

Foram feitas observações *in vivo* utilizando microscópio fotônico de campo claro e com contraste diferencial interferencial (DIC) além da técnica do “protargol” (Montagnes e Lynn 1993), a observação *in vivo* foi realizada no laboratório de protozooplâncton da Universidade Estadual de Maringá. A técnica do “protargol” consiste em uma das técnicas de impregnação pela prata que evidencia os caracteres taxonômicos utilizados na identificação dos ciliados peritríqueos; a técnica do protargol foi realizada no laboratório Faculdade de Biociências – PUCRS.

Além disso, foi realizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura, uma técnica que permite a observação de detalhes ultraestruturais não visíveis em microscopia óptica e que tem sido amplamente usada em protozoologia (Silva-Neto 1994), a microscopia eletrônica foi realizada no complexo de centrais de apoio à pesquisa (COMCAP) da Universidade estadual de Maringá.

#### 2.2.4 Análises Moleculares

Depois de separados dos basibiontes, os ciliados foram acondicionados em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL com álcool e centrifugados durante 5 minutos (6000 rpm). Após estes procedimentos o material foi lavado com tampão fosfato-salino (PBS) e novamente centrifugado por 5 minutos. O procedimento foi repetido por três vezes para que todo o resíduo de etanol fosse eliminado da amostra. Os ciliados tiveram o seu DNA extraído com o Qiagen DNeasy Tissue kit (QIAGEN), seguindo as especificações do fabricante, com adição de tampão de lise de tecido e proteinase K e incubação “*overnight*” a 56°C (Clamp e Williams 2006).

O DNA genômico foi amplificado utilizando-se “*primers*” específicos (18S rDNA) para a subclasse Peritrichia: Peri974F (GGAAACTCATCAGGRCAAGAAGATT) e Peri1403R (GGGCGRTGTGTACATTTTG) (Liu e Gong 2012). A ciclagem para a reação em cadeia de polimerase foi: desnaturação inicial a 94°C/4 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C/1 minuto, associação a 50°C/1 minuto, extensão a 72°C/1 minuto, com uma extensão final de 72°C durante 7 minutos (Gong et al. 2013). O sucesso da amplificação do DNA foi verificado pela eletroforese do produto em gel de agarose a 1%. Para aumentar a quantidade de DNA, os produtos desta primeira PCR foram novamente amplificados através de uma nova reação em cadeia de polimerase.

Os produtos da PCR foram purificados através de filtração, utilizando-se o “*QIAquick PCR Purification kit (Qiagen)*”. A concentração de DNA amplificado foi verificada com o auxílio do espectrofotômetro NanoDrop (Thermo, Winmington, DE, USA) (Liu e Gong 2012). O DNA purificado foi sequenciado em ambas as direções segundo metodologia adotada por Sun et al. (2011). Os fragmentos sequenciados foram montados em sequencias contíguas e editados com o auxílio do “*software*” Sequencher 4.0 (Williams e Clamp 2007).

Todas as análises moleculares e filogenéticas foram realizadas na “*North Carolina Central University (NCCU)*”, sob supervisão do Pro. Dr. John C. Clamp.

### 2.2.5 Análises Filogenéticas

Com o intuito de estabelecer a relação de parentesco das espécies descritas com linhagens da subclasse Peritrichia e ainda auxiliar nas diagnoses e descrições foram conduzidas análises filogenéticas. Para isso, fragmentos gênicos 16S rDNA de 65 espécies da subclasse Peritrichia foram obtidas do banco de dados GenBank ou do banco de dados pessoal do Prof. Clamp (JCC). Como grupos externos foram utilizados as seguintes espécies: *Tetrahymena corlissi*, *T. farleyi*, *T. australis*, *Colpidium campylum*, *Ichthyophthirius multifiliis*. A escolha dos grupos externos foi baseada na relação de parentesco destas espécies com a subclasse Peritrichia (Utz e Eizirik 2010). Estes fragmentos gênicos foram combinados a sequências das espécies novas descritas neste trabalho com o auxílio do *software* Bioedit (Hall 2011). As sequências foram alinhadas com auxílio do *software* Clustal W (Oliver et al. 2005).

As relações filogenéticas foram reconstruídas a partir de métodos cladísticos (parcimônia). As análises de parcimônia foram conduzidas no *software* PAUP (Swofford 1998). Buscas heurísticas com a adição aleatória de táxons (*random addiction*) e conexão e re-conexão dos ramos (*tree bisection reconnection-TBR*) foram utilizadas na busca. Para testar o suporte dos clados, 1000 pseudoréplicas de *bootstrap* e dez táxons aleatórios de adição de réplicas (Felsenstein 1985) foram conduzidas também no PAUP. Clados com grau de apoio superior a 75% foram considerados suportados (Hillis e Bull 1993).

## 3 RESULTADOS

### **Vorticella sp. n. 1**

Classe: Oligohymenophora de Pytorac et al., 1974.

Subclasse: Peritrichia Stein, 1859.

Família: Vorticellidae Ehrenberg, 1838

Gênero: *Vorticella* Linnaeus, 1767

#### **Diagnose:**

Espécie de ambientes dulciaquícolas, com zoóide em forma de sino invertido, dimensões *in vivo* 32-57 x 26-49 µm. Apresenta colar peristomial relativamente fino. Um único vacúolo contrátil localizado à frente do vestíbulo. Pedúnculo não estriado e não contrátil, com mionema vestigial, na base do zoóide. Macronúcleo com formato de C, podendo estar

orientado horizontalmente ou transversalmente, micronúcleo localizado posteriormente ao macronúcleo. Cerca de 21 estriações da região oral à banda telotrocal e 9 da banda telotrocal à escópula. Citoplasma incolor ou levemente amarelado, com muitos vacúolos digestivos de coloração amarelo-esverdeada (Figuras 3) .

#### **Hospedeiro e localidade:**

Copépodes zooplancctônicos jovens e adultos da espécie *Notodiptomus henseni* (Dahl 1894) (Figura 3a), provenientes do sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná (22°45'S e 53°30'W), localizada entre os estados do Paraná-PR e Mato Grosso do Sul-MS, nos municípios de Porto Rico (PR) e Ivinhema (MS). Tal localidade está há uma altitude de 230m e tem seus limites entre Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema e Área de Proteção Ambiental das ilhas e Várzeas do Rio Paraná.

#### **Morfologia:**

Os zoóides apresentam o corpo em forma de sino invertido, dimensões *in vivo* de 45,10 x 34,41µm (Figura 3c-g). Os zooóides quando estimulados contraem tanto a região oral quanto a região posterior (Figura 3b). O citoplasma é geralmente incolor ou levemente amarelado, contendo vários vacúolos alimentares (de 2 a 6 vacúolos) com formato oval com dimensões variadas (Figura 3d). O único vacúolo contrátil, localizado anteriormente ao vestibulo, levemente à esquerda, o vestibulo se estende até o terço superior do comprimento do corpo (Figura 2a, 3e-g). O colar peristomial é reduzido. Foram observados grânulos corticais no citoplasma (Figura 3g). Pedúnculo com superfície lisa, cerca de 8 mm de espessura. A colônia, constituída por um pedúnculo de superfície lisa, não contrátil, cujos zoóides estão localizados em pares, em ramificações regulares (Figura 2c, 3c, 3e)

Os espécimes impregnados pelo protargol possuem dimensão média de 43,62 x 30,06µm, 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. O macronúcleo em forma de “C”, orientado transversalmente, apresenta dimensões que variam entre 11-27 x 2-13µm (Figura 4). Em alguns espécimes foram observados macronúcleos orientados de forma diferente do padrão horizontal (Figura 2.c, Figura 3). O micronúcleo apresenta formato circular e dimensões de 0,36-0,95 x 0,2-0,870µm, e está localizado posterior ao macronúcleo (Figura 3a,e). A infraciliatura espiral adoral robusta apresenta volta única (Figura 3b,c) com comprimento variando entre 4-9µm e largura 2,95-23,37µm (Figura 3a-c) Infraciliatura oral,

(haplocinécia e policinécia) completa formam uma volta única ao redor do peristômio até o infundíbulo, onde as três policinécias (P1, P2, P3), compostas de três cinetossomos cada. P1 é composto por três fileiras de cinetossomos que se estendem para a extremidade do citóstoma, terminando lá no mesmo nível de P2; P3 é inconspícuo e de difícil visualização (Figura 3b, c, f).

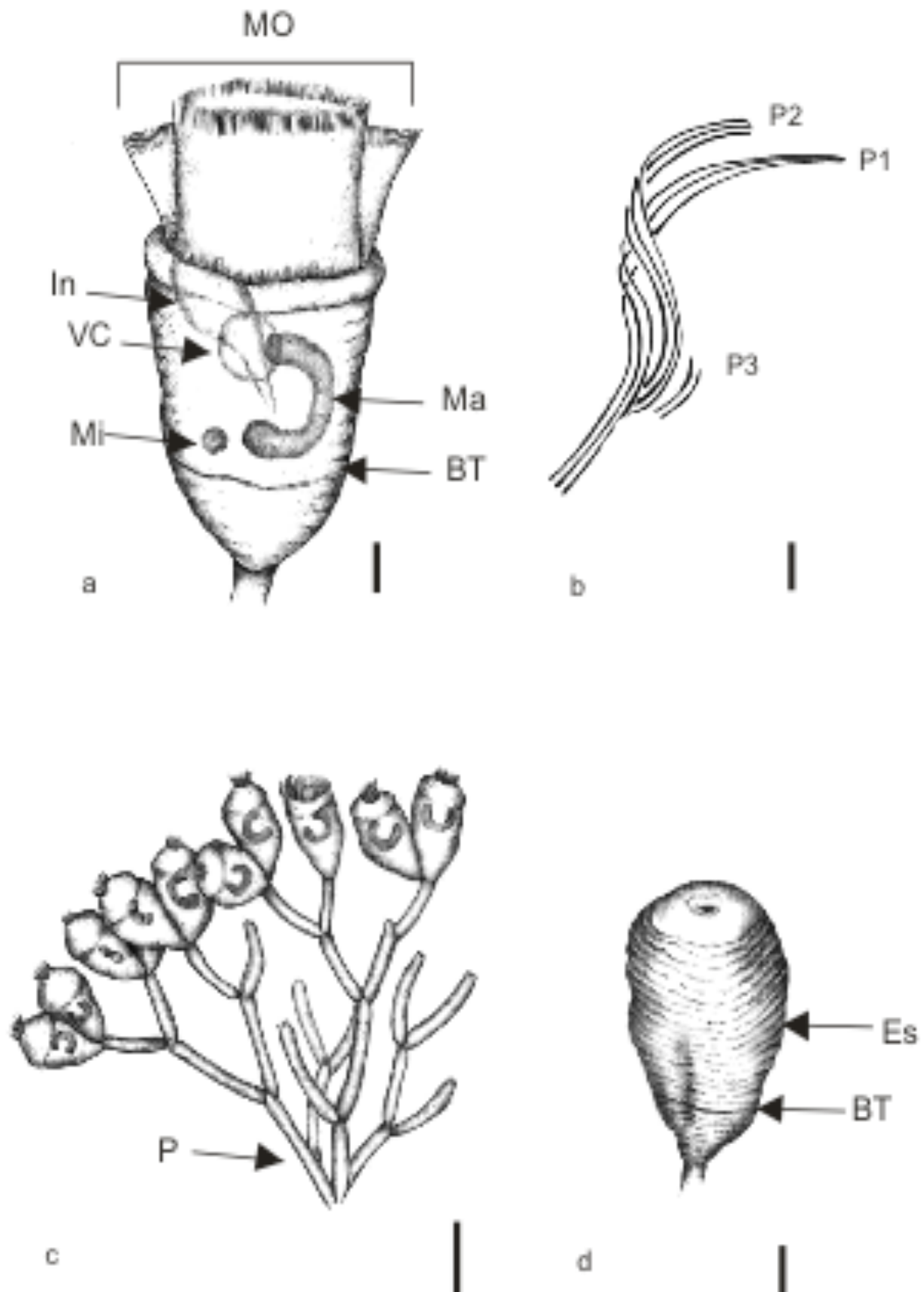
A película possui estriações (“*silverlines*”) longitudinais ao redor do corpo. Foram contabilizadas, com base nas eletromicrografias realizadas, 21 estriações da região oral à banda telotrocal e 9 da banda telotrocal à escópula (Figura 4 c, e, f).

### Depósito de material:

Vinte e lâminas de material impregnado pelo protargol, contendo as espécies tipo, utilizados para medições (Tabela 1) e para os desenhos serão depositadas para consulta na coleção internacional de protozoários do Museu nacional de história natural dos estados Unidos National (USNM), pertencente ao “*Smithsonian Institution*”. No Brasil, lâminas serão depositadas na coleção Laboratório de Protistologia (Dept. de Zoologia, Inst. de Biologia, UFRJ).

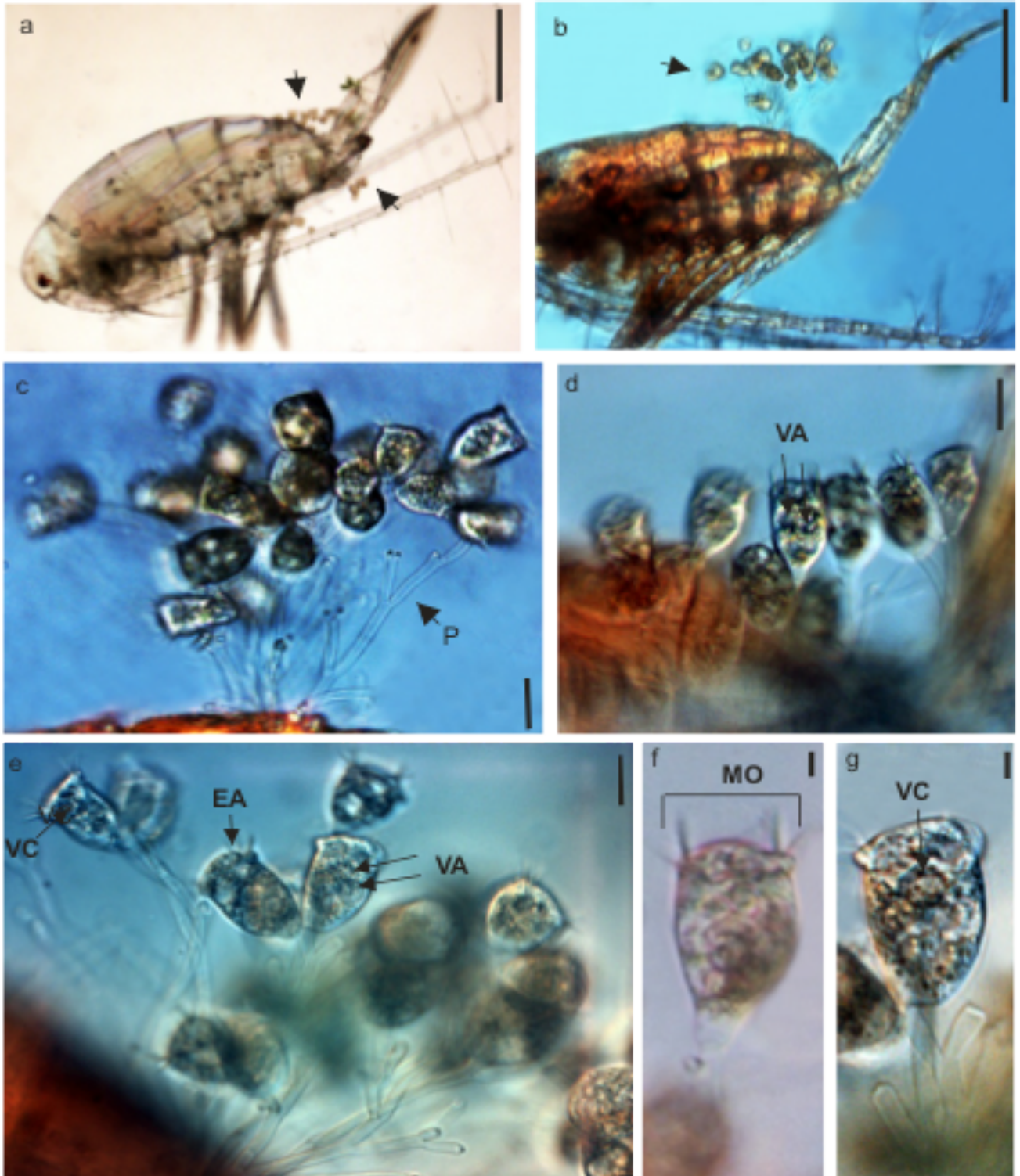
**Tabela 1.** Morfometria do ciliado peritríqueo *Vorticella* sp. n. 1, epibionte de *Notodiptomus henseni* provenientes do vale aluvial do alto rio Paraná PR/MS, Brasil.

<i>In vivo</i>	$\bar{X}$	$\sigma$	Erro Padrão	Mín.	Máx	n
Comprimento do corpo	45,10	6,87	5,92	32,61	57,58	30
Largura do corpo	28,41	4,96	4,01	25,99	48,83	30
Comprimento do pedúnculo até a bifurcação	25,40	1,61	0,66	32,28	18,52	15
Largura do pedúnculo	6,66	2,67	1,72	3,88	7,44	15
Largura da Membrana Ondulante	12,25	2,04	1,09	12,13	17,37	15
Comprimento do vestíbulo	12,44	1,55	0,60	12,30	13,58	10
Número de vacúolos contráteis				1,00	1,00	30
Número de vacúolos alimentares	4,00	1,15	0,20	2,00	6,00	30
<b>Protargol</b>						
Comprimento do corpo	36,62	6,75	5,80	32,09	45,15	20
Largura do corpo	22,06	4,32	3,37	21,32	28,80	20
Comprimento do macronúcleo	19,08	5,39	4,44	13,56	22,80	20
Largura do macronúcleo	3,92	0,89	1,64	4,59	7,26	20
Comprimento do micronúcleo	0,56	0,29	0,17	0,36	0,95	15
Largura do micronúcleo	0,49	0,74	0,21	02	0,70	15
Comprimento da espiral adoral	6,54	4,53	0,58	4,76	9,33	15
Largura da espiral adoral	3,16	0,21	0,74	2,95	3,37	15

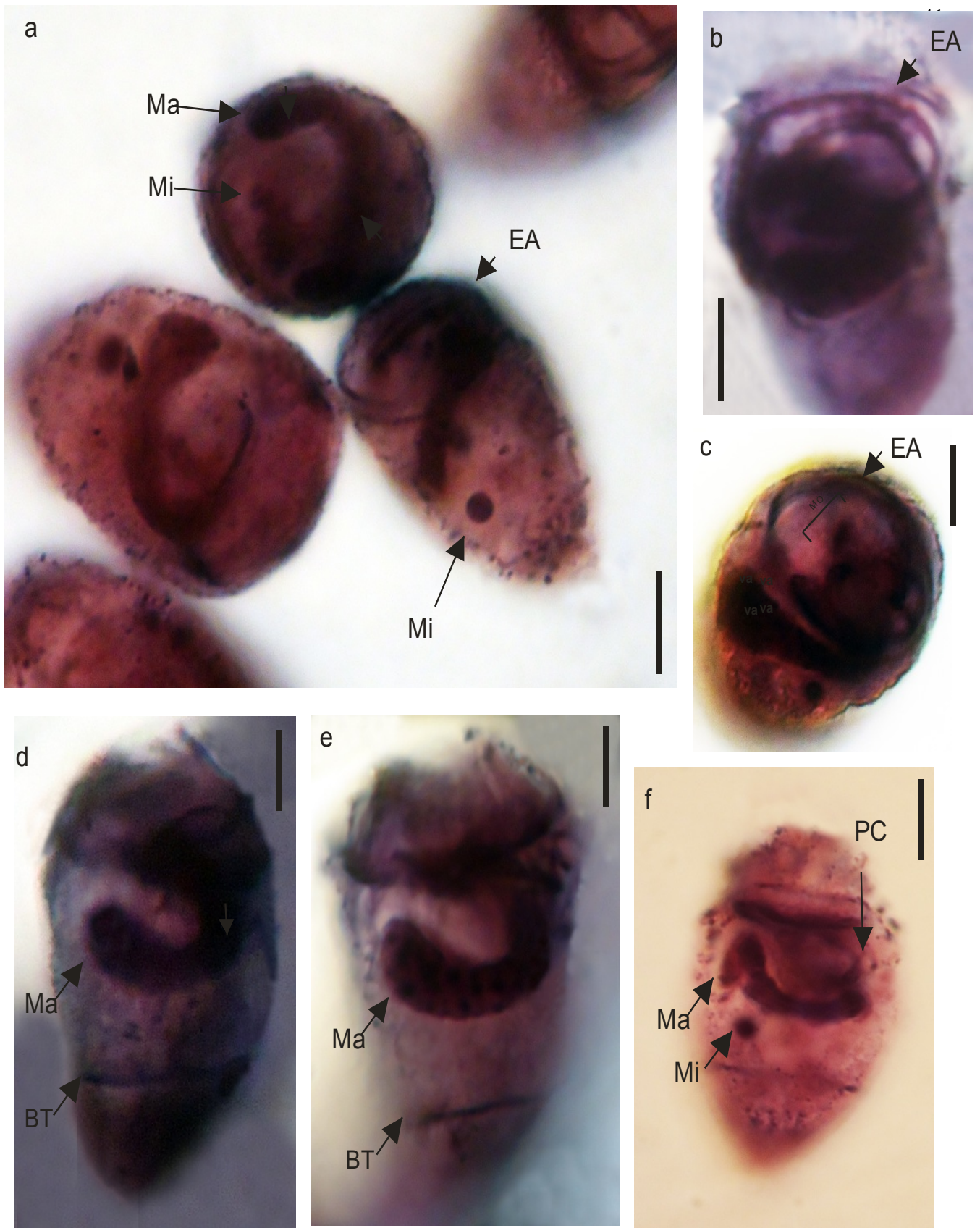


**Figura 2 (a-d).** Desenhos esquemáticos da espécie *Vorticella* sp. n. 1. Detalhe de *Vorticella* sp. n. 1, evidenciando macronúcleo (Ma), micronúcleo (Mi) Infundíbulo (In), Membrana Ondulante (MO), banda telotrocal (BT). **b.** Detalhe das três policinécias infundibulares (P1, P2 e P3). **c.** Detalhes do pedúnculo (P) e da disposição dos zoóides na colônia. **d.** Desenho da vista externa do ciliado, evidenciando as estriações (Es) e a banda telotrocal (Bt). Barras: a,d= 10  $\mu$ m, b= 5  $\mu$ m , c= 20 $\mu$ m.



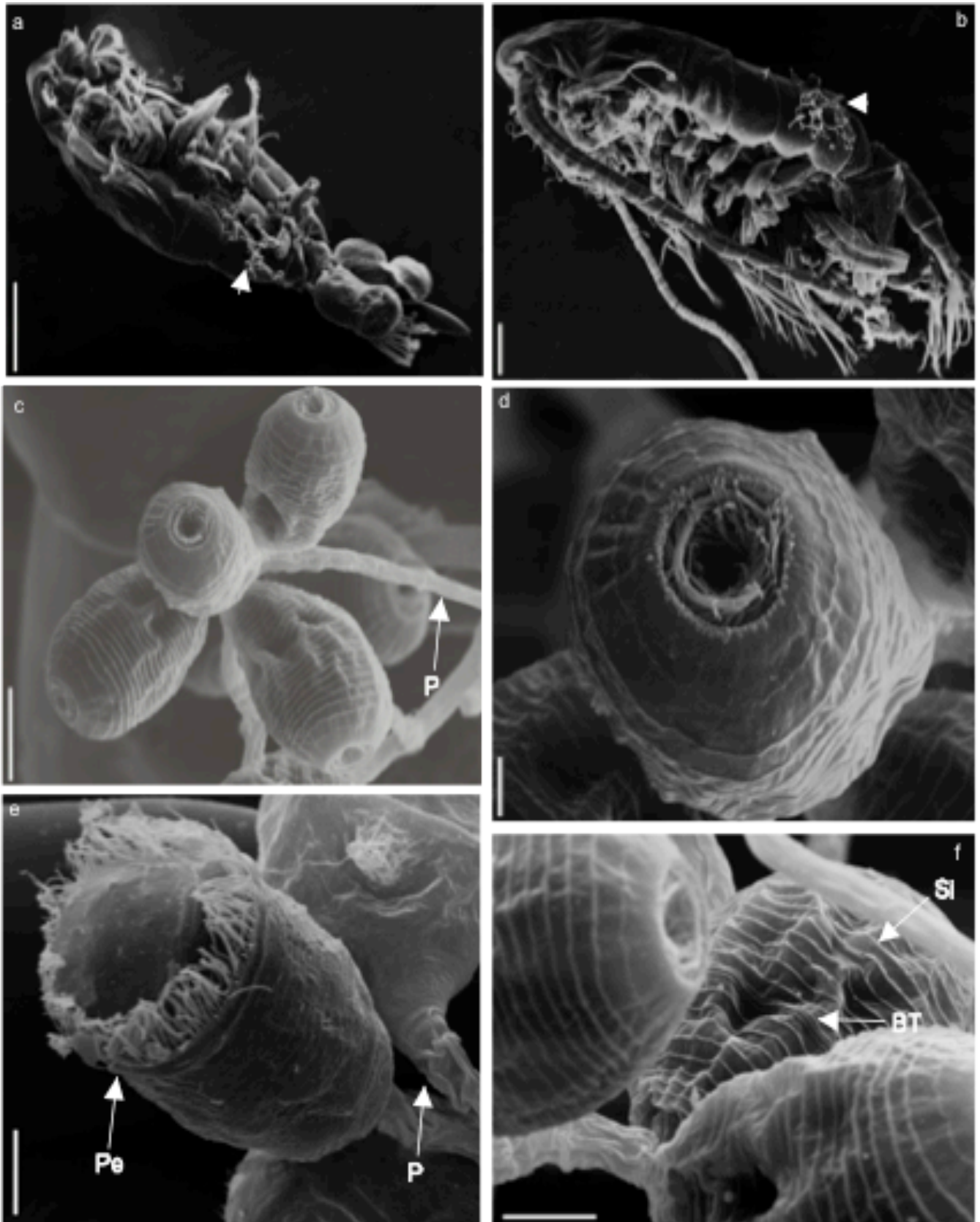


**Figura 3 (a-g).** Fotomicrografias de *Vorticella* sp.n.1 *in vivo* sob microscópio de campo claro e sob microscópio interferencial diferencial (DIC). **a-b** Detalhe da região posterior do copépode com colônias de ciliados aderidos à região posterior (seta); **c.** Detalhe da colônia de *Vorticella* sp. n. 1, evidenciando o pedúnculo não-contrátil (P); **d-e.** Detalhe da colônia de *Vorticella* sp. n. 1, evidenciando Vacúolos alimentares (VA) e membrana ondulante (MO), vacúolo contrátil (VC) espiral adoral (EA), respectivamente; **f-g.** Detalhe de indivíduo de *Vorticella* sp. n. 1, evidenciando a Membrana ondulante (MO) e vacúolo contrátil (VC). **Barras:** a= 200 $\mu$ m; b= 100 $\mu$ m; c-e = 50  $\mu$ m; f-g =10  $\mu$ m.



**Figura 4 (a-f).** Fotomicrografias de *Vorticella* sp. n. 1, obtidas após a realização da técnica de impregnação pelo “Protargol” a-f. Detalhe de *Vorticella* sp. n. 1, evidenciando macronúcleo (MA), micronúcleo (MI) espiral adoral (EA), banda telotrocal (BT) e Policinécias (PC). Barras: a= 20 µm, b-f =10µm.





**Figura 5 (a-f).** Eletromicrografias de *Vorticella sp. n. 1*. **a.**Indivíduo fêmea de *Notodiaptomus henseni* com epibiontes aderidos à região ventral posterior (seta); **b.**Indivíduo macho de *Notodiaptomus henseni* com epibiontes aderidos à região dorsal posterior (seta). **c.** Detalhe da colônia de *Vorticella sp. n. 1*, evidenciando o pedúnculo (P) e o sistema de estriações “silverlines” (si) e a banda telotrocal (BT). **d- e.** Detalhe da região oral do ciliado, contraído e aberto (com detalhe do peristômio (Pe)), respectivamente. **f.** Detalhe da banda telotrocal de *Vorticella sp. n. 1*. Barras: a-b= 100 $\mu$ m; c= 10 $\mu$ m, d= 2 $\mu$ m, e-f= 25 $\mu$ m.

***Vorticella* sp. n. 2**

Classe: Oligohymenophora de Pytorac et al., 1974.

Subclasse: Peritrichia Stein, 1859.

Família: Vorticellidae Ehrenberg, 1838

Gênero: *Vorticella* Linnaeus, 1767

**Diagnose:**

Espécie em ambientes dulciaquícolas, com zoóide em forma de sino invertido, dimensões *in vivo* 42-53 x 28-51µm, colar peristomial evidente, um vacúolo contrátil localizado à frente do vestibulo, pedúnculo não estriado e não contrátil, com mionema vestigial, na base do zoóide, macronúcleo com formato de E invertido, orientado horizontalmente, micronúcleo oval, localizado posteriormente ao macronúcleo. Cerca de 32 estriações da região oral à banda telotrocal e 8 da banda telotrocal à escópula. Citoplasma incolor ou levemente esverdeado, com muitos vacúolos digestivos de coloração amarelo-esverdeada (Figuras 6-9) .

**Hospedeiro e localidade:**

Copépodes zooplânctônicos jovens e em adultos das espécies *Thermocyclops minutus* (Lowndes, 1934) e *Thermocyclops decipiens* (Kiefer, 1929) (Figura 7a, 8a). Provenientes do vale aluvial do Alto rio Paraná (22°45'S e 53°30'W), localizada entre os estados do Paraná-PR e Mato Grosso do Sul-MS, nos municípios de Porto Rico (PR) e Ivinhema (MS). Tal localidade está há uma altitude de 230m e tem seus limites entre Parque estadual das Várzeas do Rio Ivinhema e Área de Proteção Ambiental das ilhas e Várzeas do Rio Paraná.

**Morfologia:**

Os zoóides, robustos, apresentam o corpo em forma de sino invertido, dimensões *in vivo* de 45,10 x 34,41µm (Figuras 6- 7). Os zoóides quando estimulados contraem tanto a região oral quanto a região posterior. O citoplasma é geralmente incolor ou levemente esverdeado, contendo vários vacúolos alimentares (de 4 a 12 vacúolos) com formato oval com dimensões variadas (Figuras 6-7). O único vacúolo contrátil, localizado anteriormente ao vestibulo, levemente à esquerda, o vestibulo curto se estende até o terço superior do comprimento do corpo (Figura 7 e-g). O colar peristomial é pronunciado e evidente (Figura 7b-g). Foram observados grânulos corticais no citoplasma (Figura 7b-g). A colônia, constituída por um pedúnculo de superfície lisa (cerca de 12 µm de espessura), não contrátil, cujos zoóides estão localizados em pares, em ramificações regulares e colônias não muito numerosas, (maior colônia observada, apresentou 32 indivíduos) (Figura 6e, 7a-b, 8a) (Tabela 2).

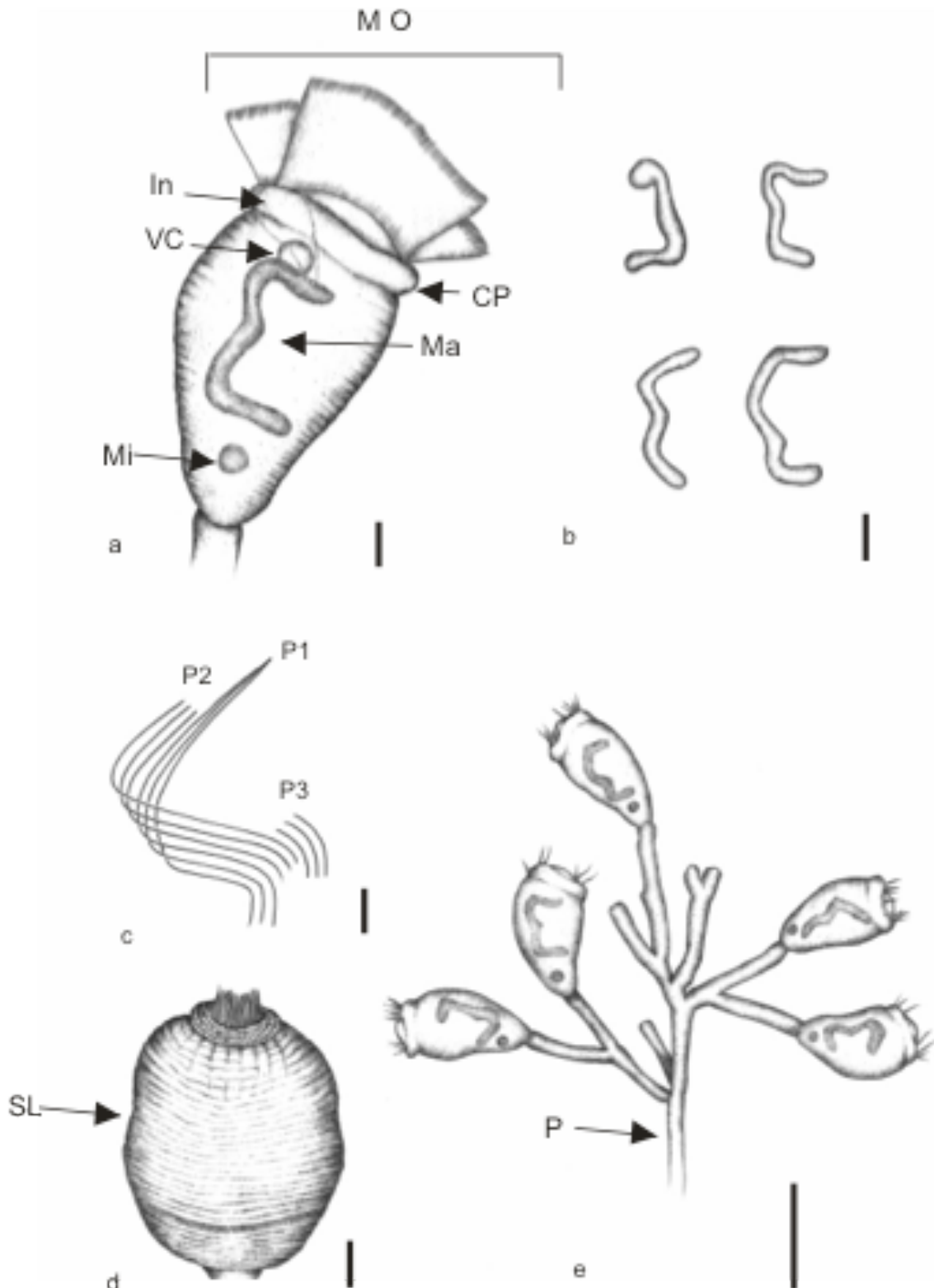
Os espécimes impregnados pelo protargol possuem dimensão média de 49,4 x 33,15µm, havendo uma redução média de 7% quando comparado aos espécimes medidos *in vivo*. O sistema de mionemas se restringe ao zoóide, não ocorrendo no pedúnculo e se inicia na escópula e se estende até a região central do zoóide. O macronúcleo em forma de “E invertido”, orientado transversalmente, apresenta dimensões que variam entre 38 x 19µm (Figura 8). Em alguns espécimes foram observados macronúcleos orientados de forma diferente do padrão horizontal (Figura 6e, 8c-e). O micronúcleo apresenta formato circular e dimensões de 2,6-3,19 x 2,65-3,95 µm, e está localizado posterior ao macronúcleo (Figura 8d-e) (Tabela 2).

A infraciliatura espiral adoral robusta apresenta volta única (Figura 8e) com comprimento variando entre 5,6-13,19µm e largura 6,95-19,65µm (Figura 8e). Infraciliatura oral, (haplocinécia e policinécia) completa formam uma volta única ao redor do peristômio até o fundo do infundíbulo, onde as três policinécias (P1, P2, P3), compostas de três cinetossomos cada. P1 é composto por três fileiras de cinetossomos onde se localiza o citóstoma, terminando lá no mesmo nível de P2; P3 é inconspícuo e de difícil visualização (Figura 8e) (Tabela 2).

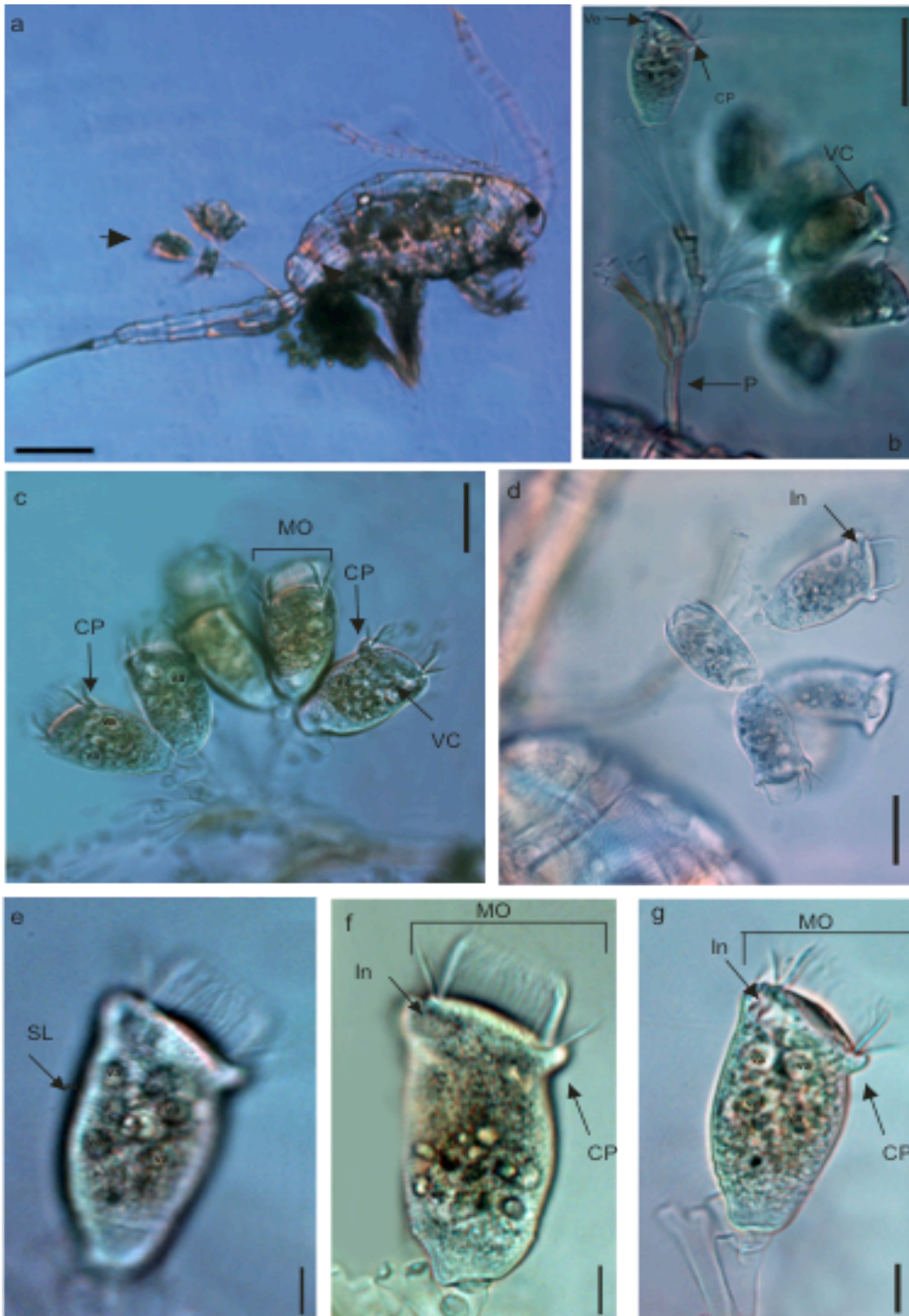
A película possui estriações (“*silverlines*”) longitudinais ao redor do corpo. Foram contabilizadas, com base nas eletromicrografias realizadas, 32 estriações da região oral à banda telotrocal e 8 da banda telotrocal à escópula (Figura 9).

**Tabela 2.** Morfometria do ciliado peritríqueo *Vorticella* sp. n. 2, epibionte de *Thermocyclops minutus* e *Thermocyclops decipiens* provenientes da planície de inundação do alto rio Paraná PR/MS, Brasil.

<i>In vivo</i>	$\bar{X}$	$\sigma$	Erro Padrão	Mín.	Máx	n
Comprimento do corpo	53,67	12,5	7,21	42,44	63,42	30
Largura do corpo	36,75	7,30	6,35	28,33	51,17	30
Comprimento do pedúnculo até a bifurcação	29,98	6,19	5,24	36,86	56,33	15
Largura do pedúnculo	12,27	1,48	0,53	9,95	15,39	15
Largura da Membrana Ondulante	8,35	4,36	3,41	5,57	9,13	15
Comprimento do vestíbulo	14,67	3,78	2,83	14,53	15,81	10
Número de vacúolos contráteis				1	1	30
Número de vacúolos alimentares	8,00	2,71	1,98	4	12	30
<b>Protargol</b>						
Comprimento do corpo	49,4	19,23	17,75	37,23	58,39	20
Largura do corpo	33,75	14,32	9,25	22,25	42,15	20
Comprimento do macronúcleo	38,15	14,25	10,29	19,25	45,44	20
Largura do macronúcleo	19,28	8,75	10,29	11,15	23,25	20
Comprimento do micronúcleo	2,8	2,53	2,41	2,6	3,19	15
Largura do micronúcleo	2,44	2,69	2,16	3,95	2,65	15
Comprimento da espiral adoral	9,85	7,84	3,89	5,6	13,19	15
Largura da espiral adoral	7,3	0,35	0,88	6,95	19,65	15

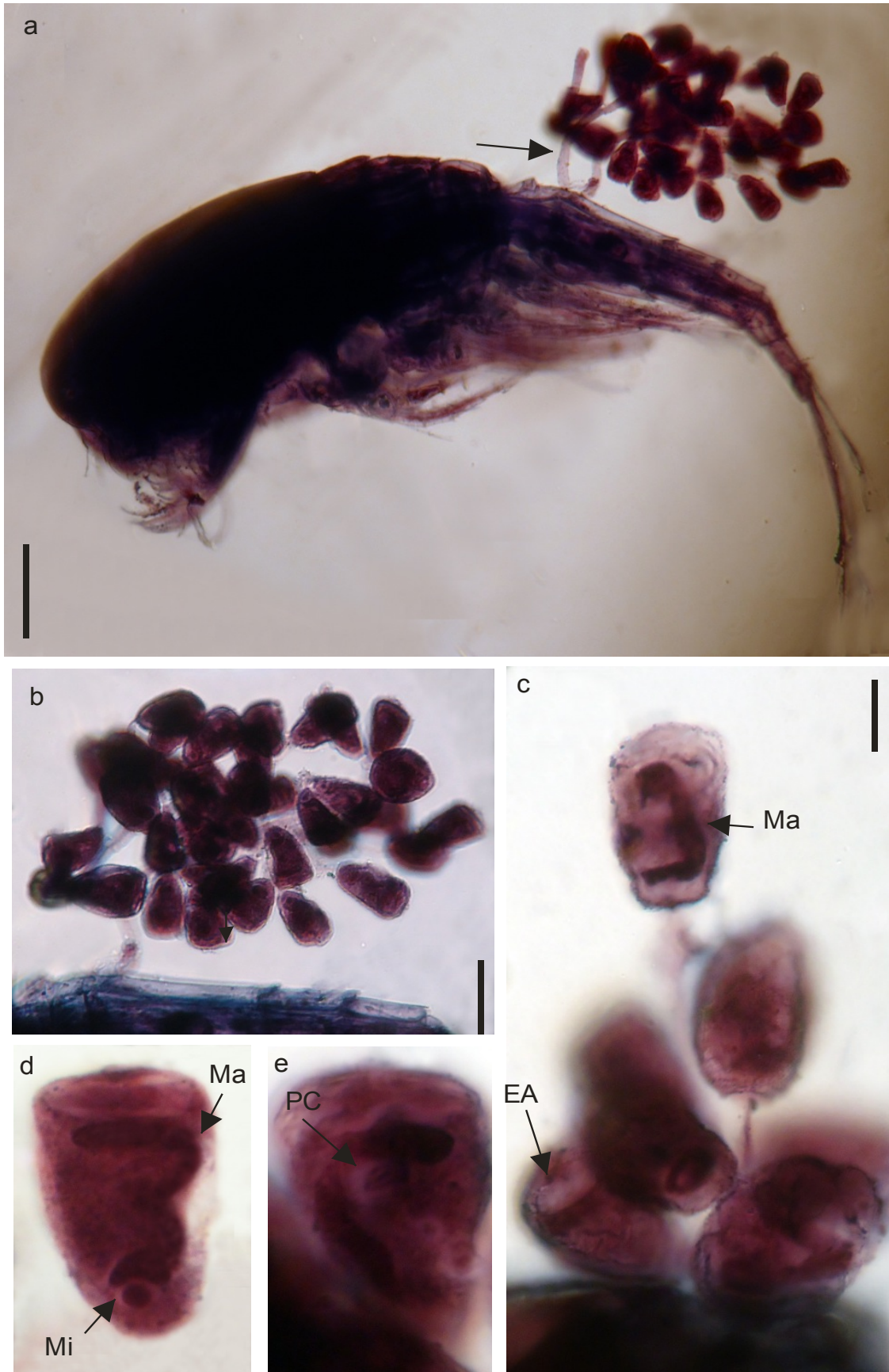


**Figura 6 (a-e). Desenhos esquemáticos da espécie *Vorticella* sp. n. 1. a-f. Detalhe de *Vorticella* sp. n. 2, evidenciando macronúcleo (MA), micronúcleo (MI) Infundíbulo (In), Membrana Ondulante (MO), banda telotrocal (BT) Colar Peristomial (CP). b. Detalhe e disposição dos diferentes tipos de macronúcleos observados. c. Detalhe das três policinécias infundibulares (P1, P2 e P3). d. Vista externa do ciliado, o sistema “silverline” (SL) e a banda telotrocal (BT). e. Pedúnculo (P) e disposição dos zoóides na colônia. Barras: a, b, d= 10  $\mu$ m, c= 50 $\mu$ m.**



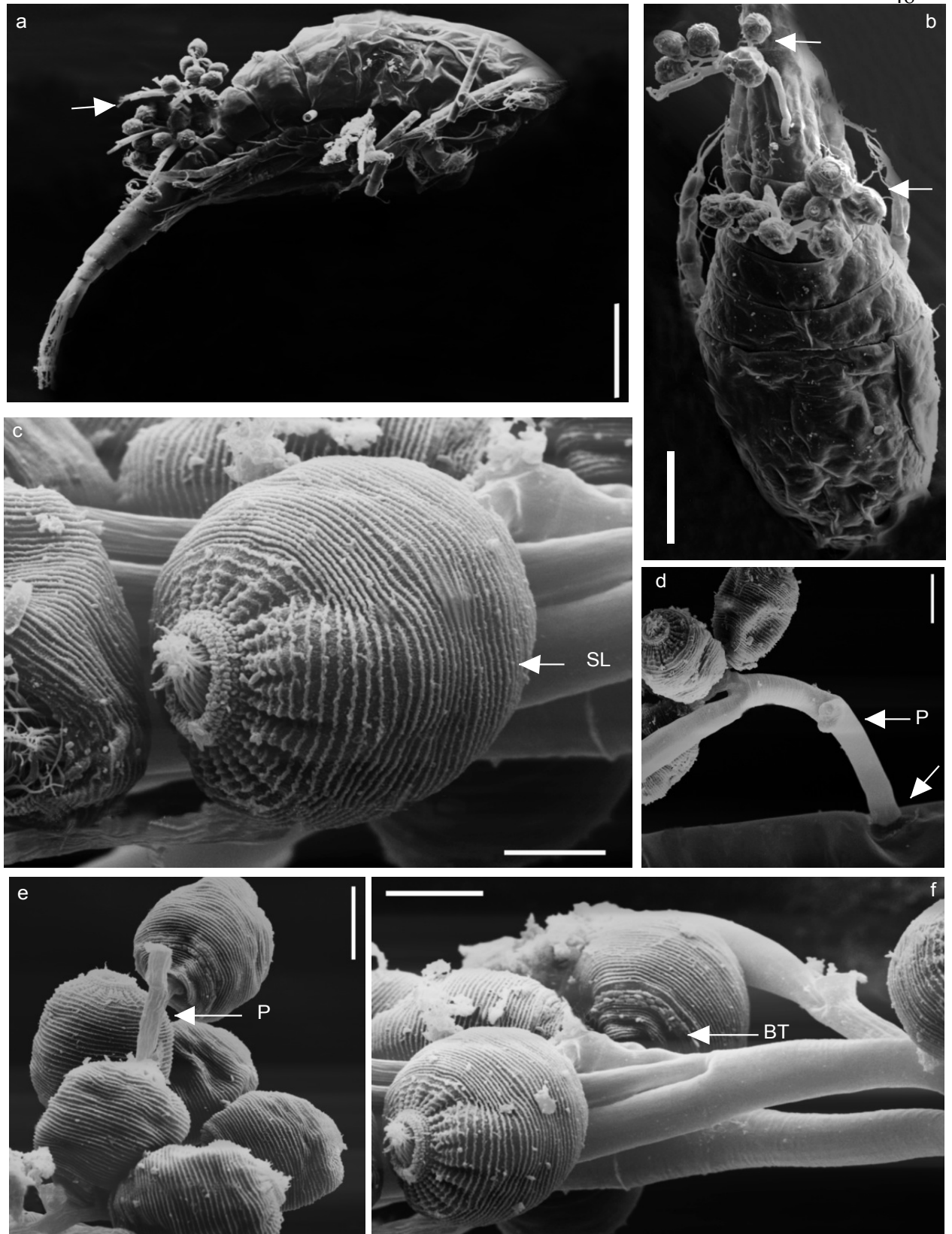
**Figura 7 (a-g).** Fotomicrografias de *Vorticella sp.n. 2. in vivo* sob microscópio de campo claro e sob microscópio interferencial diferencial (DIC). **a.** Detalhe da região posterior do ciclopoide copepodito com colônias de ciliados aderidos à região posterior (seta); **b.** Detalhe da colônia de *Vorticella sp. n. 2*, evidenciando o pedúnculo não-contrátil (P), o colar peristomial (CP), infundíbulo (in) e o vacúolo contrátil (VC); **c-d.** Detalhe da coônia de *Vorticella sp. n. 2*, evidenciando colar peristomial (CP) membrana ondulante (MO), vacúolo contrátil (VC) vestibulo (VE), respectivamente; **e-g.** Detalhe de indivíduo de *Vorticella sp. n. 2*, evidenciando o sistema de “silverlines” (SL), vacúolos alimentares (VA), Membrana ondulante (MO) e vacúolo contrátil (VC). **Barras:** a= 200µm; b-d = 30 µm; e-g =10 µm.





**Figura 8 (a-e).** Fotomicrografias de *Vorticella* sp. n. 2, obtidas após a realização da técnica de impregnação pelo “Protargol” a-e. Detalhe *Thermocyclops minutus* sendo colonizado por *Vorticella* sp. n.2, e seta nos pedúnculo com mionemas vestigiais. **b.** Detalhe da colônia de *Vorticella* sp. n.2. **c-e.** detalhe dos zoóides, evidenciando macronúcleo (MA), micronúcleo (MI) espiral adoral (EA) e Policinécias (PC). Barras: a-b= 50  $\mu$ m, c-e=10 $\mu$ m





**Figura 9 (a-f). Eletromicrografias de *Vorticella* sp. n. 2. a.** *Thermocyclops minutus* com epibiontes aderidos à região dorsal posterior (seta); **b.** Visão superior de *Thermocyclops decipiens* com epibiontes aderidos à região dorsal posterior (seta). **c.** Detalhe do indivíduo colônia de *Vorticella* sp. n. 2, o sistema de estriações (“silverline”) (Si). **d- e.** detalhe da colônia, evidenciando a inserção no copépode e o pedúnculo, respectivamente. **f.** Detalhe da banda telotrocal de *Vorticella* sp. n. 2 Barras: a-b= 100µm; c= 5µm, d-e= 5µm.

### **Análises Filogenéticas**

O alinhamento resultou em 1813 pb. A busca heurística da análise por parcimônia resultou em 168 cladogramas mais parcimoniosos (não mostrados). Foi feito um cladograma de consenso estrito (Figura 10) que resume as relações de parentesco nos cladogramas mais parcimoniosos produzidos. A matriz de caracteres moleculares apresentou 1.102 caracteres constantes, 137 caracteres não parcimoniosamente informativos e 574 informativos. O cladograma de consenso estrito apresentou 2.262 passos (comprimento do cladograma), índice de consistência 0,49 e de retenção 0,40.

Ambas as espécies epibiontes descritas neste trabalho se mostraram relacionadas a espécies previamente descritas do gênero *Vorticella*, *Opisthonecta*, *Astylozoo*, *Vorticellides* e *Carchesium* (ver Figura 10). A espécie *Vorticella* sp. n. 1 se mostrou como grupo irmão das seguintes espécies: *Opisthonecta henneguyi*, *Vorticellides infusionum*, *Vorticella microstoma* e *Astylozoon enriquesi* (ver Figura 10). A espécie *Vorticella* sp. n. 2 nas análises formou um grupo monofilético com *Carchesium polypinum* (ver Figura 10).

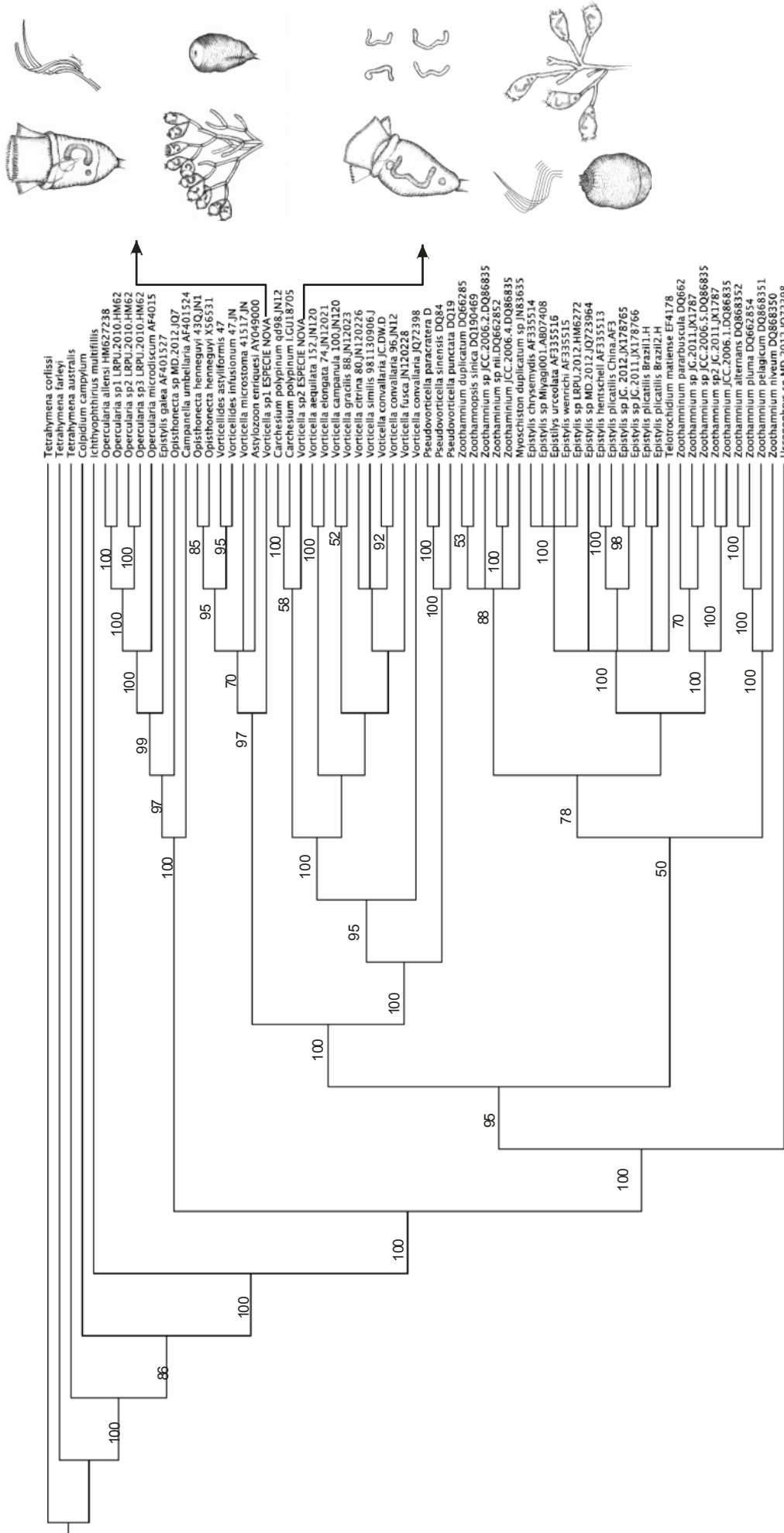


Figura 10. Cladograma de consenso estrito da análise da parcimônia (busca heurística), proveniente da análise de 1813 caracteres moleculares (fragmento gênico 18s rDNA)(168 árvores mais parcimoniosas)( comprimento= 2262, Cl= 0,89, Ri=0,81). Os números acima dos nós indicam os valores de suporte de *bootstrap*, provenientes de 1000 pseudoreplicações. As imagens indicam as espécies novas incluídas na análise

### 3 DISCUSSÃO

Os protozoários ciliados peritríqueos são formas amplamente distribuídas e incluem organismos pedunculados e sedentários, podendo ser solitários ou coloniais e/ou loricados (Miao et al. 2001). Historicamente a sua morfologia tem sido dominada pela observação de estruturas localizadas nos dois polos funcionais do organismo: a espiral adoral em uma extremidade e o pedúnculo ou disco adesivo na outra extremidade (Fischthal 1949). Os organismos infusórios, com o corpo em forma de sino, fascinaram os fundadores da protistologia, como Müller (1786), Ehrenberg (1838), e Stokes (1888), devido a sua aparência elegante, o hábito sésil, contratilidade distintas, e a capacidade de formar grandes colônias (Norf e Foissner 2010).

A variabilidade da infraciliatura oral, além da forma e tamanho do corpo, características do pedúnculo, presença e localização do vacúolo contrátil, são, tradicionalmente, critérios aceitos para a caracterização de espécies de ciliados peritríqueos (Clamp 1990a, b; 1992; 1997; Foissner et al. 1992; Kahl 1935; Song 1991). Nas décadas de 1960 e 1970, Lom (1964) e Foissner e Schiffmann (1974; 1975), estabeleceram o uso da impregnação pela prata na taxonomia dos peritríqueos, mostrando novos detalhes de suas estruturas orais e padrão *silverline*. Isto trouxe como consequência uma divisão de vários gêneros (por exemplo *Vorticella*/*Pseudovorticella*) e uma série de revisões gerais de gêneros (Clamp 1982; 1991; Foissner e Schiffmann 1974, 1975; Warren 1986; 1987), que, no entanto, não puderam substituir as revisões abrangentes de Kahl (1935) e Stiller (1971). A sistemática atual de peritríqueos tem se concentrado em descrever e redescrever espécies novas e/ou insuficientemente conhecidas (Clamp e Coats 2000; Ji et al. 2005a, b; Sun et al. 2006; Sun et al. 2007), em realizar revisões em nível de gênero (Jankowski 2007; Lynn 2008) ou em análises moleculares e filogenéticas (Foissner 2009; Li et al. 2008a, b; Martin-Cereceda et al. 2007; Williams e Clamp 2007).

No entanto, não existem estudos que visaram estabelecer relações filogenéticas entre os peritríqueos apenas com base nas características morfológicas. Os peritríquios têm sido reconhecidos como um táxon superior distinto de ciliados desde Corliss (1968), que os elevou ao *status* de subclasse. No entanto, a posição filogenética dos peritríqueos sempre foi intrigante e polêmica (Corliss 1979), e as relações filogenéticas entre eles ainda não estão resolvidos (Utz e Eizirik 2010). A aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR) para estudos filogenéticos de ciliados têm nos fornecido a oportunidade de adquirir informações sobre a evolução das espécies de ciliados peritríquios (Lynn et al. 1999).

A inclusão das duas espécies descritas no gênero *Vorticella*, como grupo irmão das seguintes espécies: *Opisthonecta henneguyi*, *Vorticellides infusionum*, *Vorticella microstoma*, *Astylozoon enriquesi* e *Carchesium polypinum* baseia-se num número relativamente pequeno de sequências e em um segmento curto do gene 18S rDNA. Isso sugere que um conjunto maior de sequências e de segmentos gênicos devem ser analisados para confirmar o parentesco evolutivo entre as espécies descritas e as demais linhagens da subclasse Peritrichia. Tal procedimento é especialmente relevante em relação à espécie *Vorticella* sp 2 que apresenta grau de suporte de *bootstrap* fracamente suportado em 58% (Figura 10), de forma que não podemos afirmar, categoricamente, que esta espécie é intimamente relacionada à *Carchesium polypinum*.

Geralmente, o padrão geral, para os ciliados peritríqueos, é a presença de três policinécias infundibulares (P1-P3), composta por três fileiras de cinetosomos cada. Entretanto, em alguns grupos, como o das *Vorticella* e *Lagenophrys*, ocorreu a perda de uma fileira de cinetosomos na terceira policinécia (Clamp 1990a, b). Este padrão pode ser observado neste estudo em que a organização dos cinetosomos é 3+3+2, ou seja, a terceira policinécia de P3 é muito reduzida e de difícil visualização, o que aproxima as espécies descritas, do gênero *Vorticella*. Além disso, existem diferenças entre espécies no que diz respeito à posição das policinécias umas em relação às outras. Algumas espécies de *Vorticella* e *Pseudovorticella*, apresentam P1 e P2 paralelos uns aos outros (Sun et al. 2006), como o padrão apresentado. E ainda, as espécies descritas se assemelham com as espécies *Vorticellides infusionum*, *Vorticella microstoma* e *Astylozoon enriquesi* e *Carchesium polypinum* pelo tamanho corporal, forma do corpo e forma do macronúcleo (ver Foissner et al. 2010; Kellicott 1884; Reid 1967; Zagon e Small 1970). O que confirma a inserção das espécies descrita no gênero *Vorticella*, proposto.

A compreensão das relações de parentesco de peritríquios ainda é incipiente encontrando-se em fase inicial. Estas relações são baseadas em filogenias moleculares, consistindo em um número modesto de sequências de um número restrito de genes. No entanto, estas evidências indicam claramente a presença de grupos não-monofiléticos dentro dos gêneros de peritríqueos (Clamp e Williams 2006; Greenwood et al. 1991; Miao et al. 2001; 2004; Utz e Eizirik 2010). Com base apenas em evidências morfológicas, o resultado esperado teria sido a inclusão das duas espécies descritas dentro do gênero *Epistilys*, devido à ausência de estruturas contráteis no pedúnculo, característica compartilhada pelo gênero de acordo com Corliss (1979). Entretanto, estudos abordando a filogenia molecular do gênero

*Epistylis* apontaram o gênero como não-monofilético, por apresentarem táxons encontrados em outras ordens dentro de Peritrichia (Li et al. 2008b; Utz e Eizirik 2007).

Outra questão que favorece a proposta de inclusão das espécies descritas no gênero *Vorticella*, vem do fato de que a morfologia do pedúnculo é aparentemente um caractere homoplásico e, desta forma, a sua utilização na diagnose de espécies de ciliados peritríqueos deve ser reavaliada (Clamp e Williams 2006). Estes autores apresentam como exemplo as espécies *Epistylis galea* e *Campanella umbellaria*, ambas incluídas na família Epistylididae em decorrência da presença do pedúnculo rígido. Entretanto, com base em caracteres moleculares, tais espécies fazem parte de um clado bem suportado, composto por espécies do gênero *Opercellaria*. Outro exemplo apresentado pelos autores é a forte associação entre as espécies *Vorticella microstoma* (família Vorticellidae) com a espécie não pedunculada, livre-natante *Opisthnecta henneguyi* (família Opisthnectidae) e *Astylozoon enriquesi* (família Astylozoidae) em um clado que é, em termos morfológicos, completamente divergente dos outros vorticelídeos, e no qual se encontra uma das espécies descritas. Estudos mais recentes apontam para o parafiletismo do gênero *Vorticella*, indicando que os organismos do complexo *Vorticella microstoma*, como é o caso de uma das espécies descrita, formam um clado monofilético bem suportado com organismos dos gêneros *Astylozoon* e *Opisthnecta*, que seria distinto da família, Vorticellidae contendo outras espécies de *Vorticella* (Sun et al. 2012).

Diante dos resultados apresentados, ressalta-se a evidente necessidade de novas revisões taxonômicas, e de um sistema de classificação da subclasse Peritrichia mais moderno, levando em consideração as análises moleculares e melhor suportado. A utilização da taxonomia integrativa surge como alternativa para estabelecer um consenso entre os caracteres e metodologias utilizadas por taxonomistas e biólogos moleculares na delimitação das espécies (Padial et al. 2010).

## REFERÊNCIAS

- Agostinho, A.A, Zalewski, M.. A planície alagável do alto rio Paraná: importância e preservação. (Upper Paraná River Floodplain: Importance e Preservation) EDUEM: Maringá. 1996.
- Chatterjee, T., Fernandez-Leborans, G., Ramteke, D., Ingole, B.S., 2013. New records of epibiont Ciliates (Ciliophora) from Indian coast with descriptions of six new species. Cah. Biol. Mar.. 54, 143–159.

- Clamp, J.C., 1982. *Ellobiophrya conviva* n.sp., a commensal of marine ectoprocts, e a revision of the family Ellobiophryidae (Ciliophora, Peritricha). J. Protozool. 29, 149–156.
- Clamp, J.C., 1990a. Redescription of three species of *Lagenophrys* (Ciliophora: Peritricha: Lagenophryidae) e a new North American species of *Lagenophrys* from hypogean amphipods. Trans. Am. Microsc. Soc. 109, 1–31.
- Clamp, J.C., 1990b. A new species of *Lagenophrys* (Ciliophora: Peritricha: Lagenophryidae) ectocommensal on North American species of *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda). Trans. Am. Microsc. Soc. 109, 121–128.
- Clamp, J.C., 1991. Revision of the family Lagenophryidae Butschli, 1889 e description of the family Usconophryidae n. fam. (Ciliophora, Peritricha). J. Protozool. 38, 355–377.
- Clamp, J.C., 1992. Three new species of lagenophryid peritrichs (Ciliophora) ectocommensal on freshwater decapod crustaceans from Madagascar. J. Protozool. 39, 732–740.
- Clamp, J.C., 1997. Redescription of *Ellobiophrya brevipes* (Laird, 1959) n. comb. (Ciliophora, Peritrichia) e the fine structure of its pellicle e cinctum. J. Eukaryot. Microbiol. 44, 374–382.
- Clamp, J.C., Coats, D.W., 2000. *Planetocovorticella finleyi* ng, n. sp. (Peritrichia, Vorticellidae), a planktonic ciliate with a polymorphic life cycle. Invertebr. Biol. 119, 1–16.
- Clamp, J.C., Williams, D., 2006. A Molecular Phylogenetic Investigation of *Zoothamnium* (Ciliophora, Peritrichia, Sessilida). J. Eukar. Microbiol. 53, 494–498.
- Corliss, J.O., 1968. The value of ontogenetic data in reconstructing protozoan phylogenies. Trans. Am. Microsc. Soc. 87, 1–20.
- Corliss, J.O., 1979. The ciliated protozoa—Characterization, Classification e Guide to the Literature. Pergamon Press, Oxford.
- Dias, R.J.P., Cabral, A.F., Martins, R.T., Stephan, N.N.C., Silva-Neto, I.D., Alves, R.G., D’agosto, M., 2009. Occurrence of peritrich ciliates on the limnic oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) in the neotropics. J. Nat. His. 43, 1–15.
- Ehrenberg C.G., 1838. Die Infusionstheirchen als vollkommene Organismen. Ein Blick in das tiefere organische Leben der Natur. Verlag von Leopold Voss, Leipzig.
- Fard, N.A., Motalebi, A.A., Jafari, J.B., Meshgi, A.M., Azadikhah, D., Afsharnasab, M., 2011. Survey on fungal, parasites e epibionts infestation on the *Astacus leptodactylus*

- (Eschscholtz, 1823), in Aras Reservoir West Azarbaijan, Iran. *Iranian J. Fish. Sci.* 10, 266–275.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 39, 783–791.
- Fenchel, T., 1987. *The ecology of Protozoa*. Science Technical Inc., London.
- Fernandez-Leborans, G., 2001. A review of the species of protozoan epibionts on crustaceans. III. Chonotrich ciliates. *Crustaceana*. 74, 581–607.
- Fernandez-Leborans, G., 2009. A review of recently described epibioses of ciliate protozoa on crustacea. *Crustaceana*. 82, 167–189.
- Fernandez-Leborans, G., Tato-Porto, M.L., 2000. A review of the species of Protozoan Epibionts on Crustaceans. I. Peritrich ciliates. *Crustaceana*. 73, 643–683.
- Fernandez-Leborans, G., Tato-Porto, M.L., 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidacii* (Ciliophora, Suctorina) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). *J. Nat. His.* 36, 505–513.
- Fernandez-Leborans, G., Von Rintelen, K., 2010. Biodiversity e distribution of epibiontic communities on *Caridina ensifera* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from Lake Poso: comparison with another ancient lake system of Sulawesi (Indonesia). *Acta Zool.* 91, 163–175.
- Fischthal, J.H., 1949. *Epistylis*, a peritrichous protozoan on hatchery brook trout. *Prog. Fish Cult.* 11, 122–124.
- Foissner, W., Schiffmann, H., 1974. Vergleichende Studien an argyrophilen Strukturen von vierzehn peritrichen Ciliaten. *Protistologica*. 10, 489–508.
- Foissner, W., Schiffmann, H., 1975. Biometrische und morphologische Untersuchungen über die Variabilität von argyrophilen Strukturen bei peritrichen Ciliaten. *Protistologica*. 11, 415–428.
- Foissner, W., Berger, H., Kohmann, F., 1992. Taxonomische und Ökologische Revision der ciliaten des saprobiensystems—Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft. 5, 1–502.
- Foissner, W., Blake, N., Klaus, W.O.L.F., Breiner, H.W., Stoeck, T., 2010. Morphological e molecular characterization of some peritrichs (Ciliophora: Peritrichida) from tank bromeliads, including two new genera: *Orborhabdostyla* e *Vorticellides*. *Acta Protozool.* 48, 291.
- Gong, Y.C., Yu, Y.H., Villalobo, E., Zhu, F.Y., Miao, W., 2006. Reevaluation of the phylogenetic relationship between mobilid e sessilid peritrichs (Ciliophora,



- Oligohymenophorea) based on small subunit rRNA genes sequences. *J. Eukar. Microbiol.* 53, 397–403.
- Gong, J., Dong, J., Liu, X., Massana, R., 2013. Extremely High Copy Numbers e Polymorphisms of the rDNA Operon Estimated from Single Cell Analysis of Oligotrich e Peritrich Ciliates. *Protist.* 164, 369–379.
- Greenwood, B., Marsh, K., Snow, R., 1991. Why do some African children develop severe malaria? *Parasitol.Today.* 7, 277–281.
- Hall, T., 2011. BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bull. Biosci.* 2, 60–61.
- Hillis, D.M., Bull, J.J., 1993. An empirical test of bootstrapping as method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42, 3–8.
- Ingole B., Singh. R., Sautya S., Dovgal I. & Chatterjee T. 2010. Report of Epibiont *Thecacinetax calix* (Ciliophora, Suctorea) on deep sea *Desmodora* (Nematoda) from the Andaman Sea, Indian Ocean. *Mari. Biodiver. Records*, 3:1-3
- Jankowski, A.W., 1976. A revision of the order Sessilida (Peritricha) *Mater.Pub. Meet. Protozool., Kiev.* (in Russian).
- Jankowski, A.V., 2007. Review of taxa Phylum Ciliophora Doflein, 1901: In: Alimov, A.F. (Ed.), *Protista: Handbook on Zoology, Pt. 2.* Nauka, St. Petersburg, pp. 415–993.
- Ji, D., Song, W., Al-Rasheid, K.A., Li, L., 2005a. Taxonomic characterization of two marine peritrichous ciliates, *Pseudovorticella clampi* n. sp. e *Zoothamnium pararbuscula* n. sp.(Ciliophora: Peritrichia), from north China. *J. Eukar. Microbiol.* 52, 159–169.
- Ji, D., Song, W., Al-Rasheid, K.A., Sun, P., 2005b. Description of *Zoothamnium foissneri* n. sp. e redescription of *Z. duplicatum* Kahl, 1933 e *Z. mucedo* Entz, 1884, three species of marine peritrichous ciliates. *Eur. J. Protistol.* . 41, 45–56.
- Kahl A., 1933. Ciliata Libera et Ectocommensalia. In: Grimpe, G., Wagler, E. (Eds.), *Die Tierwelt der Nord-und Ostsee*, pp. 29–146.
- Kahl, A., 1935. Peritrichia und Chonotricha. In: *Urtiere Oder Protozoa.* Gustav Fischer, Deutschlands, pp. 651–885.
- Kellicott, D.S., 1884. Observations Infusoria, with Descriptions of New Species. In: *Proceedings of the American Society of Microscopists (Vol. 6).* American Microscopical Society, Blackwell Publishing, Kent, pp. 110–125.
- Lara, E., Berney, C., Harms, H., Chatzinotas, A., 2007. Cultivation-independent analysis reveals a shift in ciliate 18S rRNA gene diversity in a polycyclic aromatic hydrocarbon-polluted soil. *FEMS Microbiology Ecology.* 62, 365–373.

- Li, L., Song, W., Warren, A., Al-Rasheid, K.A., Roberts, D., Yi, Z., Hu, X., 2008a. Morphology e morphogenesis of a new marine ciliate *Apokeronopsis bergeri* nov. spec. (Ciliophora, Hypotrichida), from the Yellow Sea, China. *Eur. J. Protistol.* 44, 208–219.
- Li, L., Song, W., Warren, A., Shin, M. K., Chen, Z., Ji, D., Sun, P., 2008b. Reconsideration of the phylogenetic positions of five peritrich genera, *Vorticella*, *Pseudovorticella*, *Zoothamnopsis*, *Zoothamnium*, e *Epicarchesium* (Ciliophora, Peritrichia, Sessilida), based on small subunit rRNA gene sequences. *J. Eukar. Microbiol.* 55, 448–456.
- Liu, X., Gong, J. 2012. Revealing the Diversity e Quantity of Peritrich Ciliates in Environmental Samples Using Specific Primer-based PCR e Quantitative PCR. *Microbes Envir.* 27, 497-503.
- Lom, J., 1964. The morphology e morphogenesis of the buccal ciliary organelles in some peritrichous ciliates. *Arch. Protistenk.* 107, 131–162.
- Lynn, D.H., 2008. The ciliated protozoa: characterization, classification, e guide to the literature. Springer, Guelph e Ontario.
- Lynn, D.H., Small, E.B., 2002. Phylum Ciliophora, Doflein, 1901. In: Lee, J.J., Leedale, G.F., Bradbury, P. (Eds.), *An Illustrated Guide to the Protozoa*. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, pp. 371–656.
- Lynn, D.H., Wright, A.D.G., Schlegel, M., Foissner, W., 1999. Phylogenetic relationships of orders within the class Colpodea (Phylum Ciliophora) inferred from small subunit rRNA gene sequences. *J. Mol. Evol.* 48, 605–614.
- Martin-Cereceda, M., Guinea, A., Bonaccorso, E., Dyal, P., Novarino, G., Foissner, W., 2007. Classification of the peritrich ciliate *Opisthonecta matiensis* (Martin-Cereceda et al. 1999) as *Telotrichidium matiense* nov. comb., based on new observations e SSU rDNA phylogeny. *Eur. J. Protistol.* 43, 265–279.
- Mayén Estrada, R., Reyes-Santos, M., Aguilar-Aguilar, R., 2013. Biodiversidad de Ciliophora en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. DOI: 10.7550/rmb.31993.
- Miao, W., Yu, Y.H., Shen, Y.F., 2001. Phylogenetic relationships of the subclass Peritrichia (Oligohymenophorea, Ciliophora) with emphasis on the genus *Epistylis*, inferred from small subunit rRNA gene sequences. *J. Eukar. Microbiol.* 48, 583–587.
- Miao, W., Fen, W.S., Yu, Y.H., Zhang, X.Y., Shen, Y.F., 2004. Phylogenetic Relationships of the Subclass Peritrichia (Oligohymenophorea, Ciliophora) Inferred from Small Subunit rRNA Gene Sequences. *J. Eukar. Microbiol.* 51, 180–186.

- Montagnes, D.J.S., Lynn, D.H., 1993. A quantitative protargol stain (QPS) for ciliates e other protists. Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 229–240.
- Morado, J.F., Small, E.B., 1995. Ciliate parasites e related diseases of Crustacea: a review. Revi. Fish. Sci.. 3, 275–354.
- Mueller, O. F. (1786). Animalcula infusoria fluviatila et marina, quae detexit, systematice descripsit et ad vivum delineari: opus hoc posthumum quod cum tabulis aeneis L. in lucem tradit vidua ejus nobilissima; cura *Othonis Fabricii*. O. Fabricius (Ed.). Typis Nicolai Mölleri.
- Noland, L.E., Finley, H.E., 1931. Studies on the taxonomy of the genus *Vorticella*. Trans. Am. Microsc. Soc.. 50, 81–123.
- Norf, H., Foissner, W., 2010. A new flagship peritrich (Ciliophora, Peritrichida) from the River Rhine, Germany: *Apocarchesium arndti* n. sp. J. Eukar. Microbiol.. 57, 250–264.
- Oliver, T., Schmidt, B., Nathan, D., Clemens, R., Maskell, D., 2005. Using reconfigurable hardware to accelerate multiple sequence alignment with Clustal W. Bioinformatics. 21, 3431–3432.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences, M., 2010. The integrative future of taxonomy. Frontiers Zool.. 7, 16.
- Precht, H., 1935. Epizoen der Kieler Bucht. Nova Acta Leopold. 3, 405–474.
- Puitika, T., Kasahara, Y., Miyoshi, N., Sato, Y., Shimano, S., 2007. A taxon-specific oligonucleotide primer set for PCR-based detection of soil ciliate. Microbes Environ.. 22, 78–81.
- Regali-Selegim, M.H., 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.. 26, 501–508.
- Reid, R., 1967. Morphological studies on three *Vorticella* species. Trans. American Microscop. Soc. 86, 486–493.
- Silva-Neto, I. D., da Silva Paiva, T., Pedroso Dias, R. J., Alexandre Campos, C. J., & Migotto, A. E. 2012. Redescription of *Licnophora chattoni* Villeneuve-Brachon, 1939 (Ciliophora, Spirotrichea), associated with *Zyzyzus warren* Calder, 1988 (Cnidaria, Hydrozoa). *Eur. J. Protistol.* , 48(1), 48-62.
- Silva-Neto, I.D., 1994. Observations sur lultrastructure du cilié hétérotriche, *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, épibionte de létoile de mer. An. Sci. Nat. Zool.. 15, 49–62.

- Sommer, G., 1951. Die peritrichen Ciliaten des großen Plöner Sees. Arch. Hydrobiol. 44, 349–440.
- Song, W., 1991. Contribution to the commensal ciliates on *Penaeus orientalis* - II. (Ciliophora, Peritrichida). J. Ocean Univ. Qingdao. 21, 45–55. (in Chinese, with English summary).
- Stiller, J., 1971. Szájkoszorús csillósok-Peritricha. Fauna Hungarica. 105, 1–245.
- Stokes, A.C., 1888. Notices of new infusoria flagellata from American fresh waters. R. Microsc. Soc. 1888, 698–704.
- Sun, P., Song, W., Warren, A. 2006. Taxonomic characterization of two marine peritrichous ciliates, *Epicarchesium corlissi* n. sp. e *Pseudovorticella jiangi* n. sp.(Ciliophora: Peritrichia), from northern China. Eur. J. Protistol. , 42(4), 281-289.
- Sun, J., Feng, Y., Zhang, Y., Hutchins, D. A. 2007. Fast microzooplankton grazing on fast-growing, low-biomass phytoplankton: a case study in spring in Chesapeake Bay, Delaware Inland Bays e Delaware Bay. Hydrobiologia, 589(1), 127-139.
- Sun, G., Yang, Z., Ishwar, A., Huang, J., 2010. Algal genes in the closest relatives of animals. Mol. Biol. Evol.. 27, 2879–2889.
- Sun, P., Clamp, J., Xu, D., Kusuoka, Y., Miao, W. 2012. *Vorticella* Linnaeus, 1767 (Ciliophora, Oligohymenophora, Peritrichia) is a Grade not a Clade: Redefinition of *Vorticella* and the Families Vorticellidae e Astylozoidae using Molecular Characters Derived from the Gene Coding for Small Subunit Ribosomal RNA. Protist, 163(1), 129-142.
- Swofford, D. L., 1998. PAUP\*. Phylogenetic Analyses Using Parsimony (\*e other methods). Version 4. Sunderland, Sinauer Associates.
- Utz, L.R., Eizirik, E., 2007. Molecular phylogenetics of subclass Peritrichia (Ciliophora: Oligohymenophorea) based on expanded analyses of 18S rRNA sequences. J. Eukar. Microbiol.. 54, 303–305.
- Utz, L.R.P., Coats, W., 2005. The role of motion in the formation of free-living stages e attachment of the peritrich epibiont *Zoothamnium intermedium* (Ciliophora, Peritrichia). Biociências. 13, 69–74.
- Utz, L.R., Simão, T.L., Safi, L.S., Eizirik, E., 2010. Expanded Phylogenetic Representation of Genera *Opercularia* e *Epistylis* Sheds Light on the Evolution e Higher-Level Taxonomy of Peritrich Ciliates (Ciliophora: Peritrichia). J. Eukar. Microbiol.. 57, 415–420.

- Warren, A., 1986. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida). Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.). 50, 1–57.
- Warren, A., 1987. A revision of the genus *Pseudovorticella* Foissner & Schiffmann, 1974 (Ciliophora: Peritrichida). Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.). 52, 1–12.
- Williams, D., Clamp, J.C., 2007. A molecular phylogenetic investigation of *Opisthonecta* e related genera (Ciliophora, Peritrichia, Sessilida). J. Eukar. Microbiol.. 54, 317–323.
- Williams, J.D., McDermott, J.J., 2004. Hermit crab biocoenosis: a worldwide review of the diversity e natural history of hermit crab associates. Journ. Exp. Mar. Biol. Ecol. 305, 11–28.
- Zagon, I.S., Small, E.B., 1970. *Carchesium polypinum*: somatic e buccal structure analysis after protargol staining. Trans. Am. Microsc. Soc., 89, 443–449.
- Zhan, Z., Xu, K., Warren, A. & Gong, Y. 2009. Reconsideration of phylogenetic relationships of the subclass Peritrichia (Ciliophora, Oligohymenophorea) based on small subunit rRNA gene sequences, with the establishment of a new subclass *Mobilia* Kahl, 1933. J. Eukaryot. Microbiol., 56:552–558.

### 3 ESTRUTURA DAS ASSEMBLÉIAS DE PROTOZOÁRIOS CILIADOS EPIBIONTES DE COPEPODA (CRUSTACEA) NO SISTEMA RIO- PALNÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ.

#### RESUMO

Com o objetivo de investigar as alterações decorrentes da variação no pulso hidrológico sobre a relação epibiótica entre ciliados e copépodes, na planície de inundação do alto rio Paraná, amostras foram tomadas em diferentes tipos de ambientes (três rios, três canais, 16 lagoas abertas e em 14 lagoas fechadas), em um total de 36 locais de coleta, em dois períodos hidrológicos (limnofase e potamofase), totalizando 72 amostras. Dos 36 ambientes analisados, 22 apresentaram copépodes infestados por ciliados epibiontes em pelo menos um período de estudo. Foram registradas 13 espécies de copépodes zooplantônicos. Destas, três (*Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops minutus* e *Notodiptomus henseni*) foram colonizadas por ciliados epibiontes. Foram observadas duas espécies de ciliados epibiontes, pertencentes ao gênero *Vorticella*, uma colonizando copépodes do gênero *Thermocyclops* e outra colonizando copépodes do gênero *Notodiptomus*. Dentre os tipos de ambientes amostrados, as lagoas abertas foram os ambientes onde a relação epibiótica ocorreu mais frequentemente, seguida pelas lagoas fechadas. Apenas um rio e um canal apresentaram a relação epibiótica. Houve diferença significativa entre as coletas realizadas no período de limnofase e potamofase, quanto à densidade bacteriana, abundância de hospedeiros e prevalência de infestação ( $p=0,001$ ;  $p=0,045$ ;  $p=0,008$ , respectivamente). As maiores prevalências médias de infestação foram observadas no período de potamofase: 8% ( $\pm 6,3\%$ ) nas lagoas abertas; 6% ( $\pm 2,2\%$ ) nas lagoas fechadas; 1,2% ( $\pm 0,98\%$ ) nos canais e 0,4% ( $\pm 0,88\%$ ) nos rios. Esta investigação constitui a primeira investigação acerca da ocorrência da relação epibiótica em uma planície de inundação e pioneiro ao investigar os fatores envolvidos na dinâmica espaço-temporal da relação epibiótica neste tipo de ambiente. Entretanto, ressalta-se a necessidade da realização de outros estudos em diferentes planícies de inundação e por um maior período de tempo, para elucidar as lacunas inerentes a este tipo de relação ecológica neste tipo de ambiente.

**Palavras-chave:** Protista, Ciliophora, Calanoida, Cyclopoida, epibiose, abundância, prevalência.

*ABSTRACT*

In order to explore changes related to variation of hydrological pulse related to the epibiotic relationship between ciliates e copepods in upper Paraná River floodplain, samples were taken in different types of environments (three rivers, three canals, 16 open connected e 14 unconnected lakes), in a total of 36 sampling sites in two hydrological periods (limnophasis e potamophasis), totaling 72 samples. Among those 36 sampling sites analyzed, 22 showed copepods infested by epibiont ciliates in at least one study period. We recorded 13 species of zooplanktonic copepods. Of these, three (*Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops minutus* e *Notodiaptomus henseni*) were colonized by epibiont ciliates. We observed two species of epibiont ciliates, belonging to the genus *Vorticella*, one colonizing copepods of the genus *Thermocyclops* e other colonizing copepods of the genus *Notodiaptomus*. Among the types of environments sampled, the connected lakes were the environments where the epibiotic relationship occurred more often, followed by unconnected lakes. Only one river e one channel presented this relationship. There were significant differences between the samples collected during limnophasis e those sampled at potamophasis, regarding to bacterial density, hosts abundance e prevalence of infection ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.045$ ,  $p = 0.008$ , respectively). The highest mean levels of prevalence were observed during the potamophasis (8% ( $\pm 6.3\%$ ) connected lakes; 6% ( $\pm 2.2\%$ ) unconnected lakes; 1.2 ( $\pm 0.98\%$ ) channels; 0.4% ( $\pm 0.88\%$ ) rivers). The present study constitutes the first investigation of the occurrence of the epibiotic relationship in a flood plain e a pioneer in investigating the factors involved in the space-temporal dynamics of this relationship that type of environment. However, it emphasizes the need for further studies in different flood plains e for a longer period of time, to elucidate the shortcomings inherent in this type of ecological relationship in this kind of environment.

**Keywords:** Protista, Ciliophora, Calanoida, Cyclopoida, epibiosis, abundance, prevalence.

### 3.1 INTRODUÇÃO

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 e requer adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais tanto dos epibiontes quanto dos basibiontes (Wahl 1989).

A epibiose tem grandes impactos nos ecossistemas aquáticos (Willey et al. 1990). A dimensão e a intensidade da relação epibiótica dependem, entre outros fatores, do contexto abiótico, podendo interferir de forma a reorganizar uma comunidade e alterar completamente a relação do basibionte com o meio (Wahl 2008). Entretanto, a epibiose também pode ser modulada por fatores abióticos, tais como temperatura, CO<sub>2</sub>, pH, salinidade e nutrientes (Lippert et al. 2001). As assembleias de ciliados epibiontes podem ser consideradas representações excepcionalmente boas das comunidades biológicas e podem ser modelos para estudos de interações competitivas, abundância, diversidade, estratégias de recrutamento, sucessão ecológica e de partição de nicho (Lescinsky 1997; 2000; Zhang et al. 2010). Embora a epibiose constitua um componente importante dos ecossistemas aquáticos e desempenhe um papel importante na cadeia alimentar (Baldock 1986; Pratt e Cairns 1985), a maioria dos estudos são de natureza morfológica e/ou taxonômica, e poucos têm levado em consideração aspectos ecológicos (Baldock 1986; Cook et al. 1998; Fernandez-Leborans et al. 1997; Hanamura 2000; Xu, 1992).

Nesse contexto, planícies de inundação se tornam importantes sítios para estudo que abordem a biodiversidade de protistas, devido à sua elevada heterogeneidade espacial e temporal o que confere a esses ecossistemas o título de *hot spots* de diversidade biológica. Devido à sua dinâmica fluvial, planícies de inundação são caracterizadas pela presença de vários organismos aquáticos, com uma grande diversidade de ambientes lóticos, lênticos e semilóticos, e que deve ser analisada integralmente, como uma unidade denominada de "sistema rio-planície de inundação" (Junk et al. 1989). Nesses ecossistemas, as inundações sazonais de curta ou longa duração, previsíveis ou imprevisíveis, ocorrem através da enchente lateral de rios e lagos, precipitação direta, ou ainda por água subterrânea e promovem intensas trocas de nutrientes entre o rioruja e sua planície de inundação e influenciam diretamente a velocidade da água, profundidade dos ambientes aquáticos e a área superficial da planície, submetida ao alagamento (Junk et al. 1989; Thomaz et al. 1992). Como ressaltado



anteriormente, devido a este elevado nível de heterogeneidade espacial e temporal, as planícies de inundação apresentam um dos mais elevados níveis de biodiversidade entre os ambientes aquáticos conhecidos (Pauleto, et al. 2009). O grau de conectividade entre os ambientes deve ser considerado como um fator essencial que contribui fortemente para a dinâmica espacial e temporal destes ecossistemas (Ward et al., 1999).

As relações epibióticas envolvendo crustáceos constituem um fenômeno generalizado na vida marinha, estuarina e em ambientes de água doce e abrangem uma variedade de microrganismos epibiontes incluindo protistas, bactérias, hidrozoários, cracas e rotíferos (Hanamura 2000; Gilbert e Schröder 2003; Utz e Coats 2005; Bozkurt e Genc 2009; Thurber et al. 2011; Bickel et al. 2012; Caro et al. 2012). A subclasse Peritrichia (Ciliophora) reúne protozoários ciliados pedunculados, os quais se aderem a diferentes substratos, como rochas, algas e/ou animais, podendo viver como epibiontes sobre um grande número de espécies de metazoários aquáticos, incluindo os crustáceos (Regali-Seleghim e Godinho 2004; Utz e Coats 2005; Fernandez-Leborans e Von Rintelen 2010; Fard et al. 2011; Chatterjee et al. 2013;). Entretanto, apesar de sua ampla ocorrência, e dos vários estudos acerca da relação epibiótica envolvendo crustáceos, tal relação ainda é pouco compreendida no que diz respeito às suas implicações ecológicas, tanto para o basibionte quanto para o epibionte (Carman e Dobbs 1997). Não existem estudos relativos à influência das perturbações causadas pelo regime hidrológico, inerente a uma planície de inundação, nas relações epibióticas.

A presente pesquisa teve como objetivo geral investigar as alterações decorrentes da variação no pulso hidrológico sobre a relação epibiótica entre ciliados e copépodes, em diferentes níveis (distribuição de espécies, abundância e prevalência de infestação) e em diferentes ambientes (lagoas fechadas e abertas, rios, canais), na planície de inundação do alto rio Paraná. Foram investigados os possíveis fatores reguladores da prevalência de infestação de protistas ciliados epibiontes em uma planície de inundação sendo, neste sentido, pioneiro em relacionar os fatores associados às alterações do ambiente causados pelo pulso hidrológico com a relação epibiótica.

## 3.2 METODOLOGIA

### 3.2.1 Área de estudo

O rio Paraná apresenta um amplo canal anastomosado, com extensa planície aluvial, atingindo até 20 km de largura, nela se encontram numerosos canais secundários, lagoas e tributários (incluindo os rios Ivinhema e Baía; Agostinho e Zalewski 1996). A área de estudo

abrange uma variedade de lagoas com diferentes graus de conectividade com o rio, além de diferenças morfológicas e morfométricas. Foram estudados três rios, três canais, 16 lagoas abertas e 14 lagoas fechadas (Figura 1). Os mesmos 36 locais de coleta foram amostrados durante um período de águas altas (dezembro de 2010) e um período de águas baixas (junho de 2011).

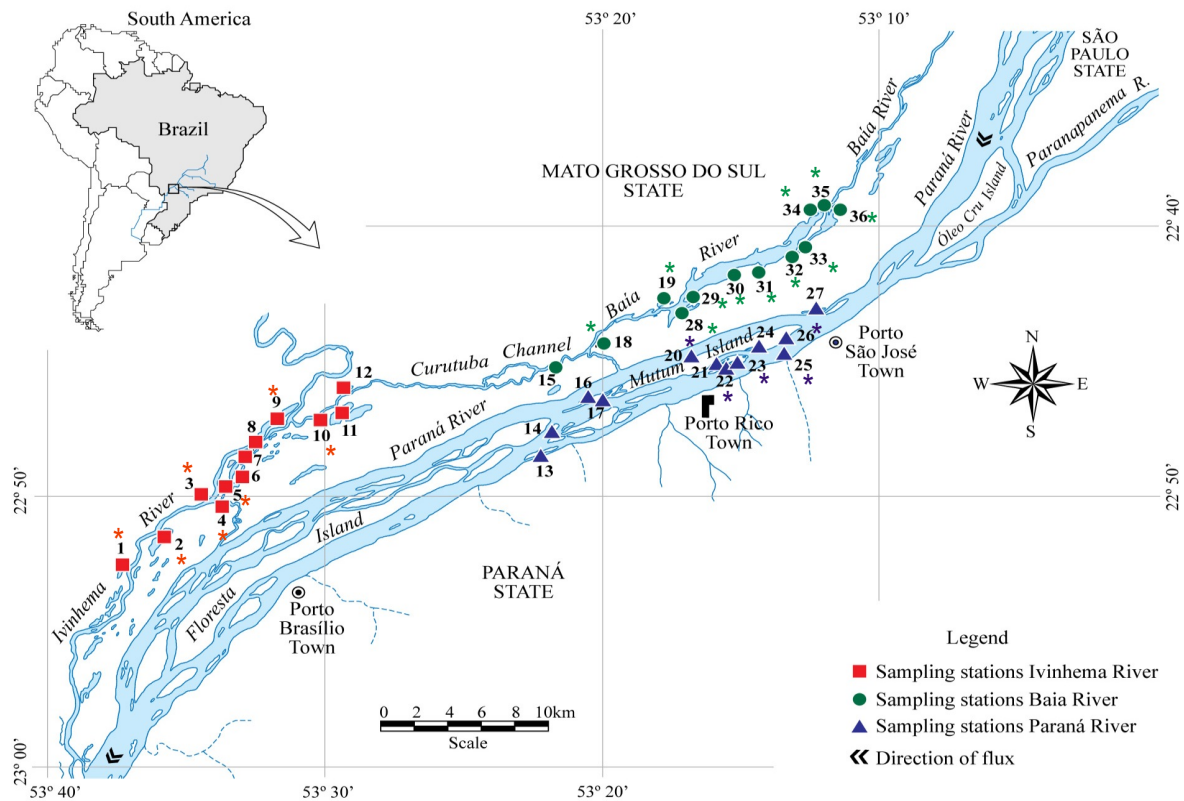


Figura 1. Localização da área de estudo evidenciando os 36 locais de coleta que incluem lagoas conectadas e isoladas, canais e rios. Os números indicam a marcação dada à cada unidade amostral e os asterísticos representam os ambientes onde foi observada a relação epibiótica.

### 3.2.2 Amostragem de campo

#### 3.2.2.1 Organismos zooplancônicos hospedeiros em potencial

Em cada ambiente foram coletadas duas amostras, obtidas através de arrastos com rede de plâncton de 100  $\mu\text{m}$  de abertura de malha. O volume de água filtrada em cada amostra foi de, aproximadamente, 2000  $\text{m}^3$ . Este volume foi calculado através do diâmetro da boca da rede, multiplicado profundidade do ambiente, sendo assim, o número de arrastos variou conforme a profundidade da lagoa, até a obtenção do volume desejado. A amostra foi fixada imediatamente em bouin para posterior quantificação e identificação tanto dos epibiontes quanto dos hospedeiros.

### 3.2.2.2 Parâmetros físicos e químicos

As variáveis condutividade elétrica, oxigênio dissolvido alcalinidade, pH, transparência pelo disco de Secchi, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, temperatura da água foram mensuradas ainda em campo, com o auxílio de aparelhos portáteis. As concentrações de nitrogênio amoniacal (Koroleff 1978), amônia, N-nitrato (Zagatto 1981), fosfato, fósforo total, nitrogênio total (Mackereth et al. 1978), clorofila, materiais inorgânicos em suspensão e materiais orgânicos em suspensão (APHA 1998) foram determinadas em laboratório.

### 3.2.2.3 Bacteriologia

A densidade bacteriana foi estimada a partir de amostras coletadas em cada unidade amostral, acondicionadas em frascos de 20mL, e fixadas com solução de formaldeído, com concentração final de 2%. As amostras foram filtradas e coradas seguindo a metodologia proposta por Hobbie et al. (1977).

## 3.2.3 Processamento das amostras

### 3.2.3.1 Identificação dos copépodes

A abundância da comunidade de copépodes foi avaliada a partir da contagem dos organismos, em câmaras de Sedgewick-Rafter. As amostras foram concentradas em 100 mL sendo quantificada 10% de cada uma. As amostras que apresentaram um número de indivíduos inferior a 50 foram contadas integralmente. A abundância final foi expressa em  $\text{ind.m}^{-3}$ . Para a estimativa da riqueza de espécies de copépodes, após as contagens, subamostras foram analisadas até a estabilização da curva de incremento de espécies, ou seja, até não ser registrada a ocorrência de uma nova espécie.

### 3.2.3.2 Identificação dos ciliados epibiontes

Para a identificação dos protozoários ciliados epibiontes foram feitas observações in vivo utilizando microscópio fotônico e contraste de interferência diferencial (DIC), técnicas de impregnação pela prata: “protargol” (Montagnes e Lynn 1993) e de microscopia eletrônica de varredura, proposta por Silva-Neto (2012).

### 3.2.3.3 Contagem das bactérias

As amostras foram coradas com solução do fluorocromo 4,6'-diamidino-2-fenil-indole (Dapi) para contagem da densidade bacteriana total. Dez campos aleatórios foram analisados em cada filtro com auxílio do microscópio de epifluorescência Olympus BX51.

Simultaneamente às contagens, pelo menos 20 células escolhidas aleatoriamente foram medidas em cada amostra, sendo então estimado o biovolume bacteriano de cada amostra, segundo Fry (1990), a conversão para biomassa realizada considerando  $1\mu\text{m}^3 = 3,5 \times 10^{-13} \text{gC}$ , como descrito por Bjorsen (1986).

#### 3.2.4 Tratamento dos dados

Para realização da análise estatística foi utilizado o programa estatístico R (R Development Core Team 2011). Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em  $\sqrt{\arcsin x}$ .

##### 3.2.4.1 Prevalência da relação epibiótica

Os termos prevalência e abundância foram utilizados conforme proposto por Bush et al. (1997). Durante a análise quantitativa da comunidade de copépodes, foi analisada a prevalência de infestação por protozoários em cada uma das espécies de copépodes zooplanctônicos, da planície de inundação do alto rio Paraná.

##### 3.2.4.2 Análise estatística

Uma análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para a ordenação dos pontos de amostragem com base nas variáveis limnológicas abióticas. Essa ordenação foi utilizada para sumarizar o conjunto de dados com ampla variabilidade e evidenciar tendências. A seleção dos eixos para interpretação foi realizada com base no modelo de *broken-stick* (Jackson 1993), segundo o qual, devem ser retidos para análise apenas os eixos com autovalores maiores do que aqueles gerados ao acaso. Uma Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada para verificar a possível existência de diferenças significativas entre os escores das unidades amostrais gerados pela PCA, revelando diferenças entre as estações de coleta. Antes da análise de variância, os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram testados através dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente.

Para investigar possíveis diferenças na prevalência de infestação de ciliados epibiontes entre os tipos de ambientes (caracterizados em função da conectividade e hidrodinâmica) e períodos hidrológicos analisados foi utilizada uma ANOVA, seguido do teste de comparação de proporções de Tukey ( $p < 0,05$ ). A correlação entre a abundância de ciliados e a abundância de copépodes bem como a correlação entre a densidade bacteriana e prevalência de infestação, ao longo dos ambientes e períodos hidrológicos, foi avaliada através da análise de correlação de Spearman ( $p < 0,05$ ),

### 3.3 RESULTADOS

#### Caracterização ambiental

Os dois primeiros eixos da Análise de Componentes Principais explicaram 60,41% da variabilidade total dos dados (49,49 % o eixo1 e 11,42 % o eixo 2 – Figura 2). O primeiro eixo foi influenciado de forma positiva, principalmente, pelos materiais em suspensão e concentração de oxigênio dissolvido e negativamente pela clorofila e temperatura. O segundo eixo foi influenciado de forma positiva pela alcalinidade e de forma negativa pelo Secchi.

A análise de variância apontou diferenças significativas entre os eixos da PCA ( $p=0,0203$ ), evidenciando que os subsistemas e os ambientes a eles associados diferiram quanto à condição físico-química. Assim, o eixo dois separou o rio Paraná e os habitats a ele conectados dos demais locais observados. Assim, os habitats do rio Paraná podem ser caracterizados como sendo os que apresentam maiores valores de N-nitrato, pH e condutividade elétrica. As lagoas, associadas ao subsistema Rio Baía posicionadas no lado esquerdo do espaço bivariado, possuem as maiores concentrações de P-total, N-total e clorofila. O subsistema rio Ivinhema apresenta características intermediárias, possuindo maiores concentrações de Nitrato e fosfato e maior alcalinidade, em relação ao rio Baía (Figura 2).

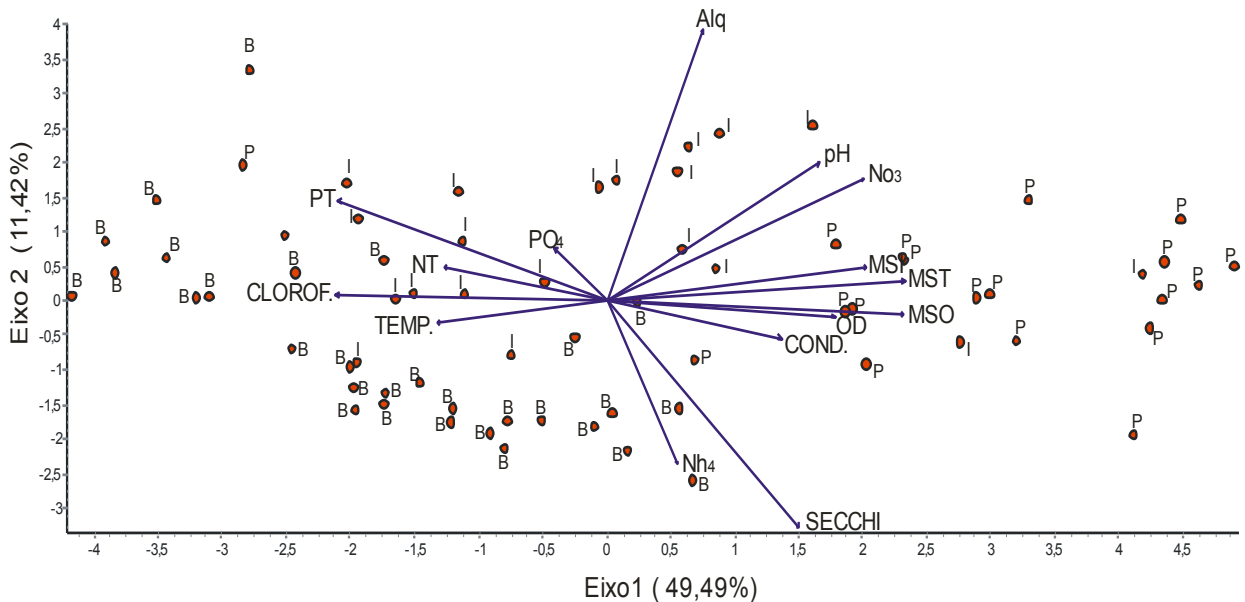


Figura 2. : Estrutura de correlação das variáveis físico-químicas e os subsistemas amostrados em relação aos dois principais eixos da análise de componentes principais. P=Subsistema rio Paraná; B=Subsistema rio Baía, I= Subsistema rio Ivinhema. Alq= alcalinidade; NO<sub>3</sub>= Nitrato; MSI=Materiais em suspensão; MSI=Materiais Inorgânicos em suspensão; MSO=Materiais Orgânicos em suspensão; OD= oxigênio dissolvido; COND= condutividade elétrica; SECCHI= transparência pelo disco de Secchi; NH<sub>4</sub>= amônia; TEMP.= temperatura; CLOROF= clorofila; PO<sub>4</sub>= Fosfato; NT= nitrogênio total, PT= fósforo total.

### **Relação epibiótica**

Dos 36 ambientes analisados, 22 apresentaram copépodes infestados por ciliados epibiontes em pelo menos um período de estudo. Dentre as 13 espécies de copépodes zooplancctônicos observadas nas amostras, somente três espécies foram colonizadas por duas espécies de ciliados epibiontes do gênero *Vorticella*, *Thermocyclops decipiens* (Kiefer 1929) e *Thermocyclops minutus* (Lowndes 1934), pertencentes à ordem Cyclopoida, e *Notodiptomus henseni* (Dahl 1894), pertencente à ordem Calanoida. Foram observados ciliados aderidos aos indivíduos adultos e juvenis (copepoditos) destas duas ordens, porém não foi observada a relação epibiótica envolvendo larvas de copépodes (náuplios), em nenhum instar. Devido à este fato, toda a análise estatística foi realizada sem levar em consideração as larvas. As duas ordens de copépodes foram colonizadas por epibiontes ciliados de espécies diferentes, independente da abundância deste e de outros hospedeiros em potencial nos ambientes analisados, evidenciando certa especificidade do epibionte pelo seu hospedeiro.

### Ocorrência espacial

#### **Tipos de ambientes**

Dentre os tipos de ambientes amostrados (Rios, Canais, Lagoas Abertas e Lagoas fechadas), as lagoas abertas foram os ambientes onde a relação epibiótica ocorreu mais frequentemente, sendo que 12 das 16 lagoas amostradas apresentaram ciliados epibiontes, seguida pelas lagoas fechadas, onde a epibiose foi observada em 10 das 13 lagoas analisadas. Em relação aos sistemas lóticos, apenas o rio Baía e o canal baía apresentaram a relação epibiótica.

A abundância média de copépodes zooplancctônicos variou entre as unidades amostrais, sendo maior nos ambientes lênticos (lagoas abertas e fechadas) do que nos ambientes lóticos (Rios e canais). As lagoas fechadas apresentaram os maiores valores de densidade média de copépodes, apresentando, em média 4.2281,78 ind /m<sup>3</sup> ( $\pm 7544,60$ ), seguida pelas lagoas abertas, que apresentaram uma abundância média de 32114,15 ind /m<sup>3</sup> ( $\pm 9617,20$ ), canais 14789,32 ind /m<sup>3</sup> ( $\pm 2725$ ) e rios 6422,00 ind /m<sup>3</sup> ( $\pm 1750,14$ ). Os valores de prevalência de infestação também variaram, em média, entre as estações amostrais, porém, as maiores médias foram observadas nas lagoas abertas: 8% ( $\pm 6,3\%$ ), seguidas pelas lagoas fechadas 6% ( $\pm 2,2\%$ ) canais 1,2% ( $\pm 0,98\%$ ) e rios 0,4% ( $\pm 0,88\%$ ).

Quando analisadas separadamente, a abundância de hospedeiros e a prevalência de infestação nas duas ordens de copépodes, Calanoida e Cyclopoida, as diferenças entre os ambientes são mantidas. Para a ordem Calanoida, as maiores densidades ocorreram nas lagoas fechadas (43915,85;  $\pm$  12544,60), onde ocorreram também as maiores prevalências de infestação para os copépodes adultos de *N. henseni* (8,40%;  $\pm$  6,2%) (Figura 3). Entretanto, as maiores prevalências de infestação nos organismos jovens (copepoditos) ocorreram nas lagoas abertas (5,71%;  $\pm$  4,7), apesar de as maiores densidades médias de hospedeiros terem sido registradas também para as lagoas fechadas (figura 3). Os copépodes da ordem Cyclopoida, ocorreram em maior abundância também nas lagoas fechadas (40665,20;  $\pm$  11662,80), onde também foram observadas as maiores prevalências de infestação por ciliados epibiontes em jovens (10,01% ( $\pm$  8,61%)) e adultos (8,32% ( $\pm$  8,73%)), para *T. minutus* e 24,72 ( $\pm$  35,27) para *T. decipiens*), (Figura 4).

Houve diferença significativa (ANOVA/Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )) entre os valores de abundância total de hospedeiros, de densidade bacteriana e de prevalência total de infestação, observada nos ambientes lóticos e lênticos, tanto para calanóides, quanto para ciclopóides. Além disso, foi também observada diferença significativa (ANOVA/Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )) entre os valores de abundância de hospedeiros (calanóides e ciclopóides), entre os tipos de lagoas (abertas e fechadas). Não houve, no entanto, diferença significativa entre os valores médios de densidade bacteriana e de prevalência de infestação, quando os tipos de lagoa são comparados (aberta e fechada) (Tabela 1).

Os resultados evidenciaram, ainda, correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre prevalência de infestação e abundância de hospedeiros calanóides, em cada um dos tipos de ambiente, tanto para a prevalência total, quanto para a prevalência de jovens e adultos ( $r_s = 0,64$ ;  $r_s = 0,52$ ;  $r_s = 0,46$ , respectivamente), sendo o mesmo evidenciado para os ciclopóides ( $r_s = 0,32$ ;  $r_s = 0,48$ ;  $r_s = 0,86$ ;  $r_s = 0,38$ , respectivamente) (Figura 5). Observou-se também correlação positiva entre prevalência de infestação e densidade bacteriana nas estações amostrais, em cada um dos tipos de ambiente, tanto para a prevalência total, quanto para a prevalência de jovens e adultos ( $r_s = 0,30$ ;  $r_s = 0,43$ ;  $r_s = 0,62$ , respectivamente), o mesmo ocorrendo para os ciclopóides ( $r_s = 0,23$ ;  $r_s = 0,27$ ;  $r_s = 0,68$ ;  $r_s = 0,73$ , respectivamente) (Figura 6).

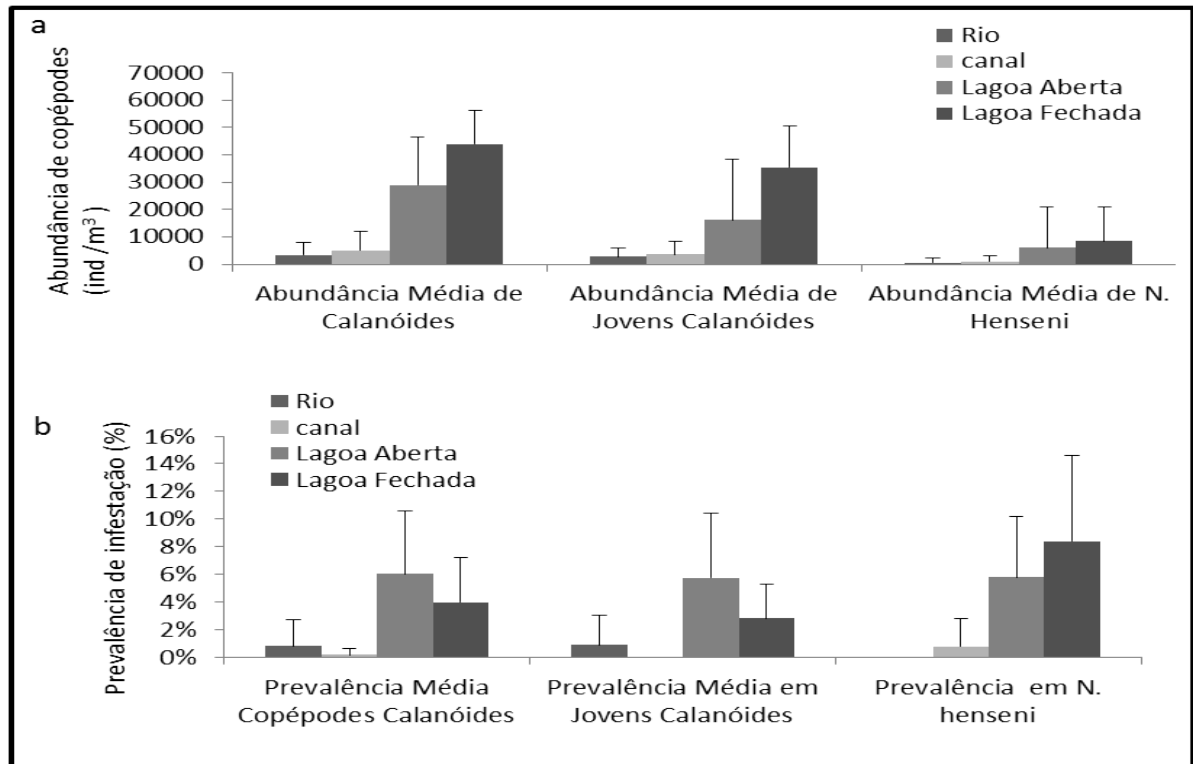


Figura 3. Abundância média de copépodes calanóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por por ciliados epibiontes em cada um dos tipos de ambientes amostrados, lóticos (Rios e canais) e lânticos (Lagoas abertas e fechadas), no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná.

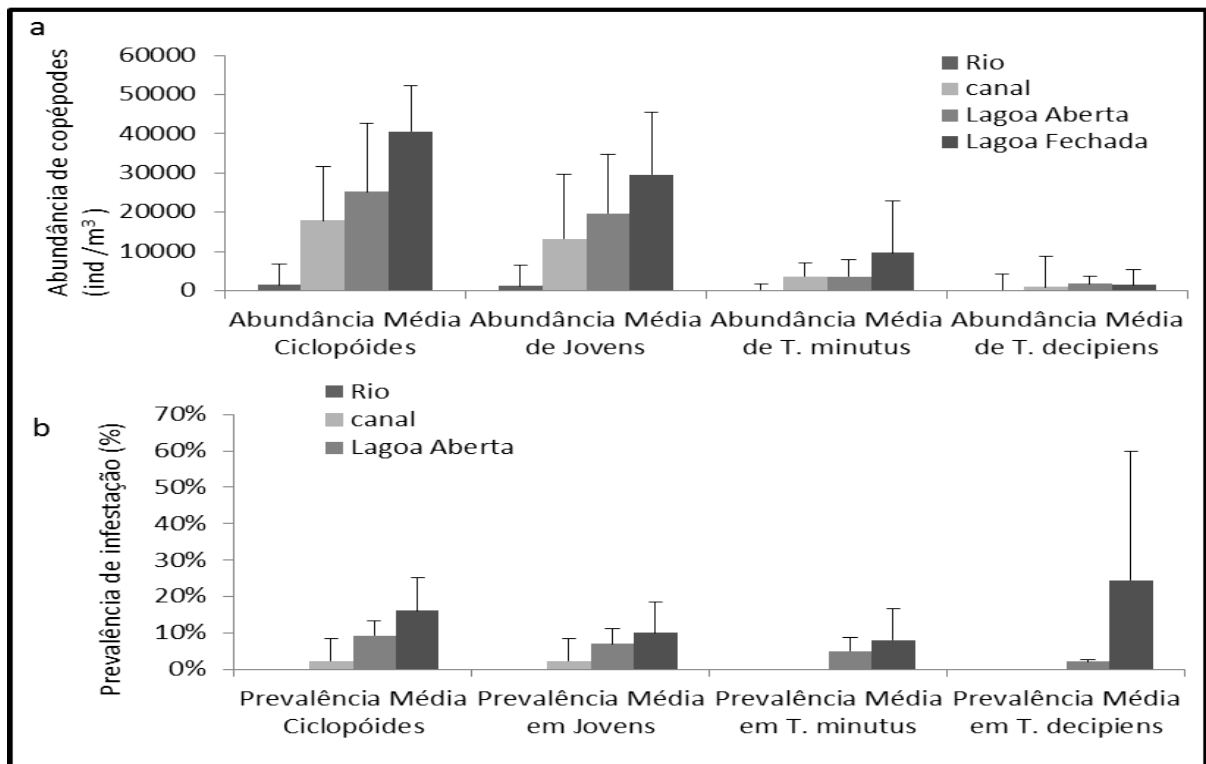


Figura 4. Abundância média de copépodes ciclopóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por por ciliados epibiontes cada um dos tipos de ambientes amostrados, lóticos (Rios e canais) e lânticos (Lagoas abertas e fechadas), no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná.



Tabela 1. Resultados da análise de variância com posterior teste de Tukey entre os tipos de ambientes (lênticos e lóticos e lagoas abertas e fechadas) amostrados no sistema rio-planície de Inundação do Alto Rio Paraná. Valores de p em negrito foram significativos.

	Ambientes loticos e lênticos			Tipos de lagoa (Aberta e Fechada)		
	f	p	p (tukey)	f	p	p (tukey)
Densidade bacteriana	16,341	<b>0,0001</b>	<b>0,002</b>	1,218	0,302	0,750
Abundância de hospedeiros	11,208	<b>0,0013</b>	<b>0,004</b>	19,94	<b>0,001</b>	<b>0,004</b>
Prev. calanóides	5,022	<b>0,028</b>	<b>0,048</b>	2,114	0,129	0,091
Prev. jovens calanóides	7,806	<b>0,018</b>	<b>0,018</b>	3,768	0,056	0,162
Prev. <i>N. henseni</i>	5,224	<b>0,025</b>	<b>0,043</b>	0,191	0,827	0,823
Prev. Cyclopóides	7,733	<b>0,007</b>	<b>0,008</b>	1,888	0,159	0,075
Prev. jovens cyclopóides	6,591	<b>0,012</b>	<b>0,011</b>	1,158	0,320	0,084
Prev. <i>T.minutus</i>	4,450	<b>0,038</b>	<b>0,039</b>	1,218	0,302	0,980
Prev. <i>T. decipiens</i>	0,941	0,335	0,336	3,768	0,056	0,058

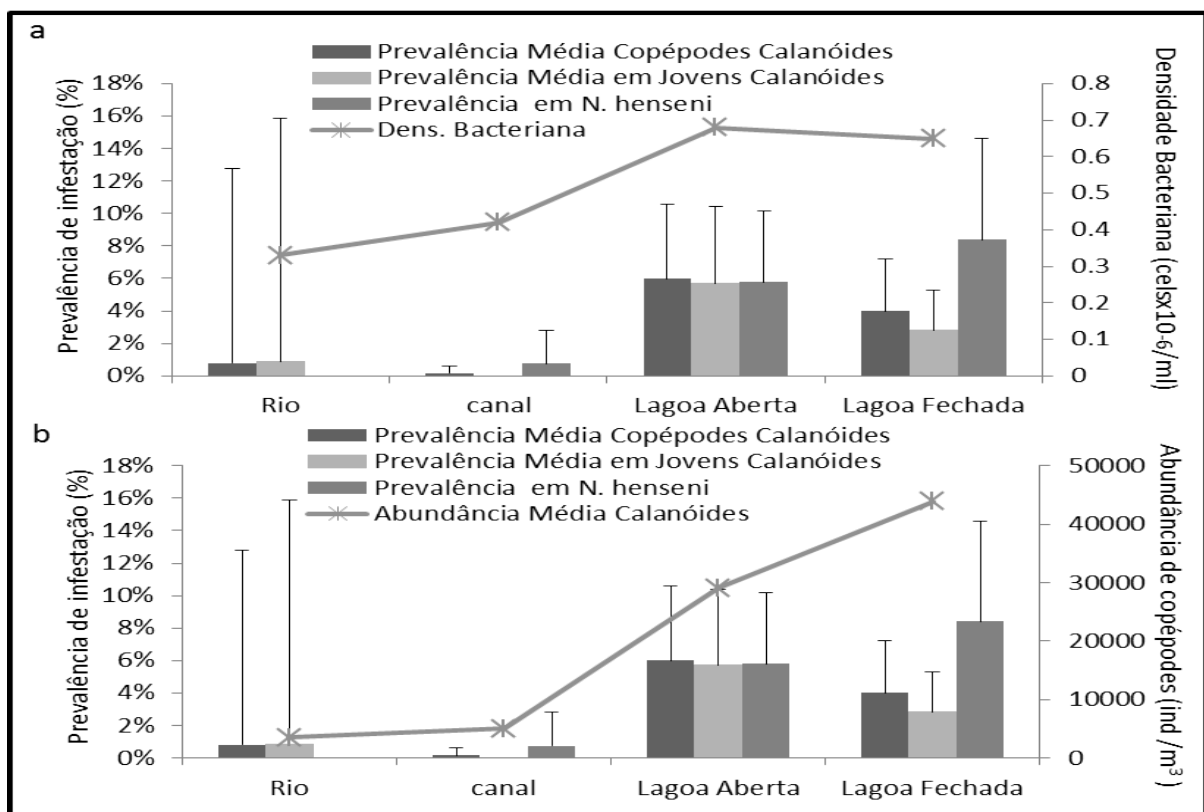


Figura 5. Relação entre densidade bacteriana (a) e abundância de hospedeiros calanóides (b) e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes em cada um dos tipos de ambientes amostrados no sistema rio-planície de inundação do Alto rio Paraná.

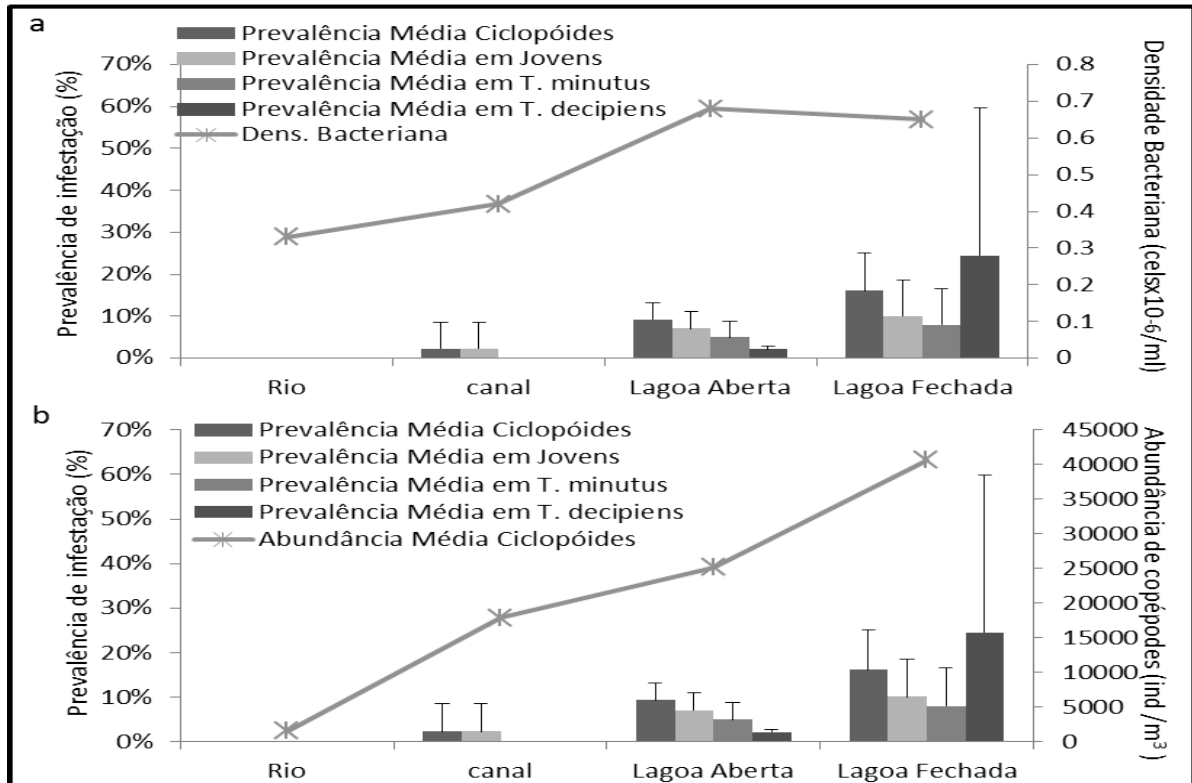


Figura 6. Relação entre densidade bacteriana (a) e abundância de hospedeiros ciclopóides (b) e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes em cada um dos tipos de ambientes amostrados no sistema rio-planície de inundação do Alto rio Paraná.

### Subsistemas

Dos três subsistemas analisados, o subsistema Baía foi o que mais apresentou a relação epibiótica, sendo que, dos 12 ambientes amostrados, 11 apresentaram a relação epibiótica. Somente o canal Curutuba não apresentou ciliados aderidos aos copépodes. O segundo subsistema foi o Ivinhema com sete ambientes onde foi observada a relação epibiótica e no subsistema Paraná, a relação foi registrada em apenas quatro ambientes.

A abundância média de copépodes zooplanctônicos variou entre os subsistemas, sendo maior nos ambientes do subsistema rio Ivinhema ( $38170,83 \text{ ind/m}^3$ ;  $\pm 16510,00$ ) (Figura 7a-8a). As prevalências de infestação também foram, de maneira geral, maiores nos ambientes do subsistema rio Ivinhema ( $8,59\%$ ;  $\pm 2,22\%$ ). Entretanto, quando analisadas separadamente, a abundância e a prevalência de infestação nas duas ordens de copépodes, Calanoida e Cyclopoida, foram observadas maiores prevalências de infestação para os ciclopóides adultos, nos ambientes relacionados ao subsistema rio Baía ( $15,1\%$ ;  $\pm 5,7\%$  e  $25,5\% \pm 8,8\%$ ), enquanto que para os jovens, tanto calanóides quanto ciclopóides, as maiores prevalências foram observadas nos ambientes do subsistema rio Ivinhema (Figura 7b-8b). As menores

abundâncias de hospedeiros e as menores prevalências de infestação foram observadas no subsistema rio Paraná (figuras 7 e 8).

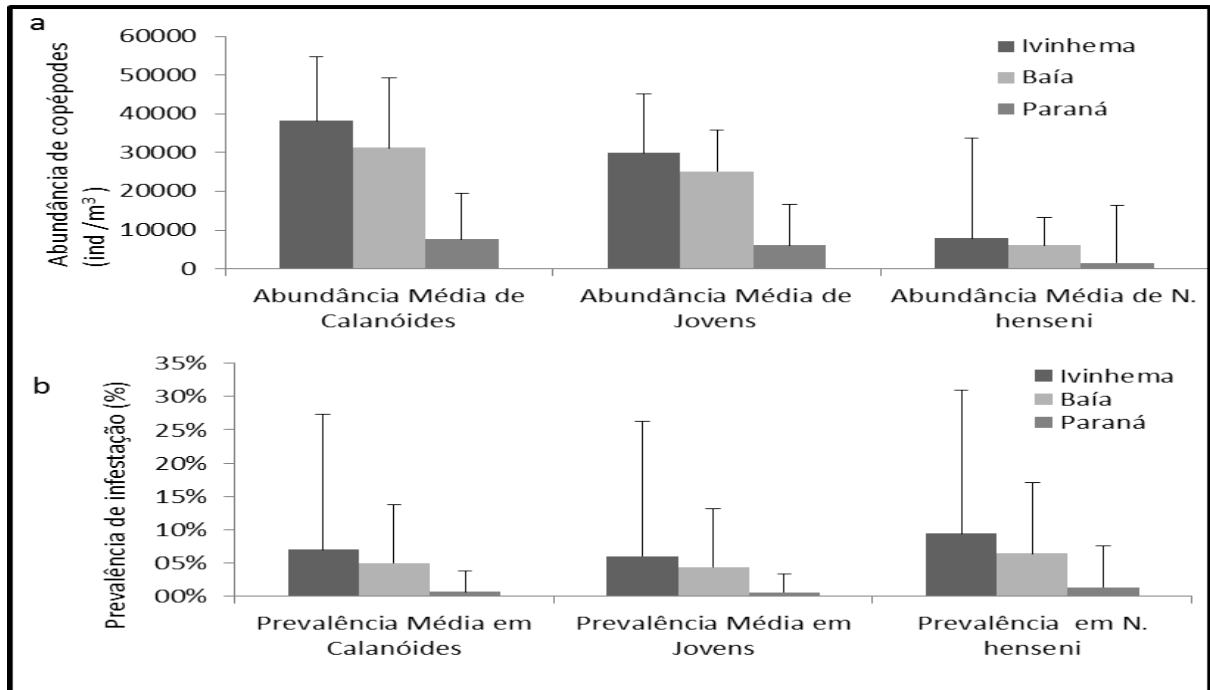


Figura 7. Abundância de copépodes calanóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por ciliados epibiontes em cada um dos três subsistemas componentes do sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná.

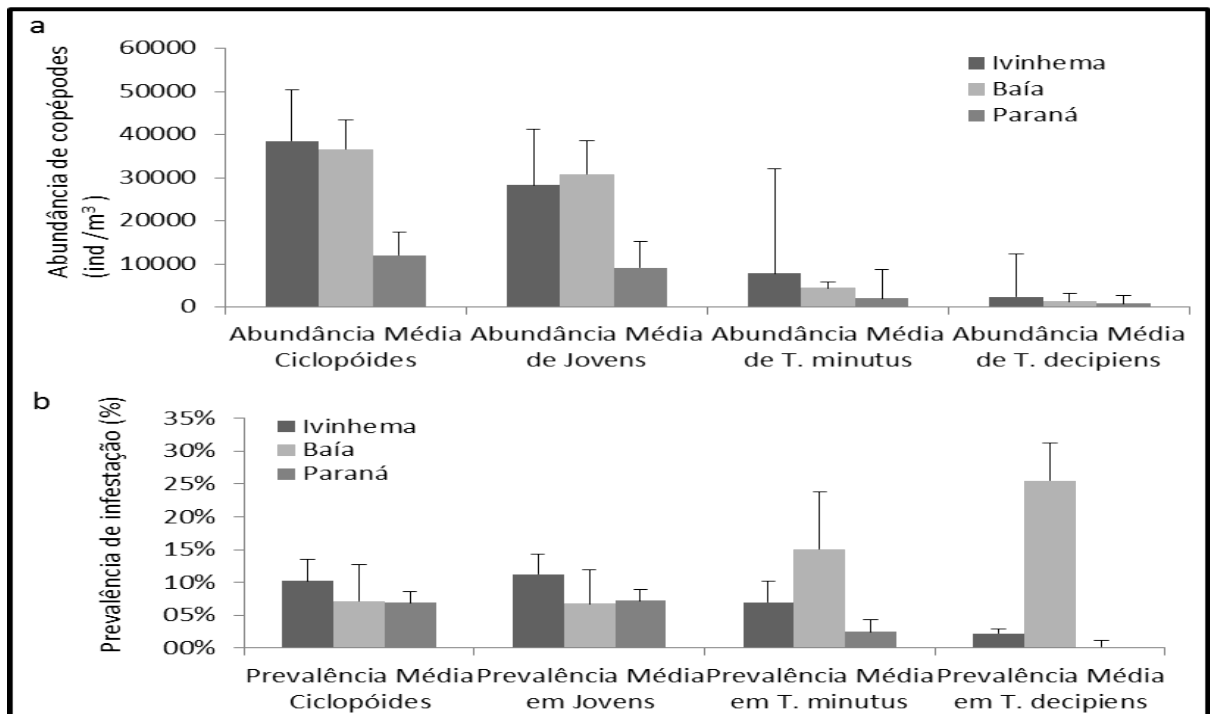


Figura 8. Abundância de copépodes ciclopóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por ciliados epibiontes em cada um dos três subsistemas componentes do sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná.

Houve diferença significativa (ANOVA/Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )) entre os valores de abundância total de hospedeiros, de densidade bacteriana e de prevalência total de infestação observada nos ambientes do subsistema rio Paraná em relação aos demais, entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os valores de abundância total de hospedeiros, de densidade bacteriana e de prevalência total de infestação entre os subsistemas rio Baía e Ivinhema, tanto para os calanóides quanto para os ciclopóides (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise de variância com posterior teste de Tukey entre os tipos subsistemas (Ivinhema, Baía e Paraná) componentes do sistema rio-planície de Inundação do Alto Rio Paraná. Valores de  $p$  em negrito foram significativos.

	<b><math>p</math> de Tukey</b>		
	Ivinhema	Baía	Paraná
Densidade bacteriana	0,088	0,124	<b>0,048</b>
Abundância de hospedeiros	0,294	0,170	<b>0,009</b>
Prev. Calanóides	0,062	0,147	<b>0,004</b>
Prev. jovens calanóides	0,302	0,577	0,885
Prev. <i>N. Henseni</i>	0,325	0,439	0,979
Prev. Ciclopóides	0,269	0,919	<b>0,001</b>
Prev. jovens ciclopóides	0,076	0,768	0,056
Prev. <i>T. minutus</i>	0,192	0,085	0,061
Prev. <i>T. decipiens</i>	0,080	0,321	0,057

### Ocorrência temporal

Nas amostragens realizadas durante o período de potamofase, 17 dos 36 ambientes analisados, apresentaram a relação epibiótica (10 lagoas abertas e sete lagoas fechadas). Na coleta realizada na limnofase, 13 dos 36 ambientes apresentaram a relação epibiótica (sete lagoas abertas e cinco lagoas fechadas, um canal e um rio). Houve diferença significativa (ANOVA/Teste de Tukey ( $p < 0,01$ )) entre as coletas realizadas no período de limnofase e no período de potamofase, quanto à densidade bacteriana, abundância de hospedeiros e prevalência de infestação ( $p = 0,001$ ;  $p = 0,045$ ;  $p = 0,008$ , respectivamente). As maiores abundâncias de hospedeiros e as maiores prevalências de infestação foram observadas no período de potamofase, tanto para a relação epibiótica envolvendo ciliados e copépodes da ordem Calanoida quanto Cyclopoida (Figura 9).

Quanto aos tipos de ambientes, as lagoas fechadas, no período de potamofase apresentaram as maiores prevalências de infestação, chegando a apresentar 34% de infestação para *T. decipiens* e 18% de infestação de ciliados sobre *N. henseni*, também nas lagoas fechadas, no período de potamofase, foram observados as maiores abundâncias de hospedeiros em potencial (Figuras 10-11). Houve diferença significativa (ANOVA/Teste de

Tukey ( $p < 0,05$ ) entre os valores de abundância total de hospedeiros, de densidade bacteriana e de prevalência observada no período de limnofase em relação ao período de potamofase (Tabela 3).

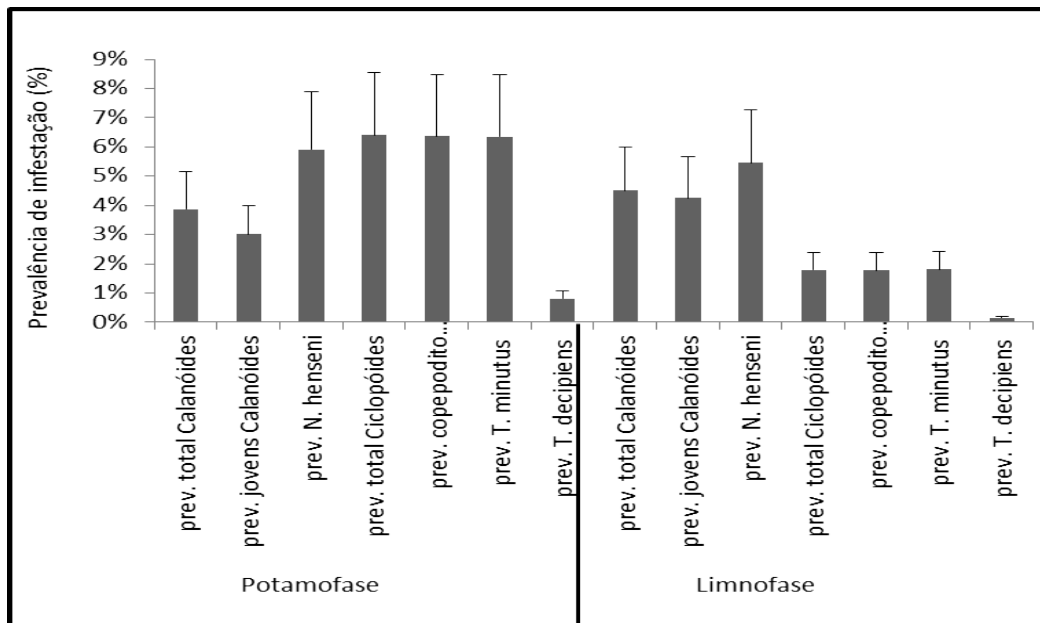


Figura 9. Prevalência média de infestação de copépodes planctônicos das ordens Calanoida e Cyclopoida por ciliados epibiontes no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná, nos períodos de limno e potamofase.

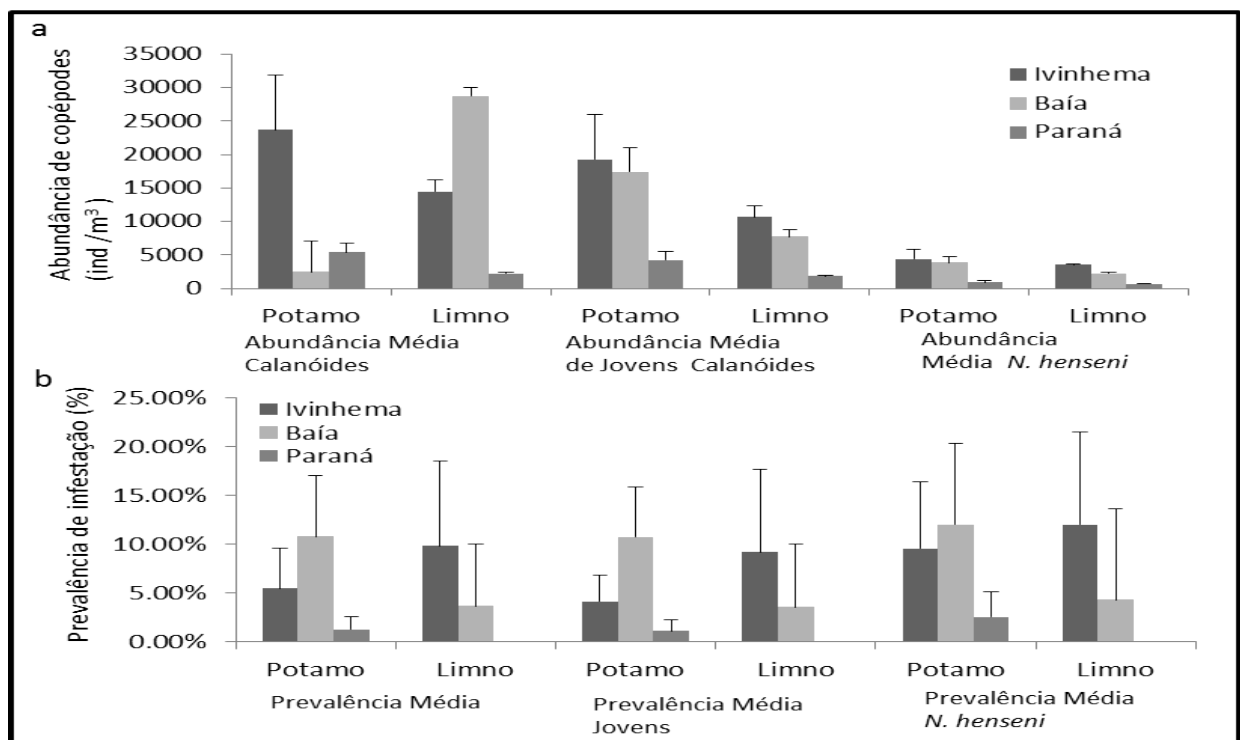


Figura 10. Abundância de copépodes calanóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por ciliados epibiontes em cada um dos tipos de ambientes e em cada um dos períodos hidrológicos amostrados no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná. Potamo= Potamofase; Limno= Limnofase.

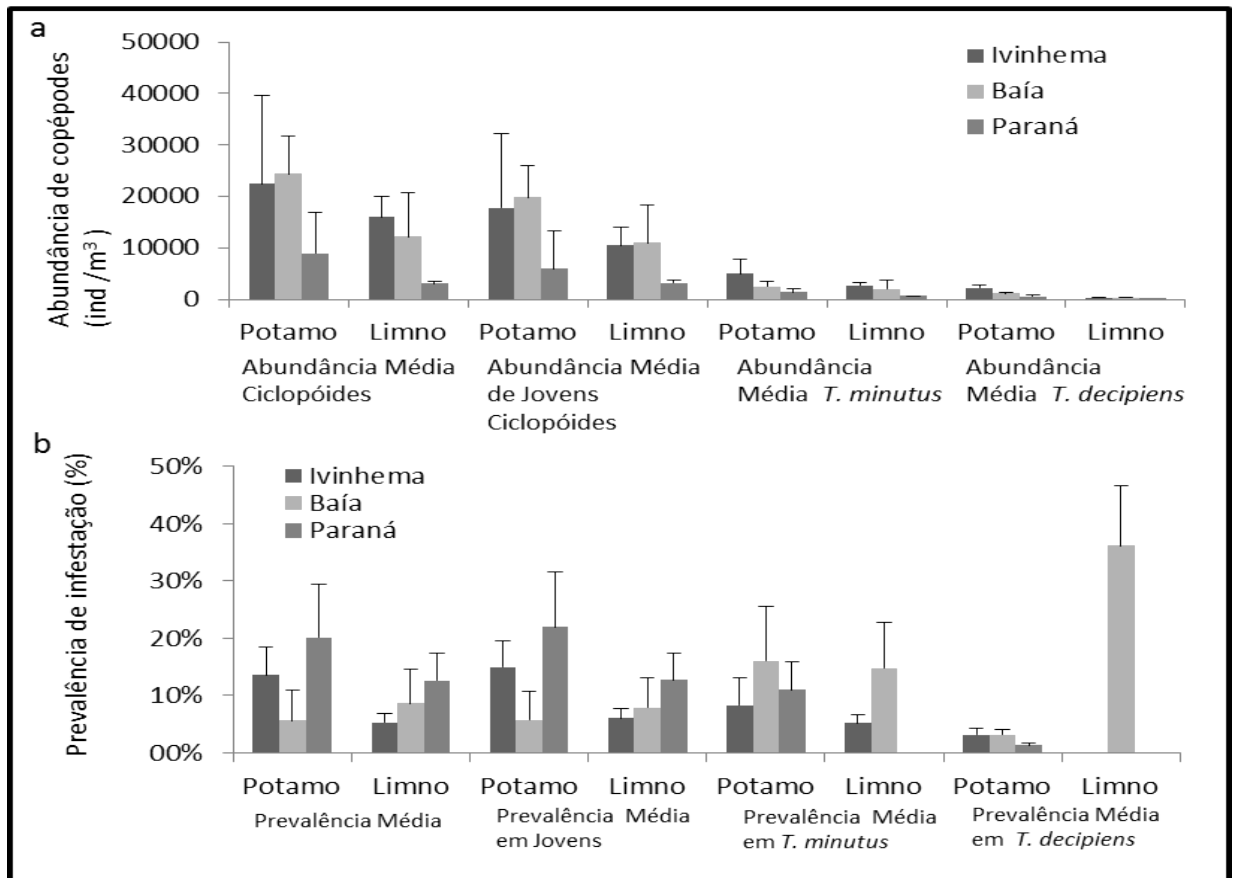


Figura 11. Abundância de copépodes ciclopóides e prevalência média de infestação destes indivíduos por ciliados epibiontes em cada um dos tipos de ambientes e em cada um dos períodos hidrológicos amostrados no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná. Potamo= Potamofase; Limno= Limnofase.

Tabela 3. Resultados da análise de variância com posterior teste de Tukey entre períodos hidrológicos amostrados no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná. Valores de p em negrito foram significativos.

	Período Hidrológico (Potamo e limnofase)		
	f	p	p (Tukey)
<b>Densidade bacteriana</b>	26,185	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Abundância de hospedeiros</b>	13,616	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>
<b>Prev. calanóides</b>	7,307	<b>0,009</b>	<b>0,008</b>
<b>Prev. jovens calanóides</b>	5,644	<b>0,020</b>	<b>0,048</b>
<b>Prev. <i>N. henseni</i></b>	10,798	0,125	0,288
<b>Prev. Ciclopóides</b>	4,842	<b>0,031</b>	<b>0,031</b>
<b>Prev. jovens ciclopóides</b>	4,239	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>
<b>Prev. <i>T. minutus</i></b>	5,058	<b>0,028</b>	<b>0,028</b>
<b>Prev. <i>T. decipiens</i></b>	2,113	0,151	0,151

### 3.4 DISCUSSÃO

Os ciliados epibiontes são um importante componente da biota 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 (Cabral et al. 2010; Dias et al. 2009; Utz e Coats 2005). A epibiose pode atuar, como uma alavanca ecológica amplificando ou tamponando o stress biótico e abiótico enfrentado pelo hospedeiro (Wahl 2008). Dentre os fatores que podem influenciar a dinâmica espacial e temporal de populações de ciliados epibiontes, pode-se destacar a abundância de hospedeiros (Regali-Selegim e Godinho 2004; Souissi et al. 2013; Utz e Coats 2005), disponibilidade de alimento (Barea-Arco et al. 2001; Hanamura 2000), grau de poluição orgânica (Laird 1959; Xu 1992), abundância dos predadores do hospedeiro (Wiley e Threlkeld 1993), parâmetros físico-químicos da água (Cabral et al. 2010) e competição por substrato (Quintanilla et al. 2013). A prevalência de infestação foi influenciada tanto por fatores bióticos, como a disponibilidade de alimento (densidade bacteriana) e abundância de hospedeiros, quanto fatores abióticos, relacionados com o ciclo hidrológico e com os tipos de ambientes amostrados.

Planícies de inundação são faixas estreitas por onde correm rios e são constituídas por seus depósitos do canal e da inundação, permanente ou temporalmente inundadas pelo aporte fluvial (Neiff et al. 1994). A planície de inundação do alto rio Paraná engloba três grandes rios que, por sua vez, estão conectados permanente ou sazonalmente com uma grande variedade de corpos de água com distintas características geomorfológicas, constituindo um amplo sistema composto pelos rios principais, canais e lagoas, onde diversos estudos sobre a biodiversidade e diferentes aspectos da ecologia de diversas comunidades aquáticas, incluindo as comunidades planctônicas, têm sido realizados ao longo de vários anos (Thomaz et al. 2004). Entretanto, investigações sobre a biodiversidade e ecologia de comunidades de protozoários ciliados em planícies de inundação, em geral, e especificamente na planície de inundação do alto rio Paraná, são ainda escassos (Pauleto et al. 2009).

Além de ter sido realizado um estudo pioneiro acerca dos fatores envolvidos na dinâmica da relação epibiótica em uma planície de inundação, foi feito o primeiro registro da relação epibiótica entre ciliados do gênero *Vorticella* em copépodes planctônicos das espécies *Thermocyclops decipiens*, *T. minutus* e *Notodiptomus henseni*. Os organismos da ordem Calanoida contribuem com grande biomassa para o ambiente aquático, servindo como consumidores primários de relevante importância (Brusca e Brusca 2007) e como alimento

para organismos que ocupam níveis tróficos superiores, como alevinos e peixes planctófagos (Matsumura-Tundisi e Silva 2002). Muitas espécies são especializadas para a utilização de partículas pequenas, consumindo fitoplâncton, outras, predadoras, alimentam-se de uma grande variedade de presas, incluindo ciliados (Huys e Boxshall 1991). A maioria das espécies de organismos que constituem a ordem Cyclopoida, tais como *T. decipiens* e *T. minutus* possuem tamanho menor do que as espécies de Calanoida, o que justifica a sua menor contribuição em termos de biomassa (Silva e Matsumura-Tundisi 2005). São considerados capturadores, raptoriais ou predadores, pois seus apêndices bucais estão adaptados a capturar partículas maiores, podendo alimentar-se tanto de animais de tamanhos variados como de outros seres vivos (Silva e Matsumura-Tundisi 2005). Neste contexto, a relação epibiótica entre protozoários ciliados e copépodes zooplânctônicos, pode beneficiar tanto os hospedeiros, que podem ingerir seus epibiontes, quanto organismos superiores na cadeia alimentar, pois sabe-se que os copépodes são o item alimentar mais importante para larvas de peixe, e os ciliados podem ser um componente da dieta destes organismos, de forma que a ingestão de copépodes colonizados por epibiontes poderia ser um incremento na dieta e uma fonte de energia extra para as larvas de peixe (Figueiredo et al. 2005; 2007).

Os ciliados apresentaram uma especificidade em relação às espécies de hospedeiro e em relação ao instar dos hospedeiros (jovens e adultos), corroborando os estudos de Stirnadel e Ebert (1997) e McGaw (2006). Entretanto, tais aspectos da relação epibiótica, ainda não são totalmente compreendidos (Souissi et al. 2013). Sabe-se que alguns epibiontes podem apresentar graus variados de especificidade por basibionte que podem variar desde indivíduos que colonizam uma ampla gama de substratos, tais como organismos mortos, substratos inertes, plantas, animais e não estão restritos ao modo de vida epibiótico, até indivíduos que são epibiontes obrigatórios, com grau de especificidade maior, em nível de família, gênero ou até espécie (Cook et al. 1998; Nenninger 1948). 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 prevalência de infestação por ciliados epibiontes, e com a capacidade do ciliado de reconhecer e se adaptar às condições impostas pelo basibionte, podendo estar relacionadas com o sucesso e/ou tempo co-evolutivo desta relação. Quando os efeitos relacionados à epibiose são neutros ou positivos para uma espécie de basibionte e benéficos para as espécies de epibiontes, a seleção deve favorecer a evolução da relação epibiótica que tente a aumentar a especificidade ao longo do tempo evolutivo (Wahl e Mark 1999). A ausência de protozoários ciliados epibiontes colonizando náuplios, como foi observado, pode ser explicada pelo fato de que copépodes adultos



constituem um substrato mais estável para os epibiontes, uma vez que eles não sofrem mais mudas e podem acumular uma maior densidade de epibiontes. Por outro lado, as larvas de copépodes sofrem mudas frequentes, aumentando o investimento energético na produção de novos apêndices ou estruturas especializadas na fixação do epibionte, o que tornaria os náuplios um substrato instável, energeticamente desfavorável e possivelmente efêmero (Bickel et al. 2012; Utz e Coats 2005; Wahl 1989).

Além disso, existem outros fatores que podem influenciar a dinâmica espacial e temporal de populações de ciliados epibiontes, tais como abundância de hospedeiros (Barea-Arco 2001; Evans et al. 1979; Henebry e Hidgeway 1979; Ólafsdóttir e Svarvarsson 2002; Regali-Selegim e Godinho 2004; Threlkeld et al. 1993; Wiley e Threlkeld 1993; Utz e Coats 2005), disponibilidade de alimento (Baldock 1996; Barea-Arco et al. 2001; Hanamura 2000; Regali-Selegim e Godinho 2004; Roberts e Chubb 1998; Threlkeld et al. 1993; Utz e Coats 2005), grau de poluição orgânica (Laird 1959; Threlkeld et al. 1993) e parâmetros físico-químicos da água, tais como salinidade, temperatura, condutividade elétrica e potencial oxidante-reduzidor, que podem ser alterados conforme o tipo de ambiente e a época do ano estudados (Cabral et al. 2010; Utz e Coats 2005; Wiley e Threlkeld 1993).

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, que pode estar relacionada a fatores como flutuações da densidade bacteriana e poluição orgânica, podendo alterar o padrão de ocorrência espacial e temporal de ciliados epibiontes (Cabral et al. 2010; Regali-Selegim e Godinho 2004; Utz e Coats 2005). Segundo Threlkeld et al. (1993) a sincronia das oscilações das abundâncias das populações de epibiontes e hospedeiros reflete a alta especificidade da relação epibiótica. Outro fator biótico controlador da abundância das populações de ciliados nos variados ecossistemas é a disponibilidade de alimento (Noland e Gogjics 1925; Sleight 1988). A correlação positiva entre a prevalência de infestação e a disponibilidade de alimento (densidade bacteriana) relatada no presente trabalho, corrobora os estudos de Regali-Selegim e Godinho (2004), Utz e Coats (2005) e Cabral et al. (2010), que relataram maior prevalência de infestação de ciliados epibiontes peritríqueos que se alimentam de partículas em suspensão, e que favorecem a colonização de ciliados bacterívoros filtradores, como os epibiontes,

Em relação aos tipos de ambientes amostrados (rios, canais, lagoas abertas e fechadas), as maiores prevalências observadas, ocorreram nos ambientes lênticos, o que corrobora o estudo de Pauleto et al. (2009) que observaram maiores resultados de prevalência de protozoários ciliados nestes ambientes. Além disso, dentre os ambientes lênticos estudados, observaram

maiores valores de prevalência nas lagoas abertas do que nas fechadas, enquanto que no período de potamofase os valores foram praticamente os mesmos para ambos os tipos de lagoa. Outros autores também observaram uma maior abundância e diversidade de organismos em ambientes lênticos em detrimento aos ambientes lóticos (Bonecker et al. 2005; Pauleto et al. 2009; Velho et al. 1999). A predileção dos ciliados planctônicos por ambientes lênticos, tem sido atribuída ao menor fluxo de água, além da maior disponibilidade de alimento, o que favorece o estabelecimento destes organismos (Burns e Galbraith 2007; Madoni e Braghiroli 2007).

A planície de inundação do alto rio Paraná pode ser dividida em três unidades ambientais regionais (subsistemas do rio Baía, Ivinhema e Paraná), que apresentam características físico-químicas distintas e comportam diferentes comunidades biológicas (Padial et al. 2012). Foram observadas diferenças estatísticas entre as prevalências de infestação entre os três subsistemas componentes desta planície de inundação, principalmente entre o subsistema rio Paraná, em relação aos demais. Tais diferenças podem estar relacionadas tanto com fatores bióticos, como disponibilidade de hospedeiros e disponibilidade de recursos alimentares, quanto com a composição físico-química, característica de cada subsistema. O rio Paraná e as lagoas a ele conectadas possuem elevadas concentrações de íons totais (refletidas pela condutividade elétrica) e de transparência da água e baixos valores de fósforo, comparativamente aos ambientes conectados ao rio Ivinhema, enquanto, lagoas conectadas ao rio Baía possuem baixos valores de oxigênio dissolvido e pH (Thomaz et al. 2004). O perfil físico-químico de um determinado ambiente pode ser crucial para o estabelecimento de comunidades de ciliados, visto que estes são organismos altamente sensíveis à variação dos fatores limnológicos, por 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 (Kudo 1966; Noland e Gogjics 1925; Sleigh 1988).

O regime hidrológico é, no entanto, considerado o fator-chave na condução, funcionamento ecológico e dos padrões de biodiversidade em sistemas de planície de inundação (Bunn e Arthington 2002; Junk et al. 1989). Os ciclos biogeoquímicos na planície de inundação são altamente dependentes das flutuações do nível da água, que regulam as trocas de água entre os habitats alagáveis e os rios Paraná, Ivinhema e Baía (Agostinho et al. 2004). As maiores prevalências de infestação no período de potamofase, observado, pode ser devido ao efeito pulso, que pode ser considerado um padrão geral, em

ambientes de planície de inundação (Thomaz et al. 2004; 2007). Os maiores níveis de água neste período podem ter proporcionado uma homogeneização não só dos ambientes, mas dos atributos das comunidades que habitam os diversos ambientes deste ecossistema e possivelmente propiciaram aos epibiontes a colonização de um maior número de ambientes neste período, bem como o estabelecimento em ambientes não colonizados no período de limnofase. As maiores prevalências de infestação observadas, contradizem os resultados obtidos por Cabral et al. (2010), que constataram que o maior volume de água teve um efeito perturbador na relação epibiótica, entre protozoários e larvas de dípteros, causando uma diminuição na prevalência de infestação com o aumento da pluviosidade.

Tal estudo constitui a primeira investigação acerca da ocorrência da relação epibiótica em uma planície de inundação e pioneiro ao investigar os fatores envolvidos na dinâmica espaço-temporal da relação epibiótica neste tipo de ambiente, sendo o primeiro ainda a apontar os possíveis efeitos da inundação, que ocorre em todo o sistema rio-planície, nas comunidades de ciliados epibiontes. Destacam-se os fatores extrínsecos, tais como parâmetros físico-químicos, e fatores intrínsecos, como disponibilidade de alimento e abundância de hospedeiros, como os principais tipos de reguladores populacionais das comunidades de ciliados epibiontes. Entretanto, é importante ressaltar a necessidade de realização de outros estudos, em outras planícies de inundação, e por um maior período de tempo, para elucidar as lacunas inerentes a este tipo de relação ecológica neste tipo de ambiente.

## REFERÊNCIAS

- Agostinho, A.A., Zalewski, M., 1996. A planície alagável do alto rio Paraná: importância e preservação. (Upper Paraná River Floodplain: Importance e Preservation). EDUEM, Maringá.
- Agostinho, A.A., Thomaz, S.M., Gomes, L.C., 2004. Threats for biodiversity in the floodplain of the Upper Paraná River: effects of hydrological regulation by dams. *Int. J. Ecohydrol. Hydrobiol.* 4, 267–280.
- APHA - American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of water e wastewater, 20th ed., Amer. Public. Health Assn., Baltimore.
- Baldock, B.M., 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. *Hidrobiología*. 132, 25–131.

- Barea-Arco, J., Pérez-Martínez, C., Morales-Baquero, R., 2001. Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont e its host *Daphnia pulex*. *Limnol. Oceanogr.* 46, 871–881.
- Bickel, S.L., Tang, K.W., Grossart, H.P., 2012. Ciliate epibionts associated with crustacean zooplankton in German lakes: distribution, motility, e bacterivory. *Front. Microbiol.* 3, 243–248.
- Bjorsen, B.K., 1986. Automatic Determination of Bacterioplankton Biomass by Image Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1199–1204.
- Bonecker, C.C., Da Costa, C.L., Velho, L.F.M., Lansac-Tôha, F.A., 2005. Diversity e abundance of the planktonic rotifers in different environments of the Upper Paraná River floodplain (Paraná State–Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Hydrobiologia.* 546, 405–414.
- Bozkurt, A., Genc, E., 2009. First record of the epibiont protozoan *Epistylis* sp. on zooplankton (Copepoda, Cladocera, e Rotifera) from the Asi River, Turkey. *Crustaceana.* 82, 515–530.
- Brusca, R.C., Brusca, G.J., 2007. *Invertebrados*, 2nd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Bunn, S.E., Arthington, A.H., 2002. Basic principles e ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity. *Environ. Manage.* 30, 492–507.
- Burns, C.W., Galbraith, L.M., 2007. Relating planktonic microbial food web structure in lentic freshwater ecosystems to water quality e land use. *J. Plankton Res.* 29, 127–139.
- Bush, J.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 83, 575–583.
- Cabral, A.F., Dias, R.P., Utz, L.P., Alves, R.G., D'agosto, M., 2010. Spatial e temporal occurrence of *Rhabdostyla* cf. *chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) as an epibiont on chironomid larvae in a lotic system in the neotropics. *Hydrobiologia.* 644, 351–359.
- Carmann, K.R., Dobbs, F., 1997. Epibiotic microorganisms on copepods e other marine crustaceans. *Microsc. Res. Techniq.* 37, 116–135.
- Caro, A., Escalas, A., Bouvier, C., Grousset, E., Lautredou-Audouy, N., Roques, C., Charmantier, M., Gros, G., 2012. Epibiotic bacterial community of *Sphaeroma serratum* (Crustacea, Isopoda): relationship with molt status. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 457, 11–27.

- Chatterjee, T., Fernandez-Leborans, G., Ramteke, D., Ingole, B.S., 2013. New records of epibiont Ciliates (Ciliophora) from Indian coast with descriptions of six new species. *Cah. Biol. Mar.* 54, 143–159.
- Cook, J. A., & Chubb, J. C. 1998. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.)(Crustacea, Isopoda): an SEM study. *Freshwater Biol.*, 39(3), 423-438.
- Dias, R.J.P., Cabral, A.F., Martins, R.T., Stephan, N.N.C., Silva-Neto, I.D., Alves, R.G., D'agosto, M., 2009. Occurrence of peritrich ciliates on the limnic oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) in the neotropics. *J. Nat. His.* 43, 1–15.
- Evans, M.S., Sicko-Goad, L.M., Omair, M., 1979. Seasonal occurrence of *Tokophrya quadripartita* (Suctorina) as epibionts on adult *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) in southeastern Lake Michigan. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 98, 102–109.
- Fard, N.A., Motalebi, A.A., Jafari, J.B., Meshgi, A.M., Azadikhah, D., Afsharnasab, M., 2011. Survey on fungal, parasites e epibionts infestation on the *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823), in Aras Reservoir West Azarbaijan, Iran. *Iranian J. Fish. Sci.* 10, 266–275.
- Fernandez-Leborans, G., Von Rintelen, K., 2010. Biodiversity e distribution of epibiontic communities on *Caridina ensifera* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from Lake Poso: comparison with another ancient lake system of Sulawesi (Indonesia). *Acta Zool.* 91, 163–175.
- Fernandez-Leborans, G., Córdoba, M.J.H., Del Arco, P.G., 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). *Invertebr. Biol.* 116, 171–177.
- Figueiredo, G.M., Nash, R.D., Montagnes, D.J., 2007. Do protozoa contribute significantly to the diet of larval fish in the Irish Sea? *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 87, 843–850.
- Figueiredo, G.M., Nash, R.D., Montagnes, D.J., 2005. The role of the generally unrecognised microprey source as food for larval fish in the Irish Sea. *Marine Biol.* 148, 395–404.
- Fry, J.C., 1990. Direct methods e biomass estimation. *Meth. Microbiol.* 22, 41–85.
- Gilbert, J.J., Schroder, T., 2003. The ciliate epibiont *Epistylis pigmaeum*: selection for zooplankton hosts, reproduction e effect on two rotifers. *Freshwater Biol.* 48, 878–896.
- Hanamura, Y., 2000. Seasonality e infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. *Hydrobiologia.* 427, 121–127.

- Henebry, M.S., Ridgeway, B.T., 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods e cladocerans e their possible use as indicators of organic pollution. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 98, 495–508.
- Hobbie, J.E., Daley, R.J., Jasper, S., 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied Environmental Microbiology*. 33, 1225–1228.
- Huys, R., Boxshall, G.A., 1991. *Copepod Evolution*. The Ray Society, London.
- Jackson, D.A., 1993. Stopping rules in principal components analysis: a comparison of heuristical e statistical approaches. *Ecology*. 78, 2204–2214.
- Junk, W.J., Bayley, P.B., Sparks, R.E., 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 106, 110–127.
- Koroleff, K., 1978. Determination of ammonia. In: Grasshoff, K., Kremling, E. (Eds.), *Methods of Seawater Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, p.127–135.
- Kudo, R.R., 1966. *Protozoology*. Charles C. Thomas, Illinois.
- Laird, M., 1959. Parasites of Singapore mosquitoes with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. *Ecology*. 40, 207–241.
- Lescinsky, H.L., 1997. Epibiont communities: recruitment e competition on North American Carboniferous brachiopods. *J. Paleontol.* 71, 34–53.
- Lescinsky, H.L., 2000. Epibionts. In: Briggs, D.E.G., Crowther, P.R. (Eds.), *Palaeobiology II*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 460–464.
- Lippert, H., Iken, K., Rachor, E., Wiencke, C., 2001. Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen). *Polar Biol*. 24, 512–522.
- Mackereth, F. J. H., Heron, J. & Talling, J. F. 1978. Some revised methods of water analysis for limnologists. *Freshwater Biological Association Scientific Publication No. 36*.
- Madoni, P., Braghiroli, S., 2007. Changes in the ciliate assemblage along a fluvial system related to physical, chemical e geomorphological characteristics. *Eur. J. Protistol.* 43, 67–75.
- Matsumura-Tundisi, T., & Silva, W. M. (2002). Occurrence of *Mesocyclops ogunnus* Onabamiro, 1957 (Copepoda Cyclopoida) in water bodies of São Paulo state, identified as *Mesocyclops kieferi* Van de Velde, 1984. *Braz. J. Biol.* , 62(4A), 615-620.
- McGaw, I.J., 2006. Epibionts of sympatric species of Cancer crabs in Barkley sound, British Columbia. *J. Crustac. Biol.* 26, 85–93.
- Montagnes, D.J.S., Lynn, D.H., 1993. A quantitative Protargol Stain (QPS) for ciliates e other protists. In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J. (Eds.) *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, CRC Press, New York, pp. 229–240.

- Neiff, J.J., Iriondo, M.H., Carignan, R., 1994. Large tropical South American wetlands: an overview. In Proceedings of the International Workshop on The Ecology e Management of Aquatic-terrestrial ecotones (pp. 156-165). Seattle: University of Washington.
- Nenninger, U., 1948 Die Peritrichen der Umgebung von Erlangen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Wirtsspezifität. Zoologische Jahrbuecher. Abteilung fuer Systematic Oekologie und Geographie der Tiere. 77, 169–266.
- Noland, L.E., Gogjics, M., 1967. Ecology of free-living Protozoa. In: Chen, T.T. (Ed.), Research in Protozoology, 12, Pergamon Press, London, pp.215–266.
- Ólafsdóttir, S.H., Svavarsson, J., 2002. Ciliate (Protozoa) of deep-water Asellote isopods (Crustacea): pattern e diversity. J. Crustac. Biol. 22, 607–618.
- Padial, A.A., Siqueira, T., Heino, J., Vieira, L.C., Bonecker, C.C., Lansac-Tôha, F. A., Bini, L.M., 2012. Relationships between multiple biological groups e classification schemes in a Neotropical floodplain. Ecological Indicators. 13, 55–65.
- Pauleto, G.M., Velho, L.F.M., Buosi, P.R.B., Brão, A.F.S., Lansac-Tôha, F.A., Bonecker, C.C., 2009. Spatial e temporal patterns of ciliate species composition (Protozoa: Ciliophora) in the plankton of the Upper Paraná River floodplain. Braz. J. Biol. . 69, 517–527.
- Pratt, J.R., Cairns Jr., J., 1985. Functional groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems. Journal of Protozoology. 32, 415–422.
- Quintanilla, E., Gili, J. M., López-González, P. J., Tsounis, G., Madurell, T., Fiorillo, I., & Rossi, S. 2013. Sexual reproductive cycle of the epibiotic soft coral *Alcyonium coralloides* (Octocorallia, Alcyonacea). Aquatic Biol.. 18(2), 113-124.
- R Development Core Team 2011. R: A language e environment for statistical computing. Vienna, R Foundation for Statistical Computing. Available in: <<http://www.R-project.org>>. Accessed in: June 2013.
- Regali-Selegim, M.H., 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.. 26, 501–508.
- Roberts, G.N., Chubb, J.C., 1998. The distribution e location of the symbiont *Lagenophrys aselli* on the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. Freshwater Biol.. 40, 671–677.
- Silva, W. M., & Matsumura-Tundisi, T. 2005. Taxonomy, ecology, and geographical distribution of the species of the genus *Thermocyclops* Kiefer, 1927 (Copepoda, Cyclopoida) in São Paulo State, Brazil, with description of a new species. Braz. J. Biol.. 65(3), 521-531.

- Silva-Neto, I. D., da Silva Paiva, T., Pedrosa Dias, R. J., Alexandre Campos, C. J., & Migotto, A. E. 2012. Redescription of *Licnophora chattoni* Villeneuve-Brachon, 1939 (Ciliophora, Spirotrichea), associated with *Zyzyzus warren* Calder, 1988 (Cnidaria, Hydrozoa). *Eur. J. Protistol.* , 48(1), 48-62.
- Sleigh, M., 1988. Protozoa e other Protists. Chapman e Hall, New York.
- Souissi, A., Souissi, S., Hwang, J.S., 2013. The effect of epibiont ciliates on the behavior e mating success of the copepod *Eurytemora affinis*. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.* 445, 38–43.
- Stirnadel, H.A., Ebert, D., 1997. Prevalence, host specificity e impact on host fecundity of microparasites e epibionts in three sympatric *Daphnia* species. *J. Anim. Ecol.* 66, 212–222.
- Thomaz, S.M., Lansac-Tôha, F.A., Roberto, M.C., Esteves, F.A., Lima, A.F., 1992. Seasonal variation of some limnological factors of a high Paraná river várzea lake - Guaraná Lake - State of Mato Grosso do Sul - Brazil. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 25, 269–276.
- Thomaz, S.M., Bini, L.M., Pagioro, T.A., Murphy, K.J., Santos, A.M., Souza, D.C., 2004. Aquatic macrophytes: diversity, biomass e decomposition. In: Thomaz, S.M., Agostinho, A.A., Hahn, N.S. (Eds.), *The Upper Paraná River e its floodplain: Physical aspects, ecology e conservation*. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 331–352.
- Thomaz, S.M., Bini, L.M., Bozelli, R.L., 2007. Floods increase similarity among aquatic habitats in river-floodplain systems. *Hydrobiologia.* 579, 1–13.
- Threlkeld, S.T., Chiavelli, D.A., Willey, R.L., 1993. The organization of zooplankton epibiont communities. *Trends Ecol. Evol.* . 8, 317–321.
- Thurber, A.R., Jones, W.J., Schnabel, K., 2011. Dancing for food in the deep sea: bacterial farming by a new species of yeti crab. *PLoS One.* 6, e26243.
- Utz, L.R.P., Coats, W., 2005. The role of motion in the formation of free-living stages e attachment of the peritrich epibiont *Zoothamnium intermedium* (Ciliophora, Peritrichia). *Biociências.* 13, 69–74.
- Velho, L. F. M., Lansac-Tôha, F. A., & Bini, L. M. 1999. Spatial and temporal variation in densities of testate amoebae in the plankton of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Hydrobiologia,* 411, 103-113.
- Wahl, M., 2008. Ecological lever e interface ecology: epibiosis modulates the interactions between host e environment. *Biofouling.* 24, 427–438.
- Wahl, M., 1989. Marine Epibiosis. I. Fouling e antifouling: some basic aspects. *Mar. Ecol. Progress Series.* 58, 175–189.



- Wahl, M., Mark, O., 1999. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental e observational evidence. *Mar. Ecol. Progress Series*. 187, 59–66.
- Ward, J. V., Tockner, K., & Schiemer, F. (1999). Biodiversity of floodplain river ecosystems: ecotones and connectivity1. *Regul. Rivers*. 15(1-3), 125-139.
- Willey, R.L., Threlkeld, S.T., 1993. Organization of crustacean epizoan communities in a chain of subalpine ponds. *Limnol. Oceanogr.* . 38, 623–627.
- Willey, R.L., Cantrell, P.A., Threlkeld, S.T., 1990. Epibiotic euglenoid flagellates increase the susceptibility of some zooplankton to fish predation. *Limnol. Oceanogr.* 35, 952–959.
- Xu, Z., 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina macrocopa* in an urban stream. *J. Invertebr. Pathol.*. 60, 197–200.
- Zagatto, E.A.G., 1981. Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. USP, Piracicaba.
- Zhang, Z., Han, J., Wang, Y., Emig, C. C., & Shu, D. (2010). Epibionts on the lingulate brachiopod *Diandongia* from the Early Cambrian Chengjiang Lagerstätte, South China. *Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.*. 277(1679), 175-181.

#### 4 REGISTRO DO EUGLENÍDIO EPIBIONTE *Colacium vesiculosum* EHRENBERG 1853 (EUGLENOPHYCEAE), EM COPÉPODES PLANCTÔNICOS (CRUSTACEA), DE UMA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO BRASILEIRA

##### RESUMO

Epibiose é uma associação facultativa entre dois organismos: o epibionte, que coloniza a superfície de substratos ao vivo, e o basibionte, que hospeda os epibiontes. Entre os protistas, enquanto existem inúmeros relatos para ciliados epibiontes de organismos zooplânctônicos, existe pouca informação disponível sobre esta relação entre flagelados e microcrustáceos na região Neotropical. Durante uma pesquisa acerca da relação epibiótica entre protistas ciliados e copépodes planctônicos em uma planície de inundação tropical, foi observada a primeira ocorrência de *Colacium vesiculosum* como epibionte de *Thermocyclops minutus* e *Notodiaptomus henseni* em corpos de água do Brasil.

**Palavras-Chave:** Protista, Calanoida, Cyclopoida, epibiose, primeiro registro, prevalência,

##### ABSTRACT

Epibiosis is a facultative association between two organisms: the epibiont, which colonizes the surface of live substrates, and the basibiont, which hosts the epibionts. Among protists, while numerous accounts exist for ciliates as epibionts of zooplankton, little information is available about this relationship between flagellates and microcrustaceans in the neotropics. During a survey about the epibiotic relationship between ciliated protists and planktonic copepods in a tropical floodplain we report the first occurrence of *Colacium vesiculosum* as epibiont of *Thermocyclops minutus* and *Notodiaptomus amazonicus* in Brazilian freshwater waterbodies.

**Keywords:** Protist. Calanoida. Cyclopoida. Epibiosis. First record. Prevalence.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O termo epibionte inclui organismos que colonizam a superfície de substrato vivo, durante a fase sésil do seu ciclo de vida, e envolve vantagens e desvantagens, tanto para o epibionte quanto para o hospedeiro (Wahl 1989; Fernandez-Leborans e Tato-Porto 2002). Existe uma variedade de estudos acerca da relação epibiótica envolvendo protozoários epibiontes e crustáceos planctônicos, mais particularmente protozoários ciliados dos gêneros *Zoothamnium*, *Epistylis* e *Vorticella* (Gilbert e Schroder 2003; Henebry e Ridgeway 1979;

Mayen-Estrada e Aladro-Lubel 2001; Regali-Seleghim e Godinho 2004; Sleight 1988; Utz e Coats 2005; Xu e Burns 1991). Infestações por ciliados suctórios e flagelados euglenóides também são conhecidas, porém pouco estudadas (Dias et al. 2006; Utz e Coats 2005)

O gênero *Colacium* Ehrenberg 1853 é um dos dois únicos gêneros da classe Euglenoidea e da ordem Euglenida, Bütschi 1884 em que a fase vegetativa dominante é imóvel, fixa e capaz de formar colônias arborescentes (Bicudo e Menezes 2006). A fase de vida livre desse euglenídio é tipicamente e estruturalmente idêntica ao gênero *Euglena*. Na fase sésil do ciclo de vida, os organismos do gênero *Colacium* são fixados pela citofaringe anterior (região flagelar) através de substâncias mucilaginosas, com a formação ou não de um pedúnculo (Tell e Conforti 1986). Estes organismos podem estar associados a substratos vivos, como invertebrados planctônicos (Tell e Conforti 1986).

Este estudo teve como objetivo, realizar o primeiro relato da ocorrência *Colacium vesiculosum* colonizando *Thermocyclops minutus* Lowndes 1934 e *Notodiatomus henseni* Dahi 1894 em ambientes aquáticos brasileiros.

#### 4.2 METODOLOGIA

Amostras de água foram coletadas ao longo de toda a coluna de água com rede de plâncton de 100 µm de abertura malha, na lagoa Pousada das Garças (22 ° 42 '1.14 "S, 53 ° 15'23 .52" W), uma lagoa conectada ao rio Baía, um dos rios que formam a planície de inundação do alto rio Paraná, Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram filtrados cerca de 700L de água para cada amostra, com um total de quatro amostras, obtidas em diferentes pontos do lago. Três destas amostras foram fixadas em álcool 100% e uma amostra foi mantida viva, sendo acondicionada em caixas térmicas com gelo e trazidas para Universidade Estadual de Maringá, onde foram observadas sob microscópio ótico de campo claro e com contraste de interferência diferencial (DIC) no “Laboratório de Protozooplâncton” e onde foi realizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP). O euglenídio bem como os copépodes planctônicos, foram identificados utilizando literatura taxonômica especializada. As outras três amostras foram concentradas em 100 ml, cada uma, e 10% desse volume foi contado em câmara *Sedgewick-rafter* em microscópio ótico para estimativas da abundância de hospedeiros e a prevalência da infestação pelo epibionte.

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A abundância média dos copépodes foi de 1.182 ind/m<sup>3</sup>. A infestação pelo epibionte foi observada tanto em copepoditos como em adultos para *N. henseni* e *T. minutus* (Figura 1 A-J).

Contudo, a relação epibiótica não foi observada nos náuplios. A prevalência média de infestação foi de 10,83% ( $\pm 0,26$ ).

Quando separados por ordem, a prevalência média de Calanoida foi 10,48% ( $\pm 3,91$ ), e quando separados jovens e os adultos, a prevalência de infestação nos jovens foi de 0,92% ( $\pm 0,85$ ), e a prevalência média nos adultos de *N. henseni*, foi de 29,55% ( $\pm 6,8$ ). Para os Cyclopoida, a prevalência média foi de 10,69 ( $\pm 2,32$ ), para os jovens 0,83% ( $\pm 0,60$ ) e para adultos de *T. minutus*, a prevalência média foi de 30,13% ( $\pm 5,83$ ). A maior prevalência de infestação em adultos de ambas as ordens de copépodes poderia ser explicado pelo fato de que os copépodes adultos constituem um substrato mais estável para a colonização, uma vez que não sofrem mais mudas e poderiam acumular uma maior densidade de epibiontes. Por outro lado, as colônias aderidas nos copepoditos perdem seu substrato a cada muda, forçando os epibiontes a encontrar outro substrato, e sabe-se que existe um investimento energético expressivo na produção de apêndices ou estruturas especializadas na fixação do epibionte em um substrato instável e possivelmente efêmero (Bickel et al. 2012; Utz e Coats 2005; Wahl 1989).

Alguns estudos têm discutido a possibilidade do euglenídeo epibionte causar efeitos negativos sobre os hospedeiros crustáceos, como o aumento da taxa de afundamento, a possível interferência da taxa de alimentação e menor capacidade de fuga de predadores (Chiavelli et al. 1993; Willey et al. 1993; Willey e Threlkeld 1993). Em outro estudo, foi observado que, quando o copépode foi infestado por *C. Vesiculosum* houve um aumento da predação dos copépodes por larvas de peixe e por peixes planctívoros (Dubovskaya et al. 2005; Willey et al. 1990). Nossos dados não confirmam este resultado, considerando-se que as espécies de copépodes aderidos ao euglenídeo foram as espécies mais abundantes nas amostras, sendo responsável por (98%) da abundância total de copépodes. Estas duas espécies, *T. minutus* e *N. henseni*, já foram observadas entre as espécies mais abundantes de copépodes na planície de inundação do alto Rio Paraná (Lansac-Toha et al. 2009; Lima et al. 1998).



**Figura 1 (a-j).** Euglenídeo *Colacium vesiculosum* aderido à copépodes planctônicos, *Thermocyclops minutus* e *Notodiaptomus henseni*. **Figuras A, d, f, g e h.** Euglenídeo *in vivo* observado por meio de contraste interferencial diferencial (DIC). **a.** *T. minutus* com Euglenídeo na região posterior (setas), este copépode apresenta também infestação por ciliados peritríquios. **d e f.** Respectivamente, região anterior e posterior de *N. henseni* mostrando uma colônia de *C. vesiculosum* aderida (setas). **h e i.** Detalhe de *C. vesiculosum* mostrando, respectivamente, os cloroplastos e o estigma (setas). **Figuras b, c, e, g, j.** Euglenídeo observado através de microscopia eletrônica de varredura. **b.** *N. henseni* colonizado por *C. vesiculosum* (setas). **C-j.** Detalhe ds estrias transversais do Euglenídeo. **d.** Detalhe da região posterior dos copépodes onde o Euglenídeo está aderido. Barras: 50 μm (A, G), 200 μm (b), 2 μm (c), 30 μm (d), 20 μm (e, f, g), 10 μm (H, I), 5 μm (j) .

A epibiose também pode ser considerada como uma interação mutualística, onde existe um custo-benefício de saldo positivo para ambas as espécies (Barea-Arco et al. 2001; Gaevskii et al. 2004). O hospedeiro pode se beneficiar dos metabolitos produzidos pela epibionte, como o produzido pelo microeuglenídeo e diatomáceas (Wahl 1989). O epibionte pode proteger o hospedeiro contra a dessecação (Wahl e Mark 1999; Wahl e Sönnichsen 1992) ou pode ajudar a camuflar contra os predadores (Wahl 1989), enquanto que o transporte fornecido pelos hospedeiros podem oferecer diferentes condições nutricionais e também facilitar a dispersão genética entre populações de epibiontes (Evans et al. 1979; Wahl 1989). A maioria das pesquisas com euglenídeos epibiontes foi realizado em lagos temperados, enquanto que na região neotropical e em lagos subtropicais esses estudos são escassos (López et al. 1998; Regali-Seleghim e Godinho 2004; Zalocar et al. 2011). Neste contexto, a importância ecológica dessa relação ainda não está clara, evidenciando a necessidade de um maior número de estudos, para que a interação ecológica entre as espécies, e a interação delas com o meio, seja melhor entendida.

## REFERÊNCIAS

- Barea-Arco, J., Pérez-Martinez, C., Morales-Baquero, R., 2001. Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont e its host *Daphnia pulicaria*. *Limnol. Oceanogr.* . 46, 871–881.
- Bickel, S.L., Tang, K.W., Grossart, H.P., 2012. Ciliate epibionts associated with crustacean zooplankton in German lakes: distribution, motility, e bacterivory. *Front. Microbiol.* 3, 243–248.
- Bicudo, C.E.M., Menezes, M., 2006. Gênero de Algas de águas Continentais do Brasil. Chave para identificação e descrição., 2nd ed. Rima, São Carlos.
- Chiavelli, D.A., Mills, E., Threlkeld, S.T., 1993. Host preference, seasonality, e community interactions of zooplankton epibionts. *Limnol. Oceanogr.* . 38, 574–583.
- Dias, R.J.P., D'ávila, S., Wieloch, A.H., D'Agosto, M., 2006. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of south-east Brazil. *J. Nat. His.* 42, 19–20.
- Dubovskaya, O.P., Klimova, E.P., Kolmakov, V.I., Gaevsky, N.A., Ivanova, E.A., 2005. Seasonal dynamic of phototrophic epibionts on crustaceans zooplankton in a eutrophic reservoir with cyanobacterial bloom. *Aquat. Ecol.* 39, 167–180.

- Evans, M. S. Sicko-Goad, L.; Omair, M. 1979. Seasonal occurrence of *Tokophrya quadripartita* (Suctorina) as epibionts on adult *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) in southeastern Lake Michigan. *Trans. Am. Microsc. Soc.* Lawrence 98(1): 102-109.
- Fernandez-Leborans, G., Tato-Porto, M.L., 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidacii* (Ciliophora, Suctorina) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). *J. Nat. His.* 36, 505–513.
- Gaevskii, A.N., Kolmakov, V.I., Dubovskaya, O.P., Klimona, E.P., 2004. Interrelations of epibiontic microalgae e crustacean zooplankton under conditions of a blooming eutrophic water body. *Russ. J. Ecol.* 35, 35–41.
- Gilbert, J. J., Schröder, T., 2003. The ciliate epibiont *Epistylis pygmaeum*: selection for zooplankton hosts, reproduction e effect on two rotifers. *Freshwater Biol.* 48, 878–893.
- Henebry, M.S., Ridgeway, B.T., 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods e cladocerans e their possible use as indicators of organic pollution. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 98, 495–508.
- Lansac-Tôha, F.A., Bonecker, C.C., Velho, L.F.M., 2004. Composition, species richness e abundance of the zooplankton community. In: Thomaz, S.M., Agostinho, A.A., Hahn, N.S. (Eds.), *The upper Paraná river floodplain: physical aspects, ecology e conservation*. Backhuys Publishers, Leiden, p. 145–190.
- López, C., Ochoa, E., Paez, R., Theis, S., 1998. Epizoans on a tropical freshwater crustacean assemblage. *Mar. Freshwater Res.* 49, 271–276.
- Mayén-Estrada, R., Aladro-Lubel, M.A., 2001. Epibiont peritrichids (Ciliophora: Peritrichida: Epistylidae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. *J. Crustac. Biol.* 21, 426–434.
- Regali-Selegim, M. H., 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.* 26, 501–508.
- Sleigh, M., 1988. *Protozoa e other Protists*. Chapman e Hall, New York.
- Tell, G., Conforti, V.T.D., 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. *J. Cramer. Bibliotheca Phycologica.* 75, 163–182.
- Utz, L.R.P., Coats, W., 2005. Spatial e temporal patterns in the occurrence of peritrich ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. *J. Eukar. Microbiol.* 52, 236–244.

- Wahl, M., 1989. Marine Epibiosis. I. Fouling e antifouling: some basic aspects. Mar. Ecol. Progress Series. 58, 175–189.
- Wahl, M., Mark, O., 1999. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental e observational evidence. Mar. Ecol. Progress Series. 187, 59–66.
- Wahl, M., Sonnichsen, H., 1992. Marine epibiosis. IV. The periwinkle *Littorina littorea* lacks typical antifouling defenses - why are some populations so little fouled? Mar. Ecol. Progress Series. 88, 225–235.
- Willey R. L., Cantrell P. A. & Threlkeld S. T. 1990. Epibiotic euglenoid flagellates increase the susceptibility of some zooplankton to fish predation. Limnol. Oceanogr. , 35, 952–959.
- Willey, R.L., Threlkeld, S.T., 1993. Colonization, interaction, e organization of cladoceran epibiont communities. Limnol. Oceanogr. . 38, 584–591.
- Xu, Z., Burns, C.W., 1991. Effects of the epizoic ciliate, *Epistylis daphniae* on growth, reproduction e mortality of *Boeckella triarticulata* (Thomson) (Copepoda: Calanoida). Hydrobiologia. 209, 183–189.
- Zalocar, Y., Frutos, S.M., Casco, S.L., Forastier, M.E, Silvina, V. Allejos, V., 2011. Prevalence of *Colacium vesiculosum* (Colaciales: Euglenophyceae) on planktonic crustaceans in a subtropical shallow lake of Argentina. Rev. Biol. Trop. 59, 129.



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo resultou no primeiro registro da relação epibiótica entre ciliados e copépodes zooplanctônicos, *Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops minutus* e *Notodiaptomus henseni*, além do primeiro registro no Brasil da relação epibiótica entre o euglenídeo epibionte *Colacium Vesiculosum* e *T. minutus* e *N. henseni*, além de constituir o primeiro em um sistema rio- planície de inundação.

Acresceu ainda, o conhecimento sobre a taxonomia dos ciliados peritríqueos, através da descrição de duas novas espécies através da taxonomia integrativa (uma abordagem pouco utilizada na descrição de protozoários ciliados), reunindodados à 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, técnicas que revelam estruturas usadas atualmente na taxonomia dos peritríqueos além do uso de técnicas moleculares, que são de suma importância para o conhecimento da real diversidade do grupo dos ciliados em geral e especificamente para os ciliados peritríqueos,.

Foi observado, um padrão heterogêneo na ocorrência espacial e temporal da prevalência de infestação de ciliados epibiontes e copépodes planctônicos, indicando que a disponibilidade de recursos alimentares, a abundância de hospedeiros e nível hidrológico são fatores que contribuem para oscilação na dinâmica da população de ciliados epibiontes. Inferiu-se também acerca dos fatores ecológicos responsáveis pela oscilação da dinâmica da relação epibiótica em planícies de inundação e observou-se que o pulso de inundação e seu efeito homogeneizador nos ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná, exerce um efeito positivo sobre a relação epibiótica, favorecendo a colonização de um maior número de ambientes e uma maior prevalência de infestação.

As metodologias apresentadas constituem a primeira investigação acerca da ocorrência da relação epibiótica em uma planície de inundação e pioneiras ao investigar os fatores envolvidos na dinâmica espaço-temporal da relação epibiótica neste tipo de ambiente, sendo o primeiro ainda a apontar os possíveis efeitos da inundação que ocorre em todo o sistema rio-planície, nas comunidades de ciliados epibiontes, destacando fatores extrínsecos tais como precipitação e parâmetros físico-químicos e fatores intrínsecos, como disponibilidade de

alimento e abundância de hospedeiros como dois tipos de reguladores populacionais das comunidades de ciliados epibiontes. Entretanto, é importante ressaltar a necessidade de realização de outros estudos em outras planícies de inundação e por um maior período de tempo para elucidar as lacunas inerentes a este tipo de relação ecológica neste tipo de ecossistema, principalmente na região neotropical.