O CULTIVO EXPERIMENTAL DE PROTISTAS CILIADOS PLANCTÔNICOS SOB DIFERENTES SUBSTRATOS ORGÂNICOS: UMA ANÁLISE MORFOLÓGICA

Kamylla Figueiredo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bruno H. S. Napoleão, Ana Julia Paes, Matheus Henrique de O. de Matos, Bianca Ramos de Meira; Loiani O. Santana (Coorientadora); Luiz Felipe Machado Velho (Orientador)
E-mail:ra125334@uem.br. ra136672@uem.br. felipe@nupelia.uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR. Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPÉLIA), Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), Universidade Estadual de Maringá (UEM)

RESUMO

Os ecossistemas de água doce abrigam uma diversidade biológica de protistas ciliados ainda pouco explorados. O estudo teve como objetivo analisar a eficiência de diferentes meios de cultura para o cultivo de espécies de ciliados. A pesquisa foi realizada a partir de amostras obtidas em um pesqueiro na cidade de Maringá-PR, Brasil. Foram coletados 15 litros de água, distribuídos em 48 unidades experimentais, submetidas a três tratamentos (arroz, alga e peptona), com quatro tempos de amostragem (dias 3, 7, 17 e 31) ao longo de 31 dias de experimento. Os resultados demonstraram diferenças na riqueza e na densidade de ciliados entre os tratamentos e ao longo do tempo experimental: o tratamento com cultura bacteriana produzida em meio de peptona apresentou os maiores valores de riqueza e densidade, enquanto o tratamento com arroz apresentou os menores. Conclui-se que a natureza do recurso orgânico influenciou o estabelecimento e a dinâmica populacional dos ciliados, com melhores respostas no tratamento com cultura bacteriana a partir da peptona.

Palavras-chave: Ciliados; Meios de cultura; Diversidade.

INTRODUÇÃO

Ecossistemas de água doce possuem uma alta diversidade de espécies, sendo essa diversidade a responsável pelo funcionamento do ecossistema em questão. Dentre a diversidade descrita para ambientes dulcícolas, destaca-se aquela pouco conhecida, representada por microrganismos, e entre eles os protistas heterotróficos (Lu & Weisse, 2022).

Entre os protistas heterotróficos, podemos destacar os ciliados que desempenham um papel importante na cadeia alimentar, influenciando na dinâmica das comunidades de bactérias, algas e outros rotíferos, e servindo como presa para os macroinvertebrados, tornando-se essenciais para estudos da diversidade. Os estudos sobre ciliados passaram de descrições morfológicas e contagens *in vivo* para abordagens moleculares mais refinadas. Apesar desse progresso, ainda

existem dificuldades na identificação e conhecimento sobre sua distribuição, especialmente em ambientes de água doce de regiões tropicais (Caron & Hu, 2018).

Tais técnicas, exigem a produção de material suficiente para os sequenciamentos, bem como a aplicação de técnicas ciliatológicas. Diante do exposto, observou-se a necessidade de implementar protocolos de cultivo. Algumas espécies dos gêneros *Tetrahymena, Paramecium* e *Stentor* foram alvos de estudos de cultivo, sendo um sucesso como organismos modelo para investigar uma ampla gama de processos biológicos. Embora os ciliados sejam fáceis de cultivar, as espécies planctônicas de água doce se mostram, inicialmente, problemáticas devido à dificuldade de permanecerem em crescimento (Montagnes *et al*., 1996).

Diversas abordagens têm sido empregadas para acessar sua diversidade, com destaque para métodos de identificação. Deste modo, o objetivo deste trabalho é avaliar a variação no desenvolvimento das populações de espécies de ciliados em diferentes substratos orgânicos (arroz, algas e peptona) e verificar como os ciliados se estabelecem ao longo do tempo.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de água para o experimento foram coletadas em um lago artificial situado em um pesqueiro (Pesqueiro São José), localizado no município de Maringá, Paraná, Brasil (23°26'20"S, 51°58'04"W). O lago apresenta uma profundidade de aproximadamente 3 metros. Foram coletados 15 L de água, e transportados ao laboratório. A água foi transferida para um aquário com capacidade de 20 L e homogeneizada. Antes do início do experimento, foram coletadas quatro réplicas de amostras vivas, constituindo a condição inicial (T0), com o objetivo de caracterizar a comunidade protista presente na água antes da adição dos meios de cultura. Após essa avaliação inicial, o experimento foi iniciado.

Foram avaliados três tratamentos (arroz, alga e Peptona). Os respectivos substratos foram adicionados, sendo eles: 0,3 g de arroz triturado no tratamento arroz, 3 mL de cultivo de algas verdes no tratamento alga e 3 mL de cultura bacteriana previamente preparada em meio de peptona no tratamento bacteriano. Cada tratamento teve quatro réplicas por tempo amostral. O experimento foi conduzido ao longo de 31 dias, sendo realizadas avaliações nos tempos T3, T10, T17 e T31. Dessa forma, foram avaliadas 12 unidades experimentais em cada tempo, totalizando 48 unidades. Ao final da montagem, foram distribuídas alíquotas de 50 mL da água previamente aclimatada em tubos Falcon, constituindo as unidades experimentais. A disposição dos tratamentos foi completamente aleatorizada, a fim de assegurar a independência entre as réplicas e reduzir possíveis vieses experimentais.

Para as análises estatísticas, riqueza e densidade de espécies foram avaliadas por ANOVA bifatorial com teste de Tukey HSD. Todas as análises foram realizadas no R (R Core Team, 2023), com os pacotes ggplot2, ape e ggforce.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A riqueza diferiu significativamente entre os tratamentos (ANOVA *two-way*: F = 22,80; p < 0,001), assim como a interação entre tratamentos e tempos (F = 27,95; p < 0,001). No T1, o controle apresentou baixa riqueza, enquanto, a partir do T3, observou-se aumento em todos os tratamentos. Nos tempos subsequentes, especialmente no T10, os tratamentos com peptona e alga apresentaram maiores medianas de riqueza, com destaque para a peptona, que apresentou os maiores valores ao longo do experimento. Esse padrão pode estar relacionado à disponibilidade de recursos no meio. A peptona atua como fonte indireta de alimento, favorecendo a proliferação bacteriana, que constitui importante recurso alimentar para os ciliados. Dessa forma, o aumento da biomassa bacteriana pode sustentar o crescimento e a manutenção de maior riqueza de protistas (ANTIQUEIRA et al., 2018). Em contraste, o tratamento com arroz apresentou os menores valores de riqueza, com redução acentuada nos tempos finais, possivelmente associada às alterações nas condições do meio durante a decomposição do substrato.

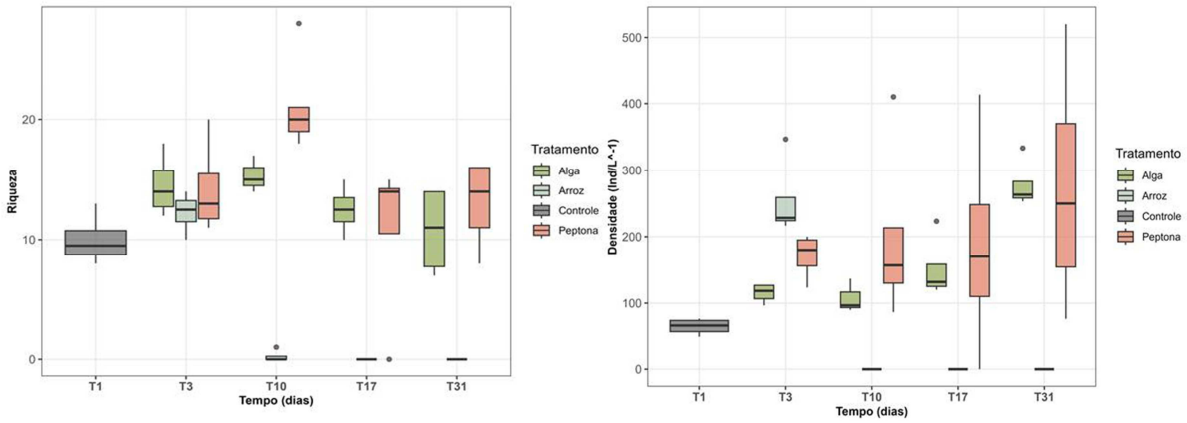


Figura 1: Variação da riqueza e densidade de espécies de protistas ciliados planctônicos entre os tratamentos ao longo do período experimental. A linha central nos gráficos representa os valores medianos. Os diagramas de caixa representam, respectivamente, o intervalo interquartil do desvio padrão, e os pequenos pontos pretos acima ou abaixo indicam valores discrepantes nas observações.

A densidade também diferiu significativamente entre os tratamentos (F = 4,54; p = 0,009), entre os tempos (F = 8,98; p = 0,007) e na interação entre esses fatores (F = 16,45; p < 0,001). No T1, o controle apresentou baixa densidade, enquanto no T3 houve aumento em todos os tratamentos, especialmente em arroz e peptona. No T10, a peptona manteve valores elevados, embora com alta variabilidade, enquanto o controle apresentou valores próximos de zero. Nos tempos T17 e T31, a maior amplitude de variação ocorreu principalmente na peptona, que apresentou os maiores valores máximos. O tratamento com alga também apresentou aumento progressivo da densidade, especialmente no T31, enquanto o arroz apresentou ausência de valores nos tempos finais. A variação observada no tratamento com

alga pode estar relacionada às mudanças na disponibilidade de recursos ao longo da decomposição, incluindo o consumo do substrato por organismos algívoros e onívoros e a liberação de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, potencialmente favorecendo determinados táxons mais tolerantes ao enriquecimento (SCHEER, 2015).

CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram respostas distintas da comunidade de ciliados aos diferentes substratos orgânicos ao longo do tempo. A peptona favoreceu maior riqueza e densidade, enquanto o arroz apresentou os menores valores, possivelmente associados às alterações nas condições do meio durante a decomposição. O tratamento com algas apresentou aumento progressivo ao longo do experimento. Assim, os substratos testados promoveram diferentes padrões de riqueza e densidade, indicando que a escolha do meio de cultivo pode influenciar o desenvolvimento de ciliados planctônicos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial à Fundação Araucária pela bolsa concedida, ao PEA/UEM, ao orientador, Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho, à coorientadora Loiani Oliveira Santana e a Matheus Henrique de O. de Matos, pelo apoio e contribuições à pesquisa.

REFERÊNCIAS

ANTIQUEIRA, P. A. P. et al. Environmental change and predator diversity drive alpha and beta diversity in freshwater macro and microorganisms. Global Change Biology, v. 24, n. 8, p. 3715-3728, 2018.

CARON, D. A.; HU, S. K. Are we overestimating protistan diversity in nature? Trends in Microbiology, v. 27, n. 3, p. 197-205, 2019.

LU, X.; WEISSE, T. Top-down control of planktonic ciliates by microcrustacean predators is stronger in lakes than in the ocean. Scientific Reports, v. 12, n. 1, p. 10501, 2022.

MONTAGNES, D. J. S. Growth responses of planktonic ciliates in the genera Strobilidium and Strombidium. Marine Ecology Progress Series, v. 130, p. 241-254, 1996.

SCHEER, G. G. Dinâmica temporal de comunidades planctônicas em lavouras de arroz. 2015.