

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

Bianca Sartini do Espírito Santo

COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA TAXOCENOSE DE CILIADOS  
PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EM AMBIENTES LÓTICOS COM  
GRADIENTE DE POLUIÇÃO ORGÂNICA E ASPECTOS ECOLÓGICOS DA RELAÇÃO  
EPIBIÓTICA DE PERITRÍQUEOS E MOLUSCOS GASTRÓPODES

Juiz de Fora  
2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
MESTRADO EM COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL**

COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA TAXOCENOSE DE CILIADOS  
PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EM AMBIENTES LÓTICOS COM  
GRADIENTE DE POLUIÇÃO ORGÂNICA E ASPECTOS ECOLÓGICOS DA RELAÇÃO  
EPIBIÓTICA DE PERITRÍQUEOS E MOLUSCOS GASTRÓPODES

**Bianca Sartini do Espírito Santo**

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

Co-orientador: Prof. Msc Roberto Júnio Pedroso Dias

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

Juiz de Fora  
2012

Espirito Santo, Bianca Sartini do.

Composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos (Ciliophora, Peritrichia) em ambientes lóticos com gradiente de poluição orgânica e aspectos ecológicos da relação epibiótica de peritríqueos e moluscos gastrópodes/ Bianca Sartini do Espirito Santo. – 2012.

94 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)—  
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

1. Comportamento animal. 2. Qualidade da água. I. Título.

CDU 591.51

COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA TAXOCENOSE DE CILIADOS  
PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EM AMBIENTES LÓTICOS COM  
GRADIENTE DE POLUIÇÃO ORGÂNICA E ASPECTOS ECOLÓGICOS DA RELAÇÃO  
EPIBIÓTICA DE PERITRÍQUEOS COM MOLUSCOS GASTRÓPODES.

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

Aprovado em 29 de fevereiro de 2012

Banca Examinadora:

---

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

---

Prof. Dr. Alfredo Hannemann Wieloch  
Universidade Federal de Minas Gerais

---

Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pelas oportunidades concedidas e por sempre me cercar de pessoas maravilhosas.

**Aos meus pais** pela paciência, preocupação, investimento e principalmente por sempre acreditarem em mim até quando eu mesma não acreditava.

À professora **Marta D'Agosto**, pelas oportunidades, apoio e confiança desde a iniciação científica.

Ao amigo incansável **Roberto Dias**, sem o qual a idealização e realização desse projeto não teriam ocorrido, pela orientação, amizade, paciência, carinho, incentivo, preocupação constante e, principalmente, pelo exemplo de dedicação, persistência e amor à pesquisa.

À amiga **Adalgisa Cabral**, pela paciência, carinho, ajuda e incentivo durante a iniciação científica e por ter dividido comigo grande parte de seus conhecimentos imprescindíveis para a execução desse trabalho.

À grande e eterna amiga **Noemi Fernandes**, pela amizade, carinho, incentivo e exemplo de dedicação e superação de adversidades e por ter me levado para o “mau” caminho da protozoologia.

Ao meu anjo da guarda, **Ralph Maturano**, pela amizade incondicional, apoio nos momentos de dificuldades, ajuda durante todas as etapas da execução desse trabalho e pelo exemplo de dedicação ao trabalho, calma e equilíbrio permanentes.

Ao amigo **Marcos Vinícius**, desbravador do trabalho em campo, que sempre se dispôs a me ajudar nas coletas, pela amizade, empolgação, praticidade e boas risadas no trabalho de campo.

Às amigas **Tércia Vargas**, **Lidimara Sousa** e **Luciana Falci**, pela amizade, pelos momentos de desabafo no corredor e compartilhamento de conhecimentos e alegrias.

Aos meus grandes amigos do laboratório de protozoologia: **Alyssa Rossi**, **Diego Marques**, **Franciane Cedrola**, **Luisa Oliveira**, **Mariana Rossi**, **Raquel Tostes**, **Roberto Marchesini** e **Thais Rísoli** pelo prazer da convivência diária, momentos de descontração e apoio nas coletas e nos momentos de dificuldade, por nunca medirem esforços em me ajudar sempre que necessário.

À amiga **Beatriz Jabour**, pela amizade, incentivo, conselhos e socorro nas análises e escrita desse trabalho.

À professora **Maria Carolina Soares**, pela disponibilidade em ajudar nas análises, avaliações e escrita do trabalho.

À professora **Sthefane D'ávila**, pela identificação dos moluscos e disponibilidade em contribuir nesse trabalho.

Ao professor **Inácio Domingos da Silva-Neto**, da UFRJ, pela atenção, recepção e permissão para execução de MEV do meu material em seu laboratório.

Às amigas, **Ritinha Hasters** e **Rosângela**, pela preocupação, amizade, carinho, bom-humor e, por sempre nos tratarem como filhos legítimos!

Ao colega **Alex Divino**, pela confecção dos mapas e boa vontade em ajudar sempre que necessário.

Ao pessoal do Laboratório de Ecologia Aquática, **Maíra Mucci, Gladson e Nathan** pela realização das análises de nutrientes das amostras desse trabalho.

À professora **Maria Auxiliadora**, do departamento de química da UFJF e sua orientada **Michele Fabri**, pela ajuda nas aferições de pH e condutividade elétrica.

À FAPEMIG, pelo financiamento do projeto e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Desenho 1. Desenho esquemático do ciclo de vida de um ciliado peritríqueo.....	14
Fotografia 1. Afluentes do rio Paraibuna município de Juiz de Fora, MG. ....	29
Fotografia 2. Substrato artificial.....	30
Fotografia 3. Fotomicrografias <i>in vivo</i> dos ciliados peritríqueos encontrados nos nove córregos afluentes do rio Paraibuna, no município de Juiz de Fora, MG. ....	37
Fotografia 4. Fotos sob estereomicroscópio (a-c); eletromicrografia (f-g); fotomicrografia (a-c, g-n), dos peritríqueos epibiontes encontrados em <i>Physa acuta</i> , em um córrego urbano no sudeste do Brasil. ....	51
Fotografia 5. Fotomicrografias de <i>Platycola decumbens in vivo</i> sob microscópio interferencial diferencial.....	75
Fotografia 6. Fotomicrografias de <i>Thuricola sp. in vivo</i> sob microscópio interferencial diferencial ).....	77
Fotografia 7. Fotomicrografias e eletromicrografias de <i>Opercularia sp.</i> , <i>Opercularia articulata</i> e <i>Epistylis plicatilis</i> .....	79
Fotografia 8. Fotomicrografias e eletromicrografias de <i>Epistylis sp. in vivo</i> sob microscópio interferencial diferencial .....	81
Fotografia 9. Fotomicrografias de <i>Campanella umbellaria</i> e <i>Carchesium polypinum in vivo</i> sob microscópio interferencial diferencial. ....	83
Gráfico 1. Pontuação obtida no protocolo de avaliação rápida de diversidade de habitats . ....	32
Gráfico 2. Diagrama de ordenação produzido pela análise dos componentes principais .....	33
Gráfico 3. Valores médios dos parâmetros físico-químicos aferidos nos grupos de córregos amostrados.....	34
Gráfico 4. Valores médios dos parâmetros estruturais da taxocenose de ciliados peritríqueos nos grupos de córregos amostrados. ....	38
Gráfico 5. Análise de correspondência (CA) obtida com base na taxocenose de ciliados peritríqueos nos nove córregos afluentes do rio Paraibuna, Juiz de Fora, MG.....	39
Gráfico 6. Distribuição da abundância e densidade de peritríqueos epibiontes nos nove sítios da concha de <i>Physa acuta</i> . ....	53
Gráfico 7. Gráfico da abundância (em log), densidade (em log), diversidade de Shannon, e dominância de Berger–Parker, dos peritríqueos nos nove sítios de colonização da concha de <i>Physa acuta</i> .....	53

Gráfico 8. Número de sítios da concha de <i>Physa acuta</i> colonizados por peritríqueos epibiontes.....	54
Gráfico 9. Ocorrência das espécies de peritríqueos epibiontes (em porcentagem) de acordo com o sítio de localização na concha de <i>Physa acuta</i> .....	55
Gráfico 10. Abundância das espécies de peritríqueos epibiontes (em porcentagem) nas diferentes regiões da concha de <i>Physa acuta</i> . ....	56
Mapa 1. Mapa da bacia do rio Paraibuna, no município de Juiz de Fora (MG).....	25



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de protistas ciliados da subclasse Peritrichia encontradas nos nove córregos da bacia do rio Paraibuna, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.....	36
Tabela 2. Análise de espécie indicadora (IV) para as espécies de ciliados peritríqueos nos córregos naturais, alterados e impactados município de Juiz de Fora, MG.....	40
Tabela 3. Prevalência, intensidade, intensidade média, abundância média e índice de agregação das espécies de peritríqueos epibiontes de <i>Physa acuta</i> em um sistema lótico no sudeste do Brasil.....	52

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	13
1. 1 Aspectos gerais da subclasse Peritrichia Stein, 1859.....	13
1.2. Peritríqueos e qualidade da água.....	15
1.3. Peritríqueos como colonizadores de substratos inanimados.....	16
1.4. Peritríqueos como colonizadores de substratos vivos.....	17
1.5. Escopo da pesquisa.....	19
SEÇÃO I.....	20
INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ORGÂNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA TAXOCENOSE DE CILIADOS PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EM CÓRREGOS URBANOS NEOTROPICAIS.....	20
RESUMO.....	20
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	31
1. Caracterização das estações amostrais.....	31
2. Análise biológica.....	35
DISCUSSÃO.....	41
SEÇÃO II.....	45
DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE CILIADOS PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA: PERITRICHIA) EPIBIONTES SOBRE <i>Physa acuta</i> DRAPARNAUD, 1805 (GASTROPODA: PHYSIDAE) EM UM SISTEMA LÓTICO NA REGIÃO NEOTROPICAL.....	45
RESUMO.....	45
INTRODUÇÃO.....	46
MATERIAL E MÉTODOS.....	48
RESULTADOS.....	50
1. Composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos epibiontes.....	50
2. Distribuição dos epibiontes sobre a concha de <i>Physa acuta</i> .....	52
3. Distribuição das espécies nos sítios da concha.....	54
DISCUSSÃO.....	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
APÊNDICE A.....	74
ANEXO A.....	85

## RESUMO

No presente estudo foi avaliada a influência da poluição orgânica sobre a composição e estrutura da comunidade de ciliados peritríqueos em ambientes lóticos no município de Juiz de Fora, Minas Gerais sujeitos a diferentes níveis de poluição orgânica, bem como os aspectos ecológicos da relação epibiótica entre esses ciliados e moluscos gastrópodes. A presente dissertação está dividida em duas seções. Na primeira seção foram analisadas a composição e estrutura da taxocenose de protistas ciliados peritríqueos encontrados em nove córregos afluentes do rio Paraibuna, Juiz de Fora, MG, que recebem diferentes cargas de esgoto doméstico. Além disso, foi avaliado o potencial destes microorganismos como indicadores da qualidade da água desses ambientes. Os ciliados peritríqueos foram obtidos com o emprego de substratos artificiais em cinco coletas, com intervalos mensais, realizadas entre junho e outubro de 2010. Amostras de água foram coletadas para avaliar os parâmetros físico-químicos: condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH e nutrientes. No laboratório, os peritríqueos foram quantificados em microscópio com contraste interferencial diferencial e fixados para realização de técnicas identificação por impregnação pela prata. Foram registradas 19 espécies de ciliados peritríqueos nas estações amostrais analisadas. A espécie *Carchesium polypinum* (Linné, 1785) ocorreu com maior frequência e abundância nos ambientes com grande quantidade de poluição sendo considerada como indicadora desses ambientes. Foi observada correlação positiva entre a concentração de nutrientes e a abundância e densidade de peritríqueos. Os valores mais elevados de dominância, densidade e abundância de espécies ocorreram em ambientes com altos níveis de poluição orgânica enquanto que, os maiores valores de riqueza e diversidade foram observados nas estações com níveis intermediários de poluição orgânica. Na segunda seção, foi realizada a avaliação da composição e estrutura da comunidade e a distribuição espacial de peritríqueos epibiontes sobre a concha de moluscos da espécie *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) coletados em um dos nove córregos analisados na seção 1. Dos 140 moluscos analisados, 60.7% estavam colonizados por pelo menos uma das sete espécies de peritríqueos epibiontes. A espécie *Epistylis* sp. foi considerada dominante, representando 70.4% da abundância total de epibiontes. Além disso, os epibiontes se distribuíram por toda a superfície da concha, apresentando maior abundância na superfície ventral do que na dorsal. O presente estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre a ecologia de protistas ciliados peritríqueos neotropicais.

**Palavras-chave:** Biomonitoramento. Epibiose. Peritrichia. Qualidade da água. Substrato artificial.

## ABSTRACT

In the present study, was evaluated the influence of the organic pollution on both the composition and structure of the taxocenose of peritrich ciliates found in lotic systems at Juiz de Fora, Minas Gerais State, with different loads of domestic sewage, as well the ecological aspects of the epibiotic relation between gastropods mollusks. The present dissertation is divided into two parts. In the first one, the influence of the organic pollution on both the composition and structure of the taxocenose of peritrichs ciliates found at nine tributary streams of the Paraibuna river, Juiz de Fora, MG, wich receive different levels of domestic sewage. Furthermore, the potential of these microorganisms as water quality indicators in these environments was evaluated. Peritrichs ciliates were obtained with the use of artificial substrates in five monthly sampling carried out between June and October 2010. Water samples were collected for assessment of the physico-chemical parameters: electrical conductivity, dissolved oxygen, pH and nutrients. At the laboratory, the peritrichs ciliates were quantified in microscope equipped with Differential Interferential Contrast, and then fixed to conduct identification techniques for silver impregnation. Nineteen peritrichs ciliates species were recorded at sampling stations studied. The peritrich *Carchesium polypinum* (Linné, 1785) was species more frequent in environments with high organic pollution load. The abundance and density of peritrichs ciliates was positively correlated with nutrients. It was also observed the highest dominance, density and abundance of species in environments with high levels of organic load, and on the other hand, the highest richness and diversity in environments with intermediary levels of organic pollution. In the second, the composition, spatial distribution and taxocenose structure of the peritrich as epibiont on the shell of the *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) snail were evaluated. Of the 140 molluscs analyzed 60.7% were colonized by at least one of the seven species of peritrich epibiont. *Epistylis* sp. was considered as dominant species, representing 70.4% of the epibiont total abundance. In addition, the epibiont were distributed over the entire surface of the shell, with higher abundance in the ventral surface. This study contributes to the expansion of knowledge about the ecology of protists peritrichs ciliates in neotropical lotic systems.

**Keywords:** Artificial substrate. Biomonitoring. Epibiosis. Peritrichia. Water quality.

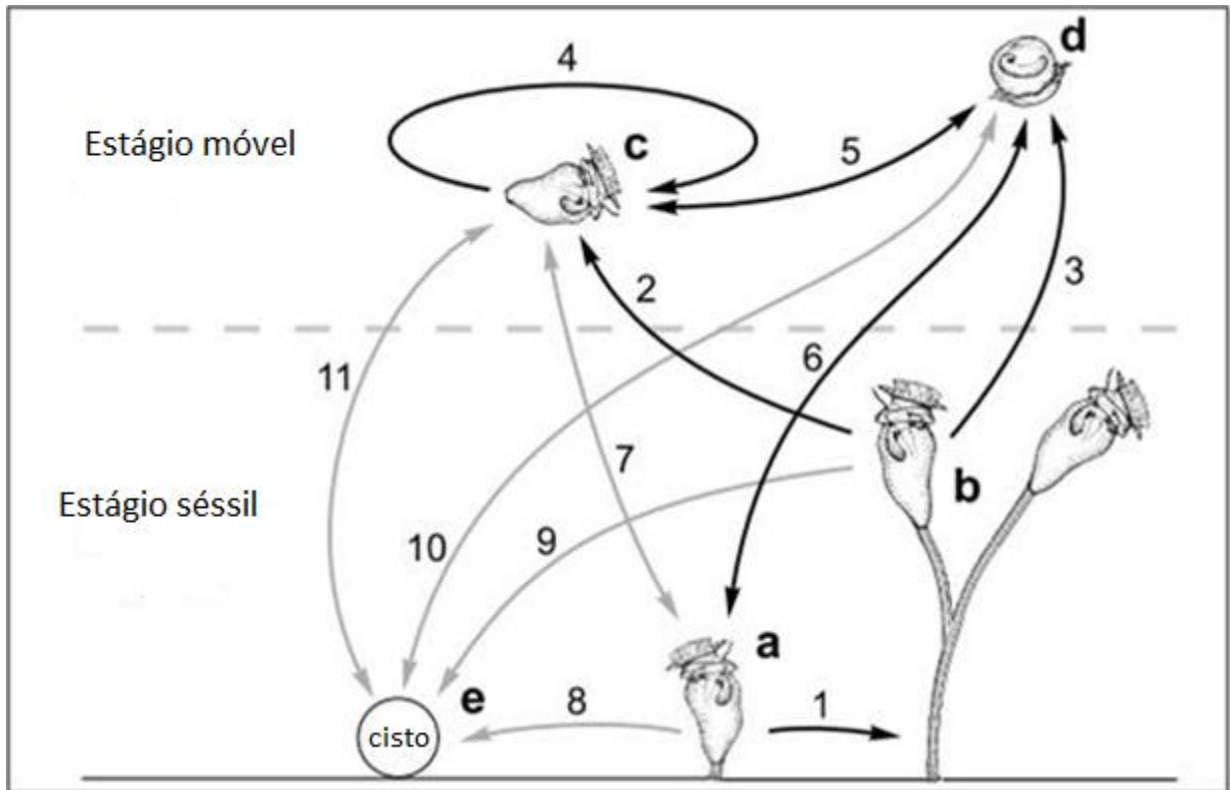
## INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

### 1. 1. Aspectos gerais da subclasse *Peritrichia* Stein, 1859

O filo Ciliophora, Doflein 1901 (Protista: Ciliophora) possui 11 classes e cerca de 8.000 espécies descritas, incluindo aproximadamente 200 formas fósseis e 3.000 espécies simbióticas. Os ciliados são heterotróficos, exibindo uma ampla variedade de comportamentos alimentares e ampla distribuição geográfica (LYNN, 2008).

Os ciliados da subclasse *Peritrichia* Stein, 1859 estão entre os ciliados mais comumente encontrados em ambientes marinhos e dulcícolas, sendo raros em ambientes terrestres (solos úmidos). Com cerca de 14 famílias e 96 gêneros, os peritríqueos são caracterizados por possuírem ciliatura oral conspícua disposta em sentido anti-horário ao redor da colar peristomial e, ciliatura somática reduzida a uma banda de cílios subequatoriais arranjados em fileiras curtas e oblíquas, chamada de banda telotrocal, a qual é ciliada nos estágios de dispersão das espécies sésseis (FOISSNER et al., 1992; LYNN, 2008).

O ciclo de vida da maioria dos ciliados peritríqueos apresenta dois estágios: sésil e móvel (Desenho 1: rotas 1-11 e tipos celulares a-e). O estágio sésil é constituído por zoóides (Desenho 1a) ou colônias (Desenho 1b) em atividade e presos a um substrato e formas inativas encistadas (Desenho 1e). O estágio móvel possui as formas de dispersão desses organismos que são os telotróquios e os zoóides natantes. Os telotróquios (Desenho 1d) são formas que não se alimentam e, nadam em busca de um substrato para adesão, enquanto que os zoóides natantes (Desenho 1c) são zoóides que se desprenderam do pedúnculo e, podem se alimentar, reproduzir cópias de si ou se transformar em telotróquios. Tanto os telotróquios quanto os zoóides livres natantes podem se prender ao substrato transformando-se em zoóides pedunculados (rotas 7 e 6) e dar origem a uma nova colônia (rota 1). Cada zoóide preso à colônia pode originar um telotróquio (rota 3, via transformação ou divisão celular), um zoóide natante (rota 2, via desprendimento ou divisão celular) e cistos, que são formas de resistência às condições ambientais desfavoráveis produzidos por estágios sésseis ou móveis (rotas 8-11) (GILBERT & SCHRÖDER, 2003).



**Desenho 1.** Desenho esquemático do ciclo de vida de um ciliado peritríqueo. Estágios do ciclo de vida: (a) zoóide aderido recentemente ao substrato, (b) colônia com dois zoóides (c) zoóide livre natante, (d) telotróquio e (e) cisto. Setas escuras indicam rotas bem conhecidas em peritríqueos e setas claras indicam rotas que necessitam de mais estudos (Figura modificada de GILBERT & SCHRÖDER, 2003).

A reprodução desses organismos ocorre por fissão longitudinal e conjugação anisogâmica com formação de macro e microconjugantes. O microconjugante possui banda telotrocal e se prende lateralmente ao macroconjugante para troca de micronúcleo. Tal modo de reprodução constitui-se em uma forma de adaptação desses organismos à condição sésil (CORLISS, 1979; KAHL, 1935).

Com exceção de algumas espécies que retornaram ao modo de vida livre-natante (Família Astylozoonidae), as espécies dessa subclasse passam a maior parte de seu ciclo de vida na condição sésil (estágio trofante), como epibiontes presos a substratos vivos (plantas e animais) ou colonizando superfícies inanimadas (pedras, galhos) (KAHL, 1935).



## 1.2. Peritríqueos e qualidade da água

Os atuais estudos de avaliação da qualidade da água analisam não apenas mudanças nas características físico-químicas, mas também as respostas a essas mudanças por parte dos organismos que vivem nesses ambientes (FRIED et al., 2000; MADONI & BASSANINI, 1999; SALVADÒ et al., 1995). Desse modo, métodos baseados nas respostas das comunidades biológicas tem sido considerados como as melhores formas de monitoramento e avaliação do grau de deterioração dos recursos hídricos, por analisarem organismos que dependem das condições ambientais durante todo o tempo e apresentam sensibilidade a poluentes de modo a exibirem respostas aos efeitos da poluição (GROLIÈRE et al., 1990; MARQUES & BARBOSA, 2001). Portanto, faz-se necessário a utilização de metodologias amplas, tal como o uso integrado da biota aquática com parâmetros físico-químicos na avaliação da qualidade de ambientes aquáticos e no desenvolvimento de métodos para a conservação e recuperação desses ambientes (MARQUES & BARBOSA, 2001).

Os protozoários ciliados constituem parcela significativa da cadeia alimentar microbiana, ligando o fitoplâncton e bactérias a organismos de níveis tróficos mais elevados, podendo ser utilizados como indicadores de poluição orgânica em ecossistemas lóticos (HOLEN, 2000; MADONI & BRAGHIROLI, 2007; SENLER & YILDIZ, 2004). A alta taxa de reprodução, sensibilidade às condições físico-químicas do ambiente, variedade de nichos ocupados (bacterívoros, algívoros, carnívoros, omnívoros) e ampla distribuição geográfica, tornam os peritríqueos importantes indicadores biológicos da qualidade da água (MADONI & BASSANINI, 1999; PICCINNI & GUTIÉRREZ, 1995).

Organismos que estão estreitamente ligados a determinadas condições de maior ou menor contaminação orgânica são denominados organismos sapróbios e considerados indicadores da qualidade de um ambiente. KOLKWITZ & MARSSON (1908) desenvolveram o sistema sapróbio de determinação da qualidade da água utilizando organismos indicadores como uma medida do nível de poluição orgânica por esgoto em rios. De acordo com esse sistema, o influxo de matéria orgânica e a concentração de oxigênio dissolvido definem zonas com diferentes níveis de eutrofização: zona oligosapróbica (não poluída ou com pouca poluição), zona beta-mesosapróbica (moderadamente poluída) zona alfa-mesosapróbica (poluída) e polisapróbica (muito poluída), às quais estão associadas espécies de organismos indicadores, dentre eles os protozoários ciliados peritríqueos (FOISSNER & BERGER, 1996; STREBLE & KRAUTER, 1987).

O influxo de matéria orgânica particulada e alterações na concentração de oxigênio dissolvido em ambientes aquáticos levam ao aumento de fosfatos e outros componentes orgânicos induzindo a mudanças na estrutura das comunidades de protozoários que dependem direta ou indiretamente de bactérias como alimento. Desse modo, alterações na composição, diversidade e dinâmica das comunidades de ciliados são geralmente utilizadas na avaliação biológica dos efeitos da poluição orgânica (MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005).

A maioria dos ciliados peritríqueos são bacterívoros e tem seu desenvolvimento favorecido pela poluição orgânica, tornando-se abundantes em ecossistemas dulcícolas poluídos por despejo de esgoto doméstico (LI et al. 2009; XU et al. 2005b). Esses ciliados estão entre os protozoários mais comuns em córregos podendo tornar-se suficientemente numerosos a ponto de recobrir a superfície de substratos vivos ou superfícies inanimadas (HARMSWORTH et al., 1992).

### **1. 3. Peritríqueos como colonizadores de substratos inanimados**

Em ambientes aquáticos, os peritríqueos são importantes componentes do biofilme ou perifíton, um microambiente formado por comunidades de microorganismos (bactérias, algas, fungos, protozoários micrometazoários) e detritos aderidos a substratos orgânicos ou inorgânicos submersos (WETZEL, 1983). A dinâmica dos processos funcionais e o curto ciclo de vida das espécies perifíticas fazem com que estas comunidades respondam rapidamente às alterações ambientais, como ao aumento de nutrientes orgânicos, podendo ser utilizadas na avaliação ambiental (SZLAUER-LUKASZEWSKA, 2007).

Para o estudo de ciliados perifíticos como indicadores da qualidade de ambientes aquáticos diferentes metodologias tem sido empregadas, como a coleta e observação dos ciliados aderidos aos componentes do fito e zooplâncton e a organismos bentônicos (CABRAL et al. 2010; DIAS et al. 2009; GILBERT & SCHRÖDER, 2003; UTZ & COATS, 2005), aderidos a substratos naturais (pedras e pedaços de tronco), associados ao sedimento (MADONI 2005; MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI & BRAGHIROLI, 2007) e aderidos a substratos artificiais inseridos no ambiente, tais como espumas de poliuretano (PFU), placas de Petri, lâminas e lamínulas de microscopia e lâminas de polietileno (BEECH & LANDERS, 2002;

COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; GROLIÈRE et al., 1990; MADONI & BRAGHIROLI, 2007; UTZ, 2008; XU et al., 2005b).

Alterações na estrutura e composição das comunidades de ciliados do perifíton formado em substratos artificiais tem sido utilizadas na avaliação e monitoramento da qualidade da água em ambientes marinhos (BEECH & LANDERS, 2002; LI et al. 2009; XU et al., 2002, 2009), dulcícolas lênticos (COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; XU et al., 2005a) e lóticos (GROLIÈRE et al., 1990; RISSE-BUHL & KÜSSEL, 2009) em diversos países das regiões temperadas, havendo escassez de estudos que apliquem tal metodologia em ecossistemas neotropicais, como o estudo de GUEVARA-CARDONA et al. (2006), que utilizaram lâminas de microscopia como substrato artificial para estudo da composição de organismos colonizadores do perifíton, dentre eles ciliados peritríqueos, em um rio colombiano.

O uso de substratos artificiais apresenta diversas vantagens sobre os substratos naturais, como a redução da heterogeneidade espacial, permitindo estabelecer comparações entre ambientes com diferentes tipos de substratos, padronização da área de amostragem e do tempo inicial do processo de colonização, conferindo maior precisão na obtenção e controle do desenvolvimento das comunidades perifíticas (COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; XU et al., 2005a). Estudos comparando a comunidade de ciliados presentes no perifíton de substratos naturais e artificiais expostos ao mesmo ambiente, tem demonstrado que a amostragem por meio de substratos artificiais possibilita a obtenção de um maior número de espécies e facilita a quantificação e observação *in vivo* desses organismos (COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; GONG et al., 2005). Além disso, a riqueza de espécies da taxocenose de ciliados em substratos artificiais como lâminas de microscopia é quase tão alta quanto aquela encontrada em substratos naturais expostos às mesmas condições ambientais (FOISSNER et al., 1992; SONG et al., 1999).

#### **1. 4. Peritríqueos como colonizadores de substratos vivos**

A epibiose é uma associação interespecífica facultativa entre epibiontes e basibiontes, sendo denominados de epibiontes organismos que durante a fase sésil de seu ciclo de vida colonizam a superfície de um organismo vivo, o basibionte (WAHL, 1989). Tal relação apresenta vantagens e desvantagens para ambos os organismos envolvidos.

O epibionte ao se estabelecer sobre um substrato móvel pode obter como vantagens: transporte para locais com maior disponibilidade de alimento e condições ambientais

favoráveis ao seu desenvolvimento, melhoria na dispersão e fluxo gênico, e proteção contra predadores. Por outro lado, os epibiontes ficam expostos às instabilidades de um substrato vivo tais como morte, predação, crescimento e demais mudanças físicas e biológicas do basibionte. Dentre as vantagens para o basibionte, pode-se destacar a proteção contra a dessecação, a obtenção de camuflagem e/ou proteção química ou física contra predadores. Dentre as desvantagens, estão o comprometimento da respiração, alimentação, reprodução e o aumento de peso que pode causar a diminuição da flexibilidade e a redução da velocidade de locomoção, aumentando as chances de predação sobre o basibionte (FARREN & DONOVAN, 2007; FERNANDEZ-LEBORANS & GABILONDO, 2006; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004; WAHL, 1989; WAHL & MARK, 1999; WAHL & SÖNNICHSEN, 1992; XU, 1992).

Protozoários ciliados peritríqueos podem ser encontrados como epibiontes em uma grande variedade de metazoários aquáticos como poríferos, cnidários, ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos, moluscos, peixes, girinos e cágados (BALDOCK, 1986; FOISSNER et al., 1992; GILBERT & SCHRÖDER, 2003; KAHL, 1935; LAIRD, 1959; MOSS et al., 2001; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004).

Ciliados epibiontes podem exibir especificidade quanto ao basibionte e também quanto ao sítio de colonização no basibionte. Segundo NENNINGER (1948) e COOK et al. (1998), ciliados epibiontes podem ser classificados quanto ao grau de especificidade ao basibionte em três grupos. No grupo I são enquadrados organismos que colonizam uma ampla gama de substratos, vivos ou inanimados, não estando restritos ao modo de vida epibiótico. No grupo II, estão os organismos parcialmente especializados e restritos ao basibionte ao nível de filo, classe ou ordem. Já o grupo III, inclui ciliados considerados epibiontes obrigatórios, apresentando especificidade quanto à família, gênero ou espécie do basibionte.

A preferência por sítios de localização no basibionte é um reflexo das necessidades ecológicas do epibionte e pode ser determinada por condições ambientais e por características da biologia, comportamento, ecologia e fisiologia dos hospedeiros (FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002). Os peritríqueos epibiontes tendem a colonizar com maior frequência regiões expostas a um maior suprimento de oxigênio e alimento, e que forneçam proteção contra predação e ao atrito oriundo da movimentação dos hospedeiros (COOK et al., 1998; DIAS et al., 2009; HANAMURA, 2000; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004; UTZ & COATS, 2005).

Além disso, a relação epibiótica entre peritríqueos e invertebrados límnicos pode ser utilizada como indicadora de poluição orgânica em ecossistemas aquáticos. Em ambientes eutrofizados são observados maiores valores de prevalência de infestação e abundância de ciliados peritríqueos epibiontes sobre seus basibiontes (DIAS et al., 2009; HENEERY & RIDGEWAY, 1979; LAIRD, 1959; XU, 1992).

### **1. 5. Escopo da pesquisa**

Na presente proposta foram abordados aspectos da composição e estrutura da taxocenose de protistas ciliados peritríqueos em ecossistemas lóticos com gradiente de poluição orgânica, no município de Juiz de Fora, MG. Foi analisada a influência da poluição orgânica sobre a composição, abundância, densidade e diversidade de ciliados peritríqueos colonizadores de substratos artificiais. Também foram investigados os aspectos estruturais e implicações ecológicas e comportamentais de peritríqueos epibiontes de moluscos gastrópodes em um córrego eutrofizado.

Na seção I foi avaliada a influência da poluição orgânica sobre a composição e estrutura de protozoários ciliados peritríqueos colonizando substratos artificiais inseridos em nove córregos afluentes da sub-bacia do rio Paraibuna, no município de Juiz de Fora sujeitos a gradiente de poluição orgânica variando de condições consideradas próximas à de ambientes naturais (ambientes sem influência de efluentes domésticos e industriais) a condições alteradas (com influência de despejo constante de esgoto doméstico *in natura*).

Na seção II foram investigados os aspectos da composição, estrutura e distribuição em sítios de localização da taxocenose de ciliados peritríqueos epibiontes de moluscos da espécie *Physa acuta* Draparnaud, 1805 em um córrego urbano eutrofizado no município de Juiz de Fora, bem como as implicações ecológicas dessa relação tanto para os ciliados epibiontes quanto para os moluscos basibiontes.

## SEÇÃO I

### INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ORGÂNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA TAXOCENOSE DE CILIADOS PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA, PERITRICHIA) EM CÓRREGOS URBANOS NEOTROPICAIS

#### RESUMO

O despejo contínuo de esgoto doméstico em sistemas fluviais favorece o crescimento das comunidades bacterianas promovendo alterações na comunidade de ciliados bacterívoros como os peritríqueos. A composição e estrutura destes ciliados em ambientes lóticos com gradiente de eutrofização, na região sudeste do Brasil, foram analisadas em cinco coletas, em intervalo mensais entre junho a outubro de 2010, em nove córregos urbanos, empregando substratos artificiais para a coleta desses organismos. A aplicação de um Protocolo de avaliação rápida (PAR) nos ambientes avaliados, análises físico-químicas e aplicação de métodos ordenação (PCA, CA) aos dados bióticos e abióticos aferidos, possibilitaram classificar os córregos como ambientes naturais, alterados e impactados. Os resultados obtidos demonstraram que: (1) parâmetros estruturais de peritríqueos como riqueza e diversidade foram mais elevados em ambientes alterados do que em ambientes naturais e que, dominância, densidade e abundância de espécies foram maiores nos ambientes impactados; (2) os ciliados peritríqueos apresentam respondem ao gradiente de poluição com alterações estruturais podendo ser considerados bons indicadores da qualidade de ambientes lóticos; (3) das 19 espécies de peritríqueos registradas, *Opercularia articulata*, *Platycola decumbens*, *Pseudovorticella chlamydophora* e *Thuricola kellicottiana* foram consideradas indicadoras de ambientes alterados e *Carchesium polypinum* indicadora de ambientes impactados.

**Palavras-chave:** Colonização. Eutrofização. Perifíton. Peritrichia. Substrato artificial.

## INTRODUÇÃO

Protozoários ciliados são importantes componentes da microbiota de ecossistemas aquáticos atuando como os principais predadores de bactérias e outros protozoários disponibilizando nutrientes para níveis tróficos mais elevados (DOPHEIDE et al., 2009; MADONI & BASSANINI, 1999; XU et al., 2005a). Além disso, o curto ciclo de vida, a alta diversidade de espécies e a elevada sensibilidade às alterações em fatores abióticos e bióticos possibilitam sua utilização como indicadores biológicos da poluição orgânica em estudos de monitoramento aquático (FERNANDEZ-LEBORANZ & NOVILLO, 1996; PATTERSON, 1996; PICCINNI & GUTIERREZ, 1995; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991).

Os ciliados pertencentes à subclasse Peritrichia, Stein 1859 são comumente encontrados em ambientes marinhos e dulcícolas, sendo a maior parte dos representantes desse grupo bacterívoros e de hábito sésil, fixando-se à superfície de substratos vivos ou inanimados (BEECH & LANDERS, 2002; CABRAL et al., 2010; DIAS et al., 2009; PATTERSON, 1996; VERNI & GUALTIERI, 1997). A poluição orgânica favorece o desenvolvimento de ciliados bacterívoros como os peritríqueos, que passam a apresentar elevada abundância em ecossistemas dulcícolas poluídos (LI et al., 2009; XU et al., 2005b). Além disso, esses ciliados estão entre os protozoários mais comuns em córregos podendo tornar-se suficientemente numerosos para cobrir superfícies de modo a formar uma camada esbranquiçada ou acinzentada (HARMSWORTH et al., 1992).

Os peritríqueos são importantes componentes do perifíton, microambiente formado por comunidades de microorganismos (bactérias, algas, fungos, protozoários micrometazoários), detritos orgânicos e inorgânicos aderidos a substratos orgânicos ou inorgânicos, vivos ou mortos, submersos em ambientes aquáticos (WETZEL, 1983). A dinâmica dos processos funcionais e o curto ciclo de vida de algumas espécies de organismos do perifíton fazem com que alguns componentes dessa comunidade respondam rapidamente às alterações ambientais, como o aumento de nutrientes orgânicos (SZLAUER-LUKASZEWSKA, 2007).

Para o estudo de ciliados perifíticos como indicadores da qualidade de ambientes aquáticos diferentes metodologias tem sido empregadas, como a coleta e observação dos ciliados aderidos a substratos naturais presentes no ambiente aquático (pedras e pedaços de tronco), ao sedimento (MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI 2005; MADONI & BRAGHIROLI, 2007) e a substratos artificiais inseridos no ambiente a ser avaliado, como espumas de poliuretano (PFU), placas de Petri, lâminas e lamínulas de microscopia e lâminas de polietileno

(BEECH & LANDERS, 2002; COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; GROLIÈRE et al., 1990; MADONI & BRAGHIROLI, 2007; UTZ, 2008; XU et al., 2005a)

O uso de substratos artificiais, quando comparado com os substratos naturais, apresenta como vantagens a redução da heterogeneidade espacial e precisão na obtenção dos dados devido à padronização da área de amostragem e do tempo inicial do processo de colonização, possibilitando comparar comunidades de locais com diferentes tipos de substratos (COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; XU et al., 2005a). Além disso, a amostragem por substratos artificiais, comparada aos substratos naturais, possibilita a obtenção de maior número de espécies e facilita a quantificação e observação *in vivo* dos ciliados (GONG et al., 2005).

A avaliação da composição e estrutura da comunidade de ciliados perifíticos em ambientes com diferentes graus de eutrofização, por meio da colonização de substratos artificiais, tem sido amplamente empregada em estudos de avaliação e monitoramento da qualidade da água em sistemas lóticos (GROLIÈRE et al., 1990) e lênticos (COPPELLOTTI & MATARAZZO, 2000; XU et al., 2005b) em diversos países da região temperada havendo escassez de estudos que apliquem tal metodologia em ecossistemas neotropicais (GUEVARA-CARDONA et al., 2006).

O presente trabalho objetivou (1) realizar um levantamento das espécies de ciliados peritríqueos em córregos afluentes do rio Paraibuna, Minas Gerais, Brasil, (2) avaliar a qualidade da água em córregos urbanos afluentes do rio Paraibuna em diferentes regiões do município de Juiz de Fora, empregando métodos de avaliação visual, físico-química e biológicos, (3) avaliar a influência da poluição orgânica sobre a composição e parâmetros estruturais da taxocenose de ciliados peritríqueos em ambientes lóticos com diferentes níveis de poluição orgânica por meio do uso de substratos artificiais depositados nas estações amostrais, (4) verificar quais espécies de ciliados peritríqueos podem ser consideradas boas indicadoras dos gradiente de poluição avaliados.



## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Área de estudo e estações amostrais

A bacia do Paraibuna é formada por três rios principais: Paraibuna, Cágado e rio do Peixe, sendo o Paraibuna o maior afluente do rio Paraíba do Sul em volume de água (179m<sup>3</sup>/s) e o principal receptor de efluentes domésticos e industriais do município de Juiz de Fora (99,1% de urbanização) (LATUF, 2003).

Foram selecionados nove córregos afluentes do rio Paraibuna, situados dentro da área urbana do município de Juiz de Fora e sujeitos à diferentes níveis de poluição orgânica por despejo de esgoto doméstico (Mapa 1 e Foto 1a-i). Uma breve descrição das estações amostrais é apresentada a seguir:

O córrego Floresta (Foto 1a) é um córrego de 4<sup>a</sup> ordem que apresenta água incolor e vegetação marginal densa composta predominantemente por árvores de médio e grande porte. Esse córrego está situado na região sudeste do município, caracterizada pela ocupação residencial e presença de atividades semi-rurais, mas, que possui coleta de lixo e de esgoto sanitário em cerca de 60% dos domicílios e índice de área verde de 49m<sup>2</sup>/hab. (PDDU/JF, 2004).

O córrego do Poço D'antas (Foto 1b) é de 3<sup>o</sup> ordem, possui sedimento predominantemente argiloso, água de coloração clara com muitas macrófitas e muita matéria orgânica alóctone proveniente da vegetação marginal composta por árvores de médio e grande porte. Esse córrego está situado na zona leste da cidade, dentro de uma área de conservação permanente, com 277 hectares.

O córrego Campo Grande e o Ribeirão Espírito Santo (Foto 1c,e), são de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> ordens, respectivamente e, ambos estão situados no extremo norte do município região caracterizada por ocupação residencial e industrial, pouca cobertura vegetal, baixa densidade demográfica e baixos índices de coleta de esgoto, havendo lançamento de esgoto doméstico *in natura* e resíduos sólidos em alguns pontos dos cursos d'água, principalmente no córrego Campo Grande (PDDU/JF, 2004). Ambos os córregos possuem água com coloração turva e vegetação marginal composta predominantemente por gramíneas. Ao contrário do córrego Campo Grande, não há lançamento de esgoto nas proximidades do ponto de coleta escolhido no Ribeirão Espírito Santo.

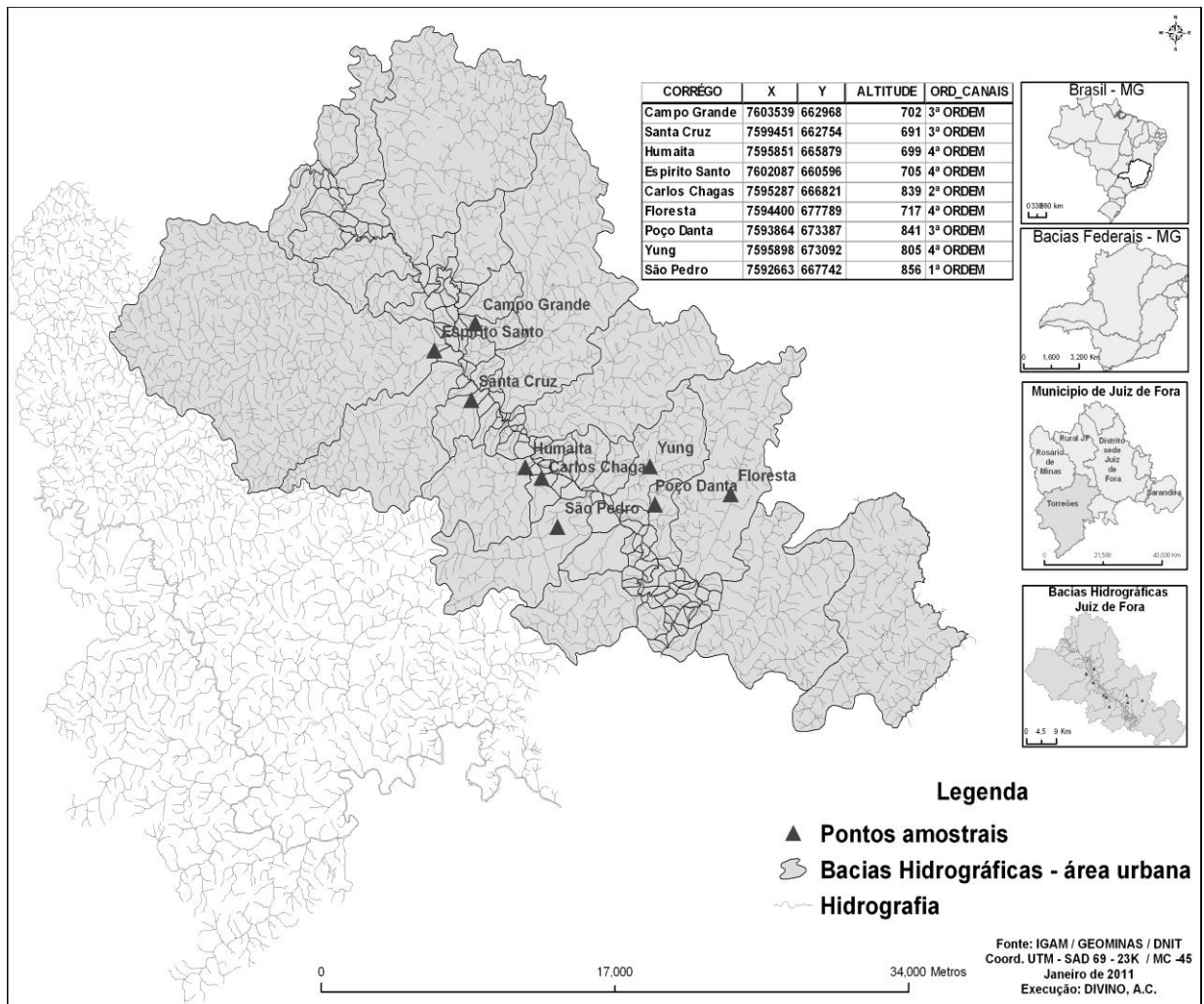
O córrego Yung (Foto 1d) é um córrego de 4ª ordem, apresenta água com coloração turva, lançamento visível de esgoto doméstico *in natura* e vegetação marginal composta por gramíneas. Está situado na região leste do município, de ocupação predominantemente residencial, com serviços de abastecimento de água e coleta de esgoto e lixo. Nessa região ocorrem atividades de extrativismo mineral, que são responsáveis pelo assoreamento do córrego e pela devastação vegetal da região que mesmo assim apresenta índice de área verde (24 m<sup>2</sup>/hab) acima do estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (12 m<sup>2</sup>/hab) (PDDU/JF, 2004).

Os córregos Humaitá, Santa Cruz e Carlos Chagas (Fotos 1f, g, h) são, respectivamente, de 2ª, 3ª e 4ª ordens, possuem águas escuras e odor de esgoto, lançamento de esgoto *in natura* e vegetação marginal composta por gramíneas. Esses córregos estão situados na região norte da cidade, de ocupação predominantemente residencial/comercial com algumas indústrias e pouca cobertura vegetal (12 m<sup>2</sup>/hab.). Os córregos Carlos Chagas e Santa Cruz são os principais receptores do esgoto da região e, em alguns pontos, são utilizados como escoadouro de lixo (PDDU/JF, 2004).

O córrego São Pedro (Foto 1i), é um córrego de 1ª ordem, apresenta água com coloração escura e odor de esgoto e diversos pontos de assoreamento. Está situado na região sudoeste apresentando ocupação residencial e comercial, índice de área verde de 276 m<sup>2</sup>/ha, nas regiões mais adensadas e redes coletoras de esgotos, que são lançadas nos cursos d'água mais próximos ao córrego (PDDU/JF, 2004).

Em cada córrego foi selecionado um ponto de amostragem atendendo aos critérios de profundidade mínima (25 cm) necessária a completa submersão dos substratos e facilidade de acesso para coleta.

As estações amostrais foram caracterizadas quanto aos níveis de impacto antrópico a que estão submetidos por meio da aplicação do protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats (PAR) modificado por CALLISTO *et al.* (2002) (Anexo A). Esse protocolo avalia as características do corpo d'água, do substrato, do entorno do trecho em estudo e as condições de diversidade de habitats e nível de conservação das condições naturais do córrego. Tais avaliações são feitas com base em um conjunto de parâmetros distribuídos em categorias descritas e pontuadas entre 0 e 5, sendo a pontuação atribuída a cada parâmetro com base na inspeção visual das condições do habitat. O valor final do protocolo de avaliação é obtido pelo somatório dos valores atribuídos a cada parâmetro, e reflete o nível de preservação das condições ecológicas dos trechos estudados: de 0 a 40 pontos indicam trechos “impactados”; 41 a 60 pontos indicam trechos “alterados”; e acima de 61 pontos, trechos “naturais”.



**Mapa 1.** Mapa da bacia do rio Paraibuna, no município de Juiz de Fora (MG), evidenciando as nove estações amostrais.

## 2. Coletas

Os ciliados peritríqueos foram obtidos utilizando-se substratos artificiais constituídos por 12 lamínulas de vidro (24 x 24 mm) dispostas em caixas acrílicas de formato retangular (6 cm de comprimento x 3,5 cm de largura) com aberturas nas laterais, de modo a permitir o livre fluxo da água pelas lamínulas (UTZ, 2008) (Foto 2a-c). Em cada coleta, nas nove estações amostrais selecionadas, foram inseridas cinco caixas de acrílico, sendo três destinadas à quantificação e realização de técnicas de identificação dos ciliados peritríqueos e duas reservas para o caso de possíveis perdas e danos aos substratos.

As caixas foram dispostas próximas às margens e suspensas na coluna d'água por uma bóia localizada na superfície e por uma chumbada de pesca localizada a 10 cm do fundo

do córrego (Figura 2c), recolhidas após um período de sete dias de colonização (BEECH & LANDERS, 2002), acondicionadas em caixas plásticas contendo água do local de coleta filtrada em papel filtro (poro 14 $\mu$ m) e, armazenadas em caixas térmicas durante o transporte ao laboratório.

Foram realizadas cinco coletas mensais no período de seca (junho a outubro) a fim de evitar a instabilidade que o período chuvoso ocasiona aos córregos como aumento do volume de água, velocidade do fluxo e deslizamento das margens, de modo a ocasionar a perda de substratos artificiais e dificultar o processo de colonização. As coletas foram realizadas em dois dias consecutivos, cinco córregos em um dia e quatro córregos no dia seguinte, e as amostras foram analisadas até 10h após a coleta, a fim de minimizar possíveis alterações na estrutura da taxocenose de peritríqueos coletadas, em consequência das perturbações durante os procedimentos de coleta, transporte e análise das amostras.

### **3. Processamento das amostras**

Das cinco caixas acrílicas inseridas nos córregos, três delas foram usadas no estudo de identificação e quantificação dos ciliados peritríqueos. Para a quantificação, foram selecionadas, aleatoriamente, uma lamínula em cada acrílico amostrado. Essas lamínulas foram dispostas sobre lâminas de microscopia (2,6 x 7,6 cm) contendo uma gota de água do local de coleta filtrada e adesivadas com um quadrante de 24 mm<sup>2</sup>, dividido em 36 quadrantes de 4mm<sup>2</sup>, a fim de assegurar que toda a lamínula seria percorrida e quantificados os indivíduos presentes em todos os quadrantes. As contagens e fotos *in vivo* foram feitas em microscópio com contraste interferencial diferencial (DIC) e editadas pelo programa Image Pro-plus 5.0 Olympus®.

As demais lamínulas foram fixadas em bouin para realização de técnicas de impregnação pela prata que evidenciam estruturas importantes para a identificação dos ciliados (DIECKMANN, 1995; KLEIN, 1958).

A identificação dos ciliados peritríqueos foi feita utilizando os trabalhos de FOISSNER et al.(1992). KAHL (1935) e WARREN (1986).

#### 4. Análises físico-químicas

No momento da retirada dos substratos artificiais foram coletadas amostras de 1L de água, em cada um dos córregos, para aferição dos parâmetros físico-químicos. Essas amostras foram armazenadas em caixas térmicas e encaminhadas ao laboratório de Ecologia Aquática para análise da concentração de oxigênio dissolvido (método de Winkler) e nutrientes (amônia, nitrato, nitrito, nitrogênio orgânico dissolvido, nitrogênio total, fosfato, fósforo total) conforme protocolos propostos por WETZEL & LICKENS (2000) e ao Laboratório de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, para aferição pH e condutividade elétrica com condutivímetro e pHmetro de bancada. A velocidade da água foi aferida *in situ* pelo “método do flutuador” (VIEIRA & SHIBATA, 2007).

#### 5. Análise estatística

Os dados físico-químicos e biológicos foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ( $p > 0.05$ ) para definição da aplicação de testes de análise de dados paramétricos ou não-paramétricos. Diferenças entre os parâmetros físico-químicos da água, densidade e abundância de ciliados peritríqueos entre os córregos foram verificadas pelo teste Kruskal-Wallis com teste post-hoc Student-Newman-Keuls para verificar diferenças entre as estações amostrais.

Para analisar as possíveis alterações na composição e estrutura da taxocenose de peritríqueos conforme o gradiente de poluição foram determinadas a abundância e a densidade média de peritríqueos e calculados os índices de diversidade de Shannon-Wiener e dominância de Berger-Parker (MAGURRAN, 1988). A significância estatística das diferenças desses índices entre os pontos de coleta foram verificadas pela análise de variância (ANOVA-1 critério).

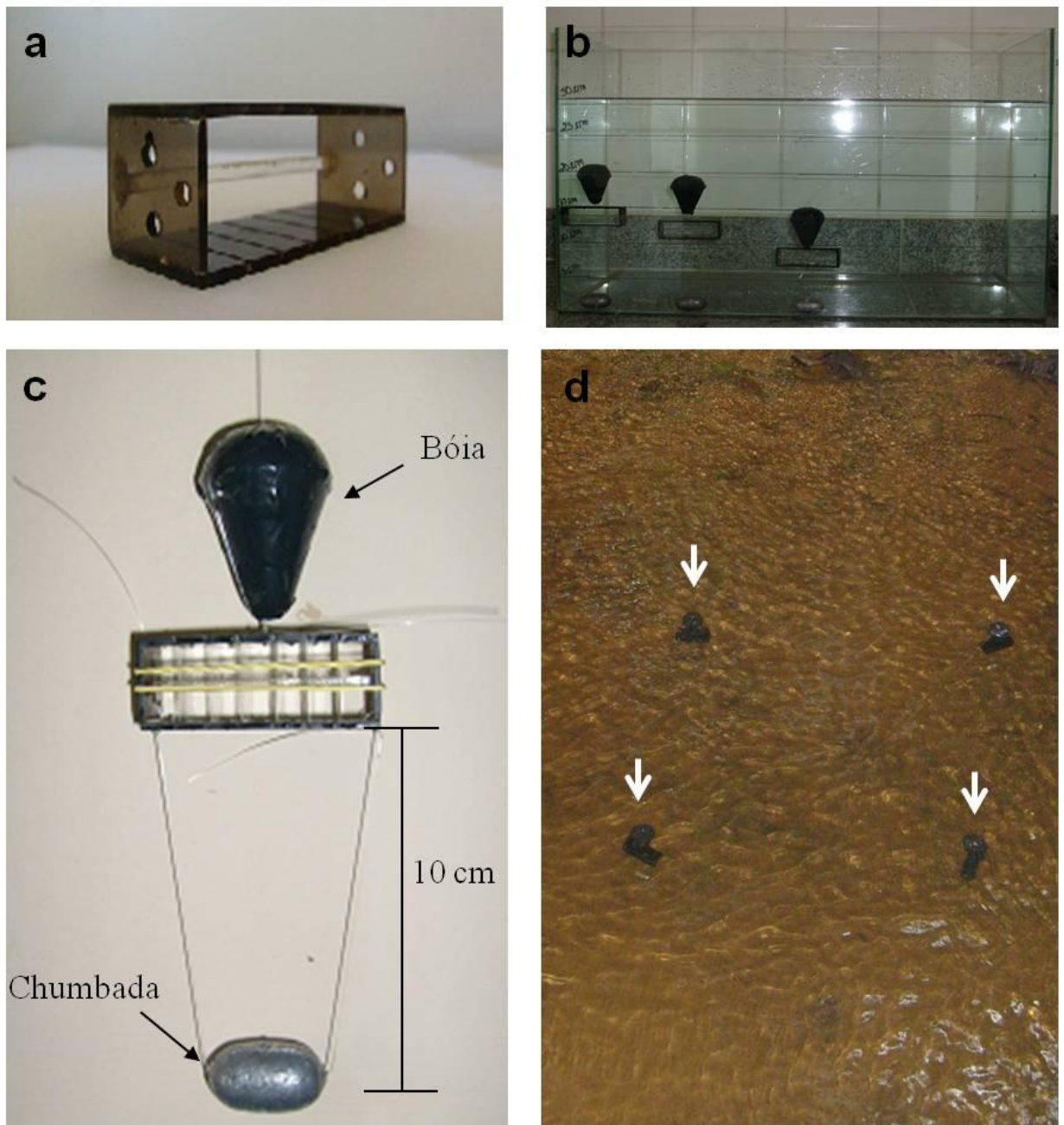
A análise dos componentes principais (PCA) foi aplicada para identificar quais estações amostrais eram mais similares entre si considerando as variáveis físico-químicas sintetizadas em cada eixo de ordenação. A análise de correspondência (CA) foi utilizada para ordenar os córregos com base na similaridade da composição e abundância das espécies. Possíveis correlações entre as variáveis ambientais e biológicas foram verificadas pela análise

de correlação de Spearman ( $p < 0.05$ ). A análise de espécies indicadoras (IndVal) (DUFRÊNE & LEGENDRE, 1997), índice baseado na combinação da abundância relativa e frequência de ocorrência dos táxons encontrados nos grupos de unidades amostrais, foi aplicada aos dados biológicos a fim de determinar quais espécies poderiam ser consideradas boas indicadoras dos gradiente de poluição. Essa análise foi executada com 4999 permutações de Monte Carlo.

Os testes de normalidade, Kruskal-Wallis e determinação dos índices de diversidade foram calculados utilizando o software Past versão 1.49 (HAMMER et al., 2001), análise de variância pelo Minitab 16.1 (version 16.1.1; State College, PA, USA), análises multivariadas (PCA e CA) pelo Fitopac versão 1.5 (SHEPHERD, 1994) e análises de espécies indicadoras no PC-Ord 5.10 (Mc CUNE & MEFFORD, 2002). Em todas as análises o limite de significância adotado nos testes foi  $p < 0,05$ .



**Fotografia 1.** Afluentes do rio Paraibuna município de Juiz de Fora, MG selecionados como estações amostrais para o presente estudo. **a.** Córrego Floresta; **b.** Córrego Poço D'antas; **c.** Ribeirão Espírito Santo; **d.** Córrego Yung; **e.** Córrego Campo Grande; **f.** Córrego Santa Cruz; **g.** Córrego Carlos Chagas; **h.** Córrego Humaitá; **i.** Córrego São Pedro.



**Fotografia 2.** Substrato artificial: a. Caixa de acrílico com espaço para 12 lamínulas de 24 mm x 24mm; b. Simulação dos substratos submersos; c. Substratos montados para deposição nos córregos; d. substratos submersos no ambiente (as setas indicam os substratos).



## RESULTADOS

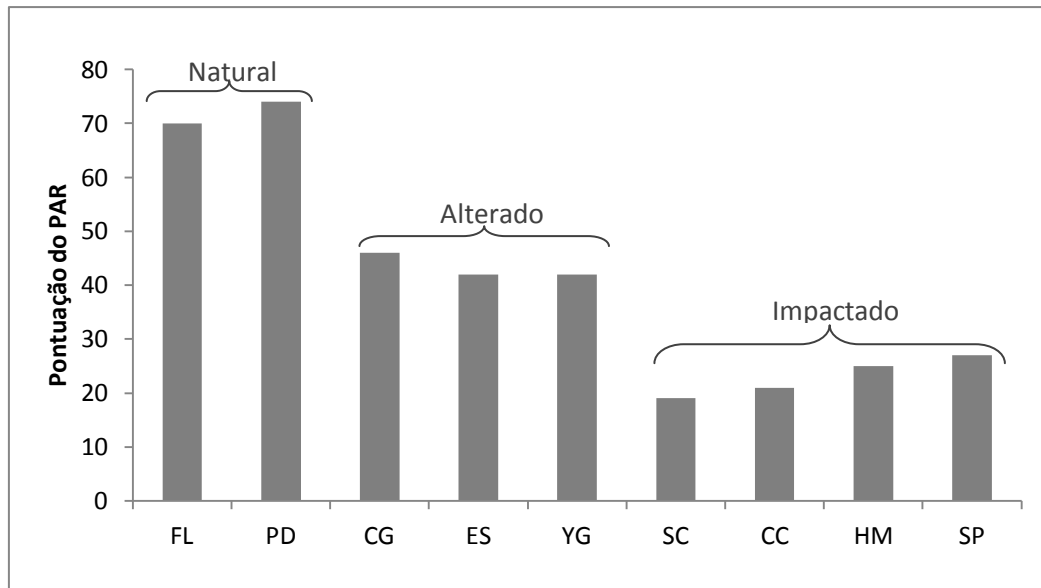
Os córregos são apresentados nos resultados pelas siglas: FL (Floresta), PD (Poço D'antas), ES (Espírito Santo), CG (Campo Grande), YG (Yung), SC (Santa Cruz), CC (Carlos Chagas), HM (Humaitá) e (SP) São Pedro.

### 1. Caracterização das estações amostrais

#### 1.1 Caracterização visual

Os resultados obtidos pelo Protocolo de avaliação rápida (PAR) (Gráf. 1) demonstraram que os córregos PD e FL foram os que apresentaram características físicas mais próximas de um ambiente natural ou de referência (74 e 70 pontos, respectivamente), os córregos CG, ES e YG (46, 42 e 42 pontos, respectivamente) foram considerados ambientes alterados e os córregos SP, HM, CC e SC (27, 25, 21 e 19 pontos, respectivamente) foram considerados ambientes impactados.

A classificação dos córregos FL e PD como ambientes naturais fez com que eles fossem escolhidos como áreas de referência (minimamente impactadas) para o presente estudo. Os córregos ES, CG e YG obtiveram pontuação menor que as áreas de referência por apresentarem evidências de intervenções antrópicas como ausência de mata ciliar e presença de lixo no leito. Já os córregos SP, HM, CC e SC classificados como ambientes impactados apresentavam água turva com odor fétido, oleosidade no fundo do leito e alterações no canal (construção de pontes).



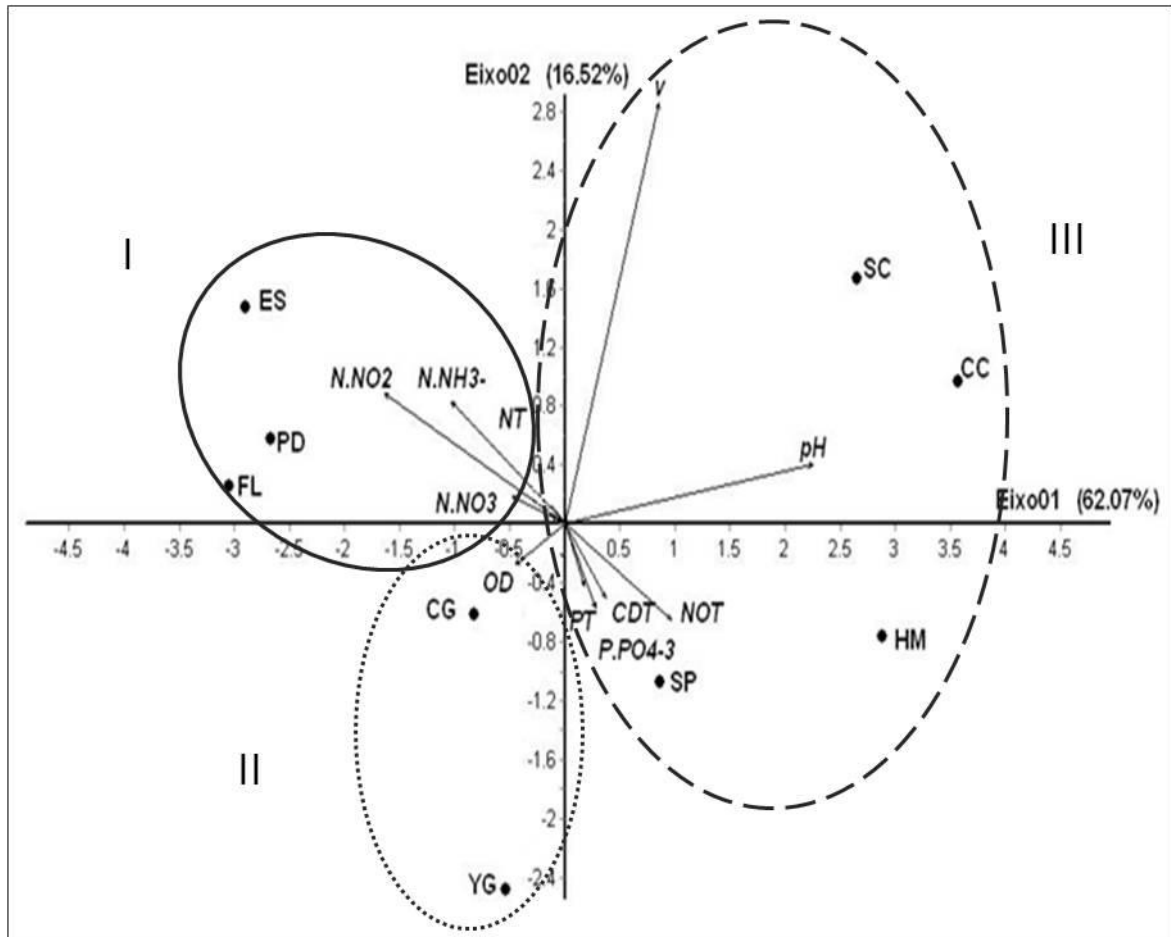
**Gráfico 1.** Pontuação obtida no protocolo de avaliação rápida de diversidade de habitats (PAR) (Callisto, 2002) nos nove córregos avaliados. A classificação como natural, alterado e impactado é determinada pelo protocolo, onde: 0-40 pontos = ambiente impactado, 41-60 pontos = ambiente alterado, >61 pontos = ambiente natural. FL= córrego Floresta, PD= córrego Poço D'antas, CG= córrego Campo Grande, ES= ribeirão Espírito Santo, YG= córrego Yung, SC= córrego Santa Cruz, CC= córrego Carlos Chagas, HM= córrego Humaitá, SP= córrego São Pedro.

## 1.2 Caracterização físico-química

A análise dos componentes principais (Gráf. 2) demonstrou que os eixos 1 e 2 explicaram 79% da variabilidade dos dados, sendo ressaltada a similaridade entre as estações amostrais impactadas (SC, CG, HM e SP), pela proximidade entre as variáveis amônia ( $\text{N.NH}_4^+$ ), nitrogênio orgânico total (NOT), nitrogênio total (NT), fosfato ( $\text{P.PO}_4^{-3}$ ) e fósforo total (PT). Estes valores elevados nas concentrações de tais nutrientes nestas estações são indícios de poluição orgânica do ambiente originada por despejo de esgoto. O oxigênio dissolvido foi o principal responsável pela separação dos córregos alterados (YG e CG) e naturais (FL, PD e ES) dos impactados.

Com base na classificação dos córregos obtida pelo PAR e nos agrupamentos formados na PCA, os córregos foram classificados em três grupos: o grupo I formado pelos córregos naturais (PD, FL) e pelo córrego ES, que apesar de ter sido classificado pelo PAR como ambiente alterado, juntamente com CG e YG, ficou mais próximo dos córregos naturais com base na similaridade dos parâmetros físico-químicos, conforme demonstrado pela PCA (Gráfs. 1 e 2), o grupo II

formado pelos córregos alterados (CG e YG) e o grupo III formado pelos córregos impactados (SC, CC, HM e SP).

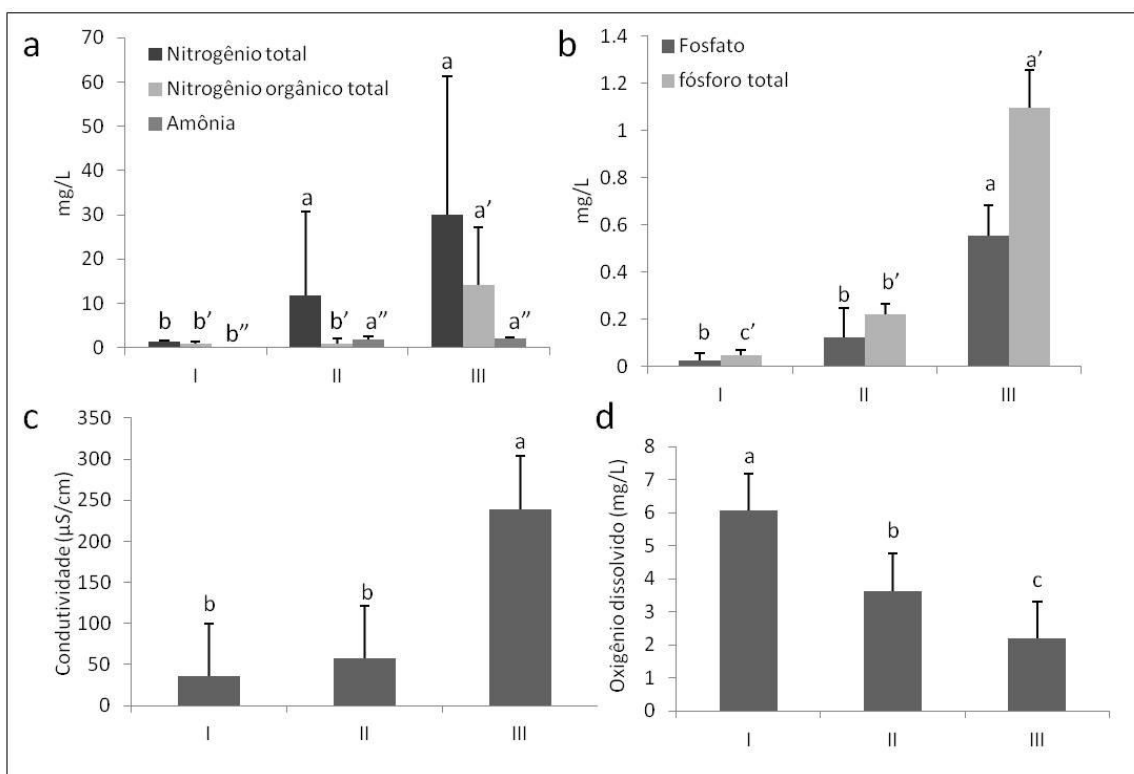


**Gráfico 2.** Diagrama de ordenação produzido pela análise dos componentes principais (PCA) dos parâmetros físico-químicos aferidos em cada um dos nove córregos afluentes do rio Paraíba. O diagrama mostra a distribuição dos pontos e das variáveis ambientais nos dois primeiros eixos de ordenação. Os círculos destacam os grupos de córregos (I, II e III) que apresentaram maior similaridade com base nos parâmetros físico-químicos. CDT = condutividade, NOT= nitrogênio orgânico total,  $N.NO_2^-$  = nitrito,  $N.NO_3^-$  = nitrato,  $N.NH_3^+$  = amônia, OD= oxigênio dissolvido,  $P.PO_4^{-3}$  = fosfato, PT = fósforo total, v= velocidade da água. CC = córrego Carlos Chagas, CG= córrego Campo Grande, ES= córrego Espírito Santo, FL = córrego Floresta, HM= córrego Humaitá, PD= córrego Poço D'Antas, SC= córrego Santa Cruz, SP= córrego São Pedro, YG= córrego Yung. I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto aos valores médios de nitrogênio orgânico total, nitrogênio total, amônia, fosfato, fósforo total, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido entre os córregos dos grupos I, II, e III analisados (Gráf. 3a-d). Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) quanto aos parâmetros nitrato, nitrito, pH e

velocidade da água entre os córregos dos grupos I, II e III e, por isso os valores dessas variáveis não estão representados no gráfico 3.

Os valores de condutividade elétrica, concentrações de compostos orgânicos nitrogenados e fosfatos e a concentração de oxigênio dissolvido observados nos córregos dos grupos I, II e III (Gráf. 3) demonstraram que o grupo I é formado por córregos com baixos níveis de poluição orgânica, já o grupo III por córregos com níveis elevados de poluição e o grupo II com níveis intermediários de poluição orgânica.



**Gráfico 3.** Valores médios dos parâmetros físico-químicos aferidos nos grupos de córregos; **a.** nitrogênio total, nitrogênio orgânico total e amônia; **b.** fosfato e fósforo total; **c.** Condutividade elétrica; **d.** Oxigênio dissolvido. Letras iguais indicam ausência de significância estatística ( $p > 0.05$ ). I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

## **2. Análise biológica**

### **2.1 Composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos**

Foram registradas 19 espécies de protistas ciliados peritríqueos pertencentes a sete gêneros (Tab. 1) (Foto 3 e Apêndice A). Nas estações amostrais do grupo I (córregos naturais) foram registradas 5 espécies exclusivas, no grupo II (córregos impactados) 6 espécies e no grupo III (córregos alterados) duas espécies. As espécies com maior frequência de ocorrência foram *Carchesium polypinum* e *Epistylis plicatilis*, sendo registradas, respectivamente em oito e sete dos nove córregos investigados.

**Tabela 1.** Espécies de protistas ciliados da subclasse Peritrichia encontradas nos nove córregos da bacia do rio Paraibuna, município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

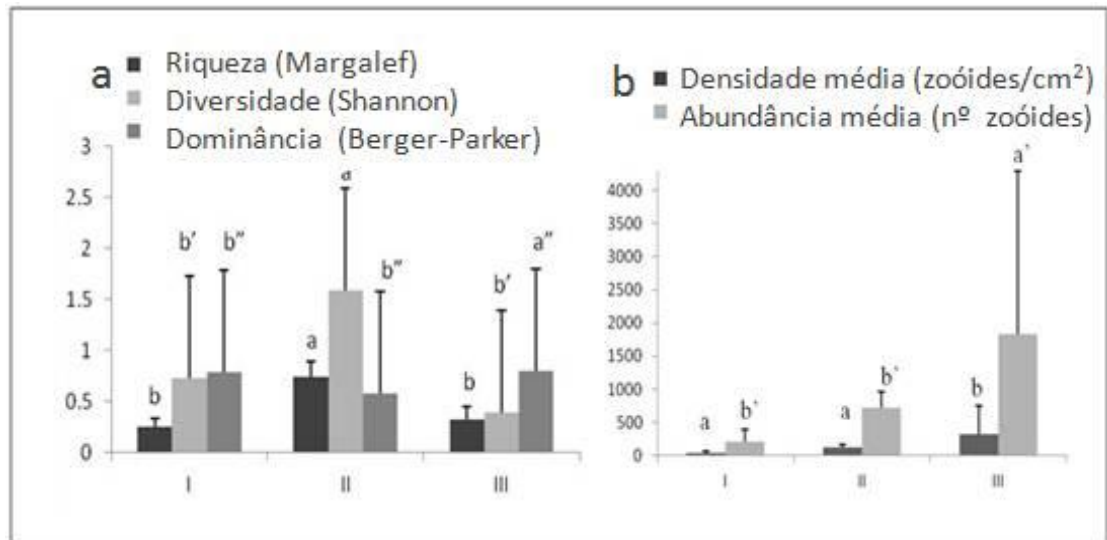
Espécies	I			II			III		
	FL	PD	ES	CG	YG	SC	CC	HM	SP
<i>Campanella umbellaria</i> (Linné, 1767)	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Carchesium polypinum</i> (Linné, 1785)	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Epistylis plicatilis</i> (Linné, 1785)	-	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Epistylis</i> sp.	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Opercularia articulata</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Opercularia</i> sp.	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Platycola decumbens</i> Ehrenberg, 1830	+	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Pseudovorticella chlamydophora</i> (Penard, 1922)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Thuricola kellicotiana</i> (Stokes 1887)	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Vorticella campanula</i> (Linné, 1785)	+	+	-	+	-	+	+	+	+
<i>Vorticella convallaria</i> (Linné, 1785)	+	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Vorticella microstoma</i> (Linné, 1785)	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella picta</i> Ehrenberg 1838	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp. 1	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp. 2	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp. 3	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp. 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp. 5	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Vorticella</i> sp. 6	-	-	-	-	-	+	-	-	+
<b>Total de espécies</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>

“+” = presença, e “-” = ausência. CC = córrego Carlos Chagas, CG= córrego Campo Grande, ES= córrego Espírito Santo, FL = córrego Floresta, HM= córrego Humaitá, PD= córrego Poço D’Antas, SC= córrego Santa Cruz, SP= córrego São Pedro, YG= córrego Yung. I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

Quanto aos parâmetros estruturais (diversidade, riqueza, dominância, abundância e densidade de peritríqueos) da taxocenose de ciliados peritríqueos (Gráfs. 4a, b), os maiores valores dos índices de riqueza e diversidade foram observados no grupo II (impactado), já os maiores valores de abundância, densidade e dominância foram observados para o grupo III (alterado) e, os valores mais baixos de riqueza, diversidade, abundância e densidade foram observados para o grupo I (natural).



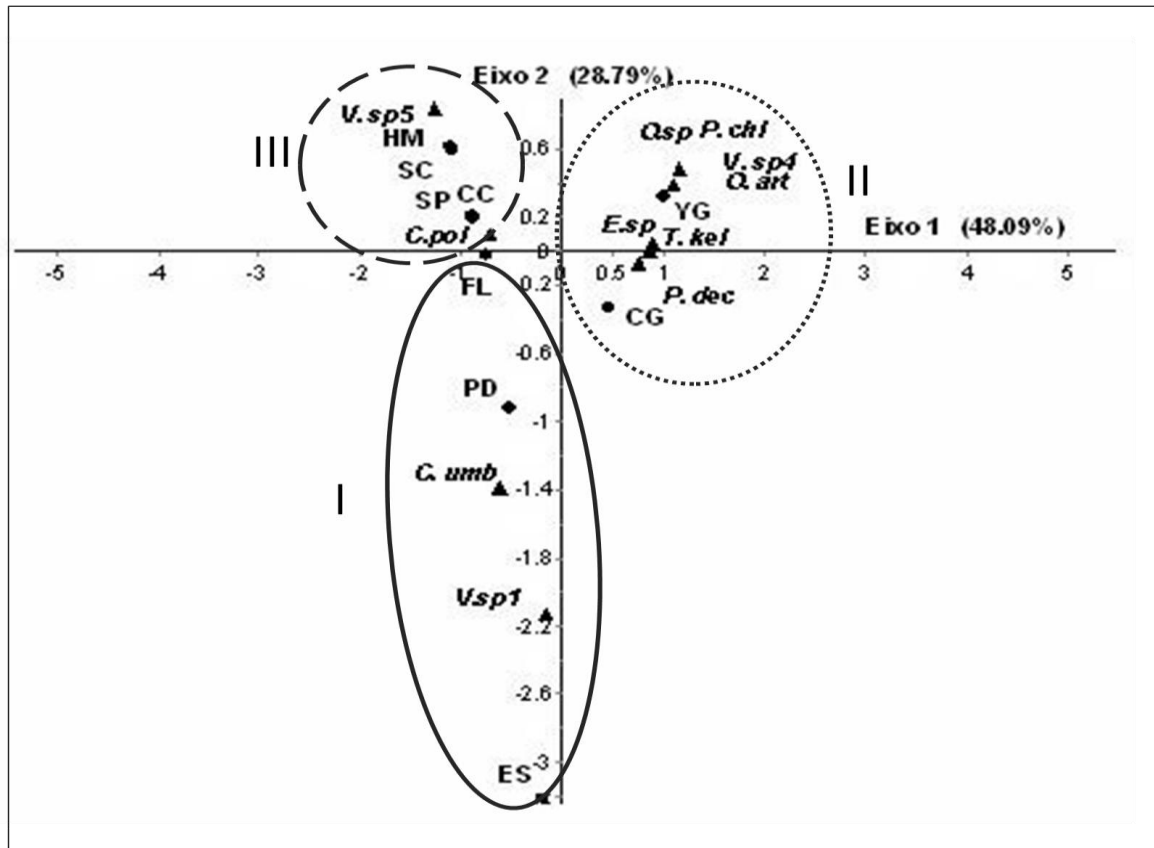
**Fotografia 3.** Fotomicrografias *in vivo* dos ciliados peritríqueos encontrados nos nove córregos afluentes do rio Paraibuna, no município de Juiz de Fora, MG. **a.** *Opercularia articulata*; **b.** *Platycola decumbens*; **c.** *Carchesium polypinum*; **d.** *Epistylis* sp.; **e.** *Epistylis plicatilis*; **f.** *Thuricola kellicottiana*; **g.** *Opercularia* sp.; **h.** *Campanella umbellaria* ; **i.** *Vorticella campanula*; **j.** *Vorticella microstoma*; **l.** *Pseudovorticella chlamydophora*; **m.** *Vorticella* sp. 5; **n.** *Vorticella* sp. 4; **o.** *Vorticella* sp. 2; **p.** *Vorticella* sp. 6 **q.** *Vorticella picta*; **r.** *Vorticella* sp. 1; **s.** *Vorticella* sp. 3; **t.** *Vorticella convallaria*. **Barras: c-e = 200 µm; demais fotomicrografias = 50 µm.**



**Gráfico 4.** Valores médios dos parâmetros estruturais da taxocenose de ciliados peritríqueos nos grupos de córregos amostrados. **a.** Índices de riqueza de Margalef, diversidade de Shannon -Weaver e dominância de Berger-Parker. **b.** Abundância e densidade. I = natural, II= alterado, III= impactado. Letras iguais indicam ausência de significância estatística ( $p > 0.05$ ). I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

Os resultados da análise de correspondência (Gráf. 5) demonstraram que os dois primeiros eixos explicaram 59 % da variabilidade global dos dados, sendo que o primeiro deles contribuiu com 32,10 % e o segundo com 25,79 % desta variabilidade. Observou-se a formação dos agrupamentos I, II e III, conforme demonstrado na análise de componentes principais (Gráf. 2). A análise de correspondência ressaltou a similaridade entre os córregos classificados dentro de um mesmo grupo com base na composição das espécies. Os córregos do grupo I (ES, PD e ES) apresentaram como espécies em comum *Campanella umbelaria*, *Vorticella picta*, *Vorticella microstoma*, *Vorticella* sp.1, *Vorticella* sp. 2 e *Vorticella* sp. 3. Os córregos do grupo II (YG e CG) compartilharam as espécies *Epistylis* sp., *Thuricola kellicottiana* e *Platycola decumbens*. Já os córregos do grupo III apresentaram como espécies em comum, principalmente *Epistylis plicatilis*, *Carchesium polypinum*, *Vorticella* sp. 5 e *Vorticella* sp. 6. O peritríqueo *Vorticella convalaria* ocorreu nos grupos I e II e, *Vorticella campanula* nos grupos III e I. Pode-se observar também que o grupo II foi o que apresentou a maior riqueza de espécies (sete espécies).





**Gráfico. 5.** Análise de correspondência (CA) obtida com base na taxocenose de ciliados peritríqueos nos nove córregos afluentes do rio Paraibuna, Juiz de Fora MG. (*C. umb*) *Campanella umbellaria*, (*C. pol*) *Carchesium polypinum*, (*E. pli*) *Epistylis plicatilis*, (*E. sp*) *Epistylis articulata*, (*O. art.*) *Opercularia* sp. 1, (*O. sp*) *Opercularia* sp. 2, (*P. dec*) *Platycola decumbens*, (*P. chl*) *Pseudovorticella clamydophora*, (*T. kel*) *Thuricola kellicottiana*, (*V. cam*) *Vorticella campanula*, (*V. con*) *Vorticella convalaria*, (*V. mic*) *Vorticella miscrostoma*, (*V. pic*) *Vorticella picta*, (*V. sp1*) *Vorticella* sp1, (*V. sp. 2*) *Vorticella* sp. 2, (*V. sp3*) *Vorticella* sp. 3, (*V. sp4*) *Vorticella* sp. 4, (*V. sp5*) *Vorticella* sp. 5, (*V.sp 6*) *Vorticella* sp. 6. CC = córrego Carlos Chagas, CG= córrego Campo Grande, ES= córrego Espírito Santo, FL = córrego Floresta, HM= córrego Humaitá, PD= córrego Poço D'Antas, SC= córrego Santa Cruz, SP= córrego São Pedro, YG= córrego Yung. I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

A análise de correlação de Spearman entre as variáveis ambientais e as espécies demonstrou correlação positiva de *E. plicatilis* com a concentração de nitrato ( $r_s = 0.317$ ,  $p = 0.033$ ) e das espécies *C. polypinum* e *Vorticella* sp. 5 com a condutividade ( $r_s = 0.309$ ,  $p = 0.038$ ;  $r_s = 0.454$ ,  $p = 0.001$ , respectivamente) e correlação negativa das espécies *Epistylis* sp. e *Platycola decumbens* com a concentração de nitrogênio orgânico total ( $r_s = -0.342$ ,  $p = 0.021$ ;  $r_s = -0.329$ ,  $p = 0.027$ ) e de *Vorticella* sp. 5 com a concentração de oxigênio dissolvido ( $r_s = -0.495$ ;  $p = 0.000$ ).

A análise de espécies indicadoras (IndVal) (Tab. 2) demonstrou que a espécie *Vorticella* sp. 1 (26.7%) é indicadora do grupo natural (grupo I), já no grupo impactado, sete espécies apresentaram  $p < 0.05$  no teste de Monte Carlo, mas o maior IndVal encontrado foi

para a *Epistylis* sp. (100%), o que a caracteriza como indicadora dos ambientes alterados (grupo II) frente às demais espécies *T. kellicottiana* (80%), *O. articulata* (60%), *P. decumbens* (49.8%), *Opercularia* sp. (40%), *P. chlamydophora* (40%) e *Vorticella* sp. 4 (8.2%). Para o grupo dos ambientes alterados (Grupo III) a espécie indicadora foi *C. polypinum* (84.3%).

**Tabela 2.** Análise de espécie indicadora (IndVal) para as espécies de ciliados peritíqueos nos córregos naturais, alterados e impactados município de Juiz de Fora, MG.

<b>Espécies</b>	<b>Grupo</b>	<b>IndVal</b>	<b>P</b>
<i>Campanella umbelaria</i>	I	6.7	0.552
<i>Carchesium polypinum</i>	III	84.3	0.001*
<i>Epistylis plicatilis</i>	III	34.1	0.455
<i>Epistylis</i> sp	II	100.0	0.000*
<i>Opercularia articulata</i>	II	60.0	0.000*
<i>Opercularia</i> sp	II	40.0	0.001*
<i>Platycola decumbens</i>	II	49.8	0.000*
<i>Pseudovorticella chlamydophora</i>	II	40.0	0.002*
<i>Thuricola kellicottiana</i>	II	80.0	0.000*
<i>Vorticella campanula</i>	II	14.0	0.953
<i>Vorticella convallaria</i>	II	7.3	0.632
<i>Vorticella micróstoma</i>	I	6.6	0.556
<i>Vorticella picta</i>	II	15.8	0.158
<i>Vorticella</i> sp1	I	26.7	0.013*
<i>Vorticella</i> sp2	I	13.3	0.1502
<i>Vorticella</i> sp3	I	6.7	0.5511
<i>Vorticella</i> sp4	II	8.2	0.040*
<i>Vorticella</i> sp5	III	16.1	0.005
<i>Vorticella</i> sp6	III	8.2	0.349

I= grupo I (natural), II= grupo II (alterado), III= grupo III (impactado).

\*indica  $p < 0.05$ .

## DISCUSSÃO

A aplicação de protocolos de avaliação rápida (PAR) em conjunto com a avaliação físico-química possibilita analisar o ambiente de forma integrada por meio da caracterização não só do corpo d'água como também do ambiente ao redor (CALLISTO et al., 2002; MINATTI-FERREIRA & BEAUMORD, 2006; RODRIGUES & CASTRO, 2008). A classificação das estações amostrais quanto ao grau de impactos antrópicos a que estão submetidas, obtida pela aplicação do PAR, mostrou-se eficiente por ter separado os córregos de modo similar ao indicado pela avaliação físico-química. A única divergência encontrada foi em relação à classificação do córrego ES considerado, juntamente com os córregos YG e CG, como ambiente alterado pelo PAR e que, nas análises físico-químicas, apresentou-se similar aos córregos FL e PD classificados como naturais. Tal divergência ocorreu porque o córrego ES apresenta características físicas semelhantes às encontradas nos ambientes classificados como alterados (retificações no canal do córrego, construção de pontes similaridades e ocupação das margens predominantemente residencial), mas recebe pouca influência da poluição orgânica como os ambientes classificados como naturais.

De acordo com a concentração de nutrientes e oxigênio dissolvido os ambientes aquáticos podem ser classificados como oligotróficos (pobres em nutrientes e ricos em oxigênio), mesotróficos (com concentrações moderadas de nutrientes e oxigênio) ou eutróficos (ricos em nutrientes e pobres em oxigênio) (STREBLE & KRAUTER, 1987). A avaliação físico-química demonstrou que os córregos que compõem o grupo I podem ser considerados oligotróficos devido à baixa concentração de compostos nitrogenados e fosfatos (nutrientes orgânicos) e pela elevada concentração de oxigênio, os do grupo II mesotróficos e os do grupo III, eutróficos pela elevada concentração de nutrientes e baixa concentração de oxigênio.

Concentrações elevadas de compostos nitrogenados e fosfatados em um corpo d'água são indícios de poluição orgânica por esgoto sanitário, industrial ou por carreamento de fertilizantes agrícolas (DOMÈNECH et al. 2006). Em áreas urbanas, grande parte do nitrogênio, principalmente na forma de nitrogênio orgânico e amônia, provém da decomposição da matéria fecal e hidrólise da uréia. Já o fósforo tem sua origem em efluentes contendo detergentes superfosfatados (uso doméstico) e matéria fecal. Os grupos de córregos II e III apresentaram valores mais elevados de compostos nitrogenados, de fósforo e de fosfato que o grupo I,

evidenciando o elevado grau de poluição orgânica por esgoto doméstico nos grupos de córregos II e III em relação ao grupo I.

O influxo de poluentes orgânicos em ecossistemas aquáticos favorece o desenvolvimento da comunidade bacteriana promovendo, conseqüentemente, alterações na estrutura e distribuição da taxocenose de protozoários bacterívoros como os peritríqueos (MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005). Nos ambientes analisados, elevada dominância e baixa riqueza e diversidade de espécies foram observados nos córregos impactados (eutróficos), enquanto que elevada diversidade e riqueza e baixa dominância ocorreu nos córregos alterados (mesotróficos). Resultados semelhantes foram observados por outros autores (DOPHEIDE et al., 2009; LI et al., 2009; MADONI & BRAGHILORI, 2007; XU et al., 2002, 2005b) que verificaram elevados valores de riqueza, diversidade e uniformidade de ciliados em ambientes oligotróficos e elevada abundância de formas tolerantes em ambientes eutróficos.

A concentração de matéria orgânica e a quantidade de oxigênio dissolvido constituem fatores limitantes ao desenvolvimento de ciliados peritríqueos que, conforme observado por NOLAND & GOGJDICS (1967), sob condições de depleção de oxigênio podem se soltar do pedúnculo formando telotróquios que só voltam a se fixar em um substrato após o restabelecimento de concentrações ótimas de oxigênio. Assim, apesar da concentração de oxigênio ser elevada, a baixa disponibilidade de nutrientes orgânicos nos córregos do grupo I (Gráf. 3) pode ter sido responsável pelos baixos valores de diversidade, riqueza e abundância da taxocenose de peritríqueos nesses ambientes (Gráf. 4). Nos córregos do grupo III, a elevada concentração de nutrientes e baixa oxigenação favoreceu o desenvolvimento de espécies tolerantes, como demonstrado pelos elevados valores de dominância de espécies, abundância e densidade encontrados nesse grupo (Gráfs. 3 e 4). Já os córregos do grupo II apresentaram concentrações de oxigênio e matéria orgânica favoráveis ao desenvolvimento de uma taxocenose de peritríqueos com elevada diversidade de espécies.

A correlação positiva de *C. polypinum* e *E. plicatilis* com a condutividade elétrica e a concentração de nitrato, respectivamente, e sua ocorrência nos ambientes considerados impactados confirmam a predileção dessas espécies por sistemas lóticos eutrofizados, assim como demonstrado também em outros estudos, que registraram maiores frequências dessas espécies de peritríqueos em estações de coleta que recebiam maior influxo de esgoto doméstico (MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005; MADONI & BRAGHIROLI, 2007). A correlação negativa de *Epistylis* sp. e *P. decumbens* com a concentração de nitrogênio orgânico total, juntamente com sua ocorrência restrita às estações amostrais consideradas naturais e alteradas,

corroborar a classificação dessas espécies como indicadoras de ambientes com níveis intermediários de poluição orgânica (ambientes alterados) do presente estudo.

Das espécies classificadas como indicadoras do grupo II (ambientes alterados), *O. articulata*, *P. decumbens*, *P. chlamydophora*, e *T. kellicottiana*, de acordo com FOISSNER & BERGER, (1996), consideradas indicadoras de ambientes que variam de leve a moderadamente poluídos (oligosapróbios ou beta-mesosapróbios) e a espécie *C. polypinum* a espécie considerada como indicadora para o grupo III (ambientes impactados) é característica de ambientes poluídos (alfa-mesosapróbios).

O emprego de placas de Petri, lâmina e lamínulas de vidro como substratos artificiais para coleta de ciliados perifíticos constitui um método robusto, barato e vantajoso quando comparado com outros tipos de substratos artificiais como o PFU, folhas de poliuretano (GONG et al., 2005; XU et al., 2009). Dentre as vantagens está o fato de que o perifíton não precisa ser previamente raspado da superfície do substrato para que se proceda à contagem e identificação dos organismos já que, as lâminas podem ser levadas diretamente ao microscópio evitando assim, a ocorrência de perda e danos aos organismos e, conseqüentemente, à subestimação da riqueza e abundância de espécies. No presente, optamos por utilizar lamínulas que por serem menores que as lâminas de microscopia, podem ter toda a superfície analisada rapidamente enquanto que, o uso lâminas requer a utilização de grid para demarcação de uma área de contagem e seleção de campos aleatórios, podendo levar à subestimação de espécies, principalmente das raras. Os resultados obtidos demonstraram que, o emprego de lamínulas como substrato artificial para estudo da taxocenose de peritríqueos em ambientes lóticos tropicais sujeitos à diferentes níveis de poluição foi eficiente para detectar alterações na estrutura e composição dessas comunidades.

De modo geral, os resultados obtidos demonstraram que a análise da composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos pode ser empregada na avaliação biológica da qualidade de ambientes lóticos com gradiente de poluição orgânica, sendo que: (1) a abundância densidade e dominância de ciliados peritríqueos constituem boas métricas na avaliação de gradiente de poluição, tendendo a aumentar dos ambientes oligotróficos para os eutróficos; (2) parâmetros estruturais de riqueza, e diversidade são mais elevados em ambientes mesotróficos (alterados) do que em ambientes oligotróficos (naturais) e eutróficos (impactados); (3) as espécies *O. articulata*, *P. decumbens*, *P. chlamydophora* e *T. kellicottiana* ocorrem com maior frequência e abundância em ambientes mesotróficos (alterados), podendo ser consideradas indicadoras dessas condições nos ambientes avaliados; (4) a correlação da espécie *C. polypinum* com a condutividade elétrica e sua elevada abundância e frequência em ambientes eutróficos

(impactados), confirmam o potencial dessa espécie como indicadora de níveis elevados de poluição orgânica em um ambiente.

## SEÇÃO II

### **DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE CILIADOS PERITRÍQUEOS (CILIOPHORA: PERITRICHIA) EPIBIONTES SOBRE *Physa acuta* DRAPARNAUD, 1805 (GASTROPODA: PHYSIDAE) EM UM SISTEMA LÓTICO NA REGIÃO NEOTROPICAL.**

#### **RESUMO**

A epibiose é uma associação facultativa entre epibiontes, organismos que colonizam um substrato vivo, e os basibiontes, organismos que servem de substrato aos epibiontes. O presente trabalho teve como objetivo descrever a composição e analisar a estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos epibiontes de *Physa acuta*, bem como investigar a distribuição espacial dos epibiontes sobre a concha do molusco. Foram analisados 140 espécimes de *P. acuta*, dos quais 60.7 % (n=85) estavam colonizados por pelo menos uma espécie de ciliado peritríqueo epibionte, com amplitude de infestação de 1 a 2390 epibiontes e intensidade média de 157 por molusco. Foram registradas sete espécies de peritríqueos com as seguintes prevalências: *Epistylis* sp. (58.6%), *Vorticella* sp. (14.3%), *Opercularia articulata* (13.6%), *Vorticella campanula* (7.9%), *Epistylis plicatilis* (7.1%), *Carchesium polypinum* (5%) e *Thuricola kellicottiana* (1.4%). A espécie dominante foi *Epistylis* sp., compondo 70.4% da abundância total de epibiontes encontrados (n=9415). Houve correlação da abundância e diversidade de ciliados epibiontes com o tamanho dos moluscos hospedeiros. Quanto à distribuição dos epibiontes pela concha, observou-se que esses organismos distribuíram-se por toda a superfície ocorrendo com maior abundância na superfície dorsal do que na ventral. Os resultados foram discutidos em termos da ecologia e comportamento dos epibiontes e dos hospedeiros.

Palavras-chave: Brasil. Colonização. Epibiose. Moluscos gastrópodes. Peritrichia.

## INTRODUÇÃO

A epibiose é um fenômeno tipicamente aquático que consiste na associação facultativa entre dois organismos, o epibionte e o basibionte, sendo considerado como epibionte organismos que durante a fase sésil de seu ciclo de vida colonizam a superfície de um substrato vivo e, como basibionte ou hospedeiro, organismos que servem de substrato aos epibiontes (WAHL, 1989). Essa relação pode ser oportunista e/ou facultativa, não havendo especificidade entre epibiontes e hospedeiros ou pode ser obrigatória, ocorrendo adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais entre os organismos envolvidos (COOK et al., 1998).

Alguns autores classificaram a especificidade dos epibiontes em relação ao hospedeiro em três grupos. Nos grupos 0 e I são enquadrados organismos que não estão restritos ao modo de vida epibiótico podendo colonizar uma ampla gama de substratos, sejam eles orgânicos ou não, móveis ou inertes. No grupo II estão organismos restritos ao modo de vida epibiótico e que apresentam especificidade ao hospedeiro em nível de filo, classe ou ordem. Já no grupo III, estão os epibiontes que exibem grau de especificidade maior se restringindo à família, gênero e até mesmo espécie do organismo basibionte (COOK et al., 1998; NENNINGER, 1948).

Além da especificidade ao hospedeiro, os organismos epibiontes também podem exibir preferência quanto ao sítio de localização na superfície do hospedeiro, buscando se estabelecer em regiões anatômicas que forneçam condições favoráveis ao seu desenvolvimento e que atendam às suas necessidades ecológicas, como facilidade de obtenção de alimento e de dispersão para outros habitats, melhores condições de oxigenação, proteção contra a predação e ao atrito resultante da movimentação do hospedeiro (COOK et al., 1998; FERNANDEZ-LEBORANS & GABILONDO, 2006; MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL, 2001).

Os ciliados peritríqueos podem viver como epibiontes sobre uma variedade de metazoários aquáticos como ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos, moluscos, peixes, girinos e cágados (BALDOCK, 1986; FOISSNER et al., 1992; GILBERT & SCHRÖDER, 2003; KAHL, 1935; LAIRD, 1959; MOSS et al., 2001; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004). A maior parte dos estudos que tratam da epibiose em moluscos gastrópodes são referentes a registros de anêmonas e poliquetas no ambiente marinho (BERTRÁN et al., 2005; BUSCHBAUM & REISE, 1999;



CHAN & CHAN, 2005; CULVER & KURIS, 2004; MERCIER et al., 2011, VASCONCELOS et al., 2007; WAHL & SÖNNICHSEN, 1992; WARNER, 1997), havendo escassez de estudos a respeito dessa relação entre ciliados peritríqueos e moluscos gastrópodes de água doce principalmente em ecossistemas neotropicais (DIAS et al., 2006, 2008; UTZ, 2007).

O molusco *Physa acuta* Draparnaud, 1805 é uma espécie de gastrópode pulmonado de água doce, originário da América do Norte, e amplamente distribuído por outras regiões da América e Europa devido à introdução para atividades de aquarismo (SEMENCHENKO et al., 2008). É encontrado em lagos e córregos onde se alimenta do perifíton aderido à vegetação aquática. Possui plasticidade fenotípica sendo capaz de alterar seu comportamento, morfologia e ciclo de vida em resposta a fatores ambientais, sendo por isso muito utilizado em testes ecotoxicológicos (MOUTHON & CHARVET, 1999; TURNER & MONTGOMERY, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo analisar a composição e estrutura da taxocenose de peritríqueos epibiontes em *P. acuta*, e investigar a distribuição espacial dos ciliados epibiontes sobre a concha dos hospedeiros.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados 140 espécimes de *P. acuta*, em junho de 2010, em uma estação amostral de um córrego urbano (Córrego Yung: 21° 43' 55.5"S, 43°19'35.1" W), localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Os espécimes foram coletados com um puçá e, acondicionados individualmente em frascos plásticos contendo água do local de coleta previamente filtrada em papel filtro (poro 14µm). Em laboratório, os moluscos foram colocados em placas de Petri, observados sob microscópio estereoscópio para quantificação e registro do sítio de localização das espécies de ciliados epibiontes. A quantificação de espécies coloniais foi feita considerando cada zoóide como um indivíduo.

Após contagem e determinação do sítio de localização os epibiontes foram raspados com uma agulha (25 x 0.7mm), triados com micropipetas e fotografados em microscópio de campo claro e contraste de fase.

Para o estudo da estrutura dos peritríqueos epibiontes de *P. acuta*, foram utilizados os descritores comunitários de prevalência, intensidade média e abundância média (BUSH et al., 1997), dominância relativa média (ROHDE et al., 1995), os índices de diversidade de Shannon-Wiever ( $H'$ ), dominância de Berger-Parker ( $d$ ) (MAGURRAN, 1988) e o índice de discrepância ( $D$ ) (POULIN, 1993) para determinar o padrão de distribuição dos epibiontes na população de moluscos.

Para determinar a distribuição de cada espécie de epibionte sobre a concha dos moluscos (sítios de localização), esta foi dividida em nove regiões situadas na superfície dorsal (regiões A-E) e ventral (regiões F-I) (Gráf. 6).

As medidas de comprimento das conchas dos moluscos foram aferidas com um paquímetro enquanto a área de cada uma das nove regiões da concha foi calculada com auxílio do programa Image Pro-plus 5.0 Olympus®, a partir de imagens das regiões ventral e dorsal dos moluscos obtidas por uma câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico.

A identificação dos peritríqueos epibiontes foi feita de acordo com os trabalhos de FOISSNER et al.(1992), KAHL (1935) e WARREN (1986) e a identificação dos moluscos foi realizada por especialista do Museu de Malacologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, conforme PARAENSE & POINTIER (2003).

Alguns moluscos com epibiontes foram fixados para realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme protocolo estabelecido por SILVA-NETO (1994).

Para verificar possíveis correlações entre a abundância e diversidade dos epibiontes com o tamanho dos hospedeiros foi utilizado o teste de regressão linear simples ( $p < 0.05$ ). Diferenças na abundância, densidade, diversidade e dominância de epibiontes entre as superfícies dorsais e ventrais da concha dos moluscos foram verificadas pelo testes de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) e entre as nove regiões em que a concha foi dividida para estabelecer o sítio de localização das espécies pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ). Os valores de abundância e densidade de epibiontes foram transformados em  $\log(x+1)$  a fim de se obter melhor representação gráfica desses parâmetros.

As análises estatísticas foram feitas utilizando os programas Past 1.49 (HAMMER et al. 2001), SPSS 17.0 (Chicago: SPSS Inc, 2008) e Quantitative Parasitology 3.0 (REICZIGEL & RÓZSA, 2005).

## RESULTADOS

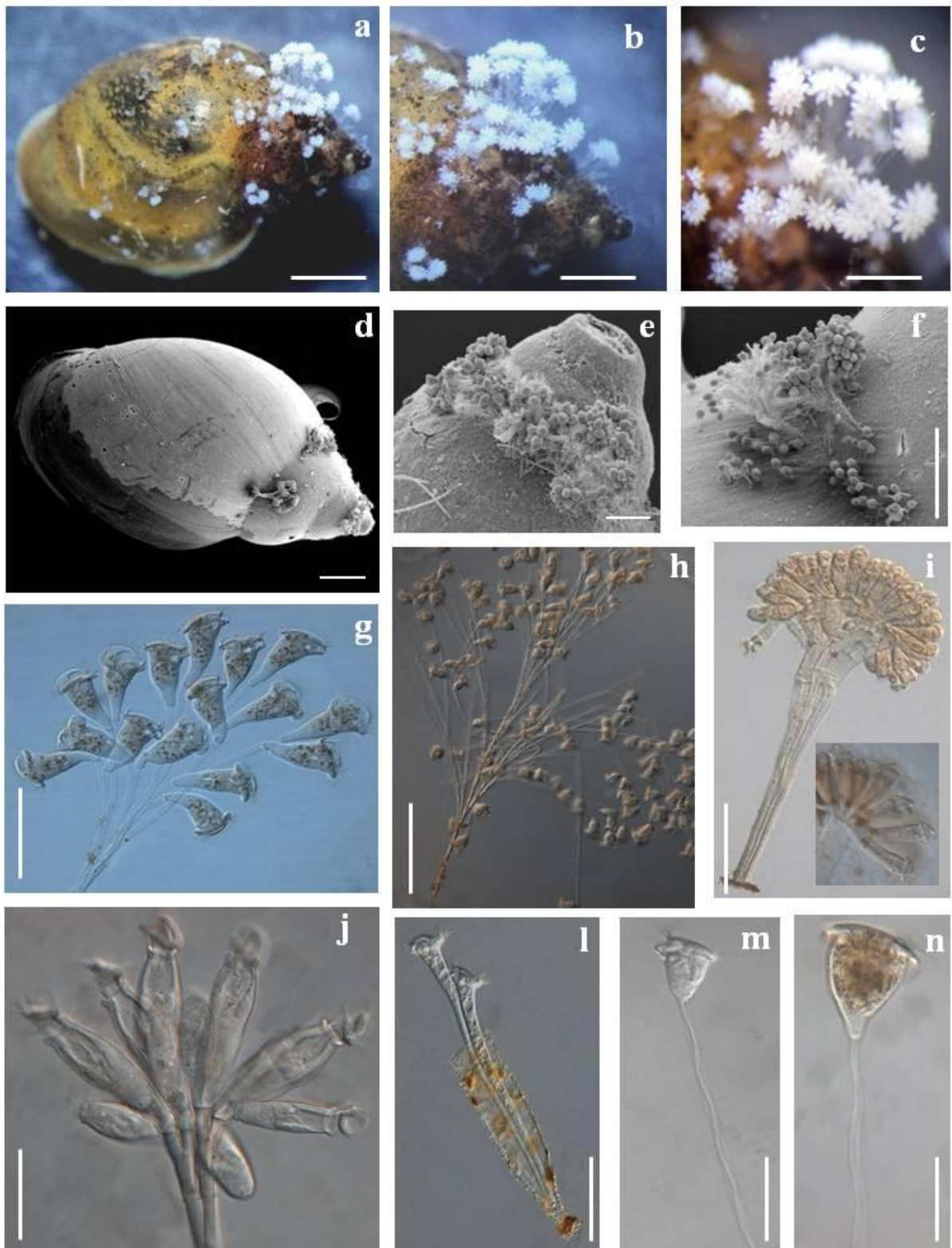
### 1. Composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos epibiontes

Dos 140 espécimes de *P. acuta* coletados, 85 (60.7%) estavam colonizados por ciliados peritríqueos, com intensidade média de 157 epibiontes/ molusco e amplitude de infestação de 1-2390 zoóides. A taxocenose de ciliados epibiontes de *P. acuta* era composta pelas espécies *Carchesium polypinum* (Linneaus, 1758), *Epistylis plicatilis* Ehrenberg, 1831, *Epistylis* sp., *Vorticella campanula* Ehrenberg, 1831, *Vorticella* sp., *Opercularia articulata* Goldfuss, 1820 e *Thuricola kellicottiana* (Stokes 1887) (Fotografia 4).

Os dados apresentados na tabela 3 demonstram que os maiores valores de prevalência foram observados para *Epistylis* sp. (58.57%), *Vorticella* sp. (14.28%) e *O. articulata* (13.57%) e os menores para *V. campanula* (7.85%), *E. plicatilis* (7.14%) e *T. kellicottiana* (1.42%). Com relação à abundância média os maiores valores ocorreram para *Epistylis* sp. (67.25 zoóides/molusco), *C. polypinum* (14.68 zoóides/molusco) e *O. articulata* (12.13 zoóides/molusco) e os menores em *E.plicatilis* (0.96 zoóides/molusco), *Vorticella* sp. (0.30 zoóides/molusco), *V. campanula* (0.15 zoóides/molusco) e *T. kellicottiana* (0.03 zoóides/molusco).

As maiores amplitudes de infestação (nº mínimo e máximo de zoóides) e intensidade média foram observadas para as espécies coloniais *Epistylis* sp. (intensidade média= 114.8 zoóides/molusco e amplitude de infestação= 4-2358), *C. polypinum* (intensidade média= 293.7 zoóides/ molusco e amplitude de infestação= 4-2031) e *O. articulata* (intensidade média= 89.4 zoóides/ molusco e amplitude de infestação = 2-623).

Quanto ao padrão de distribuição das espécies de epibiontes pela população de moluscos, a maioria das populações de ciliados epibiontes exibiu o padrão de distribuição agregada (índice de discrepância>0), ou seja, muitos ciliados epibiontes sobre poucos hospedeiros. *Epistylis* sp. foi a única espécie de ciliado epibionte que apresentou distribuição uniforme (índice de discrepância≈0), com espécimes ocorrendo em quase todos os hospedeiros, além de ter sido a única espécie dominante na população de fisídeos representando cerca de 70.4% (n=9415) da abundância total de ciliados epibiontes e apresentando o maior valor de dominância relativa (0.86, tab.3).



**Fotografia 4.** Fotos sob estereomicroscópio (a-c); eletromicrografia (f-g); fotomicrografia (a-c, g-n), dos peritríqueos epibiontes encontrados em *Physa acuta*, em um córrego urbano no sudeste do Brasil. a-c. Concha de *P. acuta* colonizada por ciliados peritríqueos (*in vivo*). d-f. Concha de *P. acuta* com peritríqueos epibiontes (MEV). g. *Epistylis plicatilis* (zoóides em detalhe) h. *Opercularia articulata*. i. *Epistylis* sp. j. *Carchesium polypinum*. l. *Thuricola kellicottiana*. m. *Vorticella* sp. n. *Vorticella campanula*. Barras: (a) 0,15 cm; (b) 1,5 mm; (c) 0,5 mm; (d) f. 0,15 cm; (e) 150  $\mu$ m; g-n) 25  $\mu$ m.

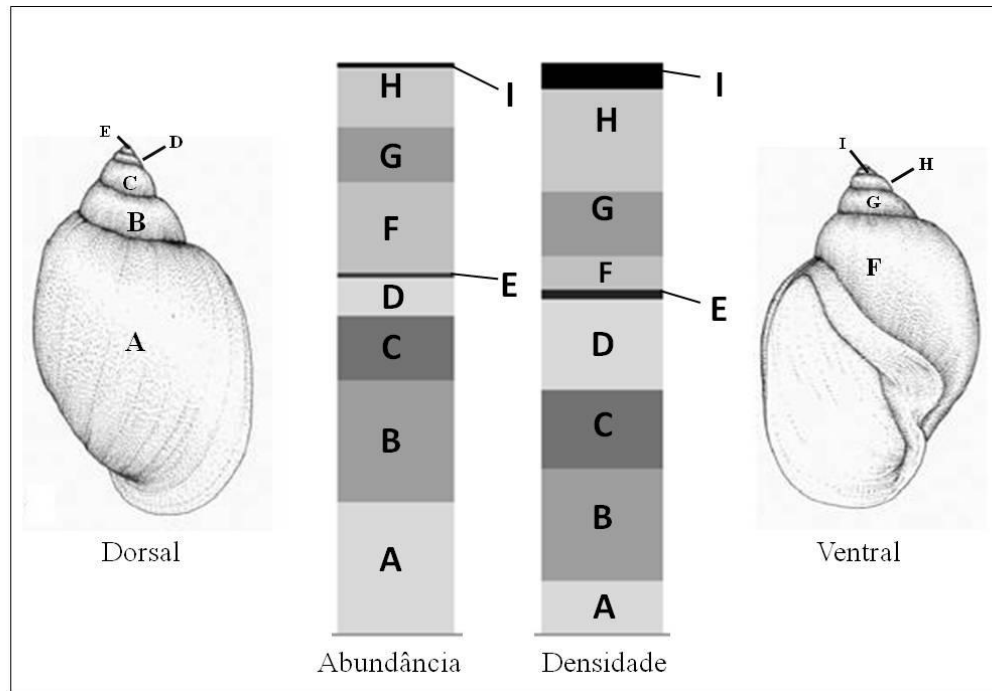
**Tabela 3.** Prevalência, intensidade, intensidade média, abundância média e índice de agregação das espécies de peritríqueos epibiontes de *Physa acuta* em um sistema lótico no sudeste do Brasil.

Espécie	Prevalência (%)	Amplitude de infestação	Intensidade média	Abundância média	Índice de discrepância	Dominância relativa
<i>Epistylis</i> sp.	58.57	4-2358	114.80	67.25 (±263.8)	0.04	0.86(±0.25)
<i>Vorticella</i> sp.	14.28	1-10	2.20	0.30 (±1.0)	0.96	0.05(±0.03)
<i>Opercularia articulata</i>	13.57	2-623	89.40	12.13 (±60.6)	0.76	0.06(±0.15)
<i>Vorticella campanula</i>	7.85	1-5	1.90	0.15 (±0.6)	0.84	0.01(±0.03)
<i>Epistylis plicatilis</i>	7.14	2-49	13.40	0.96 (±4.9)	0.76	0.01(±0.03)
<i>Carchesium polypinum</i>	5.00	4-2031	293.70	14.68 (±171.6)	0.89	0.01(±0.11)
<i>Thuricola kellicottiana</i>	1.42	1-3	2.00	0.03 (±0.3)	0.96	0.00

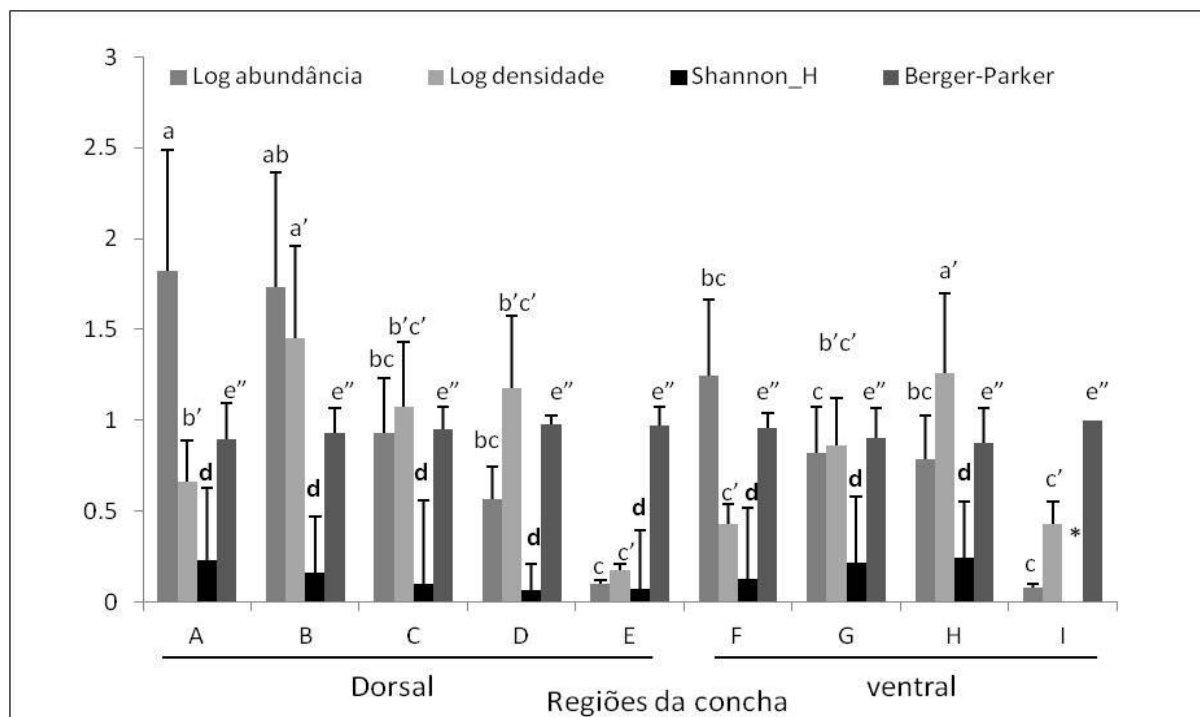
## 2. Distribuição dos epibiontes sobre a concha de *Physa acuta*

Os epibiontes distribuíram-se por toda a extensão das superfícies dorsal e ventral das conchas (Gráf. 6), ocorrendo em maior abundância ( $U=1729$ ,  $p=0.00$ ), densidade ( $U=2262$ ,  $p=0.00$ ) e diversidade ( $t=2.702$ ,  $p=0.008$ ) na superfície dorsal do que na ventral.

Quanto à distribuição dos peritríqueos pelos nove sítios da concha (A-I), a maior abundância de epibiontes foi encontrada nos sítios A (5995 zoóides) e B (4296 zoóides) na superfície dorsal e, nos sítios F (1421 zoóides), G (417 zoóides) e H (514 zoóides) na superfície ventral (Gráf. 7), tendendo ao decréscimo nas regiões situadas mais próximas ao ápice da concha, regiões C (565 zoóides) e D (219 zoóides) na superfície dorsal e regiões E (14 zoóides) e I (12 zoóides) na superfície ventral. O inverso foi observado para a densidade, que apresentou valores crescentes em direção à proximidade do ápice em consequência da menor área de superfície dessas regiões. Não foram observadas diferenças significativas ( $p=0.424$ ) nos valores do índice de diversidade entre nos sítios, porém elevados valores de dominância ocorreram em todos eles (Gráf. 7), indicando que em todos os sítios ao menos uma espécie ocorria com maior abundância e frequência.



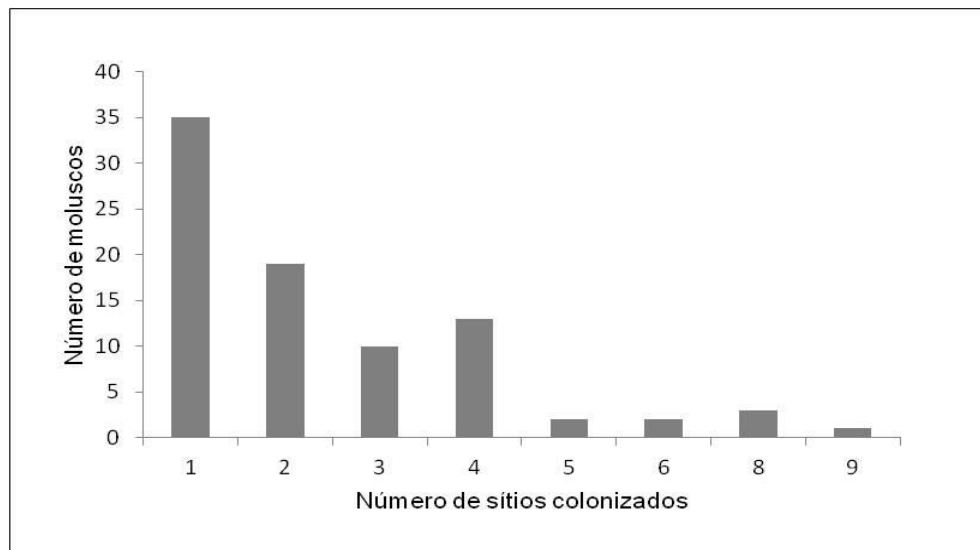
**Gráfico 6.** Distribuição da abundância e densidade de peritríqueos epibiontes nos nove sítios representados pelas letras A-I estabelecidos nas superfícies dorsal e ventral da concha de *Physa acuta*.



**Gráfico 7.** Gráfico da abundância (em log), densidade (em log), diversidade de Shannon, e dominância de Berger-Parker, dos peritríqueos nos nove sítios de colonização da concha de *Physa acuta*. (\*) região colonizada por poucas espécies e baixa abundância de epibiontes, apresentando  $H'=0$  e, por isso não representada no gráfico. Letras iguais indicam ausência de significância estatística entre os sítios.

### 3. Distribuição das espécies nos sítios da concha

Dos 85 moluscos colonizados apenas um possuía epibiontes em todos os sítios da concha, 77 moluscos possuíam de um a quatro sítios colonizados e os demais em cinco, seis ou oito sítios (Gráf. 8).

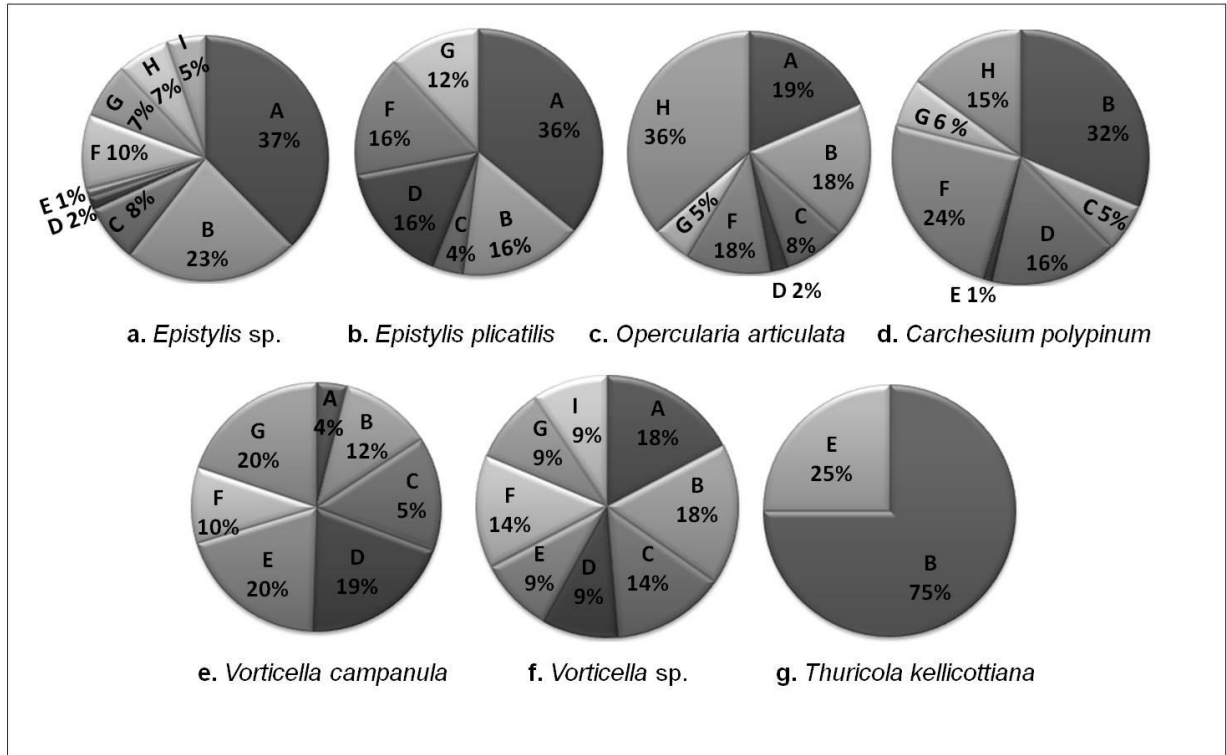


**Gráfico 8.** Número de sítios da concha de *Physa acuta* colonizados por peritríqueos epibiontes.

Das sete espécies de epibiontes encontradas *Epistylis* sp. e *C. polypinum* colonizaram todos os nove sítios da concha, *Vorticella* sp. oito, *V. campanula* e *O. articulata* sete, *E. plicatilis* seis e *T. kellicottiana* dois (Gráf. 8a-g).

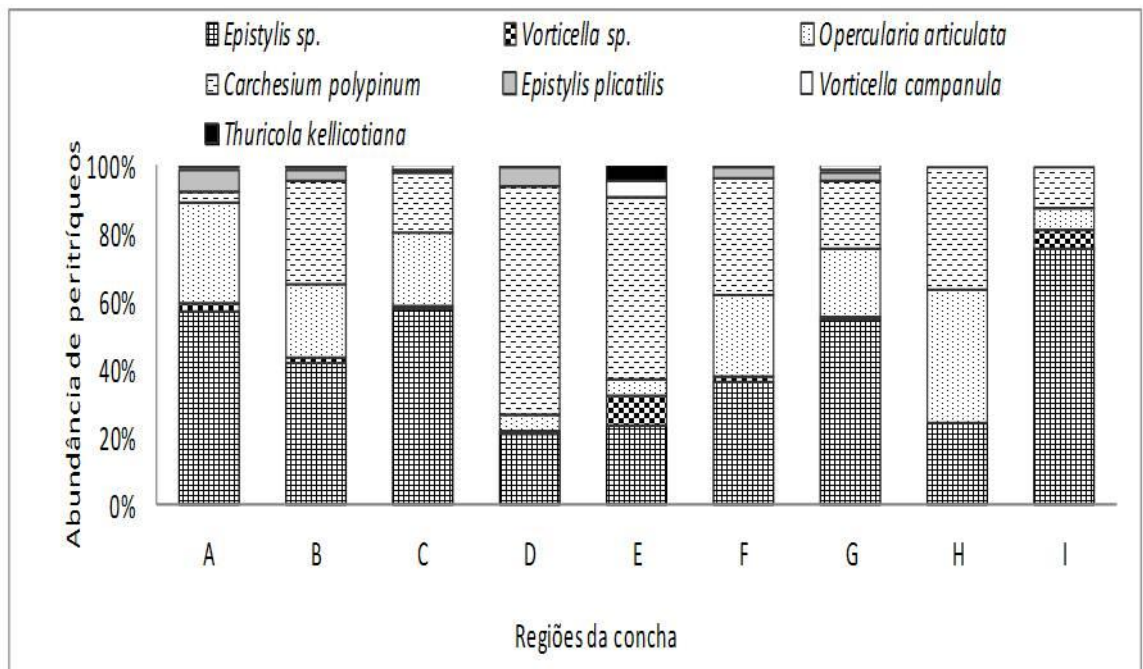
As espécies *Vorticella* sp. e *V. campanula* (Gráf. 9f, e) distribuíram-se mais uniformemente pelos sítios colonização do que *Epistylis* sp. e *E. plicatilis*, que colonizaram mais intensamente a região A (37% e 36%, respectivamente) (Gráf. 9 a, b), *C. polypinum* ocorreu com maior abundância na região B (32%) e *O. articulata* na região H (36%) (Gráf. 9 c). *T. kellicottiana* foi encontrado somente nos sítios B e E, ocorrendo com maior abundância em B (75%) (Gráf. 9g).





**Gráfico 9.** Ocorrência das espécies de peritríqueos epibiontes (em porcentagem) de acordo com o sítio de localização na concha de *Physa acuta*. **a.** *Epistylis* sp.; **b.** *Epistylis plicatilis*; **c.** *Opercularia articulata*; **d.** *Carchesium polypinum*; **e.** *Vorticella campanula*; **f.** *Vorticella* sp.; **g.** *Thuricola kellicottiana*.

As espécies *Epistylis* sp., *O. articulata* e *C. polypinum* foram as que mais contribuíram, em termos de abundância, para a composição de epibiontes nos sítios de localização nas conchas dos fisídeos e *Vorticella campanula* e *T. kellicottiana* as de menor contribuição em termos de abundância (Gráf. 10).



**Gráfico 10.** Abundância das espécies de peritríqueos epibiontes (em porcentagem) nas diferentes regiões da concha de *Physa acuta*.

## DISCUSSÃO

### Composição e prevalência da taxocenose epibiótica

A composição das espécies de peritríqueos colonizadores de *Physa acuta* mostrou-se similar às encontradas em estudos com gastrópodes ampularídeos (DIAS et al., 2006, 2008). Embora estudos que tratem da relação epibiótica entre ciliados epibiontes e moluscos gastrópodes dulcícolas sejam escassos, no Brasil há relatos da ocorrência de ciliados peritríqueos e suctórios como epibiontes em *Pomacea lineata* (DIAS et al., 2006), do peritríqueo *Epistylis plicatilis* como epibionte de *Pomacea canaliculata* (UTZ, 2007) e das espécies *Vorticella campanula*, *Epistylis plicatilis*, *Opercularia* sp., *Vorticella microstoma*, *Epistylis* sp. e *Carchesium polypinum* em *Pomacea figulina* em um córrego urbano eutrofizado (DIAS et al., 2008).

Nenhuma das espécies de peritríqueos registradas em *P. acuta* no presente estudo demonstraram especificidade restrita ao hospedeiro. As espécies *C. polypinum*, *E. plicatilis*, *V. campanula* e *T. kellicottiana* já foram registradas em ampla variedade substratos vivo e inertes (COOK et al., 1998; FOISSNER, 1992; KAHL, 1935; LAIRD, 1959; RISSE-BUHL & KUSSEL, 2009; SZLAUER-LUKASZEWSKA, 2007; UTZ, 2007) e, *Epistylis* sp. e *Vorticella* sp. foram observadas colonizando substratos artificiais dispostos no mesmo córrego em que foram coletados os fisídeos do presente estudo (ver seção I). Desse modo, todas as espécies encontradas podem ser enquadradas, de acordo com a classificação de NENNINGER (1948) e COOK et al. (1998), no grupo das que não se restringem ao hábito epibiótico (grupo 0 ou 1).

Os elevados valores de prevalência de ciliados epibiontes registrados para gastrópodes ampularídeos, como *Pomacea lineata* (100%) (DIAS et al. 2006), *Pomacea figulina* (82.6%) (DIAS et al., 2008) e *Physa acuta* (60.7%, presente estudo) sugerem que moluscos gastrópodes possam ser tolerantes ao estabelecimento de epibiontes, possuindo pouca ou nenhuma estratégia anticolonização. De acordo com WAHL (1989) espécies que secretam conchas de composição orgânica ou mineral podem tolerar a colonização quase que irrestrita de sua superfície. Em alguns casos, a tolerância pode ser tão elevada que organismos ativos

podem chegar a ter o corpo quase que totalmente coberto por epibiontes, com exceção de alguns orifícios do corpo como a borda da concha, tubos, sífões e órgãos sensoriais externos.

Em estudo sobre a colonização da concha do gastrópode marinho *Littorina littorea* por barnáculos, poliquetas, ciliados e algas (WAHL & SÖNNICHSEN, 1992), observações em campo e em laboratório, demonstraram que a prevalência de infestação de epibiontes apresentava correlação inversa com a densidade populacional do molusco. Tais autores observaram que *L. littorea* não possuía mecanismos efetivos de defesa química, física ou mecânica contra a colonização. Entretanto, os fatores controladores da colonização estavam associados à densidade populacional dos moluscos, uma vez que, quando em densidades elevadas, os moluscos exibiam o comportamento de “caminhar” sobre as conchas uns dos outros, podendo causar a remoção mecânica e destruição dos epibiontes durante a movimentação do molusco, bem como depositar grande quantidade de muco sobre eles, impossibilitando a alimentação de espécies de epibiontes portadoras de estruturas como os cílios. Além da remoção de epibiontes por movimentação dos moluscos uns sobre os outros e da ação do muco, outra possível consequência do comportamento agregativo desses organismos pode ser a predação mútua de epibiontes, em que os moluscos, ao se alimentarem de organismos aderidos às conchas uns dos outros, acabam contribuindo no controle da colonização (RILOV, 2004).

Durante a coleta dos espécimes de *P. acuta*, foi observada a ocorrência de comportamento agregativo desses moluscos que frequentemente caminhavam por cima das conchas uns dos outros. Este fato sugere que, assim como em *L. littorea*, o comportamento agregativo desses moluscos pode constituir-se em fator controlador da intensidade de colonização e que, na ausência desse tipo de comportamento, a prevalência de infestação de peritríqueos em *P. acuta* pudesse atingir valores mais elevados do que o registrado no presente estudo.

A elevada prevalência de epibiontes encontrada no presente estudo pode também estar relacionada às condições eutróficas do córrego Yung, onde os moluscos foram coletados. Esse córrego urbano recebe despejo direto de esgoto doméstico *in natura* ao longo de seu curso, apresentando concentração de nutrientes e de oxigênio favoráveis ao desenvolvimento da taxocenose de ciliados peritríqueos (ver seção I). Tal associação epibiótica pode ser utilizada como indicadora de poluição orgânica do ambiente, conforme demonstrado por CABRAL et al. (2010), HENEBRY & RIDGEWAY (1979) e XU (1992) que observaram que prevalência de infestação e a abundância de epibiontes em invertebrados aquáticos era bem mais elevada em ambientes eutrofizados do que nos oligotróficos. HENEBRY & RIDGEWAY (1979)

propuseram o uso da prevalência de organismos planctônicos colonizados por epibiontes como um indicador útil e rápido do enriquecimento orgânico de um ambiente.

A dominância de espécies é uma característica comum da taxocenose de peritríqueos, e geralmente, as espécies são aquelas que formam colônias ou pseudocolônias (COOK, 1998). O predomínio do ciliado colonial *Epistylis* sp. em relação a outras espécies coloniais (*E. plicatilis* e *O. articulata*) e pseudocolônias (*V. campanula*) da taxocenose epibiótica pode estar relacionada a taxa de colonização (zoóides/colônia) possivelmente mais elevadas dessa espécie em comparação com as demais, bem como com as condições físico-químicas do ambiente, como concentrações de nutrientes e oxigênio, favoráveis ao desenvolvimento dessa espécie de ciliado peritríqueo, como demonstrado na seção 1 em que tal espécie foi considerada indicadora do ambiente em que foi encontrada (córrego Yung).

O tamanho e textura da concha são características importantes que podem afetar o processo de colonização da superfície de moluscos. Normalmente, conchas maiores possuem maior abundância e diversidade de espécies de epibiontes do que as menores, por serem substratos disponíveis a mais tempo no ambiente (CREED, 2000; GUTIÉRREZ et al., 2003; VASCONCELOS et al, 2007; WARNER, 1997). Com relação à textura, conchas com superfícies ásperas e irregulares podem ser mais favoráveis ao assentamento de larvas de epibiontes do que as de superfície lisa (OLABARRIA, 2000; WARNER, 1997), fornecendo microhabitats de refúgio para os epibiontes e maior superfície de adesão possibilitando a adesão firme desses organismos e resistência do epibionte a danos mecânicos resultantes da abrasão. Embora as conchas de *P. acuta* não possuam ornamentações, as concavidades das suturas presentes entre as voltas da espira podem criar microhabitats adequados ao estabelecimento de peritríqueos epibiontes.

### **Sítio de localização**

A escolha de sítios de localização no corpo do basibionte normalmente não ocorre de forma aleatória, mas é determinada pelas necessidades ecológicas do epibionte, bem como pelo comportamento, biologia e fisiologia do basibionte. Os peritríqueos epibiontes tendem a colonizar com maior frequência regiões expostas a um maior suprimento de oxigênio e alimento, e que forneçam proteção contra danos mecânicos da abrasão causada pela

movimentação dos hospedeiros (COOK et al., 1998; DIAS et al., 2009; HANAMURA, 2000; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004; UTZ & COATS, 2005).

Ao colonizarem a superfície de basibiontes com corpos segmentados tal como crustáceos, os peritríqueos tendem a se estabelecer em regiões de baixa mobilidade como o cefalotórax e o abdômen (UTZ & COATS, 2005), e com maior adesão e oxigenação como antenas, antênulas e pereiópodes (MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL, 2001), e sujeitas à menor abrasão durante a movimentação do basibionte como a região ventral em anfípodes (FERNANDEZ-LEBORANS et al. 2006).

Embora a concha de moluscos da espécie *Physa acuta* não apresente tantas especializações morfológicas como o corpo de crustáceos, foi observada colonização diferencial entre os sítios da região dorsal e ventral da sua concha de *P. acuta*. A menor abundância de peritríqueos na região ventral pode ser consequência da intensa produção de muco pela glândula pedal e do contato e atrito constantes dessa região com o pé muscular e com o substrato durante a locomoção do fisídeo. A produção de muco pode configurar um tipo de defesa mecânica do basibionte contra o processo de colonização. Devido ao seu caráter fluído, o muco pode impedir os epibiontes de aderirem firmemente à concha do basibionte e também impossibilitar o batimento de cílios e flagelos podendo comprometer ou reduzir algumas atividades do epibionte como a captação de alimentos por filtração (WAHL, 1989; WAHL & SÖNNICHSEN, 1992).

Apesar da ocorrência de peritríqueos epibiontes em quase todas as regiões da superfície das conchas de *P. acuta*, algumas espécies exibiram distribuição mais concentrada em sítios situados na região da espira (regiões B-E e G-I) do que na volta corporal da concha (regiões A e F). Tal diferença na distribuição dos epibiontes pode ser determinada por diferenças na superfície de adesão entre as regiões da concha fornecendo proteção à abrasão e posicionamento hidrodinamicamente favorável.

As associações epibióticas podem modificar as interações do basibionte com o meio em que ele vive atuando como agente controlador da população de hospedeiros comprometendo a sua fecundidade e sobrevivência (GILBERT & SCHRÖDER, 2003; HENEBRY & RIDGEWAY, 1979; WAHL, 1989; WAHL et al. 1997). A elevada intensidade de infestação, com mais de 2000 zoóides de peritríqueos epibiontes em alguns casos, pode reduzir a velocidade de locomoção do molusco, devido ao aumento da superfície de atrito com a água e do sobrepeso. A presença de formas coloniais, que podem atingir mais de 2 mm de comprimento, pode aumentar a visibilidade dos fisídeos aos predadores tornando-os mais susceptíveis à predação.

Em ambientes aquáticos densamente povoados a elevada competição por espaço torna vantajosa a ocupação de substratos vivos. Como observado no presente estudo, parte representativa da diversidade e abundância de ciliados peritríqueos ocorreu como epibionte de moluscos em ambiente eutrofizado, demonstrando a importância de se analisar também taxocenose epibiótica em estudos sobre a composição e estrutura da taxocenose desses ciliados.

Apesar da importância dos moluscos gastrópodes para a manutenção da diversidade de ambientes aquáticos, servindo como substrato para adesão e refúgio à predação e ao estresse físico e fisiológico para organismos epibiontes, são poucos os estudos que abordam os aspectos quantitativos e ecológicos da interação entre moluscos gastrópodes e protistas ciliados epibiontes. No presente trabalho, foi observado que *P. acuta* constitui um microambiente favorável à colonização por ciliados peritríqueos epibiontes.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a poluição orgânica influencia a composição e estrutura da taxocenose de ciliados em ambientes lóticos com gradiente de poluição orgânica de modo que:

- 1) Os parâmetros abundância, densidade e índice de dominância de peritríqueos tendem a aumentar de acordo com o grau de trofia do ambiente, apresentando baixos valores em ambientes oligotróficos e elevados valores em ambientes eutróficos, podendo ser considerados boas métricas na detecção de gradiente de poluição orgânica.
- 2) Valores elevados de riqueza e diversidade de peritríqueos caracterizam ambientes mesotróficos, ou seja, com níveis intermediários de poluição orgânica e valores elevados do índice de dominância caracterizam ambientes eutróficos, com níveis elevados de poluição orgânica.
- 3) A elevada abundância e a frequência de ocorrência de peritríqueos das espécies *Opercularia articulata*, *Platycola decumbens*, *Pseudovorticella chlamydophora* e *Thuricola kellicottiana* indicam que o ambiente é mesotrófico enquanto que a elevada abundância e frequência de *Carchesium polypinum* indicam que o ambiente avaliado apresenta níveis elevados de poluição orgânica.
- 4) Parte representativa da composição e estrutura da taxocenose de ciliados peritríqueos em ambientes lóticos pode ser encontrada colonizando invertebrados aquáticos, tal como foi observado no presente estudo que registrou elevada prevalência, diversidade e, principalmente abundância de ciliados peritríqueos como epibiontes no molusco gastrópode *Physa acuta*.
- 5) A elevada prevalência de peritríqueos em *P. acuta* demonstra que esses moluscos não apresentam mecanismos anticolonização efetivos e constituem um microambiente favorável ao estabelecimento e desenvolvimento de ciliados peritríqueos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDOCK, B. M. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Trichoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. **Hydrobiologia**, v. 132, p. 125-131, 1986.
- BEECH, C. D.; LANDERS, S. C. Ciliated protozoan colonization of substrates from Dauphin Island, Alabama. **European Journal of Protistology**, v. 38, p. 83-89, 2002.
- BERTRÁN, C.; VARGAS, L.; QUIJÓN, P. Infestation of *Polydora rickettsi* (Polychaeta: Spionidae) in shells of *Crepidula fecunda* (Mollusca: Calyptraeidae) in relation to intertidal exposure at Yaldad Bay, Chiloe, Chile. **Scientia Marina**, v. 69, n. 1, p. 99-103, 2005.
- BUSCHBAUM, C.; REISE, K. Effects of barnacle epibionts on the periwinkle *Littorina littorea* (L.). **Helgoland Marina Research**, v. 53, p. 56-61, 1999.
- BUSH, A. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n.4, p. 575-583, 1997.
- CABRAL, A. F. et al. Spatial and temporal occurrence of *Rhabdostyla cf. chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) as an epibiont on chironomid larvae in a lotic system in the neotropics. **Hydrobiologia**, v. 644, p. 551-559, 2010.
- CALLISTO, M., et al. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). **Acta Limnologica Brasiliensis**, v.14, n. 1, p. 91-98, 2002.
- CHAN, D. H. L.; CHAN, B. K. K. Effect of epibiosis on the fitness of the sandy shore snail *Batillaria zonalis* in HongKong. **Marine Biology**, v. 146, p. 695-705, 2005.
- CONTE, C.; ROSSA-FERES, C. Diversidade e ocorrência da anurofauna (Amphibia, Anura) em São José dos Pinhais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 1, p. 162-175, 2006.

COOK, J. A.; CHUBB, J. C.; VELTKAMP, J. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. **Freshwater Biology**, v. 39, p. 423-438, 1998.

COPPELLOTTI, O.; MATARAZZO, P. Ciliate colonization of artificial substrates in the Lagoon of Venice. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 80, p. 419-427, 2000.

CORLISS, J.O. **The ciliated protozoa**. Pergamon Press, London, 455p, 1979.

CREED, J. C. Epibiosis on cerith shells in a seagrass bed: correlation of shell occupant with epizoite distribution and abundance. **Marine Biology**, v.137, p. 775–782, 2000.

CULVER, C. S.; KURIS, A. M. Susceptibility of California gastropods to an introduced South African sabellid polychaete, *Terebrasabella heterouncinata*. **Invertebrate Biology**, v.123, n. 4, p. 316-323, 2004.

DIAS, R. J. P. et al. Occurrence of peritrich ciliates on Limnic ologochete *Limnodrilus hoffmeisteri* in Neotropic. **Journal of Natural History**, v. 43, p. 1-15, 2009.

DIAS, R. J. P. et al. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, p. 783-785, 2007.

DIAS, R. J. P.; D'ÁVILA, S.; D'AGOSTO, M. First Record of Epibionts Peritrichids and Suctorians (Protozoa, Ciliophora) on *Pomacea lineata* (Spix, 1827). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 5, p. 807-812, 2006.

DIAS, R. J. P.; D'ÁVILA, S.; WIELOCH, A. H.; D'AGOSTO, M. Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of southeast Brazil. **Journal of Natural History**, v. 42 n. 19–20, p. 1409–1420, 2008.

DIECKMANN, J., An improved protargol for ciliates yielding reproducible results.

**European Journal of Protistology**, v. 31, p. 372-382, 1995.

DOMÈNECH, R. et al. Effects of short-term nutrient addition on microfauna density in a Mediterranean stream. **Hydrobiologia** v. 568, p. 207–215, 2006.

DOPHEIDE, A. et al. Relative diversity and community structure of ciliates in stream biofilms according to molecular and microscopy methods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 165261-5272, 2009.

FARREN, M. H.; DONOVAN, D. A. Effects of sponge and barnacle encrustation on survival of the scallop *Chamys hastate*. **Hydrobiologia** v. 612, p. 21-27, 2007.

FENCHEL, T. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus* J.G. Fabricius. **Ophelia**, v. 2, p. 281-303, 1965.

FERNANDEZ-LEBORANS, G.; CORDOBA, M. J. H.; DEL ARCO, P. G. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda, Brachyura). **Invertebrate Biology**, v.116, n. 3, p. 171-177, 1997.

FERNANDEZ-LEBORANS, G.; GABILONDO, R. Taxonomy and distribution of hydrozoan and protozoan epibionts on *Pagurus bernhardus* (Linnaeus, 1758) (Crustacea, Decapoda) from Scotland. **Acta Zoologica**, v. 87, p. 33-48, 2006.

FERNANDEZ-LEBORANS, G.; TATO-PORTO, M. L. Distribution of the *Ophryodendron mysidacii* (Ciliophora, Suctoria) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). **Journal of Natural History**, v. 36, p. 505-513, 2002.

FERNANDEZ-LEBORANZ, G.; ARNDT, C. E.; GABILONDO, R. Protozoan epibionts and their distribution on the Arctic ice-amphipod *Gammarus wilkitzkii* from Spitsbergen, Norway. **Arctic, Antarctic and Alpine Research**, v. 38, n. 3, p. 343-356, 2006.

FERNANDEZ-LEBORANZ, G.; NOVILLO, A. Protozoan communities and contamination of several fluvial systems. **Water Environmental Research**, v. 68, n. 3, p. 311-319, 1996.

FOISSNER, W.; BERGER, H. A "User-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrologists as bioindicators in rivers, lakes and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology**, v. 35, p. 375-498, 1996.

FOISSNER, W.; BERGER, H.; KOHMANN, F. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems- Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida.** vol 5/92. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft. Munich 502, 1992.

FOISSNER, W.; CHAO, A.; KATZ, L. A. Diversity and geographic distribution of ciliates (Protista: Ciliophora). **Biodiversity and Conservation**, v. 17, p. 345-363, 2008.

FRIED, J. et al. Monitoring protozoa and metazoa biofilm communities for assessing wastewater quality impact and reactor up-scaling effects. **Water Science and Technology**, v. 41, p. 309:316, 2000.

GILBERT, J. J.; SCHRÖDER, T. The ciliate epibiont *Epistylis pigmaeum*: selection for zooplakton hosts, reproduction and effect on two rotifers. **Freshwater Biology**, v. 48, p. 878-896, 2003.

GONG, J.; SONG, W.; WARREN, A. Periphytic ciliate colonization: annual cycle and responses to environmental conditions. **Aquatic Microbiology and Ecology**, v. 39, p. 159-170, 2005.

GROLIÈRE, C.; CHAKLI, R.; SPARAGANO, O. Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les ciliés à l'étude de la qualité des eaux de un rivière. **European Journal of Protistology**, v. 25, p. 381-390, 1990.

GUEVARA-CARDONA, G.; RINOSO-FLÓREZ, G.; VILLA-NAVARRO, F. Comunidad de invertebrados Del perifiton Del rio Combeima (Tolima, Colombia). **Revista Tumbaga**, v.1, p. 43-54, 2006.

GUTIÉRREZ, J. et al. Mollusks as ecosystem engineers: the role of the shell production in aquatic habitats. **Oikos**, v. 101, p. 79-90, 2003.

HANAMURA, Y. Seasonality and infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaeomysis articulate*. **Hydrobiologia**, v. 427, p. 121-127, 2000.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, 9 pp, 2001.

HARMSWORTH, G. C.; SLEIGH, M.; BAKER, J. H. The abundance of different peritrich on stone surfaces in contrasting lowland streams throughout the year. **Journal of Protozoology**, v. 39, n.1, p. 58-65, 1992.

HENEGBRY, M.S; RIDGEWAY, B.T. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. **Transactions of the American Microscopical Society**, v. 98, n. 4, p. 495-508, 1979.

HOLEN, D. A. The relative abundance of mixotrophic and heterotrophic ciliates in an oligotrophic lake. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 150, p. 1-5, 2000.

KAHL, A. **Peritrichia und Chonotricha**, p. 651-885. *In*: Urtiere Oder Protozoa. Deutschlands, G. Fischer, 1935.

KLEIN, B. N. The "dry" silver method and its proper use. **Journal of Protozoology** v. 5, p. 99-103, 1958.

KOLKWITZ, R & MARSSON, K. 1908. Okologie der pflanzlichen Saprobien. *In*: FOISSNER, W. Evaluating water quality using protozoa and saprobity indexes, *In*: LEE, J.J. & A.T. SOLDI (Eds.).B-11.1-B11.20. **Protocols in Protozoology**. Society of Protozoologists. 1992.

LAIRD, M. Parasites of Singapore mosquitoes with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology**, v. 40, p. 206-221, 1959.

LATUF, M. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia**, v.13, n.1, p. 18-55, 2003.

LI, J. et al. Colonization of periphytic ciliated protozoa on an artificial substrate in mariculture waters with notes on responses to environmental factors. **Progress in Natural Science**, v. 19, p. 1235-1240, 2009.

LYNN, D.H. **The ciliated Protozoa: characterization, classification and guide to the literature**. 3. ed. Berlin: Springer, p. 428-435, 2008.

MADONI, P. Ciliated protozoans communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia**, v. 541, p. 55-69, 2005.

MADONI, P., BASSANINI, N. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology**, v. 35, p. 391-402, 1999.

MADONI, P.; BRAGHIROLI, S. Changes in the ciliate assemblage along a fluvial system related to physical, chemical and geomorphological characteristics. **European of Protistology**, v. 43, p. 67-75, 2007.

MAGURRAN, A.E. **Ecological Diversity and Its Measurement**. Princeton, Princeton University Press, 179p., 1988.

MARQUES, M. M.; F. BARBOSA. Na fauna do fundo, o retrato da degradação. **Ciência Hoje**, v. 175, p. 72-75, 2001.

MAYÉN-ESTRADA, R.; ALADRO-LUBEL, M. A. Epibiont peritrichids (Ciliophora: Peritrichida: Epistylididae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. **Journal of Crustacean Biology**, v. 21, n. 2, p. 426-434, 2001.

Mc CUNE, B.; MEFFORD, M. J. **Multivariate Analysis do Ecological Data**. Version 3.04. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, USA, 2002

MERCIER, A.; SCHOFIELD, M.; HAMEL, J.F. Evidence of dietary feedback in a facultative association between deep-sea gastropods and sea anemones. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 396, p. 207–215, 2011.

MINATTI-FERREIRA, D. D. ; BEAUMORD, A. C. Adequação de um protocolo de avaliação rápida de integridade ambiental para ecossistemas de rios e riachos: Aspectos físicos. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 39-47, 2006.

MOSS, A. G. et al. Protistan epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. **Hydrobiologia**, v. 451, p. 295-304, 2001.

MOUTHON, J; CHARVET, S. Compared sensitivity of species, genera and families of Molluscs to biodegradable pollution. **Annales de limnologie**, v. 35, n. 1, p. 31-39, 1999.

NENNINGER, U. Die Peritrichen der Umgebung von Erlangen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Wirtsspezifität. **Zoologische Jahrbuecher**. Abteilung fuer Systematic Oekologie und Geographie der Tiere. Germany, v. 77, n. 3-4, p. 169-266, 1948.

NOLAND, L.E.; GOGJICS, M. **Ecology of free-living Protozoa**. In . Chen, TT ed, Research in Protozoology, 12 Pergamon Press, London, p. 215-266, 1967.

OLABARRIA, C. Epibionts molluscs on neogastropod shell from sandy bottoms, Pacific coast of Mexico. **Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 80, p. 291-298, 2000.

PARAENSE, L. W.; POINTIER, J. P. *Physa acuta* Draparnaud, 1805 (Gastropoda: Physidae): a Study of Topotypic Specimens. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n.4, p. 513-517, 2003.

PATTERSON, D. J. **Free-living freshwater protozoa: a color guide**. John Wiley & Sons, USA, 1996.

PDDU/JF, PREFEITURA DE JUIZ DE FORA. **Plano Diretor de Desenvolvimento Urbano de Juiz de Fora**. Juiz de Fora: FUNALFA, 2004.

- PICCINNI, E.; GUTIÉRREZ, J. Protists as bioindicators in the environment. **Protistological Actualities**, v. 1, p. 173-184, 1995.
- POULIN, R. The disparity between observed and uniform distributions: a new look at parasite aggregation. **International Journal for Parasitology**, v. 23, p. 937-944, 1993.
- REGALI- SELAGHIM, M. H.; GODINHO, M. J. L. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic system (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research**, v. 26, n. 5, p. 501-508, 2004.
- REICZIGEL, J.; RÓZSA, L. **Quantitative Parasitology 3.0**. Budapest. Distributed by the authors. 2005.
- RILOV, G.; BENAYAHU, Y.; GASITH, A. Life on the edge: do biomechanical and behavioral adaptations to wave-exposure correlate with habitat partitioning in Predatory whelks? **Marine Ecology Progress Series**, v. 282, p. 193–204, 2004.
- RISSE-BUHL, U.; KÜSSEL, K. Colonization dynamics of biofilm-associated ciliate morphotypes at different flow velocities. **European Journal of Protistology**, v. 45, p. 64-76, 2009.
- RODRIGUES, A. S. L.; CASTRO, P. T. A. Protocolos de Avaliação Rápida: Instrumentos Complementares no Monitoramento dos Recursos Hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 1, p. 161-170, 2008.
- ROHDE, K., CRAIG, H., HEAP, M. Aspects of ecology of metazoan ectoparasites of marine fishes. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 8, p. 945-970, 1995.
- SALVADÓ, H., GRACIA, M.; AMIGÓ, J. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. **Water Research**, v. 29, n. 4, p. 1041-1050, 1995.



SEMENCHENKO, V.; LAENKO, T.; RAZLUTSKIJ, V. A new record of the North American gastropod *Physella acuta* (Draparnaud 1805) from the Neman River Basin, Belarus. **Aquatic Invasions**, v. 3, n.3, p. 359-360, 2008.

SENLER, N. G.; YILDIZ, I. Faunistic and morphological studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from a small pond, with responses of ciliate populations to changing environmental conditions. **Turkey Journal of Zoology**, v. 28, p. 245-265, 2004.

SPARAGANO, O.; GROLIÈRE, C. A. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Appliquée**, v.1, p. 43-62, 1991.

SHEPHERD, G.J. **Fitopac 2: manual do usuário**. Campinas: Unicamp, 1994.

SILVA-NETO, I. D. Observations sur l'ultrastructure de cilié hétérotrophe, *Licnophora auerbachi* Cohn, 1866, épibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles Zoologie**, Paris, v. 15, p. 49-62, 1994.

SONG, W. et al. Ecological studies on Aufwuchs ciliates from a eutrophic freshwater ponds, In Song W. (ed.) **Progress in Protozoology**. Quindao: Quindao Ocean University Press, p. 325-362, 1999.

STREBLE, H.; KRAUTER, D. **Atlas de los microorganismos de agua Dulce**. Ediciones Omega, Barcelona, 367p., 1987.

SZLAUER-LUKASZEWSKA, A. Succession of periphyton developing on artificial substrate immersed in polysaprobic wastewater reservoir. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 16, n. 5, p. 753-762, 2007.

TURNER, A. M.; MONTGOMERY, S. L. Hydroperiod, predators and the distribution of physid snails across the freshwater habitat gradient. **Freshwater Biology**, v. 54, p. 1189-1202, 2009.

UTZ, L. R. P. Attachment of the peritrich epibiont *Zoothamnium intermedium* Precht, 1935 (Ciliophora, Peritrichia) to artificial substrates in a natural environment. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p. 795-798, 2008.

UTZ, L. R. P. First record of *Epistylis plicatilis* (Ciliophora:Peritrichia) attached to *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Gastropoda) in southern Brazil. **Zootaxa**, v.1454, p. 49-57, 2007.

UTZ, L. R. P.; COATS, D. W. Spatial and Temporal Patterns in the occurrence of Peritrich Ciliates as Epibionts on Calanoid Copepods in the Chesapeake Bay, USA. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 236-244, 2005.

VASCONCELOS, P. et al. The shell of *Hexaplex* (Trunculariopsis) *trunculus* (Gastropoda:Muricidae) as a mobile hard substratum for epibiotic polychaetes (Annelida:Polychaeta) in the Ria Formosa (Algarve coast-southern Portugal). **Hydrobiologia**, v. 575, p. 161-172, 2007.

VERNI, F.; GUALTIERI, P. Feeding behavior in ciliated protists. **Mícron**, v. 28, n. 6, p. 487-504, 1997.

VIEIRA, D. B.; SHIBATTA, O. A. Peixes como indicadores da qualidade ambiental do ribeirão Esperança, município de Londrina, Paraná, Brasil. **Biota Neotropical**, v. 7, n. 1, p. 57-65, 2007.

WAHL, M; HAY, M. E.; ENDERLEIN, P. Effects of epibiosis on consumer –prey interactions. **Hydrobiologia**, v. 355, p. 49-59, 1997.

WAHL, M & SÖNNICHSEN, H. Marine epibiosis. IV. The periwinkle *Littorina littorea* lacks typical antifouling defenses – why are some populations so little fouled? **Marine Ecology Progress Series**, v. 88, p. 225-235, 1992.

WAHL, M. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basics aspects. **Marine Ecology Progress Series**, v. 58, p. 175-189, 1989.

WAHL, M; MARK, O. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. **Marine Ecology Progress Series**, v. 187, p. 59-66, 1999.

WARNER, G. F. Occurrence of epifauna on the periwinkle, *Littorina littorea* (L.), and interactions with the polychaete *Polydoraciliata* (Johnston). **Hydrobiologia**, v. 355, p. 41-47, 1997.

WARREN, A. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida). **Bulletin of the British Museum Natural History (Zoology)**, v. 50, p. 1, p. 1-57, 1986.

WETZEL, R. G. Opening remarks. In: Wetzel, R. G. (Ed.). Periphyton of freshwater ecosystems. The Hague, Dr. W. Junk, **Developments in Hidrobiology**, v.17, p. 3-4, 1983.

WETZEL, R. G.; LICKENS, G. E. **Limnological Analyses**. 3 ed. Spirnger, 2000.

XU, M. et al. An approach to analyses of periphitic ciliate communities for monitoring water quality using a modified artificial substrate in Korean coastal waters. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 89, n. 4, p. 669-679, 2009.

XU, M. et al. The temporal and spacial distribution, composition and abundance of Protozoa in Chaohu Lake, China: relationship with eutrophication. **European Journal of Protistology**, v. 41, p.183-192, 2005a.

XU, M. et al. Use of PFU protozoan community strutral and functional characteristics in assessment of water quality in a large, higly polluted freshwater lake in China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 7, p. 670-674, 2005b.

XU, K. et al. Biomonitoring of coastal pollution status using protozoan communities with a modified PFU method. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 877-886, 2002.

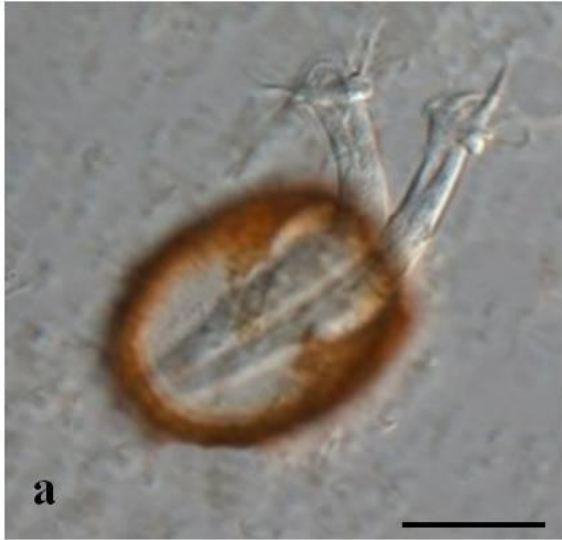
XU, Z. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphnia* related to their *Moina macroscopa* in a urban stream. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 60, p. 197-200, 1992

## **APÊNDICE A**

Fotomicrografias dos ciliados peritríqueos encontrados nos córregos afluentes do rio Paraibuna, Juiz de Fora. MG.

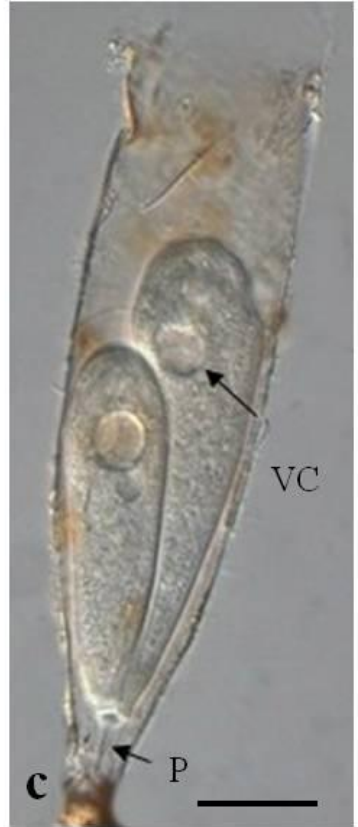
## FOTOGRAFIA 5

**Fotos a-f. Fotomicrografias de *Platycola decumbens in vivo* sob microscópio interferencial diferencial (DIC).** **a.** Detalhe da lórica (L) contendo duas células estendidas; **b.** Detalhe do citóstoma (CT) de duas células contraídas; **c.** Detalhe do vacúolo contrátil (VC) de uma célula contraída; **d.** Detalhe da abertura (A) de uma lórica vazia e da borda da lórica (BL) de coloração marron-avermelhada devido ao acúmulo de íons de ferro; **e.** Detalhe da ciliatura oral (CO) de uma célula contraída e de um telotróquio (T); **f.** Detalhe da banda telotrocal (BT) da forma livre natante (telotróquio) e do macronúcleo (MA). Barras: 25µm.



## FOTOGRAFIA 6

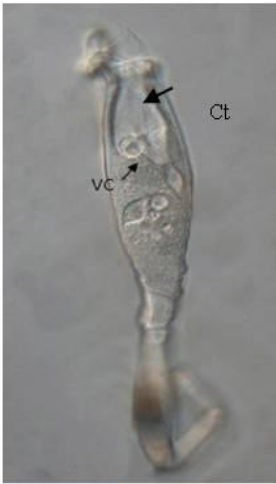
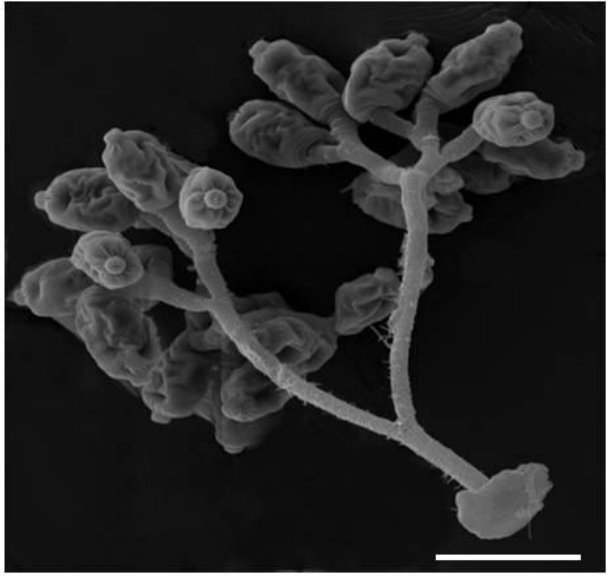
**Fotos a-e. Fotomicrografias de *Thuricola* sp. *in vivo* sob microscópio interferencial diferencial (DIC).** **a** Lórica vazia; **b**.Lórica contendo duas células estendidas; **c**.Células contraídas; **d,e**. Células que se desprenderam da lorica. macronúcleo(MA), pedúnculo (P) e vacúolo (V), vacúolo contrátil (VC) e pedúnculo (P). Barras: 25  $\mu$ m.





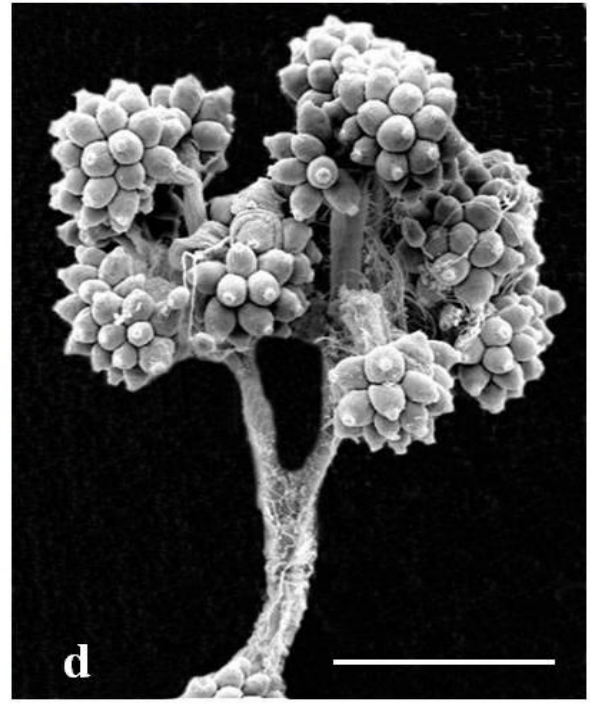
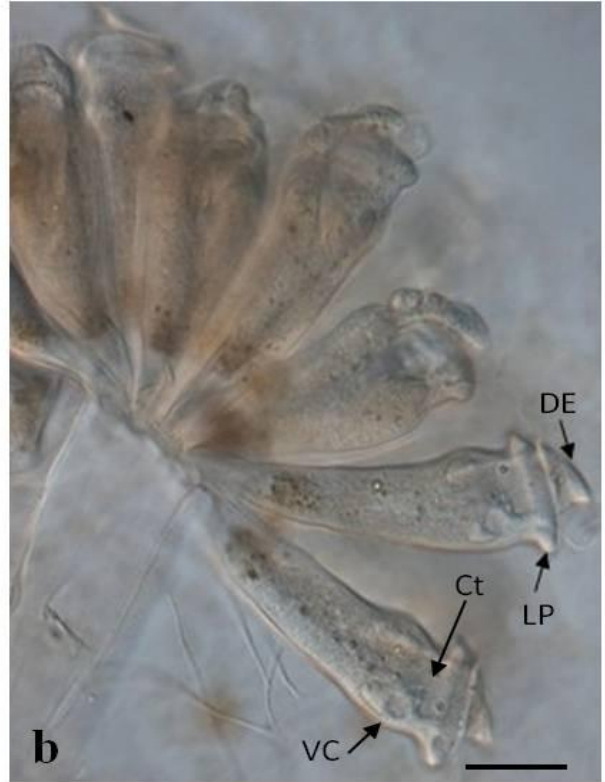
**FOTOGRAFIA 7**

**Fotos a-g: Fotomicrografias e eletromicrografias de *Opercularia* sp., *Opercularia articulata* e *Epistylis plicatilis* a,b. *Opercularia* sp.. c-e. *Opercularia articulata*, f,g. *Epistylis plicatilis*. (Ct) citóstoma, (MA) macronúcleo, (OP) Opérculo, (VC) vacúolo contrátil. Barras: 25 µm**



## FOTOGRAFIA 8

**Fotos a-d. Fotomicrografias e eletromicrografias de *Epistylis* sp. *in vivo* sob microscópio interferencial diferencial (DIC).** **a.** Visão geral da colônia; **b.** Detalhe do zoóide; **c.** zoóide em divisão (seta). (P) pedúnculo, (DP) Disco epistomial, (LP) Lábio peristomial (Ct) citóstoma, (VC) vacúolo contrátil. Barras: Fotos a,b,c= 25  $\mu$ m, d = 100  $\mu$ m.



## FOTOGRAFIA 9

**Fotos a-d. Fotomicrografias de *Campanella umbellaria* e *Carchesium polypinum* *in vivo* sob microscópio interferencial diferencial (DIC). a. *Campanella umbellaria* estendida, b. contraída, (VC) vacúolo contrátil. c, d. Colônia de *Carchesium polypinum* (descontinuidade do mionema, em detalhe); Barras: 25  $\mu$ m.**



## **ANEXO A**

Protocolo de avaliação rápida (PAR) da diversidade de habitats (CALLISTO et al.2002).

# Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ)

CALLISTO, M.; FERREIRA, W. R.; MORENO, P.<sup>1</sup>; GOULART, M.<sup>1</sup> & PETRUCIO, M.<sup>2</sup>

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Biologia Geral, Lab. de Ecologia de Bentos, CP 486, CEP - 30-840-460, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>1</sup> Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, ICB/UFMG.

<sup>2</sup> Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, UFSscar

**RESUMO: Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ).** O objetivo deste estudo foi aplicar um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats como ferramenta em atividades de ensino e pesquisa, avaliando as características da água e sedimento, tipo de ocupação das margens, erosão e assoreamento, extensão de mata ciliar, cobertura vegetal, largura de rípios e remansos e seu estado de conservação. Este protocolo foi modificado da proposta de Hannaford *et al.* (1997) e da Agência de Proteção Ambiental de Ohio (EUA) - EPA (1987), e adaptado para as condições dos ecossistemas lóticos nos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Os resultados foram obtidos em aulas práticas de disciplinas de graduação em Ciências Biológicas e pós-graduação em Ecologia do ICB/UFMG em trechos de bacias no Parque Nacional da Serra do Cipó (MG) e Parque Nacional da Bocaina (RJ). Não foram encontradas diferenças significativas entre os resultados da aplicação do protocolo comparando-se estudantes com um treinamento prévio em ecologia de rios e estudantes sem treinamento, evidenciando a fácil utilização desta ferramenta em atividades de ensino. A utilização deste protocolo na avaliação rápida da diversidade de habitats em trechos de bacias hidrográficas é uma etapa para a preservação das condições naturais em Unidades de Conservação e em estudos de avaliação de impacto ambiental em áreas degradadas.

**Palavras-chaves:** Avaliação, habitat, rios, treinamento, Bacia Hidrográfica.

**ABSTRACT: The use of a Rapid habitat diversity evaluation protocol in education and research activities (MG-RJ).** The objective of this study was to use a protocol of rapid habitat diversity evaluation in teaching and researching activities, assessing the water and sediment characteristics, land use, embankments, riparian vegetative zone width, bank vegetative protection, size and frequency of riffles and pools, and the conservation status. This protocol was elaborated based on Hannaford *et al.* (1997) and on the Environmental Protection Agency (1987) (Ohio, EUA), adapted to the conditions of the altitudinal lotic ecosystems from the Minas Gerais and Rio de Janeiro States. The results were obtained during the Biology undergraduation and Ecology graduation field courses from ICB/UFMG. The study areas were the Serra do Cipó National Park (MG) and the Bocaina National Park (RJ). No significant differences were found in the results when comparing pre-assessment trained students with no pre-assessment trained students, pointing out the easy utilization of the protocol during the building capacity process in habitat assessment. The use of this protocol constitutes a practical tool in research studies on the assessment of habitat diversity in watershed stretches with different conservation levels of their natural conditions, and also on environmental impact evaluation studies.

**Key-words:** assessment, habitat, stretches, training, watershed.

## Introdução

Os múltiplos impactos antrópicos sobre os ecossistemas aquáticos têm sido responsáveis pela deterioração da qualidade ambiental de bacias hidrográficas extremamente importantes no território brasileiro (p. ex. Rio Doce, Rio São Francisco, Rio Paraná, Rio Amazonas, etc.). Em diversos países da Europa e nos EUA, agências governamentais de controle ambiental têm utilizado as abordagens de avaliação de condições ecológicas em rios de cabeceira e monitoramento de bacias hidrográficas utilizando sistemas de referência (Sommerhäuser, *et al.* 2000). Esta abordagem de sistemas de referência visa ter um (ou vários) ecossistema(s) com suas condições naturais preservadas e alta biodiversidade, para ser(em)



comparado(s) com outros em diferentes níveis de impacto antrópico. Além disso, sistemas de referência são indispensáveis para a medição da performance das práticas de manejo dos recursos hídricos e para embasar os tomadores de decisão sobre os investimentos em restauração e conservação de bacias hidrográficas. Devido à grande variabilidade dos rios na natureza, é necessária a proposição de classificações regionais de rios naturais, que deve sempre considerar as condições específicas da região em que estão inseridos (Galdean *et al.*, 1999a; 2000a).

Propostas de tipologias têm sido utilizadas em programas de monitoramento de longa duração, nas mais importantes bacias hidrográficas brasileiras (p. ex. rios São Francisco e Doce), em que pesquisadores têm utilizado comunidades de macroinvertebrados bentônicos para avaliar a qualidade da água (Barbosa *et al.*, no prelo; Galdean *et al.*, 1999a; 2000a). Inventários da diversidade de habitats aquáticos, avaliação dos recursos tróficos disponíveis e levantamentos de macroinvertebrados bentônicos, constituem-se em importantes fatores para a proposição de estratégias de conservação e entendimento do funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais (Galdean *et al.*, 1999b; 2000b, Callisto *et al.*, 2001a).

A avaliação da diversidade de habitats oferece oportunidade para avaliar os níveis de impactos antrópicos em trechos de bacias hidrográficas (Galdean *et al.*, 2000b), constituindo-se em importante ferramenta em programas de monitoramento ambiental (Callisto *et al.*, 2001a). Assim, a qualidade do habitat físico é essencial em qualquer pesquisa biológica porque a fauna aquática frequentemente tem exigências específicas de habitats que são independentes da qualidade de água (Hannaford *et al.*, 1997). Atualmente estudos acerca da avaliação rápida da qualidade de habitats têm sido desenvolvidos visando uma descrição geral e qualitativa dos vários atributos dos habitats que são pontuados ao longo de um gradiente de ótimo a pobre, utilizando observações visuais com um mínimo de medidas (Callisto *et al.*, 2001b). Estas técnicas visam avaliar a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos contribuindo para o manejo e conservação destes ecossistemas apoiados por protocolos simplificados com parâmetros de fácil entendimento e utilização.

O objetivo deste estudo foi aplicar um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats como uma ferramenta de cunho prático e de fácil compreensão. Este protocolo baseia-se na caracterização das condições ecológicas em trechos de bacias hidrográficas e pode ser utilizado em atividades de pesquisa e ensino. Sua elaboração foi a partir da adaptação do protocolo proposto por Hannaford *et al.* (1997), adequado às condições dos ecossistemas lóticos nos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro.

## Área de Estudo

Foram selecionados alguns córregos e rios no Parque Nacional da Serra do Cipó (MG) e no Parque Nacional da Bocaina (RJ) para a aplicação do Protocolo de Avaliação Rápida da Diversidade de Habitats durante aulas práticas de disciplinas de ecologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais entre 1999-2001.

O protocolo foi também utilizado para avaliar a diversidade de habitats ao longo de um gradiente longitudinal nos trechos do alto (Serra do Cipó) e médio Rio Doce, no Estado de Minas Gerais.

O Parque Nacional da Serra do Cipó está localizado ao sul da Cordilheira do Espinhaço, engloba um grande número de córregos e riachos com águas límpidas e frias, representando um divisor de águas das nascentes dos rios Doce e São Francisco, entre as coordenadas 19° 12' - 19° 34' S e 43° 27' - 43° 38' W. Do ponto de vista de mananciais de água de excelente qualidade ambiental (Galdean *et al.*, 2000a; 2000b), as nascentes na Serra do Cipó estão entre as mais importantes do Estado de Minas Gerais, além de serem fundamentais para a conservação dos recursos naturais na região.

O Parque Nacional da Bocaina, na região próxima a Paraty, está situado no litoral sul do Estado do Rio de Janeiro entre as coordenadas 22° 40' - 23° 20' S e 44° 24' - 44° 54' W e constitui um dos mais belos cenários brasileiros abrigando um conjunto arquitetônico histórico bem preservado. Trechos de bacia do rio do Cunha, próximo à divisa com o Estado de São Paulo, constituem importantes mananciais de boa qualidade de água na Serra do Mar, com importantes remanescentes de mata atlântica. Esta região exibe ambientes aquáticos com boa qualidade de água e alta diversidade de habitats, apesar de sofrer intensa visitação turística e forte pressão de atividades antrópicas, como desflorestamento, pecuária de subsistência e ocupações fundiárias não planejadas.

## Material e Métodos

O protocolo utilizado no presente estudo foi composto por dois quadros. O primeiro quadro busca avaliar as características de trechos de bacia e nível de impactos ambientais decorrentes de atividades

antrópicas, adaptado do protocolo proposto pela Agência de Proteção Ambiental de Ohio (EUA) (EPA, 1987). O segundo quadro foi adaptado do protocolo utilizado por Hannaford *et al.* (1997) que busca avaliar as condições de habitat e nível de conservação das condições naturais.

O presente Protocolo (Quadros 1 e 2) foi aplicado em aulas práticas em dois grupos de estudantes de graduação em Ciências Biológicas e pós-graduação em Ecologia do ICB/UFMG. O primeiro grupo foi formado por 50 estudantes com um pré-treinamento em ecologia de rios e um segundo grupo de 50 estudantes sem treinamento, no córrego Indaíá (Parque Nacional da Serra do Cipó-MG) e no rio do Cunha (Parque Nacional da Bocaina-RJ).

O protocolo avalia um conjunto de parâmetros em categorias descritas e pontuadas de 0 a 4 no Quadro 1, e de 0 a 5 no Quadro 2. Esta pontuação é atribuída a cada parâmetro com base na observação das condições de habitat. O valor final do protocolo de avaliação é obtido a partir do somatório dos valores atribuídos a cada parâmetro independentemente. As pontuações finais refletem o nível de preservação das condições ecológicas dos trechos de bacias estudados, onde de 0 a 40 pontos representam trechos "impactados"; 41 a 60 pontos representam trechos "alterados"; e acima de 61 pontos, trechos "naturais".

Quadro 1: Protocolo de Avaliação Rápida da Diversidade de Habitats em trechos de bacias hidrográficas, modificado do protocolo da Agência de Proteção Ambiental de Ohio (EUA) (EPA, 1987). (Obs.: 4 pontos (situação natural), 2 e 0 pontos (situações leve ou severamente alteradas).

<b>Localização:</b>			
<b>Data de Coleta:</b> ____/____/____		<b>Hora da Coleta:</b> _____	
<b>Tempo (situação do dia):</b>			
<b>Modo de coleta (coletor):</b>			
<b>Tipo de Ambiente:</b> Córrego ( ) Rio ( )			
<b>Largura</b>			
<b>Profundidade:</b>			
<b>Temperatura da água:</b>			
PARÂMETROS	PONTUAÇÃO		
	4 pontos	2 pontos	0 ponto
1. Tipo de ocupação das margens do corpo d'água (principal atividade)	Vegetação natural	Campo de pastagem/Agricultura/Monocultura/Reflorestamento	Residencial/ Comercial Industrial
2. Erosão próxima e/ou nas margens do rio e assoreamento em seu leito	Ausente	Moderada	Acentuada
3. Alterações antrópicas	Ausente	Alterações de origem doméstica (esgoto, lixo)	alterações de origem Industrial/ urbana (fábricas, siderurgias canalização, retilização do curso do rio)
4. Cobertura vegetal no leito	parcial	total	Ausente
5. Odor da água	nenhum	Esgoto (ovo podre)	óleo/Industrial
6. Oleosidade da água	ausente	Moderada	Abundante
7. Transparência da água	transparente	turva/cor de chá-forte	opaca ou colorida
8. Odor do sedimento (fundo)	nenhum	Esgoto (ovo podre)	óleo/Industrial
9. Oleosidade do fundo	ausente	Moderado	Abundante
10. Tipo de fundo	pedras/cascalho	Lama/areia	cimento/canalizado

Quadro 2: Protocolo de Avaliação Rápida da Diversidade de Habitats em trechos de bacias hidrográficas, modificado do protocolo de Hannaford et al. (1997). (Obs.: 5 pontos (situação natural), 3, 2 e 0 pontos (situações leve ou severamente alteradas).

PARÂMETROS	PONTUAÇÃO			
	5 pontos	3 pontos	2 pontos	0 pontos
11. Tipos de fundo	Mais de 50% com habitats diversificados; pedaços de troncos submersos; cascalho ou outros habitats estáveis.	30 a 50% de habitats diversificados; habitats adequados para a manutenção das populações de organismos aquáticos.	10 a 30% de habitats diversificados; disponibilidade de habitats insuficiente; substratos frequentemente modificados.	Menos que 10% de habitats diversificados; ausência de habitats óbvios; substrato rochoso instável para fixação dos organismos.
12. Extensão de rápidos	Rápidos e corredeiras bem desenvolvidas; rápidos tão largos quanto o rio e com o comprimento igual ao dobro da largura do rio.	Rápidos com a largura igual à do rio, mas com comprimento menor que o dobro da largura do rio.	Trechos rápidos podem estar ausentes; rápidos não tão largos quanto o rio e seu comprimento menor que o dobro da largura do rio.	Rápidos ou corredeiras inexistentes.
13. Frequência de rápidos	Rápidos relativamente frequentes; distância entre rápidos dividida pela largura do rio entre 5 e 7.	Rápidos não frequentes; distância entre rápidos dividida pela largura do rio entre 7 e 15.	Rápidos ou corredeiras ocasionais; habitats formados pelos contornos do fundo; distância entre rápidos dividida pela largura do rio entre 15 e 25.	Geralmente com lâmina d'água "lisa" ou com rápidos rasos; pobreza de habitats; distância entre rápidos dividida pela largura do rio maior que 25.
14. Tipos de substrato	Seixos abundantes (prevalecendo em nascentes).	Seixos abundantes; cascalho comum.	Fundo formado predominantemente por cascalho; alguns seixos presentes.	Fundo pedregoso; seixos ou lamoso.
15. Deposição de lama	Entre 0 e 25% do fundo coberto por lama.	Entre 25 e 50% do fundo coberto por lama.	Entre 50 e 75% do fundo coberto por lama.	Mais de 75% do fundo coberto por lama.
16. Depósitos sedimentares	Menos de 5% do fundo com deposição de lama; ausência de deposição nos remansos.	Alguma evidência de modificação no fundo, principalmente como aumento de cascalho, areia ou lama; 5 a 30% do fundo afetado; suave deposição nos remansos.	Deposição moderada de cascalho novo, areia ou lama nas margens; entre 30 a 50% do fundo afetado; deposição moderada nos remansos.	Grandes depósitos de lama, maior desenvolvimento das margens; mais de 50% do fundo modificado; remansos ausentes devido à significativa deposição de sedimentos.
17. Alterações no canal do rio	Canalização (retificação) ou dragagem ausente ou mínima; rio com padrão normal.	Alguma canalização presente, normalmente próximo à construção de pontes; evidência de modificações há mais de 20 anos.	Alguma modificação presente nas duas margens; 40 a 80% do rio modificado.	Margens modificadas; acima de 80% do rio modificado.
18. Características do fluxo das águas	Fluxo relativamente igual em toda a largura do rio; mínima quantidade de substrato exposta.	Lâmina d'água acima de 75% do canal do rio; ou menos de 25% do substrato exposto.	Lâmina d'água entre 25 e 75% do canal do rio, e/ou maior parte do substrato nos "rápidos" exposto.	Lâmina d'água escassa e presente apenas nos remansos.
19. Presença de mata ciliar	Acima de 90% com vegetação ripária nativa, incluindo árvores, arbustos ou macrófitas; mínima evidência de deflorestamento; todas as plantas atingindo a altura "normal".	Entre 70 e 90% com vegetação ripária nativa; deflorestamento evidente mas não afetando o desenvolvimento da vegetação; maioria das plantas atingindo a altura "normal".	Entre 50 e 70% com vegetação ripária nativa; deflorestamento óbvio; trechos com solo exposto ou vegetação eliminada; menos da metade das plantas atingindo a altura "normal".	Menos de 50% da mata ciliar nativa; deflorestamento muito acentuado.
20. Estabilidade das margens	Margens estáveis; evidência de erosão mínima ou ausente; pequeno potencial para problemas futuros. Menos de 5% da margem afetada.	Moderadamente estáveis; pequenas áreas de erosão frequentes. Entre 5 e 30% da margem com erosão.	Moderadamente instável; entre 30 e 60% da margem com erosão. Risco elevado de erosão durante enchentes.	Instável; muitas áreas com erosão; frequentes áreas descobertas nas curvas do rio; erosão óbvios entre 60 e 100% da margem.
21. Extensão de mata ciliar	Largura da vegetação ripária maior que 18 m; sem influência de atividades antrópicas (agropecuária, estradas, etc.).	Largura da vegetação ripária entre 12 e 18 m; mínima influência antrópica.	Largura da vegetação ripária entre 6 e 12 m; influência antrópica intensa.	Largura de vegetação ripária menor que 6 m; vegetação restrita ou ausente devido à atividade antrópica.
22. Presença de plantas aquáticas	Pequenas macrófitas aquáticas e/ou musgos distribuídos pelo leito.	Macrófitas aquáticas ou algas filamentosas ou musgos distribuídas no rio, substrato com perfiton.	Algas filamentosas ou macrófitas em poucas pedras ou alguns remansos, perfiton abundante e biofilme.	Ausência de vegetação aquática no leito do rio ou grandes bancos macrófitas (p.ex. aguapé).

O tempo necessário para a aplicação do Protocolo em cada trecho de rio ou bacia estudado foi entre 20 e 30 minutos. Os estudantes foram orientados sobre como aplicar o protocolo, onde foi descrito tecnicamente cada parâmetro a ser avaliado. Em seguida os estudantes foram divididos em grupos com 5 integrantes e distribuídos ao longo dos trechos dos rios, distantes cerca de 100 m uns dos outros. Para a quantificação dos componentes orgânicos (restos de galhos, folhas, lama, algas e musgos) e Inorgânicos (pedras, seixos, cascalhos e areia) que compõem o fundo do rio, foram atribuídos valores em porcentagens para cada trecho avaliado.

Para avaliar a significância estatística da diferença dos resultados obtidos pelos dois grupos de estudantes, foram realizados testes t de Student.

## Resultados

Os resultados da utilização do Protocolo no Parque Nacional da Serra do Cipó pelos estudantes com treinamento em ecologia de rios comparados com os obtidos pelos estudantes sem treinamento não foram significativamente diferentes ( $t_{(40;0.05)} = 1,5219$ ;  $p = 0,1355$ ), apesar de que em alguns parâmetros avaliados (parâmetros 11 e 14), as diferenças nas respostas foram evidentes (Fig. 1). Similarmente, os resultados obtidos no Parque Nacional da Bocaina pelos estudantes com treinamento em ecologia de rios comparados com os obtidos pelos estudantes sem treinamento também não foram significativamente diferentes ( $t_{(40;0.05)} = 0,11279$ ;  $p = 0,8987$ ). Entretanto, foram observadas diferenças entre as respostas no parâmetro 14 (Fig. 2).

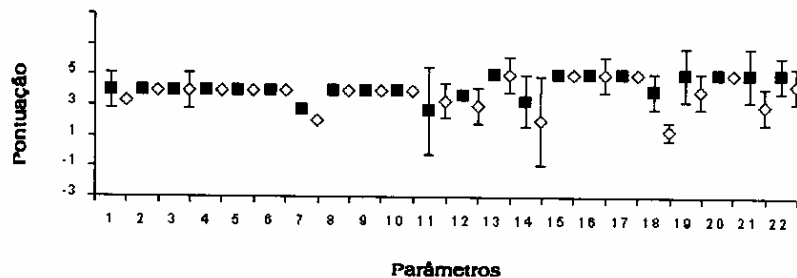


Figura 1: Média e desvio padrão dos parâmetros individuais de avaliação da diversidade de habitats no córrego Indalá, Parque Nacional da Serra do Cipó (MG). Figuras em branco representam os estudantes sem treinamento em Ecologia de Rios e as figuras em preto representam os estudantes treinados.

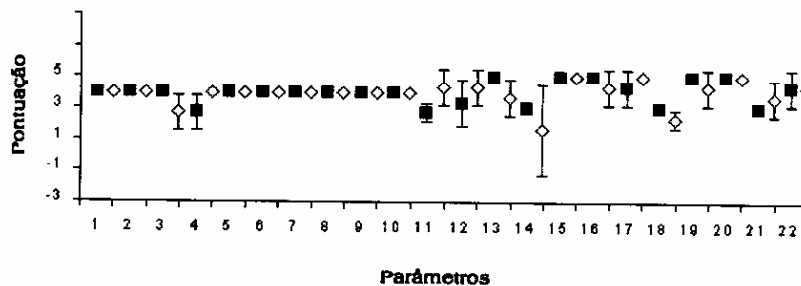


Figura 2: Média e desvio padrão dos parâmetros individuais de avaliação da diversidade de habitats no rio do Cunha, Parque Nacional da Bocaina (RJ). Figuras em branco representam os estudantes sem treinamento em Ecologia de Rios e as figuras em preto representam os estudantes treinados.

A aplicação do protocolo ao longo do gradiente longitudinal nos trechos do alto e médio rio Doce evidenciou que os trechos de cabeceira no interior do Parque Nacional da Serra do Cipó (Tab. I) e no Parque Natural do Caraça (Tab. II) conservam suas características naturais (considerando tipos de fundo, velocidade de correnteza, dimensões dos trechos de rápidos e remansos, e deposição de sedimentos). Nestas áreas (estações # 1 a # 5 e # 8) a aplicação do Protocolo diagnosticou elevada diversidade de habitats, classificando-as na categoria "natural".

Tabela I: Resultados da aplicação do protocolo no alto rio Doce (Serra do Cipó, MG).

Parâmetros	1ª ordem	2ª ordem	3ª ordem	4ª ordem	5ª ordem	7ª ordem	9ª ordem
Latitude	19° 16.6 S	19° 16.6 S	19° 16.4 S	19° 16.4 S	19° 16.0 S	19° 19.5 S	19° 17.6 S
Longitude	43° 31.5 W	43° 31.5 W	43° 31.2 W	43° 31.2 W	43° 10.9 W	43° 20.9 W	43° 15.5 W
1	4	4	4	4	4	2	2
2	4	4	4	4	4	2	0
3	4	4	4	4	4	2	2
4	0	4	2	2	4	0	0
5	4	4	4	4	4	4	4
6	4	4	4	4	4	4	4
7	2	2	2	2	2	2	0
8	4	4	4	4	4	4	4
9	4	4	4	4	4	4	4
10	4	4	4	4	4	4	2
11	0	0	5	5	5	5	2
12	5	5	5	5	5	0	0
13	5	5	5	5	5	2	0
14	0	0	3	3	0	2	0
15	5	5	5	5	5	5	5
16	5	5	5	5	5	3	2
17	5	5	5	5	5	5	5
18	0	2	5	3	5	3	5
19	5	5	5	5	5	0	0
20	5	5	5	5	5	0	3
21	5	5	5	5	5	2	0
22	2	3	0	3	5	3	0
<b>Pontuação</b>	<b>76</b>	<b>83</b>	<b>89</b>	<b>88</b>	<b>93</b>	<b>58</b>	<b>44</b>
<b>Avaliação</b>	<b>natural</b>	<b>natural</b>	<b>natural</b>	<b>natural</b>	<b>natural</b>	<b>alterado</b>	<b>alterado</b>

Tabela II: Resultados da aplicação do protocolo no médio rio Doce (MG).

Parâmetros	Caraça	Piracicaba	Sta. Bárbara	Peixe	Severo	Doce	Ipanema
Latitude	20° 20 S	19° 50 S	19° 50 S	19° 15 S	19° 50 S	19° 20 S	19° 30 S
Longitude	43° 30 W	43° 10 W	43° 20 W	43° 10 W	42° 50 W	43° 45 W	42° 30 W
1	4	2	2	0	2	2	0
2	2	2	0	0	2	2	4
3	2	2	0	0	0	2	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	4	4	4	4	4	4	2
6	4	0	0	0	0	0	0
7	4	0	0	0	0	0	0
8	4	2	4	4	4	4	2
9	4	4	4	4	4	4	4
10	4	4	4	2	2	2	2
11	3	2	2	0	2	2	0
12	3	2	0	0	0	0	0
13	5	2	0	0	0	0	0
14	3	2	3	0	0	0	0
15	5	5	5	2	2	2	2
16	5	3	5	0	0	0	0
17	5	2	5	2	3	5	0
18	2	5	5	3	5	5	5
19	5	5	3	0	0	0	0
20	5	2	5	2	2	2	0
21	2	3	3	0	0	0	0
22	5	0	0	0	0	0	0
<b>Pontuação</b>	<b>80</b>	<b>53</b>	<b>54</b>	<b>23</b>	<b>32</b>	<b>36</b>	<b>21</b>
<b>Avaliação</b>	<b>natural</b>	<b>alterado</b>	<b>alterado</b>	<b>impactado</b>	<b>impactado</b>	<b>impactado</b>	<b>impactado</b>

Nas áreas # 6, # 7, # 9 e # 10 o resultado do somatório da avaliação dos 22 parâmetros classificou-as como "alteradas", ao passo que as demais áreas foram avaliadas como "Impactadas". Nos trechos alterados, observa-se intensa pressão de atividades antrópicas, notadamente criação extensiva de gado e lançamentos pontuais de esgotos domésticos *in natura*. Nos trechos impactados, a qualidade ambiental está seriamente comprometida, devido à forte influência de atividades de monocultura de *Eucalyptus* spp., siderurgia, mineração, além de lançamentos de efluentes domésticos e industriais com elevados

teores de coliformes e metais pesados. Além disso, nestas áreas impactadas, observa-se intenso desflorestamento da mata ciliar, erosão nas margens dos rios e conseqüente assoreamento do leito dos ecossistemas aquáticos.

---

## Discussão

A inexistência de diferenças significativas entre os resultados da aplicação do protocolo entre os estudantes com e sem treinamento nas duas áreas deste estudo sugere que um pré-treinamento em Ecologia de Rios não seria capaz de influenciar na aplicação do protocolo. Contrariamente ao que foi apontado por Hannaford *et al.* (1997), o treinamento anterior à utilização deste protocolo não foi responsável pela diminuição na variabilidade dos resultados obtidos. No entanto, para alguns parâmetros (p.ex. tipo de ocupação das margens, tipo de fundo, presença de erosão nas margens, depósitos de sedimentos) foi observada uma pequena diferença entre os grupos de estudantes com e sem um pré-treinamento. Assim, os resultados globais da aplicação do protocolo refletem um bom entendimento ou uma definição clara da metodologia de avaliação de habitats utilizada. No entanto, este aspecto merece ser avaliado com cautela, uma vez que os dois grupos de estudantes, ao chegarem aos rios onde aplicaríamos o Protocolo, receberam uma explicação detalhada sobre a estrutura e funcionamento de ecossistemas lóticos. Além disso, no protocolo de Hannaford *et al.* (1997), cada parâmetro de avaliação da diversidade de habitats recebia uma pontuação de 0 a 20, o que provavelmente contribuía para uma maior variância entre as respostas obtidas. No Protocolo aqui proposto, optamos por simplificar a pontuação de cada parâmetro para no máximo 5 pontos; desta forma, acreditamos ter favorecido seu uso por estudantes do ensino médio, de graduação e pós-graduação.

Como o objetivo final da utilização deste protocolo é a avaliação da diversidade de habitats e a identificação do nível de preservação de trechos de bacias hidrográficas é necessário considerar os parâmetros de caracterização dos habitats individualmente, visando uma melhor interpretação das condições ecológicas. Em outras palavras, o método de avaliação de habitats com base na avaliação visual constitui-se em importante ferramenta no treinamento de pessoal, devendo ainda contribuir para a capacitação de profissionais especializados e capazes de atuar em projetos de avaliação de impacto ambiental. Esta abordagem deve ser considerada como um complemento na formação desses profissionais, a partir de atividades práticas, para a melhor assimilação de conceitos teóricos e sobre o funcionamento de córregos e riachos em bacias hidrográficas. Esse treinamento também deve incluir explicações dos diferentes tipos de habitats existentes na natureza, pois segundo Hannaford *et al.* (1997), a experiência na avaliação da diversidade de habitats em uma área nem sempre é transferível a outra. Além disso, nem todos os trechos estudados devem apresentar a mesma heterogeneidade ambiental, devendo esta ser maior em regiões de cabeceira com suas condições ecológicas bem preservadas.

Em síntese, o protocolo aqui proposto constitui-se em uma ferramenta na avaliação rápida da diversidade de habitats em trechos de bacias hidrográficas brasileiras, podendo ser útil em atividades de pesquisa e ensino de graduação e pós-graduação, na formação de profissionais nas áreas de Ecologia e Ciências Ambientais.

---

## Agradecimentos

Os autores são especialmente gratos aos estudantes das disciplinas de graduação do curso de Ciências Biológicas diurno e noturno no período entre 1999 e 2001, à monitora Juliana França e aos demais integrantes do laboratório de Ecologia de Bentos do ICB/UFMG. Esta pesquisa teve apoio do FAPEMIG, CNPq, Pró-Reitorias de Graduação, Pesquisa e Extensão da UFMG.

---

## Referências citadas

- Barbosa, F.A.R., Callisto, M., Galdean, N. (no prelo). The diversity of benthic macroinvertebrates as an indicator of water quality and ecosystem health: a case study for Brazil. *Aquat. Ecosyst. Health & Manag.*
- Callisto, M., Moreno, P. & Barbosa, F.A.R. 2001a. Habitat diversity and benthic functional trophic groups at Serra do Cipó, Southeast Brazil. *Rev. Bras. Biol.*, 61: 259-266.
- Callisto, M., Moretti, M. & Goulart, M. 2001b. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. *Rev. Bras. Rec. Hídricas*, 6: 71-82.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1987. Biological criteria for the protection of aquatic life. Division of Water Quality Monitoring and Assessment, Columbus.v.I-III, 120 p.(Surface Water Section)

- Galdean, N., Callisto, M. & Barbosa, F. A. R. 1999a. Benthic macroinvertebrates of the headwaters of river São Francisco (National Park of Serra da Canastra, Brazil). *Trav. Mus. Hist. Nat. Grigori Antipa.*, 16: 455-464.
- Galdean, N., Barbosa, F. A. R., Callisto, M., Rocha, L. A., Marques M. M. G. M. 1999b. A proposed typology for the rivers of Serra do Cipó (Minas Gerais – Brazil) based on the diversity of benthic macroinvertebrates and the existing habitats. *Trav. Mus. Hist. Nat. Grigori Antipa.* 16:445-453.
- Galdean, N., Callisto, M. & Babosa, F. A. R. 2000a. Biodiversity assessment of benthic macroinvertebrates in altitudinal lotic ecosystems of Serra do Cipó (MG, Brazil). *Braz. J. Biol.*, 61:1-4.
- Galdean, N., Callisto, N. & Barbosa, F. A. R. 2000b. Lotic Ecosystems of Serra do Cipó, southeast Brazil: water quality and a tentative classification based on the benthic macroinvertebrates community. *Aquat. Ecosyst. Health & Manag.*, (3): 545-552.
- Hannaford, M. J., Barbour, M. T. & Resh, V. H. 1997. Training reduces observer variability in visual-based assessments of stream habitat. *J. North Am. Benthol. Soc.*, 16: 853-860.
- Sommerhäuser, M., Podraza, P., Schuhmacher, H. & Tlmm, T. 2000. The classification of running waters – targets, application and state of the art. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, 27: 678-681.

**Recebido em:** 16 / 10 / 2001

**Aprovado em:** 18 / 02 / 2002