

Rev. 14361/87 - 31

INÁCIO DOMINGOS DA SILVA NETO

06982

ESTUDO ESTRUTURAL E ALGUNS ASPECTOS ULTRAESTRUTURAIS DE
CILIADOS COMENSAIS DE INVERTEBRADOS MARINHOS DO LITORAL DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

TESE DE MESTRADO APRESENTADA A
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA DA UNI-
VERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JA-
NEIRO, VISANDO A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS.

MUSEU NACIONAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

1987

EDIÇÃO DEFINITIVA

SILVA NETO, INÁCIO DOMINGOS da

Estudo estrutural e alguns aspectos ultraestruturais de ciliados comensais de invertebrados marinhos do litoral do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, UFRJ, MUSEU NACIONAL, 1986.

XIV, 127p.

Tese: Mestre em Ciências (Zoologia)

1. Ciliados.
2. Estrutura.
3. Ultraestrutura.
4. Teses

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro - MN.

II. Título.

A meus pais e irmãos ,
que sempre me deram to
do apoio.

Trabalho realizado no Laboratório
de Microscopia Eletrônica do Ins-
tituto de Microbiologia da UFRJ,
sob a orientação do Prof. Dr. Milden
Rodrigues de Santa Rosa.

RESUMO

Após exame de numerosos invertebrados marinhos coletados no litoral do Estado do Rio de Janeiro, conseguimos uma amostragem significativa de ciliados associados ecto e/ou endocomensalmente à animais pertencentes à três filos : Cnidaria, Mollusca e Echinodermata.

Entre os Cnidários, as cavidades gastrovasculares das anêmonas-do-mar Anemonia sargassensis, Phylactis flosculifera e Bunodosoma caissarum hospedavam o trofonte de Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863) (Ciliophora-Apostomatida).

Entre os Moluscos, a cavidade paleal do bivalve Anomalocardia brasiliana apresentou grande quantidade de um ciliado Haplofriidae (?) (Ciliophora-Astomatida) atípico e na cavidade digestiva de Neoteredo reynei muitos Metanycthoterus rancureli Laval & Tuffrau, 1973 (Ciliophora-Heterotrichida).

Entre os Echinodermas, encontramos na cavidade digestiva do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus numerosos Euplotes balteatus (Dujardin, 1841) (Ciliophora-Hipotrichida) e Parametopus circumlabens (Biggar & Wenrich, 1932) Grolière et al, 1980 (Ciliophora-Heterotrichida). Nas estrelas-do-mar Echinaster brasiliensis, Coscinasterias tenuispina, Astropecten armatus brasiliensis e Linckia guildingii o epibionte Licnophora sp. Claparède, 1867 (Ciliophora-Heterotrichida) e em Enoplopatiria stellifera encontramos o ciliado Trichodina sp. Ehrenberg, 1838 (Ciliophora-Peritrichida).

Para microscopia de luz, empregamos as técnicas de impregnação pela Prata de Chatton-Lwoff (1930), de Bodian (Protargol), segundo as variantes de Tuffrau (1964 e 1967) e de Klein (1958), e incluímos também a técnica da reação nuclear de Feulgen (1926).

Os estudos ultraestruturais ao SEM ficaram limitados aos ciliados F. actiniarum, E. balteatus e P. circumlabens. P. circumlabens foi também observado ao TEM.

SUMMARY

Several groups of ciliophora were found to be associated with marine invertebrates of the phyla Cnidaria, Mollusca and Echinodermata collected from litoral area of the state of Rio de Janeiro, Brazil. The Cnidaria (Anemonia sargassensis, Phylactis flosculifera and Bunodosoma caissarum) lodged in the gastrovascular cavities the Trofont of Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863); Apostomatida. The Paleal cavity of the bivalve Anomalocardia brasiliana, showed great quantities of one atypical ciliate Haplofriidae (?); Astomatida. The digestive cavity of the Neoteredo reynei lodged several Metanycthoterus rancureli Laval & Tuffrau, 1973; Heterotrichida. Numerous individual of Euplotes balteatus (Dujardin, 1841); Hipotrichida and Parametopus circulabens (Biggar & Wenrich, 1932) Grolière et al, 1980; Heterotrichida were found in the digestive cavity of one Echinoderma Lytechinus variegatus. The starfishes Echinaster brasiliensis, Coscinasterias tenuispina, Astropecten armatus brasiliensis and Linckia guildingii lodged the epibionte Licnophora sp. Claparède, 1867; Heterotrichida. In the Enoplopatiria stellifera we found the ciliate Trichodina sp. Ehrenberg, 1838; Peritrichida, For light microscopy we have employed the techniques of Chatton-Lwoff (1930) (silver impregnation), Bodian (silver proteinate stain), adapted by Tuffrau (1964 and

1967) and Klein (1958), The Feulgen nuclear stain was also used. The ultrastructure studies (SEM) were limited to the ciliates F. actiniarum, E. balteatus and P. circumlabens. The last one was also observed by TEM.

ÍNDICE

Prefácio e agradecimentos	01
Introdução.....	04
1. Caracterização das Famílias e da Ordem Astomatida....	07
1.1. Família Foettingeriidae Chatton, 1911.....	07
1.1.2. Ordem Astomatida Schewiakoff, 1896.....	08
1.2. Família Trichodinidae Claus, 1874.....	08
1.3. Família Metopidae Kahl, 1927.....	09
1.4. Família Nyctotheridae Butschli, 1887.....	09
1.5. Família Licnophoridae Butschli, 1887.....	10
1.6. Família Euplotidae Ehrenberg, 1838.....	10
2. Trabalhos estrangeiros.....	11
3. Trabalhos brasileiros.....	18
4. Estruturas básicas dos ciliados.....	20
4.1. Membrana citoplasmática ou plasmalema.....	20
4.2. O cílio.....	21
4.3. O córtex.....	21
4.4. O cinetosoma.....	21
4.5. As cinécias.....	22
4.6. A ciliatura oral.....	22
4.7. O citoplasma.....	23
5. Classificação segundo Corliss, 1979.....	25
6. Classificação dos ciliados comensais.....	29

Materials e métodos.....	31
1. Locais de coleta (procedência).....	31
2. Procedimento de coleta e manutenção dos hospedeiros.....	31
3. Obtenção e manipulação dos ciliados dos respectivos hospedeiros	32
3.1. <u>Foettingeria actiniarum</u> (Claparède, 1863).....	33
3.2. Astomatida Schewiakoff, 1896.....	33
3.3. <u>Trichodina</u> Enrenberg, 1838.....	33
3.4. <u>Licnophora</u> Claparède, 1867.....	34
3.5. <u>Metanvctotherus rancureli</u> Laval e Tuffrau, 1973.....	34
3.6. <u>Parametopus circumlabens</u> (Biggar & Wenrich, 1932) e <u>Euplotes balteatus</u> (Dujardin, 1841).....	34
4. Técnicas de preparação de lâminas para microscopia de luz.....	35
4.1. Técnica de reação de Feulgen (1926).....	35
4.2. Técnica de Bodian (Protargol) segundo a variante de Tuffrau (1964, 1967).....	36
4.3. Técnica de Chatton e Lwoff (1930).....	38
4.4. Técnica da prata a seco de Klein (1958).....	39
5. Fixadores utilizados para as técnicas de preparação de lâminas	40
5.1. Fixação por vapores.....	40
5.2. Soluções fixadoras	40

5.2.1. Fixador de Bouin-alcoólico.....	40
5.2.2. Fixador de Nissenbaum.....	41
5.2.3. Fixador de DA-Fano com NaCl.....	41
5.2.4. Fixador de Champy.....	41
6. Outras substâncias e materiais utilizados nas técnicas citadas	42
6.1. Água sulfurosa.....	42
6.2. Água de Javel.....	42
6.3. Gelatina.....	42
6.4. Mayer (Albumina Glicerizada).....	42
6.5. Hidroquinona a 1% em sulfito de sódio 5%.....	42
6.6. Cloreto de Magnésio.....	43
6.7. Sulfato de Níquel.....	43
7. Metodologia empregada para os estudos ultraestruturais.....	43
7.1. Para a Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	43
7.2. Para a Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	44
8. Observações dos ciliados.....	45

Descrições e discussões das espécies	47
1. <u>Foettingeria actiniarum</u> (Claparède, 1863)	47
1.1. Morfologia Geral	47
1.2. Discussão	49
2. Astomatida-Haptophryidae Cepède, 1923 (incertae <u>se</u> dis	60
2.1. Morfologia geral	60
2.2. Discussão	62
3. <u>Trichodina</u> Ehrenberg, 1838	68
3.1. Morfologia geral	68
3.2. Discussão	71
4. <u>Parametopus circumlabens</u> (Biggar & Wenrich, 1932 Grolière et al, 1980	78
4.1. Morfologia geral	78
4.2. Discussão	82
5. <u>Metanyctotherus rancureli</u> (Laval & Tuffrau, 1973) ...	90
5.1. Morfologia geral	90
5.2. Discussão	90
6. <u>Licnophora</u> Claparède, 1867	96
6.1. Morfologia geral	96
6.2. Discussão	96
7. <u>Euplotes balteatus</u> (Dujardin, 1841)	102
7.1. Morfologia geral	102
7.2. Discussão	104

Tabela I.....	111
Tabela II.....	112
Resultados.....	113
Conclusões.....	115
Bibliografia	117

PREFÁCIO

Os ciliados tem sido encontrados em diferentes ambientes e com hábitos bem variados.

Um grande número de espécies de ciliados já foi encontrado associado a outros animais, ecto ou endocomensalmente. Dentre estes hospedeiros incluem-se vertebrados e invertebrados, da água doce, marinhos e terrestres.

Todas as classes do Phylum Ciliophora, possuem representantes comensais de invertebrados marinhos. São inúmeros os trabalhos fornecidos pelos investigadores, que mostram a associação destes ciliados, amplamente distribuída em indivíduos pertencentes a quase todos os filos. Geralmente apresentam um único hospedeiro, raramente dois. Em alguns casos mostram um ciclo de vida, com pelo menos uma das fases "ciliada". Algumas espécies de ciliados que vivem livremente, podem ocasionalmente, serem encontradas, também, como comensais, mas secundariamente.

Em nosso trabalho procuramos examinar numerosas espécies de invertebrados marinhos do Litoral do Estado do Rio de Janeiro, para identificar possíveis fáunulas de ciliados, intimamente associadas, procurando desta maneira contribuir para um melhor conhecimento da ocorrência destes ciliados em nossa região.

AGRADECIMENTOS

Neste espaço, aproveitamos a oportunidade para agradecer às pessoas e Instituições que tornaram possível a realização deste trabalho.

Primeiramente, relevo meus agradecimentos ao Prof. Dr. Milden Rodrigues de Santa Rosa por todos os anos de convivência amigável, proveitosa em ensinamentos cotidianos, e pela orientação competente deste trabalho de tese.

Aproveito a oportunidade para expressar, também, meus profundos agradecimentos ao Diretor do Instituto de Microbiologia Prof. Fernando Steele da Cruz e aos Chefes dos Departamentos de Virologia e Microbiologia Médica da UFRJ, Carlos M. Nozawa e Sérgio Eduardo L. Fracalanza, respectivamente, que facilitaram o uso das instalações do Instituto.

À Professora Anna Timotheo da Costa, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Zoologia do Museu Nacional pelo carinho e atenção dispensados em todas as ocasiões.

Aos amigos Ronaldo Novelli e Venicio Feô da Veiga, pela ajuda prestada na coleta dos animais marinhos (por ambos), desenvolvimento das técnicas de Microscopia Eletrônica

ca (pelo último) e pelas importantes palavras de estímulo e amizade que sempre nos encorajaram. Registro também aqui, o insubstituível apoio na montagem e paginação de toda tese.

Aos colegas do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Microbiologia: Dra. Maria Evangelina Ferreira Fonseca, Marilene Ramos da Silva, Liliana Cruz Spano, Fátima Knaipe Dibe, Ledy Horto dos Santos Oliveira e Nádia da Silva Basso pela inesquecível convivência.

Aos Biólogos, Leika Procopiak, Denise Barçante, Luiz Ricardo C. de Souza, por todas as colaborações.

Aos colegas do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biofísica, em especial aos Professores : Dr. Raul D. Machado, Dra. Marlene Benchimol de Souza e ao Dr. Wanderley de Souza pelos inestimáveis auxílios. Estendo, ainda, minha gratidão aos técnicos Sebastião da Cruz e Antônio Lisboa de Oliveira.

Aos Profs. Jean Valentin e Yocie Yoneshigue e em especial ao Capitão Frederico Corner Montenegro Bentes pela acolhida e franquia de acesso aos Laboratórios do Projeto Cabo Frio.

À mestranda Laura Jane, do Museu Nacional, pela oportunidade de acesso e uso de uma câmara clara do Departamento de Botânica do Museu Nacional.

Ao Prof. Arnaldo Feitosa Braga de Andrade, do Departamento de Imunologia do Instituto de Microbiologia, pe

la prestimosa ajuda no manejo do microscópio munido de equipamento para microfotografia.

Tenho igualmente a agradecer, aos Professores Bernardo J. de A. Mascarenhas, Maria Júlia da Costa Belém, Ronaldo Novelli e Andrea Junqueira pela identificação dos hospedeiros dos ciliados.

Dirijo também meus agradecimentos, ao técnico Paulo Roberto Andrade Rios pelos serviços fotográficos, ao Biólogo Armando Haron Balaciano pelas ilustrações do trabalho, à Sra. Sandra Temoteo Leite Costa, pelo trabalho de datilografia e à Ilson Pereira de Vasconcellos, pelo trabalho de mecanografia desta tese.

Finalmente, tenho muito a agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Conselho de Ensino para Graduados (CEPG) da UFRJ Proc. 30.0653/70 e 40.1940/81 que com seus recursos, ajudaram na realização de grande parte deste trabalho.

INTRODUÇÃO

Os protistas constituem um Reino bastante heterogêneo de organismos microscópicos unicelulares, que possuem estrutura celular tipicamente Eucarionte.

Além da grande diversidade de formas, nos Protistas, se observam todos os tipos de simetria, uma ampla gama de complexidade estrutural e adaptações para variados tipos de condições ambientais.

O Phylum Ciliophora tem três classes: Kinetofragminophora, Oligohymenophora e Polyhymenophora. Numa breve estimativa podemos dizer que já foram descritas mais de 7300 espécies e muitos grupos permanecem ainda mal conhecidos.

O Phylum Ciliophora é constituído de seres eucarióticos, unicelulares, heterótrofos (tamanho, 10 a 4.500 um), de vida livre ou sésseis, com cílio (simples ou composto) em pelo menos um estágio do ciclo de vida; complexa infraciliatura cortical somática e oral; geralmente com alvéolos subpeliculares; estruturas microtubulares ou microfibrilares, frequentemente associadas a cinetosomas. Apresentam comumente extrusomas; fissão binária ou múltipla; dualismo nuclear (raras exceções), um ou muitos micronúcleos diplóides e um ou vários macronúcleos poliplóides; conjugação; geralmente monostômico, mas alguns grupos sem boca ou polistômico; vacúolo contrátil tipicamente presente, frequentemente, também, um citoprocto; modo de alimentação osmotrófica ou fagotrófica; ampla distribuição, diversos

habitats aquáticos e edáficos, com ecto ou endocomensalismo exibida por algumas espécies.

Os ciliados se encontram amplamente distribuídos na natureza tanto na terra úmida, nos musgos, nas turfeiras, nos líquens, nas cascas de árvores e , principalmente, nas águas doces e marinhas. A maioria destes são de vida livre, mas existem também muitos comensais e alguns parasitos.

Diversos termos são comumente utilizados para referir-se aos ciliados comensais. Segundo Corliss (1979), as poucas formas simbiotes existentes em um número total de espécies, são comumente encontradas como inofensivas. Podem ser: ectocomensais ou epibiontes, ou ainda, sinforiontes, fixados na maioria das vezes no tegumento de invertebrados. Outros ocorrem como endocomensais, geralmente em partes da cavidade do corpo ou no trato digestivo, de vertebrados ou invertebrados.

Relativamente poucos ciliados podem ser considerados como verdadeiros parasitos, e somente uma espécie (o Trichostoma-Balantidium coli), é conhecida por ser parasito do homem.

De qualquer maneira, não excluimos a possibilidade da existência de outros ciliados parasitos. Existem espécies comensais que indiretamente podem causar danos ao seu hospedeiro, quando presentes em grande quantidade e pelo modo com que estes ciliados fixam-se sobre ele (Lom, 1973).

Sobre os ciliados comensais de invertebrados marinhos já foram publicados numerosos trabalhos.

A distribuição desses protozoários mostra-se bem ampla e o inquilinismo destes tem sido observado em animais pertencentes a vários filos.

Preocupamo-nos, neste trabalho, em estudar as fáunulas de ciliados que apareceram com maior frequência nos invertebrados mais comuns, existentes em nosso litoral.

Examinamos animais pertencentes a vários filos, mas foi entre os Cnidários, Moluscos e Equinodermas que encontramos ocorrência de ciliados associados ecto e endocionalmente (figs. 2-4, 23, 35, 46, 64, 69-72), (Tabelas I e II).

Nos Cnidários, encontramos Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863) (Apostomatida-Foettingeriidae) na cavidade gastrovascular das anêmonas-do-mar Anemonia sargassensis, Bunodosoma caissarum e Phylactis flosculifera.

Nos Moluscos, encontramos Metanyctotherus rancureli Laval & Tuffrau, 1973 (Heterotrichida-Nyctotheriidae) na cavidade digestiva do bivalve Neoteredo reynei. Achamos, também, um ciliado Astomatida na cavidade paleal do bivalve Anomalocardia brasiliana. Este último ciliado, foi incluído, provisoriamente, na ordem Astomatida, embora consideremo-lo com as informações atuais com que dispomos, como um "incertae-sedis".

Nos Equinodermas, encontramos os epibiontes Trichodina Ehrenberg, 1838 (Peritrichida-Trichodinidae), na estrela-do-mar (Enoplopatiria stellifera e Lyncophora Claparède, 1867 (Heterotrichida-Lyncophoridae), nas estrelas-do-mar Coscinasterias tequispina; Astropecten armatus braziliensis; Echinaster brasiliensis e Linckia guildingii.

Os endocomensais Parametopus circumlabens (Biggar & Wenrich, 1932) (Heterotrichida-Metopidae), e Euplotes balteatus (Dujardin, 1841) (Hypotrichida-Euplotidae) foram encontrados na cavidade digestiva do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus.

Com o fim de conhecermos os grupos dos ciliados citados anteriormente, caracterizaremos as suas respectivas Famílias e, separadamente, a Ordem Astomatida, segundo Corliss (1979). Posteriormente citaremos os trabalhos tirados da literatura mundial que mostram, de um modo geral, as principais pesquisas feitas, referentes aos ciliados comensais de invertebrados marinhos pertencentes as espécies citadas acima.

1 - Caracterização das Famílias e da Ordem Astomatida.

1.1. Família Foettingeriidae Chatton, 1911.

Ciliados com citóstoma inconspícuo ou ausente; em certos estágios, tipicamente com uma estrutura única denominada roseta próxima da área oral e de função imprecisa; formas desenvolvidas, mostram ciliatura somática de holotrichios, geralmente arranjadas em menos de 22 cinécias destremente espiraladas, com campos de cílios fortemente tigmotáticos; reprodução pode envolver palintomia; presença de cingitodesmo bem desenvolvido; tipicamente com um vacúolo contrátil dotado de poro excretor; macronúcleos homômeros em trofontes, heterônomos em tomitos de muitas espécies; complexos ciclos de vida polimórficos; simbiose (parasitismo) em ou sobre hospedeiros predominantemente marinhos; apostomatídeos s. s. são comumente encontrados em caranguejos ermitões, camarões e Copépodos. As anêmonas marinhas podem ser hospedeiras alternativas, de espécies com outro ciclo obrigatório.

1.2. Ordem Astomatida Schewiakoff, 1896

Apresentam o corpo relativamente grande, principalmente no comprimento, forma cilíndrica ou ovóide-achatada, uniformemente ciliada, sem boca. Um endoesqueleto infraciliar de considerável complexidade pode estar presente, freqüentemente com elaboradas organelas de fixação na extremidade anterior do corpo; fissão tipicamente anisotômica; presença de vários vacúolos contratéis mas citoproctos ausentes; universalmente endosimbióticos com a maioria encontrada na cavidade digestiva de Anelídeos Oligoquetas do solo, água doce, salobra ou habitats marinhos; algumas espécies em Poliquetas e Hirudíneos (sanguessugas); Turbelários ou Moluscos e um grande grupo exclusivamente em Anfíbios de cauda.

1.3. Família Trichodinidae Claus, 1874.

O corpo tem a forma cilíndrica, de barril, ou globoso, ocasionalmente delgado, afilado apicalmente ou achatado, em forma discoidal ou hemisférica; espiral adoral estendendo-se em torno de 180°, aproximadamente 2-3 semi círculos completos coincidindo com o disco adesivo aboral; ciliatura bucal conspícua; denticulos complexos, freqüentemente ligados via ganchos e/ou pontas, geralmente em número de 15-40 (porém aproximando-se de 60 em vários gêneros), freqüentes cílios marginais; macronúcleos em forma de salsicha ou ferradura (algumas vezes compactos); numerosas espécies, amplamente distribuídas e encontradas em diversos hospedeiros geralmente no tegumento, de vários invertebrados aquáticos, cavidade do manto,

brânquias de moluscos, gastrópodes terrestres, pele, bexiga urinária, e, especialmente, brânquias de peixes marinhos e dulcícolas e em alguns anfíbios.

1.4. Família Metopidae Kahl, 1927.

Apresentam a parte anterior do corpo sempre retorcida para a esquerda, e a parte posterior, algumas vezes, com cílio caudal e/ou tufo de longos cílios caudais; geralmente com grandes membranelas bucais inconspícuas; ciliatura somática uniforme, por vezes pouco densa; macronúcleo compacto, localizado na metade anterior do corpo; ampla distribuição, com formas polisapróbias de água doce, mas alguns, também marinhos e psamófilos ou ainda inquilinos em Echinóides.

1.5. Família Nyctotheridae Amaro, 1972.

Tem o corpo ovóide, ligeiramente reniforme, intumescido; ciliatura bucal correndo das proximidades do ápice para a posição subequatorial, em segmentos curvos no interior do infundibulum bucal "sensu lato". O macronúcleo é compacto, grande e simples, localizado na metade anterior do corpo, suportado por um carióforo mais ou menos bem desenvolvido. Apresentam um sistema secante que varia significativamente dentro do gênero. São endosimbiontes em uma ampla variedade de hóspedes: de Oligoquetas Insetos (baratas), Miriápodes (centopéia e gongolo), Moluscos (vermiformes), Anfíbios (rã, sapo) e Répteis.

1.6. Família Licnophoridae Butschli, 1887.

Apresentam o corpo em forma de ampulheta, disco oral apical proeminente e disco basal conspícuo no pólo posterior; quase desprovido de cílios, exceto no anel ciliar posterior e organelas bucais; disco basal, rico em microfibrilas e bem complexas, serve como organela de fixação; macronúcleo moniliforme ou fragmentado; ectocomensais sobre uma grande variedade de organismos marinhos, variando das algas (substrato para uma única espécie) aos Tunicados, inclusive Celenterados, Anelídeos, Moluscos, envolvendo também Equinodermas.

1.7. Família Euplotidae Ehrenberg, 1838.

Cirros marginais ausentes ou rarefeitos em número; os cirros transversos e frontoventrais, são frequentemente, muito desenvolvidos, fortes, e muito comuns. A ciliatura oral é bem evidente e usualmente estende-se até a metade do comprimento do corpo. Possuem "tractus" de microtúbulos entre os cirros; cinetodesma relatado; com numerosas espécies, amplamente distribuídas, predominantemente marinhas. Os Euplotes tem sido encontrados em ouriços-do-mar, e Uronychia na cavidade do manto de moluscos.

2 - Trabalhos estrangeiros

Os Foettingeria actiniarum, encontrados dentro da cavidade gastrovascular de anêmonas-do-mar, foram vistos pela primeira vez por Claparède (1863), como Plagiotoma actiniarum em Actina equina da região de Saint-Vaast-la-Houge, na França.

Posteriormente, Jourdan (1888) reexaminou os Foettingeria de A. equina de Marselha e relatou precisamente a forma do corpo e a ciliatura somática.

Caullery e Mesnil (1903) encontraram os mesmos ciliados em Anemonia sulcata, Actina equina e Tealia crassicornis, da região de Anse-Saint-Martin em Roscoff. Fizeram uma breve descrição do infusório, incluindo as estruturas nucleares e citoplasmáticas. Ao examinar as formas jovens, julgaram que se tratavam de formas resultantes de uma divisão múltipla, provavelmente de um cisto. E devido as características nucleares próximas dos Opalinopsis, um Foettingeriidae, propuzeram um novo gênero, Foettingeria, antes descrito por Claparède no gênero Plagiotoma.

Andre (1910), encontrou Foettingeria em Equina equinata de Roscoff e fez importantes observações estruturais, inclusive do seu ciclo de vida. E, neste relato, negou a presença destes ciliados em Sagartia parasitica, também de Roscoff, a qual foi citada mais tarde por Chatton e Lwoff (1935) como hospedeira dos referidos comensais.

Os Foettingeria foram também vistos por Morgan (1924), o qual redescreveu muito bem a ciliatura somática e o processo de multiplicação dentro do cisto.

Chatton e Lwoff (1927) relataram que os Foettingeria se tratavam do primeiro exemplo de infusório cuja evolução se efetuava por dois hóspedes diferentes, incluindo neste caso um crustáceo. Ainda neste trabalho, referiu a denominação palintomia ao processo de divisão múltipla do F. actiniarum.

Ulteriormente, Chatton e Lwoff (1935), baseados principalmente em sua própria técnica de impregnação metálica publicaram um relato completo sobre os ciliados Apostomatida com uma descrição detalhada de todas as fases do ciclo de vida dos Foettingeria, que encontraram em abundância nas A. equina, de Roscoff. Além de importantes observações do ciliado in vivo descreveram assim o seu ciclo de vida: o ciclo de vida do Foettingeria actiniarum envolve dois hospedeiros: uma anêmona-do-mar na qual os trofontes efetuam todo o seu desenvolvimento, para em seguida passarem ao meio exterior, onde se encistam e se multiplicam por palintomia ou tomitogênese (tomito). Os tomitos resultantes desta palintomia se fixam ao segundo hóspede, um crustáceo, sobre os tegumentos do qual se encistam (cistos foréticos ou forontes). Quando o crustáceo é ingerido por uma actínia, os indivíduos foréticos eclodem e passam ao estado de jovens trofontes que começam seu desenvolvimento dentro da cavidade gastrovascular da anêmona-do-mar.

Posteriormente, Ball e Moebius (1955) encontraram um Foettingeriidae na anêmona-do-mar Anthopleura xanthogramica do Sul da Califórnia, na América do Norte.

Depois de um espaço de quase vinte anos, Bradbury (1974) fez importantes observações através da microscopia ele

trônica, sobre a maneira e tipo de alimentação do F.actiniarum obtidos de Anemonia sulcata, coletadas em Roscoff, França.

Em seguida Welch (1977) encontrou um apóstomo Foettingeria e outros ciliados simbiotes na anêmona-do-mar Bunodosoma cavernata, em Galvestone, Texas. Após comparações feitas com F.actiniarum de Roscoff, França, observou algumas diferenças, tais como o tamanho e forma, principalmente da região anterior, assim como a disposição das cinécias da extremidade posterior do corpo. Mas não acrescentou a possibilidade de tratar-se de uma nova espécie.

Os Astomatida já foram encontrados em hospedeiros terrestres, de água-doce e marinhos principalmente, nos anêlidos terrestres.

As poucas espécies marinhas conhecidas vivem associadas a tubelários, poliquetas e moluscos Lamellibranchia.

Este grupo de ciliados tem sido muito bem documentado por Puytorac (1954, 1957a, 1957b, 1959b, 1959c, 1969a e 1972a), especialmente em sua monografia sobre a superfamília Hoplitophryidae, que inclui uma importante revisão sistemática deste grupo baseada, principalmente, na evolução do citoesqueleto, cinetoma e condições ecológicas.

Os Trichodina tem sido extensivamente estudados por pesquisadores em todo o mundo. Estes ciliados já foram encontrados em uma ampla variedade de hospedeiros de água-doce e marinhos.

Associadas à estrelas-do-mar são conhecidas três espécies do gênero Trichodina: T.asterisci (Gruber, 1884) en-

contrada em Asteriscus, T.astericola (Precht, 1935) em Asterias rubens e T.astropectinis (Chatton e Villeneuve, 1937) associada à Astropecten bispinosus.

Uzmann e Stickney (1954) fizeram um estudo completo de T.myicola, um epibionte do bivalve Mya arenaria, e forneceram em seu trabalho uma extensa tabela de distribuição zoológica dos Trichodina, relacionando-os com seus respectivos hospedeiros.

Os principais estudos morfológicos dos Trichodina tem sido revisado por Fauré-Fremiet e Thauereux (1944), Davis (1947), Lom(1964), Maslin-Leny (1983).

Os pesquisadores Dogiel (1940), Fauré-Fremiet (1943) e Raabe(1963) além de revisarem a sistemática da família Urceolariidae forneceram importantes esquemas taxonômicos.

Sobre a ultraestrutura dos Trichodina encontramos os trabalhos de Favard e col. (1963), Hausmann e Hausmann (1981a, 1981b) e Maslin-Leny e Bohatier (1984).

O ciliado endocomensal Parametopus circumlabens já foi encontrado em cerca de vinte espécies de ouriços-do-mar de várias regiões geográficas. A primeira observação de P.circumlabens foi feita por Biggar (1932) em Diadema setosum e Echinometra subangularis das Bermudas e, posteriormente, no mesmo hospedeiro por Uyemura (1933) no Japão.

P.circumlabens foi visto também por Powers(1935), em Diadema antillarum e Tripneustes esculentus; por Berger (1961, 1964), dentro de D.antillarum, D.savigyi, Echinometra lucunter, E.mathaei, E.m.oblonga, E.aciculatus, E.calamaris, Heterocentrotus trigonius, Mespulia globulos, T.gratilla;

por Urdaneta Morales & Tengler de Mc Lure (1966), dentro de D.antillarum, E.lucunter e T.ventricosus; por Grolière, Puytorac e Grain (1980) dentro de Lytechinus variegatus.

Os autores citados anteriormente apresentam em seus trabalhos, de um modo geral, breves descrições do ciliado além de alguns aspectos de seu hábito endozoóico.

O gênero Metanyctotherus apresenta somente duas espécies. A primeira foi encontrada em Spirostreptus multisulcatus (Artropoda-Miriapoda) da região de Maboke, República Centro Africana e descrita por Albaret (1970) com o nome de M.congoi.

Posteriormente Laval & Tuffrau (1973) encontraram M.rancureli dentro da cavidade digestiva do bivalve Teredo adami=Neoteredo reynei da Costa do Marfim. Os autores fizeram uma descrição bem detalhada do ciliado, dando ênfase aos dois sistemas secantes, típico do gênero, e a infraciliatura dentro da cavidade bucal.

Licnophora é o único gênero existente dentro da Família Licnophoridae. Apresenta doze espécies que foram encontradas associadas em alguns invertebrados marinhos e uma espécie relatada por Faure-Fremiet (1937) vivendo sobre os filamentos de uma alga do grupo das cianofíceas.

Os Licnophora foram por muito tempo motivo de confusas classificações. A presença do disco basal de fixação sugeria que estes ciliados fossem incluídos no grupo dos Peritrichida (Trichodinidae).

Por outro lado, a presença de numerosas membranelas constituindo, a Zona Adoral de Membranelas (Z.A.M.), na área peristomiana, aproximava estes ciliados aos autênticos Heterotrichida.

Houve, também, quem acreditasse que os Licnophora fossem derivados de um Hipotrichida ancestral.

Estas diferenças de opiniões, sobre a posição filogenética dos Licnophora, foi muito bem comentada por Villeneuve-Brachon (1940) e Balamuth (1941).

Atualmente, nos diversos sistemas de classificação, os Licnophora estão definitivamente incluídos entre os Heterotrichida.

A literatura sobre Licnophora se concentra, basicamente, nos trabalhos de Stevens (1901, 1904), Villeneuve-Brachon (1940) e Balamuth (1941, 1942).

Stevens (1901, 1904) fez um estudo detalhado da morfologia, reprodução e regeneração de L. macfarlandi que encontrou na árvore respiratória de Holothuria californica. Villeneuve-Brachon (1940) fez um extenso relato sobre todas as espécies conhecidas pertencentes ao gênero, baseado sobre a infraciliatura, taxonomia comparada e morfogênese.

Balamuth (1941, 1942) encontrou também L. macfarlandi mas, fixado ao pepino-do-mar Stichopus californicus. O autor concentrou suas observações na citologia, morfogênese, comportamento e ecologia do ciliado comparando seus resultados com os de Stevens (op.cit).

Balamuth (1941 e 1942) não fez nenhuma comparação de seus resultados com os obtido por Villeneuve-Brachon (1940) devido à quase simultaneidade das suas publicações.

O gênero Euplotes apresenta um grande número de espécies, provavelmente, mais que 50, que são em sua maioria de vida livre. Euplotes balteatus é um dos poucos Euplotes de hábito comensal. Este ciliado tem sido encontrado no aparelho digestivo de numerosas espécies de ouriços-do-mar, encontrados em diferentes regiões do mundo.

Depois de Dujardin (1841), E. balteatus foi encontrado por Kahl (1932), o qual não fez nenhuma referência da localidade ou do hospedeiro de sua ocorrência.

Posteriormente, E. balteatus foi encontrado pelos seguintes pesquisadores: por Beers (1954, 1961) como forma de vida livre e também associado ao Strongylocentrotus drobachiensis de Mt. Desert Island, America do Norte, Berger (1960c) em S. purpuratus, S. echinoides e S. franciscanus, Berger (1961) em Alloccentrotus fragilis de Friday Harbor, America do Norte, Berger & Profant (1961) em A. fragilis de Friday Harbor e St. Barbara Channed, América do Norte, Berger (1965), como forma de vida livre no NE do Pacífico, Tuffrau (1959 e 1964), em formas de vida livre de Roscoff, Concarneau, França.

3 - Trabalhos Brasileiros

Sobre os ciliados associados a animais marinhos podemos citar os trabalhos de Cunha & Pinto (1928), os quais descrevem uma nova espécie de ciliado do gênero Trichodina encontrado no intestino do baiacu (Sphaeroides testudineus), da Baía de Guanabara, no Rio de Janeiro.

Kattar (1970), que em seu trabalho de tese sobre ciliados mesopsâmicos do litoral brasileiro, assinalou a oportunidade de verificar "entoquia" em Holothuria grisea (Echinodermata) da região de Santos, devida sobretudo ao Loxophylum elegans, um ciliado de vida livre.

Mais tarde, Kattar (1982) encontrou o Heterotrichida Parametopus circumlabens no ouriço-do-mar Lytechinus variegatus, procedentes de São Sebastião (Litoral Norte do Estado de São Paulo). Além de detalhada descrição morfológica do ciliado, forneceu importantes informações sobre sua biologia.

Posteriormente, Santa Rosa, Neto & Veiga (1985), fizeram novas observações sobre Parametopus circumlabens, baseados em estudos estruturais e ultraestruturais feitos em microscopia de luz, microscopia eletrônica de Varredura (SEM) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Acrescentaram informações sobre a disposição das cinécias somáticas e orais, assim como, detalhes do córtex e do citoplasma.

Num outro trabalho, Neto, Santa Rosa & Veiga (1985a) encontraram junto ao Parametopus circunlabens o Hipotrichio Euplotes balteatus dentro do aparelho digestivo do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus coletados na praia da Urca (Litoral do Estado do Rio de Janeiro). Fizeram uma breve descrição do ciliado através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura (SEM).

Na mesma ocasião, Neto, Santa Rosa & Veiga (1985b) registraram como nova ocorrência, Trichodina sp., ciliado mobilina epibionte da estrela-do-mar Enoplopatiria stellifera. Através de técnicas de impregnação Argêntica e da reação nuclear de Feulgen, descreveram, de forma resumida, a estrutura geral do ciliado.

Ulteriormente, Neto, Santa Rosa & Veiga (1986) fizeram algumas observações sobre a estrutura do Apóstomatídeo Foettingeria actiniarum assinalando como uma nova ocorrência nas anêmonas-do-mar: Bunodosoma caissarum, Anemonia sargassensis e Philactis flosculifera, coletadas no litoral do Estado do Rio de Janeiro, sendo o primeiro achado deste ciliado para o Continente Sul-Americano.

Santa Rosa, Neto & Veiga (1986) encontraram um Astomatídeo anômalo, comensal de Anomalocardia brasiliana, molusco-bivalve muito comum no litoral do Estado do Rio de Janeiro. Além de uma descrição da morfologia geral do ciliado, fizeram um importante comentário sobre o seu processo de ingestão de alimentos.

Devido aos escassos estudos feitos, até agora, no Brasil, sobre a fâunula de ciliados associada a animais marinhos propusemo-nos fazer um levantamento de ciliados comensais de invertebrados marinhos do litoral do Estado do Rio de Janeiro abordando o assunto sobre os aspectos estrutural e ultraestrutural, assim como, alguns aspectos das relações hôte-de-hospedeiro.

Para as observações estruturais da infraciliatura somática e oral, e do endoplasma, empregamos as técnicas de impregnação pela prata de Chatton & Lwoff, 1935; de Bodian segundo as variantes de Tuffrau, 1964 e 1967; e de Klein, 1958. A evidenciação morfológica dos núcleos foi feita através da reação nuclear de Feulgen, 1926.

Os estudos realizados ao Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM) foram aplicados somente aos F. actiniarum, P. circulabens e E. balteatus e os realizados ao Microscópio Eletrônico de Transmissão (TEM) se limitaram apenas ao P. circumlabens.

Para um melhor entendimento das estruturas básicas dos ciliados, organizamo-las, abaixo, de forma resumida:

4 - Estruturas básicas dos ciliados

4.1. Membrana citoplasmática ou plasmalema

A membrana citoplasmática ou plasmalema envolve os cílios e a superfície do corpo.

4.2. O cílio

O cílio é uma organela locomotora típica do ciliado. Têm uma estrutura idêntica e comum nos flagelados , nos protófitos e nos metazoários (Fig. 1).

4.3. O córtex

O córtex contém estruturas usadas na caracterização e identificação do taxon. Nele estão, pelo menos em parte, importantes zonas: a somática, que funciona na locomoção, fixação ao substrato ou formando cobertura protetora e sensitiva ao ambiente; e a oral que atua na captura e carreamento dos nutrientes para o citóstoma. Ambas, na maioria dos ciliados, são apoiadas numa infraciliatura subpelicular, isto é, em fileiras organizadas de cinetosomas com suas microfibrilas e microtúbulos associados.

4.4. O cinetosoma

Os cinetosomas são usualmente cilíferos e, geralmente, estão implantados, perpendicularmente à membrana plasmática associando-se em fileira, ou linhas longitudinais denominadas cinécias. Têm o formato de um cilindro com 450nm de altura por 170nm de diâmetro. São constituídos, essencialmente, por uma estrutura em eneanema, isto é, por 9 conjuntos de "triplets" (Fig. 1).

As fibrilas comumente associada aos cinetosomas são: o feixe microfibrilar cinetodesmal (Kd), as fibras mi

crotonulares transversas (T) e posciliares (Pc). Segundo Grain (1969), a fibra cinetodesmal sai do setor anterior direito do cinetosoma. Ela é uma estrutura periódica e se dirige para a frente, ao mesmo tempo ascendendo para a superfície da célula onde ela pode associar-se a outras semelhantes (fig. 1).

No setor anterior esquerdo do cinetosoma se originam os microtúbulos que constituem as fibras transversas as quais dirigem-se para a superfície, entre as cristas ectoplasmáticas, perpendicularmente a direção das cinécias.

As fibras pôsciliares são originadas no setor posterior direito do cinetosoma, ligadas ao triplet (nº9). (fig. 1).

4.5. As cinécias

As cinécias podem ter 1, 2 ou mais cinetosomas, sendo chamadas, respectivamente, monocinécia, dicinécia, ou policinécia.

4.6. A ciliatura oral

As paredes e bordos da cavidade oral são cobertas por uma ciliatura especializada. A ciliatura localizada à direita do citóstoma é denominada ciliatura paraoral e a localizada à esquerda da cavidade oral é chamada de ciliatura adoral ou Zona Adoral de Membranelas (A.Z.M.).

Ambas, paraorais e adorais, se estendem em direção ao citóstoma, e participam na captura de presas ou alimentos.

4.7. O citoplasma

Os ciliados apresentam seu citoplasma geralmente dividido em duas regiões, o córtex e o endoplasma, limitadas geralmente por uma zona microfibrilar denominada zona ectoendoplasmática.

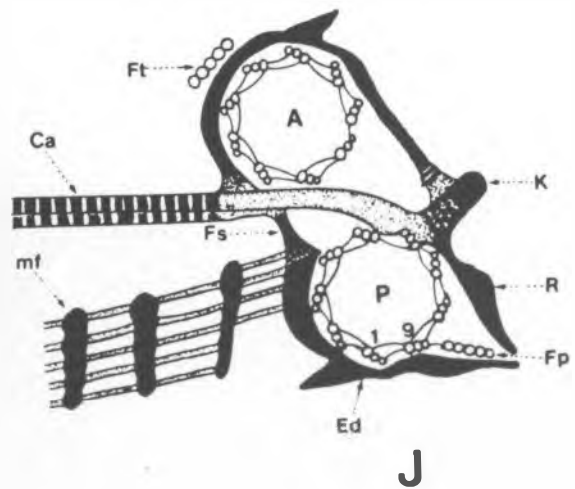
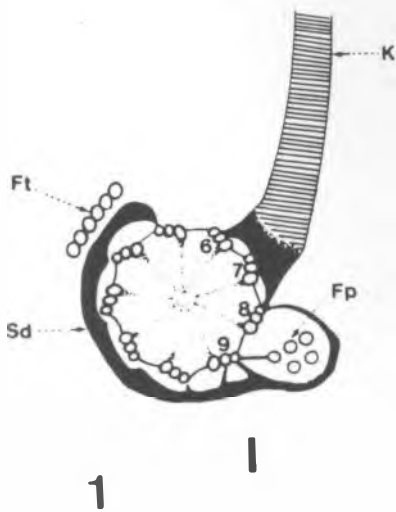
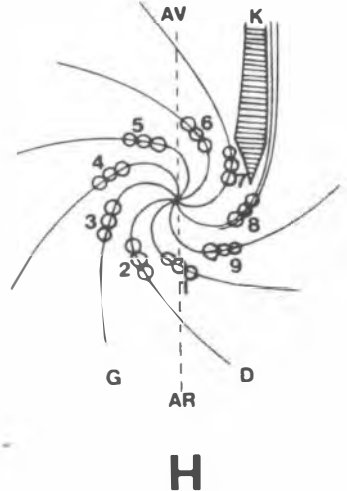
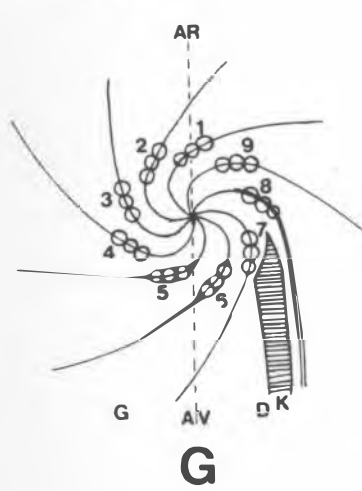
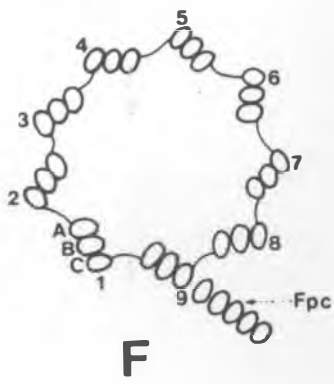
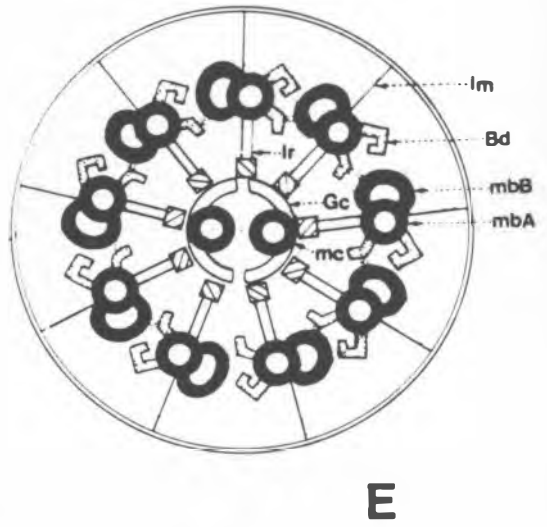
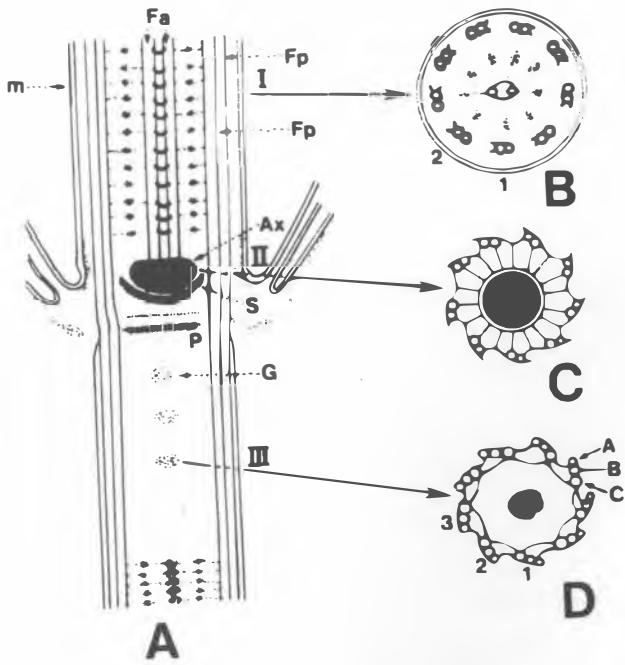


Fig. 1. Corte longitudinal do cílio e cinetosoma (A) de Balantidium elongatum, B, corte transversal do cílio ao nível I. C, corte transversal ao nível do axosoma (II). D, corte transversal ao nível do cinetosoma (III) (m: membrana celular, Fa: fibras axiais, Fp: fibras periféricas, Ax: axosoma, S: septo principais, P: placa terminal, A,B,C: denominação das sub-fibras dos triplets; 1,2,3: numeração dos triplets (segundo Grain, 1969). E, esquema de um corte de cílio em corte transversal (segundo Patterson, 1981), (mbA: microtúbulo A, mbB: microtúbulo B, mc: microtúbulos centrais, IR: ligação radial, Gc: bainha central, Im: ligação membrana). F, cinetosoma de Paramecium e numeração de seus triplets vista do interior do ciliado (segundo Corliss, 1979), (Fpc: fibras pós-ciliares). G, cinetosoma visto do exterior da célula (por sua extremidade distal). H, cinetosoma visto do interior da célula (por sua extremidade proximal), [(AR: atrás da cinécia, AV: antes da cinécia, D: face direita do ciliado, G: face esquerda do ciliado, K: cinetodesma (segundo Grain, 1969)]. I, os derivados cinetosomianos em um cinetosoma isolado e J, em um par de cinetosomas somáticos de Sicuophora (segundo Puytorac e Grain, 1969), (K: cinetodesma, FT: fibras transversas, Fp: fibras pós-ciliares, Sd: substância densa, Ca: fibra transversal catetodesmal, Ed: envelope denso, R: fibra opaca retrodesmal, mf: rede de microfibrilas, A: cinetosoma anterior, P: cinetosoma posterior). Obs: A figura 1 e a legenda (segundo Dragesco, 1986).

5 - Classificação segundo Corliss, 1979

Phylum CILIOPHORA Doflein, 1901

Classe I. Kinetofragminophora de Puytorac et al., 1974

Sub-classe (1) Gymnostomata Bütschli, 1889

Ordem 1. Primociliatida Corliss, 1974

2. Karyorelictida Corliss, 1974

3. Prostomatida Schewiakoff, 1896

Sub-ordem (1) Archistomatida de Puytorac et al., 1974

(2) Prostomatina Schewiakoff, 1896

(3) Prorodontina Corliss, 1974

4. Haptorida Corliss, 1974

5. Pleurostomatida Schewiakoff, 1896

Sub-classe (2) Vestibulifera de Puytorac et al., 1974

Ordem 1. Trichostomatida Bütschli, 1889

Sub-ordem (1) Trichostomatina Bütschli, 1889

(2) Blepharocorythina Wolska, 1971

2. Entodiniomorphida Reichenow in Doflein & Reichenow, 1929

3. Colpodida de Puytorac et al., 1974

Sub-classe (3) Hypostomata Schewiakoff, 1896

Ordem 1. Synhymeniida de Puytorac et al., 1974

2. Nassulida Jankowski, 1967

Sub-ordem (1) Nassulina Jankowski, 1967

(2) Microthoracina Jankowski, 1967

3. Cyrtophorida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

(1) Chlamydodontina Deroux, 1976

(2) Dysteriina Deroux, 1976

(3) Hypocomatina Deroux, 1976

4. Chonotrichida Wallengren, 1895

(1) Exogemmina Jankowski, 1972

(2) Cryptogemmina Jankowski, 1975

5. Rhynchodida Chatton & Lwoff, 1939

6. Apostomatida Chatton & Lwoff, 1928

(1) Apostomatina Chatton & Lwoff, 1928

(2) Astomatophorina Jankowski, 1966

(3) Pilisuctorina Jankowski, 1966

Sub-classe (4) Suctoria Claparède & Lachmann, 1858

Ordem Suctorida Claparède & Lachmann, 1858

Sub-ordem (1) Exogenina Collin, 1912

(2) Endogenina Collin, 1912

(3) Evaginogenina Jankowski, n. subord.

Classe II. Oligohymenophora de Puytorac et al., 1974

Sub-classe (1) Hymenostomata Delage & Hérouard, 1896

Ordem 1. Hymenostomatida Delage & Hérouard, 1896

Sub-ordem (1) Tetrahymenina Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

(2) Ophryoglenina Canella, 1964

(3) Peniculina Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

2. Scuticociliatida Small, 1967

(1) Philasterina Small, 1967

(2) Pleuronematina Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

(3) Thigmatrichina Chatton & Lwoff, 1922

3. Astomatida Schewiakoff, 1896

Sub-classe (2) Peritricha Stein, 1859

Ordem Peritrichida Stein, 1859

Sub-ordem (1) Sessilina Kahl, 1933

(2) Mobilina Kahl, 1933

Classe III. Polyhymenophora Jankowski, 1967

Sub-classe Spirotricha Bütschli, 1889

Ordem 1. Heterotrichida Stein, 1859

Sub-ordem (1) Heterotrichina Stein, 1859

(2) Clevelandellina de Puytorac & Grain, 1976

(3) Armophorina Jankowski, 1964

(4) Coliphorina Jankowski, 1967

(5) Plagiotomina Albaret, 1974

(6) Licnophorina Corliss, 1957

2. Odontostomatida Sawaya, 1940

3. Oligotrichida Bütschli, 1887

(1) Oligotrichina Bütschli, 1887

(2) Tintinnina Kofoid & Campbell, 1929

4. Hypotrichida Stein, 1859

(1) Stichotrichina Fauré-Fremiet, 1961

(2) Sporadotrichina Fauré-Fremiet, 1961

6 - Classificação dos ciliados comensais, baseado em
Corliss, 1979.

Classe Kinetofragminophora de Puytorac et al., 1974

Sub-classe Hypostomata Schewiakoff, 1896

Ordem Apostomatida Chatton & Lwoff, 1928

Sub-ordem Apostomatina Chatton & Lwoff, 1928

Família Foettingeriidae Chatton, 1911

Foettingeria actiniarum(Claparède, 1863)

Classe Oligohymenophora de Puytorac et al., 1974

Sub-classe Hymenostomata Delage & Hérouard, 1896

* Ordem Astomatida Schewiakoff, 1896

Sub-classe Peritricha Stein, 1859

Ordem Peritrichida Stein, 1859

Sub-ordem Mobilina Kahl, 1933

Família Trichodinidae Claus, 1874

Trichodina Ehrenberg, 1838

Classe Polyhymenophora Jankowski, 1967

Sub-classe Spirotricha Bütschli, 1889

Ordem Heterotrichida Stein, 1859

Sub-ordem Heterotrichina Stein, 1859

Família Metopidae Kahl, 1927

Parametopus circumlabens (Biggar & Wenrich, 1932)

Sub-ordem Clevelandellina de Puytorac & Grain, 1976

Família Nyctotheridae Amaro, 1972

Metanyctotherus rancureli Laval & Tuffrau, 1973

Sub-ordem Licnophorina Corliss, 1957

Família Licnophoridae Büstschli, 1887

Licnophora Claparède, 1867

Ordem Hypotrichida Stein, 1859

Sub-ordem Stichotrichina Fauré-Fremiet, 1961

Família Euplotidae Ehrenberg, 1838

Euplotes balteatus (Dujardin, 1791)

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizamos para o trabalho, ciliados encontrados em associação com alguns invertebrados marinhos.

Contamos com sete espécies de ciliados, a saber: Foettingeria actiniarum, encontrados em anêmonas-do-mar; um Astomatida e Metanyctotherus rancureli, em moluscos bivalves; Trichodina sp. e Licnophora sp., em estrêla-do-mar; Parametopus circumlabens e Euplotes balteatus, em ouriços-do-mar.

1 - Locais de coleta (procedência):

Escolhemos os pontos de coleta aleatoriamente, em diversos locais com características diferentes e distantes uns dos outros ao longo do litoral do Estado do Rio de Janeiro.

As espécies hospedeiras com os respectivos locais de coleta são citados na tabela 1 (pag. nº 111).

2 - Procedimento de coleta e manutenção dos hospedeiros:

A maioria dos animais examinados, foram coletados através de mergulhos em apnéia, munido de equipamento para mergulho, sendo que os moluscos foram coletados durante o período de maré baixa, na faixa intertidal.

Os animais coletados foram colocados em sacos plásticos com água do mar e em seguida acondicionados em caixa de isopor para ma-

nutenção da temperatura e transporte ao laboratório. Os espécimes não examinados, de imediato foram mantidos em aquários marinho com filtro biológico, bem aerado, para posteriores estudos.

3 - Obtenção e manipulação dos ciliados dos respectivos hospedeiros:

Para o procedimento de obtenção e manipulação dos ciliados dos hospedeiros usamos sempre pipetas Pasteur e micropipetas com pera aspiradora, placas de Petri de bordo-alto, saleiras e água do mar limpa, esterilizada e filtrada.

De um modo geral, a rotina de trabalho procedia da seguinte forma: com auxílio de uma pipeta Pasteur fazíamos sempre a transferência dos comensais para uma placa de Petri e, com a ajuda de uma micropipeta, fazíamos a triagem dos ciliados para uma saleira. Uma parte dos indivíduos era separada para observação "in vivo". A outra parte era preservada com fixadores, para uma posterior preparação citológica.

Os fixadores e as técnicas serão descritos posteriormente.

As observações "in vivo" foram feitas em câmara úmida. Quando necessário recorremos ao uso de anestésicos segundo Kaplan(1969).

Como a maioria dos comensais foram encontrados em locais diferentes nos seus hospedeiros, vários métodos foram utilizados para a sua obtenção como detalhamos abaixo:

3.1. Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863)

Os F. actiniarum foram obtidos por regurgitação das anêmonas Bunodosoma caissarum, Phylactis flosculifera e Anemonia sargassensis, colocadas dentro de uma placa de Petri com pouca água. Este processo ocorreu após 15 minutos aproximadamente. Em alguns casos, quando isso não acontecia, fazíamos uma dissecação da anêmona para retirarmos os ciliados de sua cavidade gastrovascular.

3.2. Astomatida Schewiakoff, 1896.

Os astomatídeos foram obtidos da cavidade paleal do Lamellibranchia: Anomalocardia brasiliana.

Os moluscos foram vigorosamente sacudidos, manualmente, para desprender sua fáunula de ciliados e, suas valvas, separadas suficientemente para permitir que o fluido da cavidade paleal se esvaziasse para uma placa de Petri. Através da pequena abertura feita entre as valvas, inseríamos uma pipeta Pasteur dentro da cavidade do manto para lançar vigorosamente, jatos de água do mar, facilitando assim o desprendimento de alguns ciliados que se mantinham superficialmente presos no manto, pé, brânquias ou palpos dos hospedeiros.

Esse procedimento seguiu de maneira semelhante à técnica utilizada por Hatzidimitriou e Berger (1977).

3.3. Trichodina Ehrenberg, 1838

Com o auxílio de uma pipeta Pasteur os ciliados foram aspirados da superfície ventral (sulco ambulacrário) e da superfície dorsal da "estrela-do-mar" Enoplopatiria stellifera.

Para facilitar a aspiração dos ciliados, pressionávamos levemente e deslocávamos uma pipeta Pasteur sobre a região dos pódios e pápulas da estrela-do-mar, que se encontram firmemente fixados através do disco adesivo. Em seguida, esvasiávamos o aspirado em uma placa de Petri com água do mar.

3.4. Licnophora Claparède, 1867

Os Licnophora sp. foram aspirados com pipetas Pasteur da superfície dorsal e ventral das estrêlas-do-mar Coscinasterias tenuispina; Astropecten armatus braziliensis; Echinaster brasiliensis e Linckia guildingii.

3.5. Metanyctotherus rancureli Laval e Tuffrau, 1973

Após uma delicada dissecação de Neoteredo reynei, retiramos uma parte do seu intestino. Feito isto, com a ajuda de uma pipeta Pasteur aspiramos o seu conteúdo interno e colocamos algumas gotas numa placa de Petri com água do mar, sem deixar turvá-la demais. Para facilitar a triagem dos ciliados, deixamos depositar, por alguns minutos, o material em suspensão, com a placa ligeiramente inclinada. Através desta manobra, deslocávamos os detritos para um canto da placa.

3.6. Parametopus circumlabens (Biggar & Wenrich, 1932) e Euplotes balteatus (Dujardin, 1841).

Os ciliados Parametopus circumlabens e Euplotes balteatus foram obtidos do sistema digestivo do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus. Para facilitar a dissecação do hospedeiro,

deiro, cortamos a membrana peristomiana, próximo ao bordo de ligação com as placas do esqueleto, e com uma pinça retiramos a "lanterna de Aristóteles" para lesarmos o intestino. Em seguida, esvaziamos uma parte do conteúdo do intestino numa placa de Petri com água do mar.

4 - Técnicas de preparação de lâminas para microscopia de luz

Empregamos para o estudo das estruturas dos cilia dos as técnicas clássicas convencionais à ciliatologia, tais como: Técnica de Reação de Feulgen, 1926, Técnica de Bodian (Protargol), segundo a variante de Tuffrau, 1964 e 1967 e a Técnica de Chatton & Lwoff (1935). A técnica da "Prata a Seco" de Klein, 1958 foi usada especificamente para os Trichodina.

As técnicas desenvolvidas foram muitas vezes modificadas tentando-se melhores resultados. Pequenos comentários são feitos abaixo, de acordo com as experiências obtidas. Os fixadores e substâncias utilizadas nas técnicas, estão incluídos nos dois itens adiante descritos (5 e 6).

4.1. Técnica de Reação de Feulgen, 1926

Esta técnica tem como objetivo a evidenciação morfológica dos núcleos. Os materiais foram fixados nas lâminas com vapores de formol, de ósmio ou através do fixador de

Nissenbaum. Em seguida, hidrolisados com ácido clorídrico 1N a 60°C por doze minutos. A hidrólise ácida foi interrompida após os doze minutos iniciais, colocando-se as lâminas em borel com água destilada fria. Em seguida, as lâminas foram mergulhadas no preparado de Schiff por três horas.

Durante este tempo, os componentes nucleares reagem com a fucscina do preparado de Schiff, adquirindo uma cor intensamente avermelhada. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água destilada, seguindo-se três banhos consecutivos de água sulfurosa, durante dois minutos cada. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente por dez minutos e submetidos a um banho de água destilada, para depois desidratar em série de álcool a 30°, 50°, 70°, 96°GL, duas vezes em Etanol P.A. e duas vezes em xilo ou toluol. Posteriormente o material foi montado em preparação definitiva com bálsamo do Canadá.

4.2. Técnica de Bodian (Protargol) segundo a variante de Tuffrau, 1964 e 1967.

Nesta técnica empregamos os sais de Prata como agente impregnante, sendo que o produto utilizado foi o proteinato de prata.

Para a preparação de lâminas por esta técnica, existem duas metodologias: a primeira pode-se trabalhar com poucos ciliados, até mesmo, com um só, enquanto que a segunda necessita-se de um número grande de exemplares.

Devido geralmente a pequena quantidade de ciliados obtidos dos hospedeiros preferimos a primeira metodologia (em lâmina).

Na técnica feita diretamente na lâmina, uma gota de água com ciliados coletados dos hospedeiros foi colocada sobre a mesma, após concentração manual, através de micropipetas e fixada com vapores de formol ou de ácido ósmico. Em seguida, os protozoários foram aderidos, na lâmina, com uma gota (albumina glicerinada), de Mayer a qual secava durante uma a duas noites em temperatura ambiente. Devido a pouca eficiência da fixação por vapores, foi necessário uma pós-fixação através de imersão da lâmina em borel contendo Bouin alcoólico, durante vinte e cinco minutos. Em seguida, a lâmina foi lavada em álcool 70° durante duas horas, pelo menos, para retirar os resíduos do Bouin, após o que, a lâmina foi novamente lavada em água corrente e em água destilada.

A etapa seguinte, de clarificação, foi feita mergulhando-se a lâmina por dois minutos, aproximadamente, em permanganato de potássio a 0,5%. Com esse procedimento o material adquiriu uma coloração amarelo-ouro, sendo então lavada por dez minutos em água corrente e por um minuto em água destilada. Prossequimos a clarificação pela imersão da lâmina em borel com ácido oxálico a 5% até que a preparação se tornasse ligeiramente leitosa. O material foi novamente lavado em água corrente e água destilada. Uma vez estando totalmente clarificado, realizou-se a impregnação pelo proteinato de Prata, que variou de 0,4% a 1,0%. O melhor tempo de impregnação foi de uma noite em temperatura ambiente,

podendo atingir até 48 horas, dependendo da espécie do ciliado.

A impregnação foi em certos casos, acelerada com o uso de estufa a 40°C, a qual ocorre de trinta minutos a duas horas aproximadamente. Em estufa, a 60°C, o tempo de impregnação cai para cerca de vinte minutos. Novamente a lâmina foi lavada duas vezes em água destilada e em seguida mergulhada em hidroquinona por 2 a 5 minutos, que age como revelador. Nesta etapa, é importante que se observe a lâmina, a cada minuto, para evitar o escurecimento excessivo do material em processo de revelação. Atingido o ponto desejado, a revelação foi interrompida, com a imersão da lâmina em água destilada, seguindo-se de mais dois banhos para lavagem. Após a desidratação, processamos a montagem definitiva da lâmina com bálsamo do Canadá.

4.3. Técnica de Chatton e Lwoff, 1930 .

Nesta técnica, a substância utilizada foi o nitrato de prata em solução aquosa a 3%.

Os ciliados foram fixados em saleira com fixador de Champy. O tempo de fixação foi de três minutos, findos os quais, retiramos o fixador e lavamos com água destilada ou diretamente com pós-fixador de Da-Fano com NaCl. A pós-fixação pelo Da-Fano "salgado" foi indispensável, porque esta solução fixadora fornece determinados íons que facilitam a impregnação da prata nas estruturas dos ciliados. Além disso, o Da-Fano "salgado" pode ser utilizado como solução

conservadora, o que permite estocar o material a ser estudado. Após passar, pelo menos duas horas no pós-fixador, as células foram lavadas três vezes com água destilada e através de micropipetas foram transferidas para uma lâmina limpa. A aderência dos ciliados na lâmina foi feita com gelatina a 1% fundida a temperatura de aproximadamente 50°C. Uma gota desta gelatina foi colocada ao lado da gota contendo os ciliados e, rapidamente, misturadas e espalhadas sobre a lâmina. Daí, a lâmina foi colocada sobre a superfície de uma placa de Petri contendo gelo, a fim de que endurecesse o material (gelificação). Foi importante evitar, no processo de gelificação, o ressecamento da gelatina. Para tal, mantivemos a lâmina em câmara úmida por uns três minutos e espalhamos sobre a gelatina a solução de nitrato de prata gelado a 3%. Em seguida, revelamos o material sob radiação ultravioleta, controlando-se o tempo de exposição pela coloração da gelatina, a qual deve atingir a cor aproximada de conhaque. Nesta etapa de impregnação, os ciliados, normalmente, já apresentam suas estruturas superficiais evidenciadas.

O processo de revelação foi interrompido pela imersão da lâmina em água destilada gelada, seguindo-se da desidratação em álcoois a baixa temperatura e posteriormente a montagem com bálsamo do Canadá.

4.4. Técnica da Prata a Seco de Klein, 1958.

Este método desenvolveu-se na seguinte sequência:

Uma gota de tamanho médio de água (contendo os ciliados) foi espalhada sobre uma lâmina desengordurada e colocada para secar, na posição vertical, a temperatura ambien

te. Depois de seca, a lâmina, foi lavada, uma vez, em água destilada e, novamente, posta a secar, sendo em seguida coberta com solução aquosa de nitrato de prata a 2%. Esta solução foi deixada sobre a lâmina por 6 a 8 minutos. Depois disso, a preparação foi lavada com água destilada, utilizando-se um conta-gotas, e então foi exposta à lâmpada de Wood (U.V) com exposição de 3 a 5 minutos. Nesta técnica, a solução também pode ser exposta ao sol ou à luz artificial forte. Depois que a redução da prata é completada, a lâmina é totalmente lavada com água e secada em posição vertical e, em seguida, montada em bálsamo.

5 - Fixadores utilizados para as técnicas de preparação de lâminas.

5.1. Fixação por vapores:

- Vapores de formol a 40% com exposição de 3 a 5 minutos.
- Vapores de ósmio a 2 ou 4% com exposição de 3 a 5 minutos.

5.2. Soluções fixadoras:

5.2.1. Fixador de Bouin-alcoólico

Composição:

Álcool 80º GL	150ml
Formol PA	60ml
Ácido Pícrico	1g
Ácido acético glacial	15ml

Excelente fixador, tendo como vantagem a de colar os ciliados no fundo da saleira, facilitando as lavagens subsequentes. Os ciliados se descolam com facilidade ao serem clarificados com água de Javel.

5.2.2. Fixador de Nissenbaum

Composição:

Sublimado aquoso saturado ($Hg\ Cl_2$)	10 vol.
Formalina a 40%	2 vol.
Ácido acético glacial	2 vol.
Álcool Butírico terciário	10 vol.

Excelente fixador, tendo como vantagem aderir os ciliados na lâmina.

5.2.3. Fixador de Da-Fano com NaCl

Composição:

Nitrato de cobalto	1 g
Cloreto de sódio	1 g
Formol a 40%	15 ml
Água destilada	100 ml

Bom fixador e conservador. Nesta solução pode-se manter estocados, por um longo tempo, os ciliados. Deve-se conservar o recipiente, com os ciliados em Da-Fano, em câmara úmida, a fim de evitar a evaporação ou em vidrinhos bem tampados.

5.2.4. Fixador de Champy

Composição:

Bicromato de Potássio 3%	7 vol.
Ácido crômico 1%	7 vol.
Ácido ósmico 2%	4 vol.

Excelente fixador com a propriedade de tornar opaca as células, facilitando a observação das estruturas superficiais. Normalmente deve ser usado fresco.

6 - Outras substâncias e materiais utilizados nas técnicas citadas.

6.1. Água sulfurosa

Ácido clorídrico 1N.....10ml
 Solução de bissulfito de Potássio a 10% ...10ml
 Água destilada.....180ml

6.2. "Água de Javel" (Hipoclorito de Na)

Água sanitária..... 1ml
 Água destilada..... 9ml

6.3. Gelatina

Gelatina em pó (Merck)..... 1g
 Água destilada..... 10ml
 NaCl a 10%10 a 15 gotas

6.4. Mayer (Albumina glicerinada)

Glicerina..... 1 vol.
 Clara de ovo 1 vol.
 Formol.....1 micro gota

6.5. Hidroquinona a 1% em sulfito de sódio a 5%

Água destilada.....10ml
 Sulfito de sódio..... 0,5g
 Hidroquinona (Carlo Erba).....0,1g

} misturar primeiro

6.6. Cloreto de Magnésio a 0,1%

Cloreto de magnésio..... 1g
 Água destilada..... 100ml

6.7. Sulfato de Níquel a 0,4%

Sulfato de níquel..... 4g
 Água destilada..... 100ml

7 - Metodologia empregada para os estudos ultraestruturais:

7.1. Para a microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

usamos o fixador abaixo:

- Fixamos os ciliados nas seguintes misturas finais:

Glutaraldeido (em água do mar)..... 1%
 Formalina (em água do mar)..... 4%
 Tampão cacodilato de sódio pH 7,2..... 0,1M
 (4ml) de tampão cacodilato de sódio a 0,2M pH 7,2...0,1M

Ajustamos a osmolaridade, com NaCl para 1100 milios moles.

- a) Fixamos os ciliados por 2 horas (trocando o fixador após os cinco minutos iniciais).
- b) Lavamos 3 vezes durante 15 minutos com tampão cacodilato 0,2M, adicionado de 0,204g de NaCl para cada 10ml de tampão
- c) Pós-fixamos com tetróxido de ósmio a 2% adicionado de 0,155g de NaCl para 5ml durante 30 minutos a 1 hora.
- d) Lavamos 3 vezes, durante 10 minutos, com tampão cacodilato a 0,2M.

- e) Pré-incluimos em gelose (agar) a 1%. Para facilitar esta etapa, utilizamos uma alça de cabelo, feita no laboratório, para juntar os ciliados e formar um "pellet".
- f) Desidratamos em série de álcool 30%, 50%, 70%, 90%, duas vezes em álcool absoluto por 2' em cada banho e duas vezes em acetona P.A. durante cinco minutos.
- g) Infiltramos em resina POLYLITE 8001 segundo Coiro (1973) a 50%, em acetona, durante uma noite. No dia seguinte , passamos para resina pura durante 4 horas e posteriormente transferimos para resina pura e recém preparada para emblocar em moldes de gelatina tamanho 00.
- h) Polimerizamos a preparação, em estufa a 60°C, por 48 horas.
- i) Após o desbaste no Piramitome LKB 1180, em pirâmide, dos blocos, cortamos num Ultramicrótomo LKB (BROMA) 2088 com navalha de diamante e contrastamos os cortes ultra finos, com acetato de uranila alcóolico, aproximadamente , a 1% durante 20 minutos, e também com citrato de chumbo durante 5 minutos, segundo Reynolds (1963).

7.2. Para microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

- a) Fixamos os ciliados nas seguintes misturas fixadoras:
 - Glutaraldído a 6% 1 vol (3%)
 - Tampão cacodilato de sódio a 0,2M pH 7,2 (0,1M).. 1 vol.
 Obs: A duração da fixação foi de, geralmente, quinze minutos.
- b) Lavamos no mesmo tampão a 0,2M, por 3 vezes durante 5 minutos cada.

- c) Colocamos algumas gotas de Poli-l-Lisina a 0,12, diluido em PBS, em pequeno fragmento de lamínula, cobrindo-a, com pletamente (sempre observando para não deixar secar). Em seguida, retiramos o excesso do adesivo e colocamos peque na gota com os ciliados sobre a lamínula, deixando-a 30 minutos em câmara úmida. Em seguida retiramos o excesso com micropipeta. Nesta etapa os ciliados já estavam aderi dos na lamínula.
- d) Lavamos com o mesmo tampão, uma vez, durante 5 minutos.
- e) Pós-fixamos em:
- Ósmio a 2% 1 vol (1%)
 Tampão cacodilato de sódio 0,2M (0,1M)..... 1 vol
- Obs: também por quinze minutos
- f) Lavamos em tampão, 2 vezes, durante 5 minutos.
- g) Desidratamos em uma série de álccois (30%, 50%, 70%. 90% e duas vezes em álcool absoluto, durante 3 minutos)
- h) Após o ponto crítico ao CO₂
- i) Metalizamos com uma camada de ouro de 70nm.

8 - Observação dos ciliados

As observações e triagem dos ciliados foram fei tas sob uma lupa estereoscópica da American Optical, Mod. 570, entre 20 e 40 X.

Os ciliados, vivos ou impregnados, foram estuda dos ao microscópio fotônico (Zeiss). As fotomicrografias fo ram feitas com auxílio do microscópio Zeiss Mc 63. Para o esboço dos desenhos esquemáticos fizemos uso de uma câmara clara (Zeiss) adaptada num microscópio binocular (Zeiss). De

terminamos as dimensões dos espécimes estudados com uma ocular micrométrica montada no canhão de um microscópio fotônico da American Optical aferida com micrômetro de platina Ausjena.

Para o estudo da ultraestrutura ao microscópio eletrônico de varredura, utilizamos um aparelho da JEOL-25S2, sob uma tensão de 12,5 KV. O ponto crítico foi feito em um aparelho BALZERS tipo 11 e a metalização em ouro, num BALZERS FL-9496.

Os estudos mais detalhados foram realizados a partir de cortes ultrafinos feitos ao ultramicrótomo 2088 LKB (Broma) e as observações em um microscópio eletrônico EM 301 da Philips sob uma tensão de 80 KV.

DESCRIÇÕES E DISCUSSÕES DAS ESPÉCIES

1. Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863)

Plagiotoma actiniarum Clap. 1863

Conchophtirus anodontae actiniarum Stein 1861.

Conchophtirus actiniarum Butschli 1867.

Plagiotoma actiniarum Jourdan 1888.

Foettingeria actiniarum Caull. e Mesn., 1903.

1.1. Morfolgia Geral

O trofote de Foettingeria actiniarum (Claparède, 1863), é um ciliado de forma ovalada com a região anterior ligeiramente acuminada e a posterior bem arredondada. A face dorsal é convexa e a face ventral apresenta uma nítida concavidade (fig. 5-8, 10, 11, 17 e 18).

Suas dimensões variam entre (C/L) 180/160µm nos menores e 310/290µm nos maiores. A ciliatura somática varia, em número, de 9 a 13 cinécias, dependendo do estágio de desenvolvimento do trofote. A maioria dos espécimes apresentam 9 cinécias bipolares. Estas distribuem-se com um aspecto quase helicoidal, terminando, separadamente, próximo ao centro da região posterior do corpo (Fig. 7 e 8).

As cinécias 9, 1, 2 e 3 começam anteriormente, descendo em curso destro curvando-se próximo a boca e seguem subtransversalmente, passando sobre a face dorsal, onde percorrem obliquamente, e voltam sobre a face ventral do pólo posterior, onde terminam como ganchos (Fig. 7 e 8).

As cinécias 4, 5, 6 e 7 começam como um gancho, descem em sentido destro, fazem uma volta e meia ao redor do corpo e terminam sem particularidades no pólo posterior (Fig. 7 e 8).

A 8ª cinécia, começa próxima a 9ª e depois segue quase paralelamente a esta (Figs. 7 e 8).

A ciliatura bucal se compõe de três cinécias curtas, x,y,z, situadas dentro da fenda peristomiana; elas são curtas, e convergem anteriormente junto de uma estria única sem cinetosomas. chamada por Chatonn & Lwoff (1935) de estria a, que se prolonga até a roseta. A estria citada, pelo seu lado esquerdo, estende-se ao longo da cinécia (figs. 6, 7 e 8).

A boca, muito pequena, está localizada próxima ao centro da roseta. Esta última, de aspecto refringente, localiza-se perto do limite do terço anterior do corpo, tendo uma forma de concha Pecten (Mollusca-Bivalvia) e é constituída de 8 a 10 septos (figs. 7, 9a, 13, 14, 15, 20).

Através de observações "in vivo", o citoplasma apresenta muitos vacúolos, geralmente com grânulos vermelhos.

O aparelho nuclear não nos foi bem visível, aparecendo de forma muito difusa.

Um grande vacúolo pulsátil é quase sempre visível a pouca distância da roseta.

Os trofontes, vistos ao SEM, apresentam uma concavidade na face ventral que se estende até as margens da face dorsal. Uma nítida concavidade ventral ocupa os dois terços da região anterior do corpo do infusório. As cinécias somáticas, com cílios longos, estão dispostas em cursos espiralados e as cinécias orais x,y,z estão bem próximas e arranjadas dentro da fenda peristomiana. A roseta, um tanto deformada, quase não evidencia seus septos (Figs. 7, 9a, 13-15 e 20=).

Em toda a superfície do corpo, entre as cinécias, principalmente na região dorsal, abrem-se numerosos poros, provavelmente de vacúolos pulsáteis existentes dentro do citoplasma.

1.2. Discussão

Muitas anêmonas-do-mar têm sido reconhecidas como ótimas hospedeiras de ciliados. Em nossas investigações encontramos numerosos Foettingeria no interior da cavidade gastrovascular de anêmonas, de características idênticas aos F. actiniarum descritos por Caullery e Mesnil (1903), e mais tarde, detalhadamente, por Chatton e Lwoff (1935). Outros pesquisadores como Andre (1910) e Phillips (1973) encontraram vários Euplotes dentro de anêmonas. Já Welch (1977) encontrou vários ciliados hipotrichios, entre os quais, Euplotes, Uronychia, Aspidisca, Oxytricha e Paraeuplotes.

Ball e Moebius (1955) encontraram um Foettingeria que apresentava, aparentemente, caracteres diferentes do F. actiniarum, mas não deu nenhum nome ao ciliado.

Já foram feitos vários relatos sobre os F. actiniarum, mas, sem dúvida, foram Chatton e Lwoff (1927 e 1935) os que melhor descreveram estes ciliados através de um estudo completo de todo o ciclo de vida do infusório, o qual está envolvido com dois hospedeiros: um crustáceo, com cistos foréticos e, secundariamente, uma anêmona-do-mar com formas alimentadoras chamadas trofontes.

Nossos estudos se limitaram apenas aos trofontes através de observações "in vivo", das técnicas de Chatton e Lwoff, 1930, da reação nuclear de Feulgen e ao SEM.

Os Foettingeria vivem, geralmente, dentro da cavidade gastrovascular de seus hospedeiros. Observamos inclusive, a presença destes ciliados movimentando-se no interior dos tentáculos das anêmonas os quais na lupa estereoscópica mostra-

vam-se transparentes. Este dado somente não foi observado em Phyllactis flosculifera.

Aparentemente, os ciliados não chegam a incomodar o hospedeiro. Observamos que, ao deixar as anêmonas, em placa de Petri de bordo alto, com pouca água do mar, os Foettingeria saíram, em pouco tempo (de 5 a 15 minutos), do interior da cavidade gastrovascular para nadarem livremente. Este procedimento não apresentou resultados com a Anemonia sargassensis, o que tornou necessária a sua dissecação, para em seguida processarmos o trabalho de triagem dos ciliados. Estes protozoários, após um intervalo de 10 a 15 minutos autolizavam-se, e por isso, tivemos que pipetar com certa rapidez e eficiência para logo em seguida fixá-los e processarmos as técnicas já citadas.

Caullery e Mesnil (1903) e Chatton e Lwoff (1935) relataram que a face dorsal do Foettingeria é convexa e que a face ventral é quase plana.

Com relação a forma geral do corpo comprovamos ao SEM (fig 17 e 18) que a face dorsal do ciliado é convexa mas que a região ventral apresenta uma nítida concavidade.

Encontramos espécimes, de tamanho médio para grande, em torno de (C/L) 180/10 μ m e 310/290 μ m e em média 245/225 μ m. Tamanhos bem maiores do que os vistos por Caullery e Mesnil (1903) Ball e Moebius, (1955). Chatton e Lwoff (1935) encontraram indivíduos de até 400 μ m de comprimento.

Os trofontes geralmente, apresentam grandes variações de tamanho, o que está intimamente relacionado com o seu estágio de desenvolvimento e a quantidade de alimento disponível, no interior da anêmona.

O sistema ciliar foi visto por Caullery e Mesnil, (1903), de Morgan (1924), e mais detalhadamente por Chatton e Lwoff (1935).

Caullery e Mesnil mencionaram uma dúzia de cinéncias paralelas. Morgan contou de 9 a 13 e Chatton e Lwoff afirma que a grande maioria dos indivíduos tem somente 9 cinéncias bipolares e que no estágio de tomonte se observam 10 cinéncias no pólo anterior; acrescentou ainda que no trofote uma delas é incompleta.

Encontramos, como Morgan, uma variação de 9 a 13 cinéncias e em concordância com Chatton e Lwoff, a maioria dos indivíduos observados tinham 9 cinéncias bipolares além de duas incompleta (fig. 6, 7, 8, 16, 17 e 18).

A descrição que fizemos da ciliatura, do corpo, se que parecida com a de Chatton e Lwoff (1935), o qual baseado nos trofontes com nove cinéncias numerou-as, de modo que a es tria 9, constante em todas as fases dos trofontes, começa na região anterior, descendo diretamente em curso destro até bem próximo da boca, onde ela é seccionada. Depois de uma curta interrupção ela se continua, a partir da boca, e segue sub-transversalmente, passando sobre a face dorsal, que percorre obliquamente, voltando sobre a face ventral do pólo posterior onde termina em forma de gancho (fig. 7 e 8).

Assim como Chatton e Lwoff (1935), notamos falsas continuidades entre as cinéncias 9 e 3, entre os trofontes com mais de 9 cinéncias (fig. 6). Encontramos cinéncias apenas começadas, sendo uma entre as 9 e 8 e outra entre as 3 e 4. Também observamos na região dorsal anterior

(Figs. 10 e 11), várias cinéncias, algumas muito curtas, ar ranjadas bem próximas uma das outras, de forma irregular . Provavelmente, esta última observação esteja relacionada com a que Welch (1977) se referiu, embora, na nossa concepção , discordamos que se tratava da extremidade posterior. Nota mos, realmente, na região posterior de alguns ciliados, cinéncias com uma disposição diferente das formas comuns, mas que nos parece de forma ordenada (Figs. 7, 8, 10, 11 e 18).

A ciliatura bucal, que é composta pelas cinéncias x, y, z, de Chatton & Lwoff, nem sempre está dentro de uma fenda peristomiana, não apresentando, além disso, nenhuma particularidade.

Segundo Chatton & Lwoff (1935), a boca se prolon ga para a direita, ao longo da estria 1 em um sulco (fenda f de Caullery e Mesnil), de abertura variável segundo o esta do fisiológico do infusório. Este sulco, com sua depressão circular é o equivalente de um peristoma. Em sua extremida de esquerda o sulco se fecha contra a roseta.

A roseta, que alcança o plano da membrana, tem a forma de uma concha Pecten (Mollusca-Bivalvia) constituída de cerca de 8 a 10 septos refringentes (Caullery & Mesnil , 1903). Segundo Chatton & Lwoff (1935), em visão especial, a roseta (Figs- 9a e 9b) é constituída de um cilindro flexível dentro do qual teria, do seu lado direito, um pouco abaixo de sua seção superior, comprimida sua parede, de maneira que sobre um certo comprimento ela forma uma goteira profunda , um tiflosólis, que vai se dilatando em direção a base para terminar em contato com o protoplasma subjacente. O cilin

dro, cuja a parede é muito delicada, está reforçado por uma série de 8 a 10 septos verticais que reúnem sua parede externa a parede de seu tiflosóles e o separam, por septos, de alto a baixo, em câmaras.

Visto em corte ótico, abaixo do complexo "rosacea" existe um atrium bucal (Fig. 9) relacionado com o canal externo tendo uma das cinécias do grupo x, y, z, figurada. Revela também o canal interno (CI) e o micronúcleo (MI) em sua localização característica.

Segundo Caullery & Mesnil (1903), "o aparelho nuclear é de estrutura muito particular e apresenta variações de acordo com o seu tamanho. Além disso, relatam que nas formas maiores, ele é formado por uma rede complicada de tubulos de calibres variados e situado dentro da zona protoplasmática externa. Apresentam ainda que, nos indivíduos de pequeno tamanho, o núcleo tem aspectos muito diferentes". Quanto ao micronúcleo, eles não deram nenhuma informação. De Morgan (1924), foi o primeiro a comentar sobre o micronúcleo, mas os que relataram muito bem sobre o aparelho nuclear foram Chatton & Lwoff (1935), "que além de empregarem técnicas novas de observações fizeram estudos através de cortes da célula e confirmaram que o aparelho nuclear é formado por um macronúcleo, em rede ou malha, e por um micronúcleo bastante evidente no jovem trofante, localizado entre a roseta e o vacúolo pulsátil principal, bem abaixo do citoplasma". Nas nossas preparações não vimos micronúcleo e o macronúcleo apresentou-se difuso e impreciso.

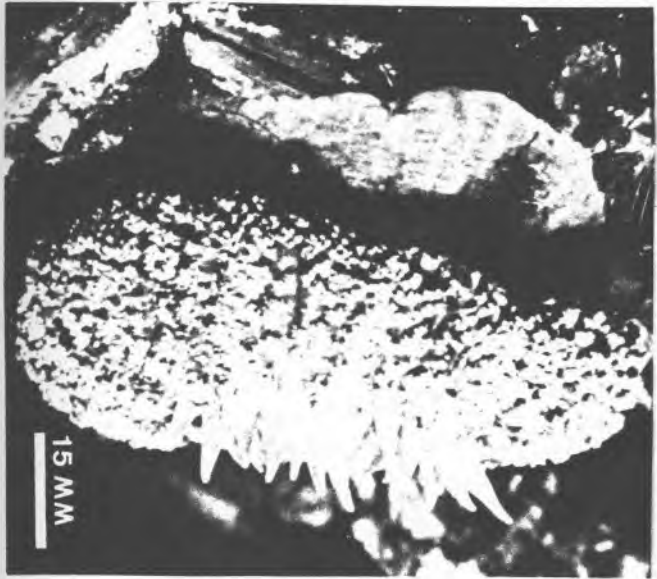
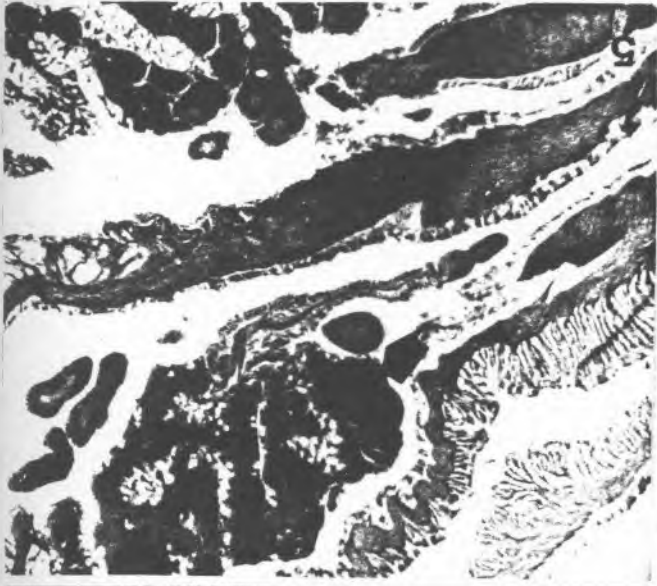
Com relação aos vacúolos de alimentação, Bradbury

(1974) comentou que, a microscopia eletrônica, revelou que a maioria deles são eletron-luzentes com, ocasionalmente, pequenas floclulações em seu interior. Poucos vacúolos, entretanto, são carregados com material particulado e existem também, numerosos pequenos vacúolos, de diferentes diâmetros, com conteúdos membranosos ou granulares. Não obstante, estes vacúolos podem ser vacúolos autofágicos gigantes de lise do citoplasma do próprio Foettingeria. A grande variedade de seu conteúdo sugere que o Foettingeria alimenta-se de sulcos e partículas semi-digeridas, quando a anêmona degrada e digere suas presas. A presença destes vacúolos implica que o Foettingeria não limita sua alimentação apenas a pinocitose, mas é também capaz de ingerir partículas do hospedeiro. Estas estruturas membranosas estariam ligadas a reciclagem da membrana plasmática".

Quanto a estes vacúolos limitamos nossas observações a preparações "in vivo" e notamos apenas inúmeros vacúolos dispersos no citoplasma e com pequenas granulações avermelhadas.

A microscopia eletrônica de varredura, nos revelou aspectos interessantes, da morfologia externa, de ambas as faces de F.actiniarum. Confirma os dados gerais das impregnações ao nitrato de Prata de Chatton-Lwoff mas acrescenta detalhes novos quanto a superfície.

Finalmente, nossas observações indicam, fortemente, que os trofontes, assunto deste trabalho, tratam-se de formas de nutrição típicas de F.actiniarum Claparède, 1863.



Figs. 2, 3 e 4 - Aspecto geral das anêmonas do mar, Bunodosoma caissarum, Phyllactis flosculifera e Anemonia sargassensis hospedeiras do Foettingeria actiniarum (Clap. 1863).

Fig. 5 - Corte histológico transversal passando pelo terço posterior do corpo da anêmona B. caissarum, corada segundo a técnica tricrômico de Mallory (Pantin, 1948), mostrando o ciliado em seu interior (flecha). Foto cedida gentilmente pela Profa. Maria Júlia C. Belém do Museu Nacional - UFRJ.

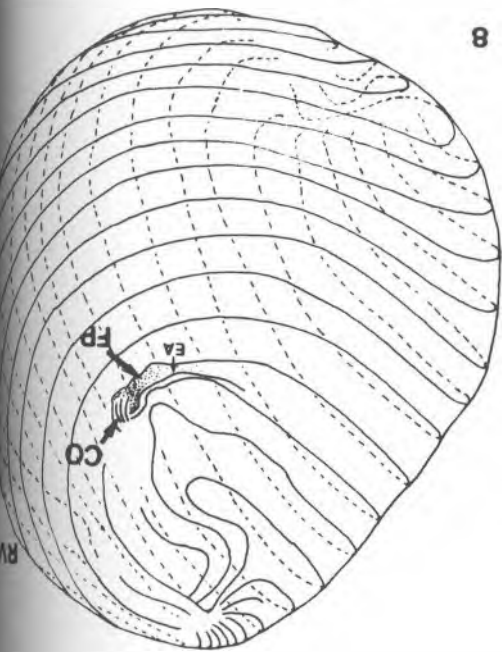
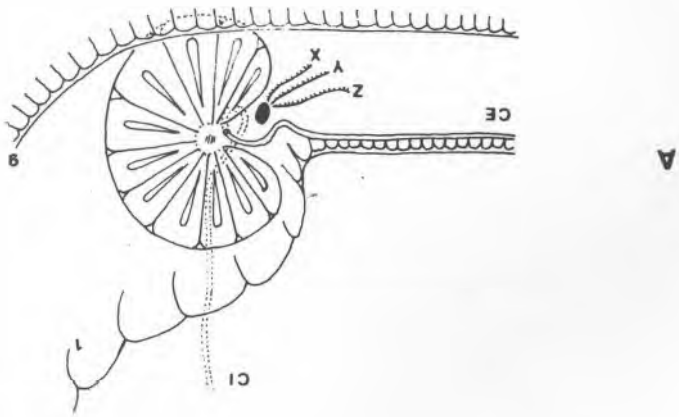
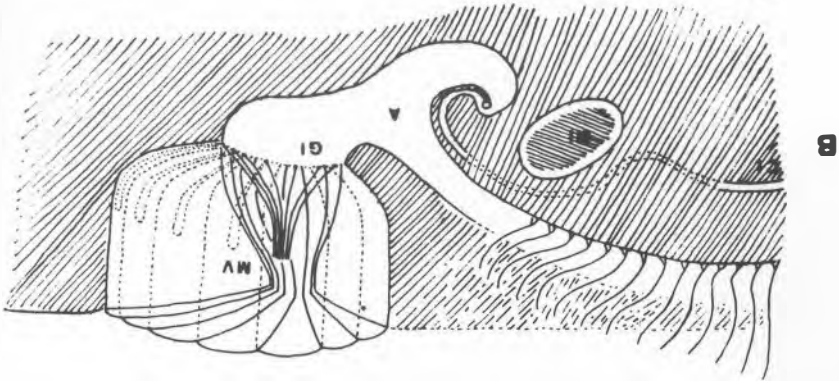


RV

30 μm

9

Fig. 6 - Aspecto geral de Foettingeria actiniarum mostrando sua face ventral através de impregnação argêntica segundo Chatton-Lwoff, (1930). RV - Região ventral ; Fc - Falsa continuidade; Co - Cinéncias orais; FP - Fenda Peristomiana ; EA - Estria "A"; * Região anterior; 8000X.



75 μm

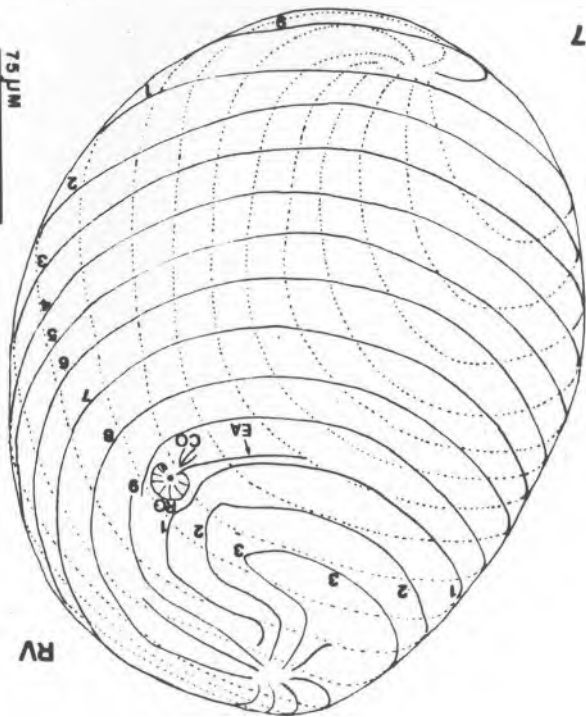
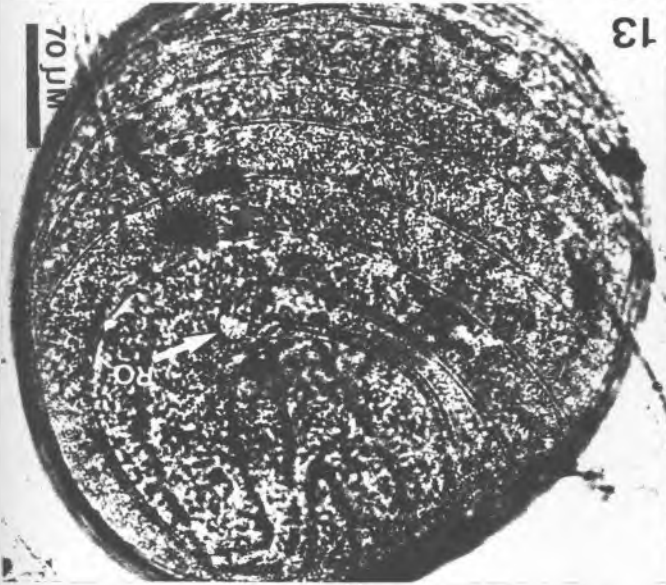
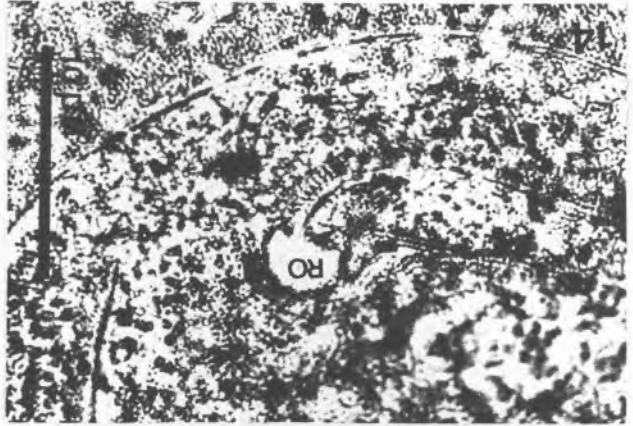
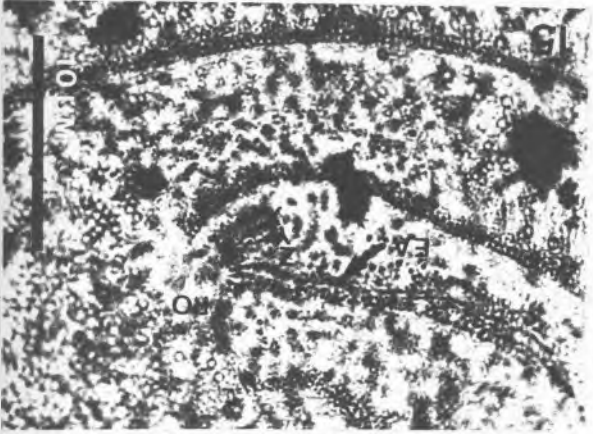
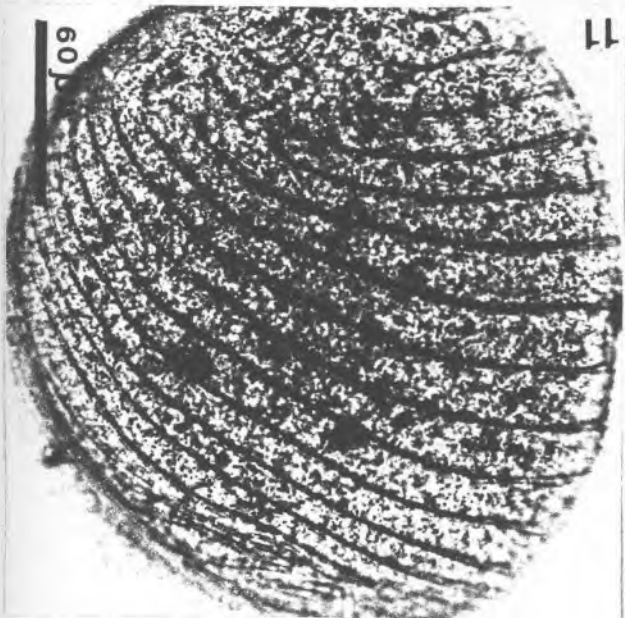
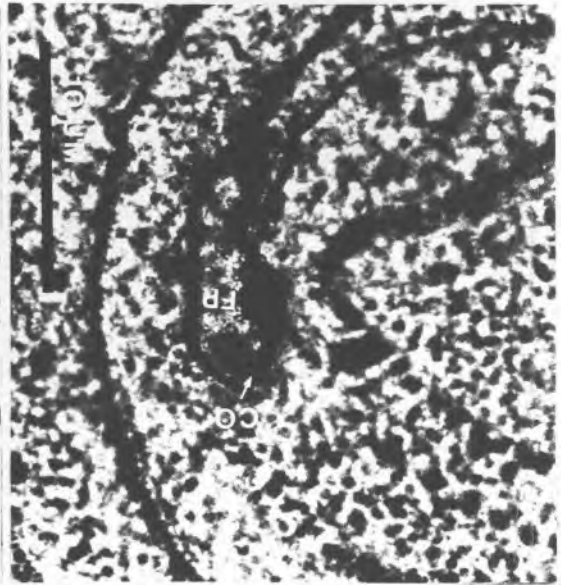


Fig. 7 e 8 - Esquema de F.actiniarum em estágios diferentes
 RV - Região Ventral; RO - Roseta; CO - Ciné-
 as orais; EA - Estria "A"; de 1 a 9 ciné-
 cias somáticas.; FP - fenda peristomiana.

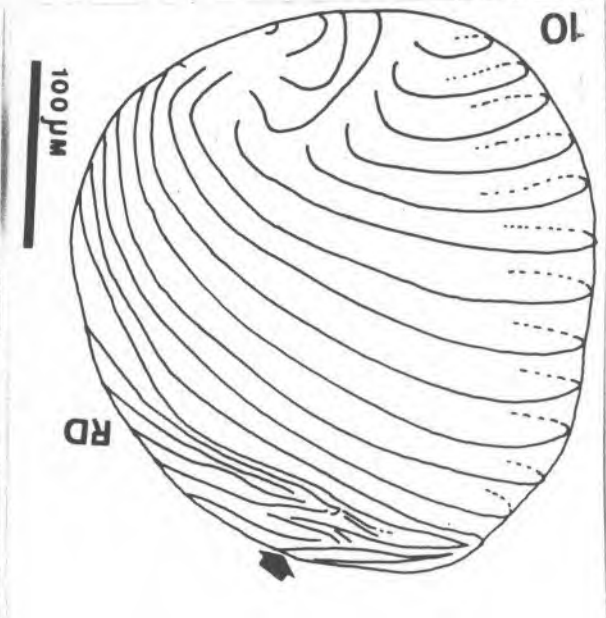
Fig. 9a e 9b - Desenho semi-esquemático destinado a mostrar
 a estrutura e as relações da roseta (seg.
 Chatton-Lwoff, 1935) a, atrium bucal; c.e.,
 canal externo; c.i., canal interno; mi, micro-
 núcleo; g.i., grânulos infraciliares; m. v.,
 mecha vibrátil; S., septo. A - A roseta e o
 complexo oral visto de frente, notar a conti-
 nuidade do canal interno e do canal externo.
 B - Corte óptico de um setor de Foettingeria
 passando pelo eixo morfológico longitudinal
 da roseta (eixo antero-posterior), mostrando
 seus septos, a mecha vibrátil, o atrium bu-
 cal, e suas relações com o canal externo e o
 canal interno, a estria x e o micronúcleo,
 segundo os estudos sobre o vivo.



13



11



10

Fig. 10 - Esquema de F. actiniarum mostrando, na região apical anterior, várias cinécias arranjadas, aparentemente, de forma irregular (flexa).

Fig. 11 - Vista geral da região dorsal de F. actiniarum ao Chatton-Lwoff, 1930, (560x).

Obs: As figuras 10 e 11 correspondem a região dorsal do F. actiniarum mostrado nas Figs. 6 e 8.

Fig. 12 - Detalhe da infraciliatura somática anterior de F. actiniarum ao Chatton-Lwoff, 1930. (3.300X).

Fig. 13 - Aspecto geral da região anterior de F. actiniarum, destacando a roseta em forma da concha Pecten (ao Chatton-Lwoff, 1930), (560X).

Fig. 14 - Vista do roseta bem ampliada. (Chatton-Lwoff, 1930), (3.300X).

Fig. 15 - Detalhe da roseta mostrando seus numerosos septos; cinécias orais X, Y, Z; estria a de Chatton e Lwoff, 1935, ao Chatton-Lwoff, 1930. (3.300X).

RD - Região dorsal; FP - fenda peristomiana;

CO - cinécias orais; RO - roseta ; EA - estria a.

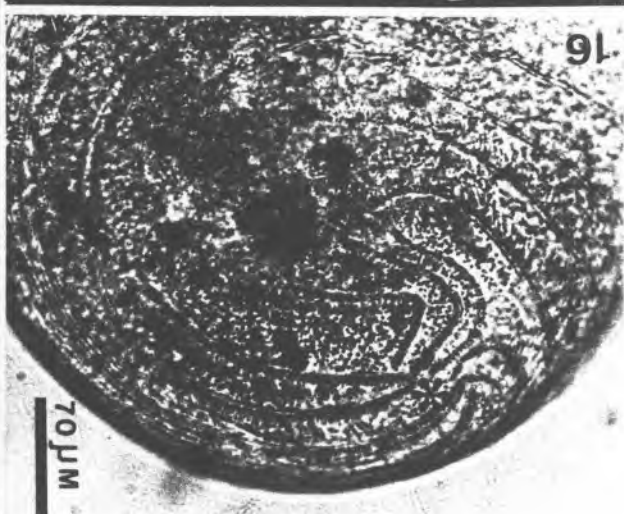
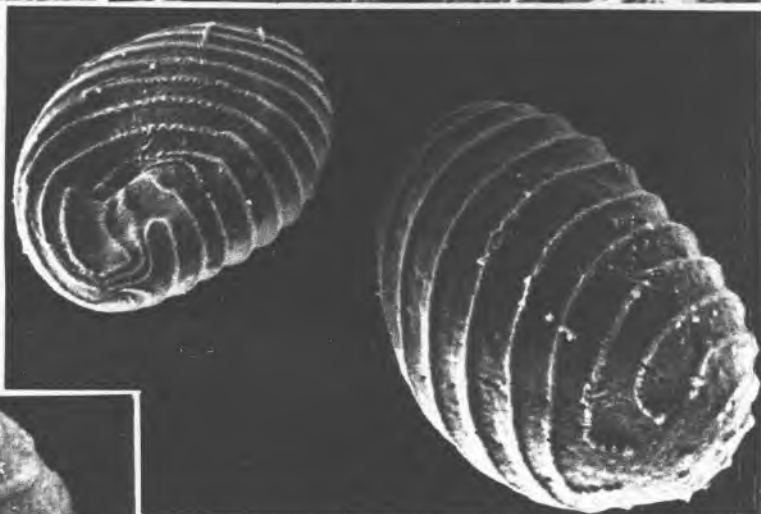
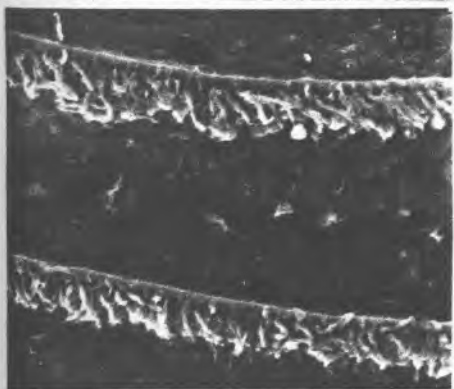
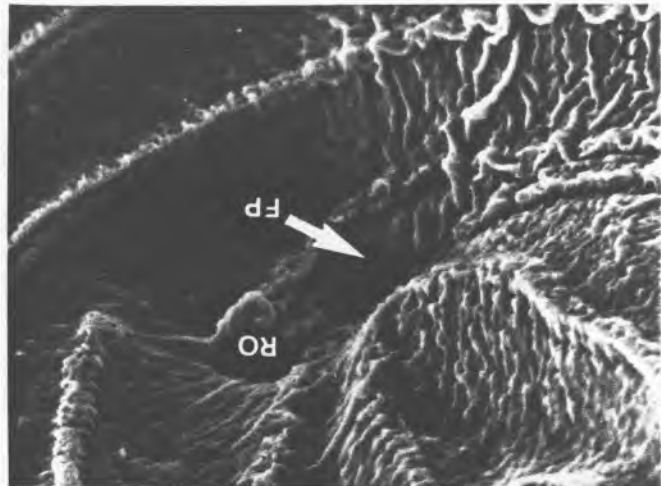
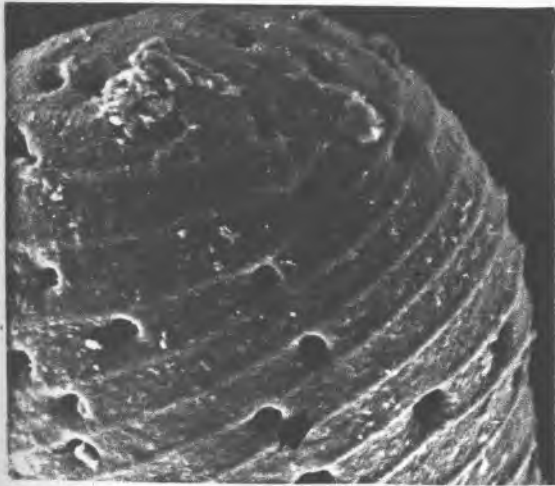


Fig. 16 - Detalhe da região apical anterior (*) de F. actiniarum, mostrando o início da organização das cinéncias somáticas, 1400X. (ao Chatton-Lwoff, 1930).

Fig. 17 - Vista geral da região ventral anterior de F. actiniarum (SEM), (1.200X). Flecha - indicação do início da organização das cinéncias somáticas.

Fig. 18 - Aspecto geral ao SEM das duas regiões (RD e RV) de F. actiniarum. As flechas mostram alguns poros da região dorsal (600x).

Fig. 19 - Detalhe de duas cinéncias somáticas de F. actiniarum (flecha) (SEM), (5.600X).

Fig. 20 - Detalhe da roseta e da fenda peristomiana (SEM). (2.600X).

Fig. 21 - Aspecto da região dorsal mostrando vários poros dilatados flecha, (SEM), (750X).

RV - região ventral;

RD - região dorsal; FP - fenda peristomiana;

RO - roseta.

2. Astomatida-Haptophryidae Cepède, 1923 (incertae sedis).

2.1. Morfologia Geral

Este ciliado "in vivo" é ovóide, ligeiramente comprimido "dorsoventralmente" e apresenta a região posterior mais truncada do que a anterior. Suas dimensões variam, de 75 μ m de comprimento (65 a 89 μ m) por 40 μ m de largura (37 a 42 μ m) (fig. 22, 24 e 25).

Possui cerca de 60 cinéncias longitudinais, repartidas igualmente sobre as duas faces. Sobre a face fisiologicamente ventral (fig. 22, 26 e 27), observa-se um sistema secante latero-anterior direito. Com a interrupção de aproximadamente 12 cinéncias que seguem para a face dorsal. Inicialmente, estas cinéncias limitam uma linha de sutura, do sistema secante, de onde partem cerca de 30 cinéncias paralelas, bem curvadas como ferradura, até a primeira terça parte do corpo, sendo esta, provavelmente, a região tigmotátil, para depois seguirem em direção ao polo posterior da mesma face (ventral). Sobre a face dorsal, próximo ao seu centro, situa-se uma reentrância onde passam cerca de 12 cinéncias provenientes do sistema secante da face ventral. As cinéncias, ao passarem pela reentrância, distanciam-se umas das outras, para depois aproximarem-se novamente e seguirem em direção posterior (fig. 22, 24, 25, 28, 29 e 31).

Na face dorsal posterior após a "reentrância", encontramos alguns cinetosomas cilíferos pareados (fig. 25).

O macronúcleo é em forma de crescente, bem espessado em sua região mediana e nos bordos, e está localizado, mais ou menos, na linha média do eixo vertical do ciliado, contornando a curvatura da reentrância da face dorsal. Seu tamanho, de ponta a ponta, é de 35µm de comprimento (fig. 22 e 33).

Um ou mais vacúolos pulsáteis podem estar presentes principalmente na região posterior do corpo do ciliado. Seus poros são, frequentemente, visíveis ao Chatton-Lwoff (figs. 28 e 29).

O citoplasma está repleto de estruturas, pouco translúcidas e bem impregnadas ao protargol (fig. 25).

2.2. Discussão

Os ciliados encontrados no bivalve Anomalocardia brasiliiana (figs. 22, 24-33), ainda de posição indefinida, parece-nos pertencentes a Ordem Astomatida (vide características na Introdução).

Através de observações "in vivo" e através de impregnações argênticas, não evidenciamos nenhuma boca nítida nem tão pouco, himenomembranelas, descartando assim a possibilidade de ser um Himenostoma.

Não acreditamos que se trate de um Apostomatida, pois não apresentam cinécias helicoidais nem a roseta, típica do grupo.

"Na ausência de ciliatura bucal, os únicos critérios gerais utilizados na sistemática dos Ciliados Astomatida são as características da infraciliatura, aquelas do citoesqueleto (quando está presente) e aquelas da ultraestrutura (quando elas são conhecidas)", Puytorac (1972).

Para nós, estes ciliados apresentam características bem próximas dos Astomatida, a saber:

- 1) Embora apresentem uma reentrância na face dorsal não têm uma boca característica, a nenhum grupo de ciliados conhecido atualmente. É provável, que a reentrância dorsal tenha função temporária de boca ou, pelo menos de absorção. Apesar da grande quantidade de ingestas observados, como grandes Diatomaceas (fig. 32), nunca assistimos ao processo de captura e ingestão de alimentos.

2) Normalmente, os Astomatida alimentam-se por osmose e endocitose através de toda superfície ou por algumas áreas preferenciais do corpo.

Acreditamos que, neste caso, devido as enormes Diatomaceas, já observadas, no endoplasma, a endocitose seja um processo setorizado, provavelmente, na depressão acima citada, onde se abriria uma boca temporária (fig.22,24, 25, 28, 29 e 31).

3) São equipados anteriormente de uma ampla "área tigmotátil", ligeiramente côncava (que termina na linha de sutura), que utilizam para fixação do corpo, sobre as estruturas do hospedeiro. São elas, geralmente, as brânquias, palpos labiais, manto etc.

4) A área tigmotátil e o sistema secante, constituído de cinéncias curvadas "em forma de ferradura", são características bem particulares aos astomatídeos da Família Büetschlieliidae e em especial a Família Haptophryidae.

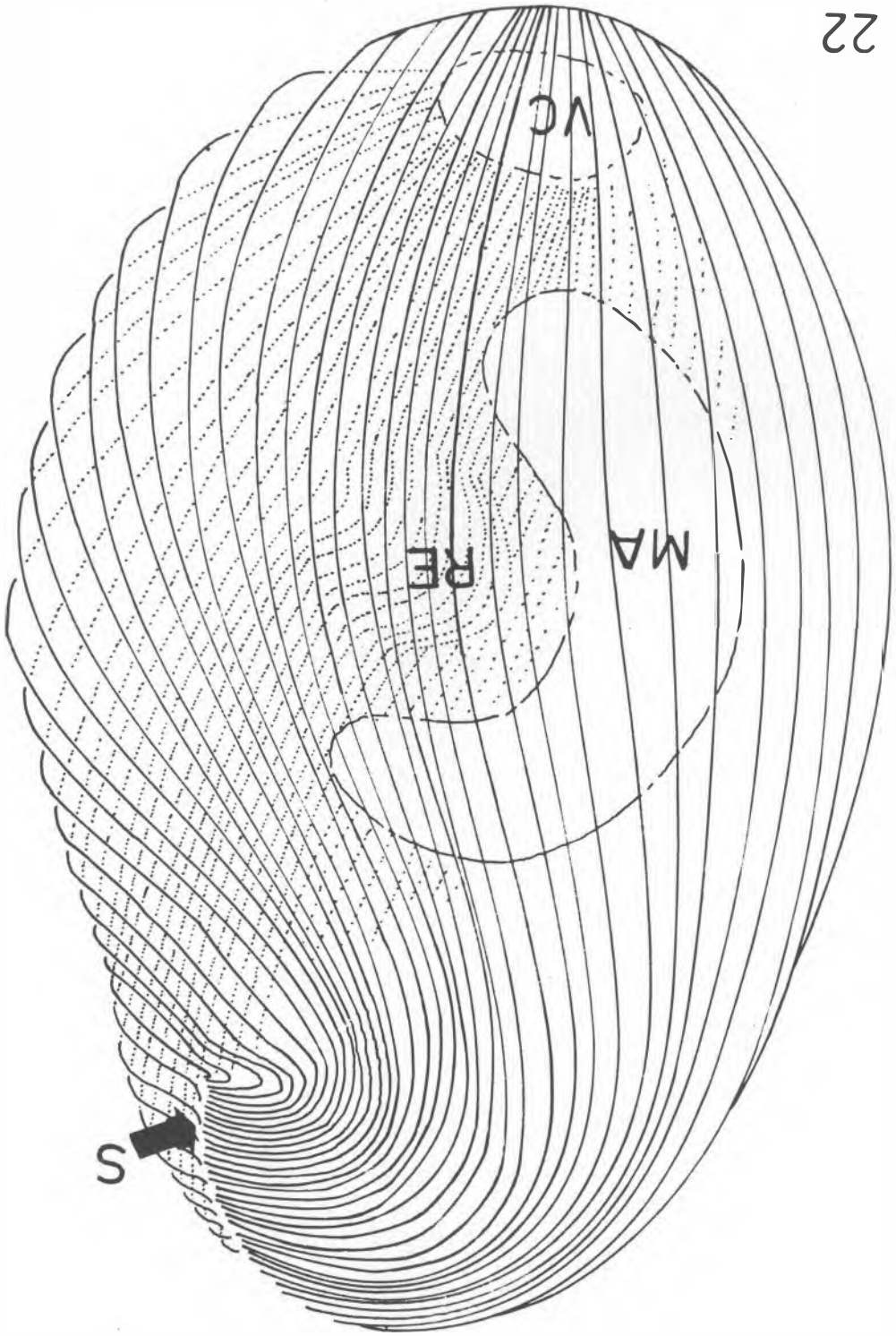
A forma ovoide e tamanho pequeno, além da área tigmotátil sugerem características comuns a Família Anoplophryidae e em especial Clausilocolidae.

Outros caracteres do ciliado: fissão anisotômica (figs. 30 e 31), sem formação de cadeia, forma ovoide achatada (provavelmente dorsoventral) e corpo densamente ciliado, (sugerem pertencerem as famílias Radiophryidae e Haptophryidae), além da presença de vários vacúolos e citoproctos presentes.

5) Dentre os Thigmotrichina-Scuticociliatida, a Família Hysterocinetidae é a que reúne maior número de características relativas ao epíbioante do bivalve. Segundo Corliss (1979), os hysterocinetidas são distinguidos por sua ventosa anterior desenvolvida e seu citóstoma (as vezes não funcional) em degeneração no polo oposto. Acrescentou ainda, que por evolução convergente estes ciliados aproximam-se aos Astomatida em muitos aspectos.

Pelo fato de algumas características do ciliado em estudo, encontrarem-se distribuídas, entre as famílias da Ordem Astomatida (seg. Corliss, 1979), sugere-nos a inclusão, futuramente, do ciliado em questão, em uma nova família e conseqüentemente gênero e espécie nova dentro do grupo dos Astomatida.

Concluimos, pelo exposto, que o ciliado em questão tem afinidades maiores pela família Haptophryidae.



50 μm

Fig. 22 - Desenho esquemático do ciliado *Astomatida*
Schewiakoff, 1896, visto pela face ventral.

S - secante ; RE - reentrância;

MA - Macronúcleo; VC - vacúolo contrátil ou
pulsátil.

OBS: Em relação à barra, leia-se 25 μ m em lugar de 50 μ m.

Fig. 23 - Anomalocardia brasiliiana Gmelin, 1791, bivalve hospedeiro do ciliado Astomatida.

Fig. 24 - Observação "in vivo" do ciliado Astomatida, mostrando as ondulações ciliares da área tigmotátil e reentrância dorsal e vacúolos na região posterior (480 x).

Fig. 25 - Vista da face dorsal do Astomatida ao Protargol, mostrando a reentrância quase no centro da célula. As flechas menores mostram uma cinécia com cinetosomas cilíferos pareados. A flecha maior mostra uma das inclusão citoplasmática. (1.400X).

Fig. 26 - Vista da face ventral do Astomatida ao Protargol, mostrando a linha de sutura ou sistema secante. (1.300X).

Fig. 27 - Detalhe da secante ao Chatton-Lwoff, 1930. (3.700X).

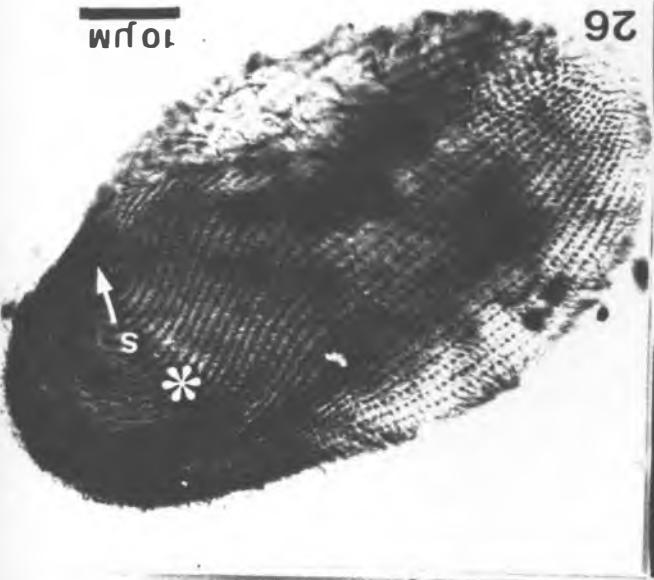
Fig. 28 - Aspecto geral da face dorsal mostrando a reentrância e o vacúolo contrátil próximo a extremidade posterior do ciliado. (1600X).

RE - Reentrância; * - área tigmotátil; S - secante; VC - vacúolo contrátil.



28

10 μm



26

10 μm



25

10 μm



23

1 CM



24

25 μm

Fig. 29 - Detalhe dos poros de excreção (flecha) ao Chatton-Lwoff, 1930 (1900X).

Fig. 30 e 31 - Divisão anisotômica de dois Astomatidas vistos pelas faces ventral e dorsal, respectivamente. Observação feita ao Chatton-Lwoff, 1930. (1500X).

Fig. 32 - Detalhe da região posterior do Astomatida, mostrando numerosas diatomáceas (flecha) no seu interior, impregnadas ao Protargol. (3.700X).

Fig. 33 - Vista geral do macronúcleo através da técnica da reação nuclear de Feulgen, 1926. (1500X).

P - proter; O - opister; MA - macronúcleo.

3. Trichodina Ehrenberg, 1838

3.1. Morfologia Geral

É um ciliado Peritrichio epizoótico encontrado fixado na superfície das pápulas, dos pódios e no sulco ambulacrário, da estrela-do-mar Enoplopatiria stellifera, (fig. 35). O corpo apresenta-se em forma de barril, com a extremidade anterior ligeiramente convexa e a região posterior "achatada", onde se encontra um disco adesivo de fixação. O comprimento ou altura é variável, apresentando, em média, cerca de 40 μm . O diâmetro é geralmente maior que a altura contendo em torno de 50 μm . A área do citóstoma, ligeiramente anterior, está próxima à região equatorial do corpo. O citóstoma e a citofaringe localizam-se anteriormente em posição excêntrica e suas paredes formam uma estrutura tubular afunilada que mergulha em direção ao final do vestibulum, terminando no quadrante ventral direito da célula (fig. 34).

A espiral ciliar adoral, (E.C.A.), com cerca de 50 μm de diâmetro, localiza-se paralelamente ao disco basal, ao nível do polo anterior do animal, formando uma espiral em torno de 400 a 440° no sentido anti-horário (figs. 34, 37, 38 e 44). A espiral ciliar adoral é formada por duas fileiras paralelas de "cílios fusionados" para formar um par de semi-membranelas. A parte final da E.C.A. diverge e entra na região da citofaringe ao longo da parede externa do vestibulum. A fileira externa (haplocinécia de Chatton) segue para o interior do vestibulum e atravessa o eixo me

dio da citofaringe, na qual, provavelmente, dará uma volta completa no sentido anti-horário para, em seguida, descer em direção ao final da citofaringe, como em Trichodina myicola (Uzmann & Stickney - 1954). A espiral ciliar interna (policinécia de Chatton) diverge da espiral externa na entrada do vestibulum, e desce abruptamente pela parede do vestibulum oral, envolvendo-o no sentido contrário ao do espiral ciliar externa para ir em direção ao eixo médio da citofaringe até a sua extremidade proximal (figs. 34 e 37).

Ao protargol aparecem os complexos e maciços cordões microfibrilares que são conectados aos dentículos de Trichodina sp. concordando com as observações da Favard, Carasso & Fauré-Fremiet (1963), de função contrátil do disco (figs. 36, 41 e 42).

Ao Chatton-Lwoff, observamos que a espiral ciliar "paraoral", da Trichodina em questão, aparenta possuir duas fileiras de cinetosomas formando a haplocinécia e várias fileiras de cinetosomas formando a policinécia adoral. O curso da espiral na citofaringe não tem sido de grande uso na determinação específica (Lom, 1958).

O disco adesivo (figs. 34 e 35) é côncavo, de contorno circular, provido de um complexo citoesqueleto em forma de anel. O diâmetro médio é de 45 μ m. Mas externamente existe uma fina película cobrindo o disco (Lom, 1958). O anel denticulado, com um diâmetro de cerca de 23 μ m, contém de 10 a 17 dentículos (média de 13, na contagem feita em 60 indivíduos). Os dentículos, pequenos e levemente curvados, aparentam um bumerangue. Suas pontas afiladas cobrem as ba

ses dos dentículos adjacentes, dispendo-se na periferia do disco basal e formando um anel denticulado. Contornando o disco basal encontra-se uma importante franja locomotora composta de três cinécias (figs. 34, 39 e 40).

O macronúcleo é grande, geralmente em forma de ferradura e frequentemente irregular em espessura, como em T. pediculus (Raabe, 1959), podendo aparecer algumas variações. Está disposto paralelamente ao plano equatorial do corpo da célula (figs. 34 e 43). Tem o comprimento, de ponta a ponta, de aproximadamente 23 μ m. O micronúcleo com 2 μ m, de diâmetro, localiza-se externamente, próximo à terminação esquerda do macronúcleo, como em T. domerguei, T. pediculus (Raabe, 1958, 59) e T. myicola (Uzmann & Stickney, 1954).

3.2. Discussão

Os Trichodina têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores e já foram encontrados em quase todo o mundo associados a animais terrestres, de água doce e marinhos. Entre os animais marinhos, os peixes parecem provavelmente os hospedeiros mais favoráveis para os Trichodina (Cunha & Pinto, 1926; Raabe, 1958; Lom, 1973). Entre os invertebrados marinhos, as estrelas-do-mar, até agora não foram com frequência objeto de muitos estudos mas parecem tratar-se de hóspedes favoráveis aos Trichodina.

Os Trichodina foram encontrados em quase 100% das estrelas-do-mar coletadas, dado bastante representativo se comparado aos hospedeiros de outros ciliados.

Os Trichodina sp, quando retirados do hospedeiro e observados in vivo apresentam alternância de rápidos movimentos de curta duração, com fixação em seguida à superfície do substrato (lâmina).

Alguns termos, referentes as associações, tem sido usados para os Trichodina que vivem sobre seus hospedeiros, tais como: ectoparasita e epizoóico (Uzmann & Stickney, 1954); ectocomensal, ectozoóico e epizoóico (Hausmann & Hausmann, 1981a). Em nossos estudos utilizamos o termo epizoóico (Hausmann e Hausmann, 1981a) para os Trichodina sp.

O corpo dos Trichodina apresenta-se, geralmente, em forma de barril ou discoidais, com a região anterior convexa onde está localizada a espiral ciliar adoral; e a poste

rior côncava, onde está localizado o disco adesivo (figs. 34 e 36).

Através da microscopia eletrônica de transmissão, Hausmann & Hausmann (1981a) revelaram que a espiral ciliar adoral de T. pediculus é constituída de dois componentes, a haplocinécia e polycinécia. A haplocinécia está localizada no lado de fora da espiral e consiste de duas fileiras de cinetosomas interconectados aos pares, dos quais o mais externo é cilífero e o mais interno, nú ou acilífero.

A polycinécia que é visível, em células vivas, como uma faixa em espiral finamente estriada, é constituída de três fileiras de cinetosomas, os quais são interconectados por complexas desmoses microfibrilares.

A fixação dos Trichodina sp. é feita através do disco adesivo localizado na região posterior do corpo. Como foi comentado por Hausmann & Hausmann (1981b), o disco adesivo dos Mobilina Peritrichios é um dos elementos estruturais mais complexos, encontrado dentro dos ciliados, ou até mesmo dentro das células eucarióticas em geral.

O epizoísmo sobre as pápulas e pódios é benéfico para o epibionte que poderá ampliar a sua área de ação na captura de alimento através dos movimentos do hospedeiro, assim como obter alimento da própria atividade alimentar do hospedeiro, para os ciliados que vivem no sulco ambulacrário.

Para o estudo do disco adesivo, os ciliados foram triados e colocados em lâmina, sem fixação, para secagem e impregnados, segundo a técnica da prata a seco de Kleiñ, a

qual revela nitidamente a presença do anel denticulado.

O principal caráter específico dos Trichodina tem sido o número e forma dos dentículos do anel denticulado do disco adesivo. Como margem de segurança, alguns autores sugerem uma contagem de dentículos em pelo menos 25 indivíduos (Dogel, 1940). Já Fauré-Fremiet (1943) e Lom (1958) sugeram a contagem em cerca de 100 indivíduos no mínimo. Nossa contagem foi feita em 60 indivíduos e apresentou uma variedade de 10 a 17 (média de 13) dentículos compondo o anel denticulado (figs. 34, 39 e 40).

Trichodina sp é bastante semelhante, morfologicamente, ao Trichodina pediculus (O.F.Muller, 1786 Ehrenberg, 1838), um comensal de Hidrozoa de água doce, mas diferindo enormemente na forma, disposição e número dos dentículos do anel denticulado. Não conseguimos separar os dentículos do anel denticulado, mas notamos, em geral, grandes diferenças dos padrões descritos em relação à outras espécies do gênero, o que nos sugere tratar-se de uma nova espécie.

Não observamos nenhum tipo de dano nas pápulas e pódios dos hospedeiros. De acordo com Lom (1958), todas as estruturas do complexo esquelético são cobertas, externamente, com uma película extremamente fina, de modo que os dentículos não se projetam e não podem irritar e causar danos à epiderme do hospedeiro. Posteriormente, Lom (1973), trabalhando com Trichodina epizoóicos de peixes, relatou que a patogenicidade destes ciliados depende do número de indivíduos presentes sobre o peixe. Comentou também, que as células do hospedeiro podem ser prejudicadas por uma firme ade

rência do ciliado, causando uma irritação das células epiteliais dentro da concavidade do disco. Isto ocasionando , mais tarde, uma possível invasão de microrganismos parasitas, e com isso, propiciando um favorável efeito sobre o desenvolvimento destes ciliados, que se alimentariam de células mortas e de crescente número de bactérias. E assim, os Trichodina podem tornar-se reais ectoparasitas. A grande infestação de Trichodina, em peixes, contribui para destruir a camada mucóide protetora do tegumento. É comum, encontrar-se peixes com infecções tegumentares, nestas situações causando inclusive prejuízos aos criadouros artificiais, em tanques e lagos. Isto ocorre em peixes ornamentais como em peixes comestíveis como a carpa e outros (Santa Rosa & Amato, com. pess.).

O macronúcleo, em forma de ferradura, é característico do gênero e o micronúcleo, pequeno e arredondado , geralmente localiza-se próximo à extremidade externa do braço esquerdo do macronúcleo. As medidas do macronúcleo foram feitas de acordo com o método proposto por Dogel (1940). (figs. 34 e 43).

Observamos, com frequência, nas diferentes coletas, muitos Trichodina em divisão anisotômica (figs. 41 e 44).

10 μ m

34

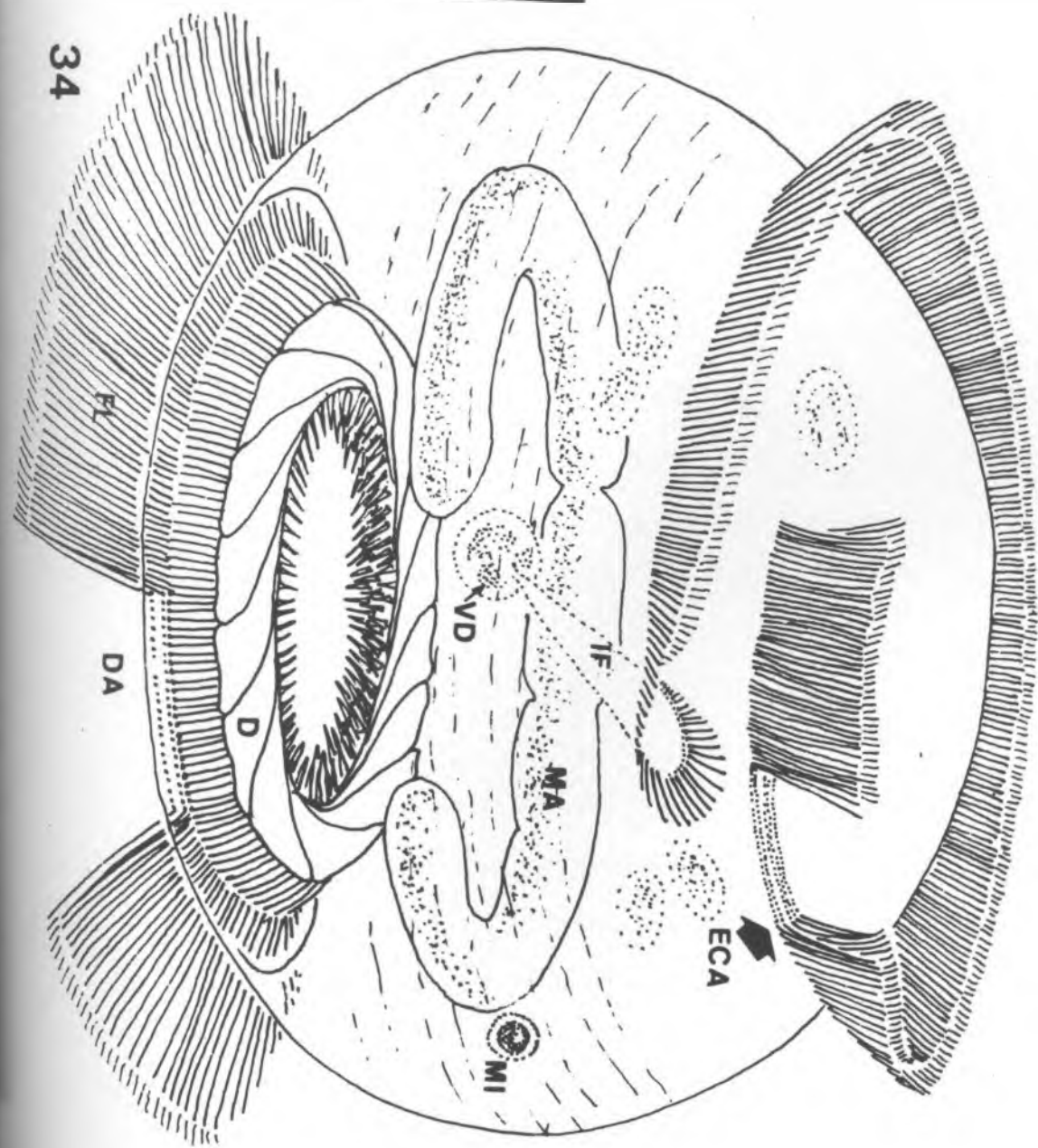


Fig. 34 - Representação esquemática e hipotética de Trichodina
Ehrenberg, 1838.

ECA - Espiral ciliar adoral; MA - Macronúcleo;

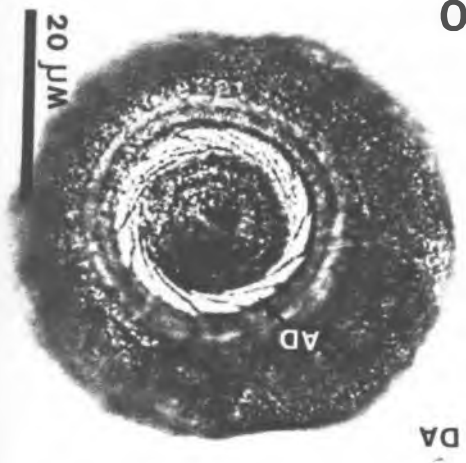
VD - Vacúolo digestivo; D - Dentículo;

DA - Disco adesivo ; FL - Franja locomotora

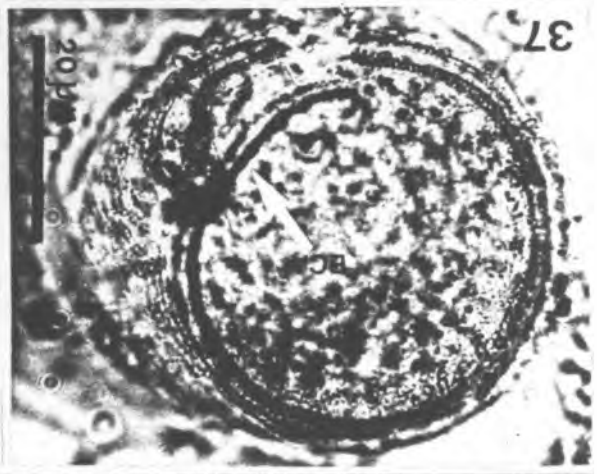
39



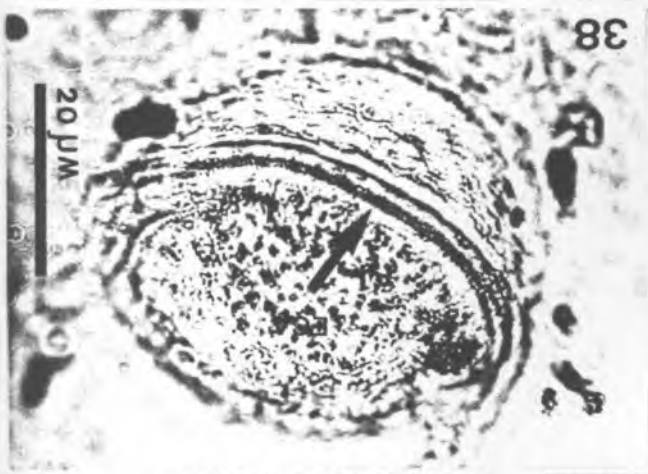
40



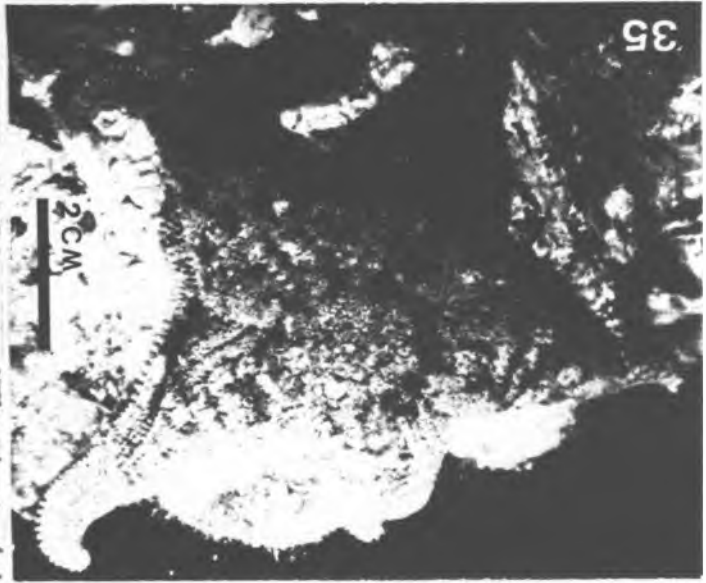
37



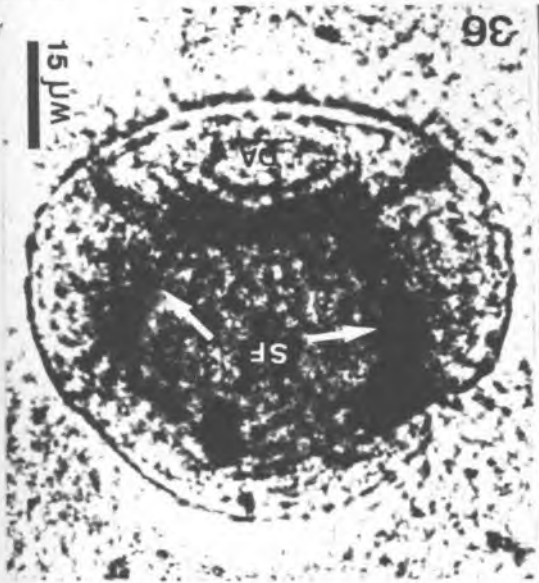
38



35



36



- Fig. 35 - Vista dorsal da estrela-do-mar Enoplopatiria stellifera, hospedeira de Trichodina Ehrenberg, 1838.
- Fig. 36 - Vista geral de Trichodina sp., após impregnação pelo proteinato de prata, notar as fibrilas e disco adesivo. (3.700X).
- Fig. 37 - Infraciliatura bucal externa de Trichodina sp. após impregnação ao nitrato de prata, com a E.C.A. percorrendo cerca de 400° no sentido anti-horário. (3.500X).
- Fig. 38 - Detalhe da Infraciliatura bucal de Trichodina sp. ao Chatton-Lwoff, 1930. (3.500X)
- Fig. 39 - Vista geral em perfil de Trichodina sp., em divisão anisotômica, ao Chatton-Lwoff, 1930. Notar a concavidade do disco adesivo com o anel denticulado ao fundo. (3.500X).
- Fig. 40 - Vista do disco adesivo, mostrando o anel denticulado através da técnica da Prata a seco de Klein, 1958. (3.500X).

SF - Sistema fibrilar; ECA - Espiral ciliar adoral;
 P - Proter; O - Opister; DA - Disco adesivo; AD - anel denticulado.

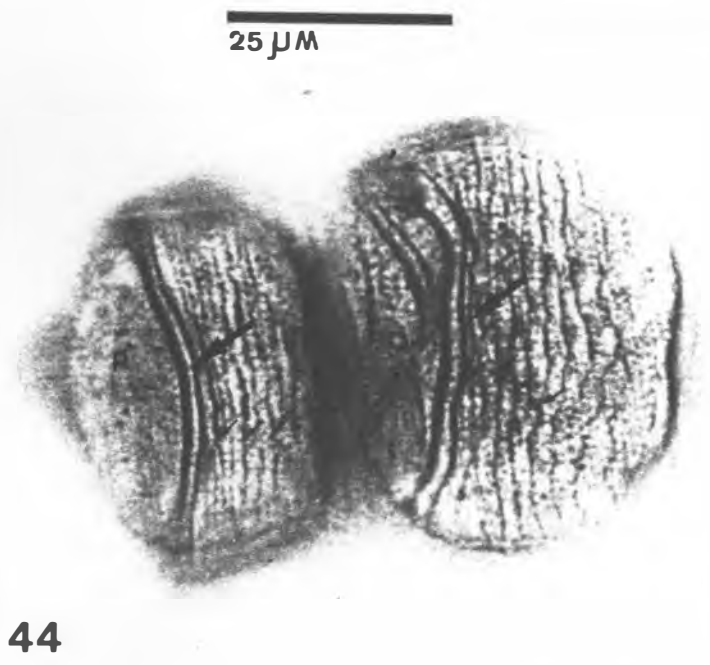
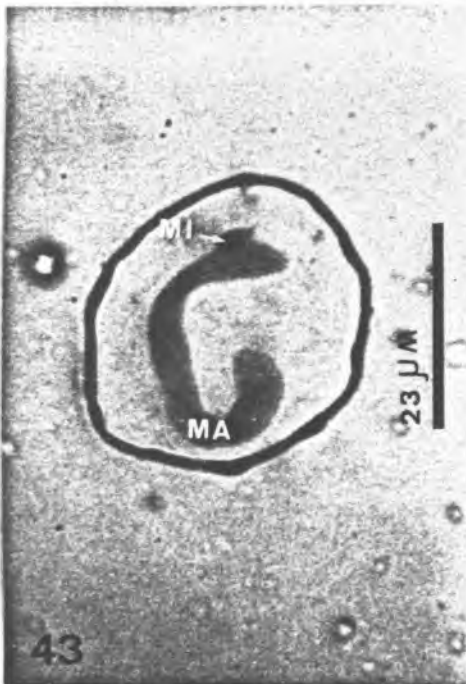
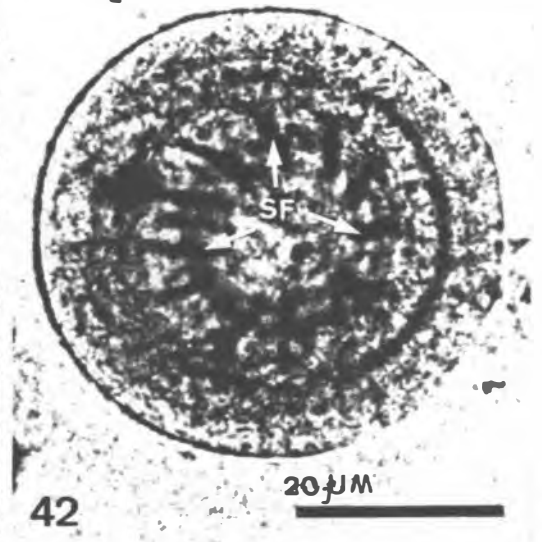
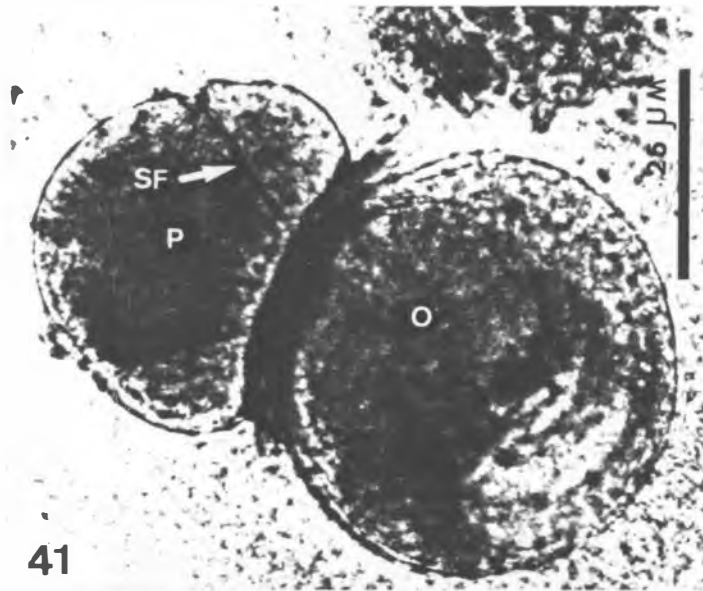


Fig. 41 - Divisão anisotômica de Trichodina sp. ao Protargol , mostrando o sistema fibrilar (flecha) (4.000X).

Fig. 42 - Detalhe do disco adesivo de Trichodina sp. mostrando três feixes de fibrilas (flecha do sistema fibrilar ao Protargol (3.200X).

Fig. 43 - Aspecto geral do macronúcleo e micronúcleo de Trichodina sp. através da reação nuclear de Feulgen. (2.700X).

Fig. 44 - Divisão anisotômica de Trichodina sp. ao Chatton-Lwoff, 1930, mostrando parte da E.C.A. (flecha maior). Notar o padrão cortical indicado pelas flechas menores. (3.800X).

SF - Sistema fibrilar; P - Proter; O - Opister; MI - Micronúcleo; MA - Macronúcleo

4. Parametopus circumlabens (Biggar e Wenrich, 1932)

Metopus circumlabens Biggar & Wenrich, 1932

4.1. Morfologia Geral

P. circumlabens é um ciliado endocomensal encontrado, com frequência, no aparelho digestivo do ouriço-do-mar Litechinus variegatus. Tem o corpo em forma de ânfora com um lóbulo anterior, recurvado em direção ventral, acima da região pré-oral. Apresenta o corpo achatado lateralmente com a face direita quase plana (figs. 45a,b,c, 47, 51 e 52).

Seu tamanho médio é de aproximadamente 110 μ m de comprimento por 65 μ m na sua maior largura.

Apresenta cerca de 35 cinécias distribuídas desigualmente sobre o corpo (figs. 45a e b). Tem, aproximadamente, quinze cinécias na face direita que estão arranjadas de maneira bem irregular. Sete cinécias começam logo abaixo da margem inferior do peristoma para terminarem no polo posterior da célula. As outras 8 cinécias localizam-se à direita do infundibulum bucal. As cinco primeiras são curtas com uma nítida convergência de suas extremidades posteriores. As 3 cinécias seguintes começam no lóbulo pré-oral, acima de uma zona desprovida de cílios que margeia o peristoma e abaixo da zona nua superior no bordo dorsal do ciliado, para terminarem antes da porção final do infundibulum. Sobre a face lateral esquerda estendem-se, aproximadamente, 20 cinécias que acompanham a curvatura do corpo. Estas, anteriormente, contornam o peristoma, para depois seguirem em direção ao polo posterior da célula.

As membranelas adorais (Z.A.M.), são em número de 60, aproximadamente, sendo que cerca de 30 estão localizadas fora

da citofaringe (figs. 45a, 50 e 53). Da extremidade distal do peristoma, as membranelas se afundam dentro do infundibulum bucal em direção ao citóstoma que termina na região média do corpo. Próximo ao fundo do citóstoma, tem origem uma formação fibrilar que se prolonga dentro do citoplasma em direção à parte posterior da célula, onde se enrola, sobre si mesma, em uma estrutura circular quase fechada, próxima à curvatura ventral (figs. 45c, 50, 56, 57 e 62).

Geralmente, na extremidade posterior da célula, se encontra um grande vacúolo pulsátil (figs. 48 e 45c).

O macronúcleo tem uma forma de pêra e apresenta dimensões em torno de 25/20 μ m (C/L). O micronúcleo é arredondado e está posicionado numa pequena reentrância da margem superior do macronúcleo. Ambos estão localizados no terço anterior do corpo (figs. 45c, 47, 49 e 50).

Ao Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM), P. circumlabens tem um aspecto robusto com a ciliatura somática disposta dentro de sulcos e intercalada por numerosas pregas ou cristas intercinecias (figs. 51 e 54). Em cada sulco aparecem, nitidamente, os cílios enfileirados, aos pares, formando as cinécias (fig. 54). Sobre a face direita, as cinco cinécias mais curtas, localizadas à direita da abertura infundibular, convergem gradativamente para o início da metade posterior do corpo, em um sulco (figs. 51 e 54). Ainda na mesma face, as outras três cinécias que contornam a margem dorsal do ciliado terminam também em um outro sulco, mais profundo, em forma de fenda. Cerca de 8 cinécias, localizadas à esquerda da abertura infundibular, sob o peristoma, correm longitudi-

nalmente entre espessas pregas. Estas pregas, no terço posterior do corpo da célula, apresentam-se desprovidas de cílios e continuam seu percurso diminuindo gradativamente sua evidência para terminarem ligeiramente helicoidais (fig. 55). Bem próximo aos extremos dos sulcos, entre as pregas ou cristas, partem longos cílios aparentando um tufo de cerdas (fig. 55).

Toda a face esquerda, é densamente ciliada. As cinéncias são mais numerosas e as pregas apresentam-se mais próximas (fig. 52).

Na face direita, a região oral tem um amplo peristoma na parte proximal da qual a zona adoral de membranelas (Z.A.M.), corre em direção ao infundibulum bucal (figs. 51, 53 e 54). Apresenta, contornando o peristoma, cerca de 30 membranelas.

A curvatura interna, do lóbulo pré-oral, é desprovida de cílios e apresenta-se estriada, longitudinalmente. Toda a curvatura dorsal do P. circumlabens, da região anterior à posterior é, também, desprovida de cílios e pregueada em todo o seu comprimento (fig. 53).

Ao microscópio eletrônico de transmissão (TEM), a superfície do corpo do ciliado é esculpada em cristas e sulcos (fig. 60).

A membrana unitária envolve toda a célula e os cílios (fig. 60). Reforços internos, em forma de microtúbulos e microfibrilas, dispõem-se perpendicularmente à membrana (figs. 59 e 60).

Na fig. 59. observamos os reforços microfibrilares e microtubulares do córtex, os quais tomam diversas direções. Observam-se, também, cílios somáticos pareados que originam-se

de depressões da membrana citoplasmática.

No interior dos sulcos, entre as cristas, correm ciné-
cias somáticas de cílios gêmeos. Os cinetosomas destas ciné-
cias encontram-se pareados, sendo que dos cinetosomas da direi-
ta originam-se feixes de fibras cinetodesmais. Os cinetosomas
das cinécias esquerdas são portadores de derivados microtubula-
res de tipos posciliares (fig. 60).

Dentro do citofaringe correm membranelas paraorais
(figs. 56 e 57). Das bases dos cinetosomas, de ambas as para-
orais, derivam formações fibrilares unidas por nódulos de con-
densação, constituindo uma estrutura reticular denominada por
Grain (1969) de quinconce (figs. 56 e 57). Dos cinetosomas, da
outra paraoral, acima do citóstoma (figs. 56 e 58) origina-se
um denso e longo feixe de microfibrilas que se dirige para a
região posterior da célula.

Três cinécias paralelas estruturam cada membranela da
Z.A.M., as quais, nas bases, são separadas por cristas idênti-
cas àquelas encontradas em Nyctotherus cordiformes por Paulin
(1967) e em N. mauriense por Albaret (1970), (figs. 45d e 61).

Próximo do citóstoma, (figs. 56 e 58), que alcança a
região mediana do corpo, observam-se estruturas semelhantes a
lisosomos e numerosos vacúolos digestivos em diversos estágios
metabólicos.

4.2. Discussão

P. circumlabens tem sido encontrado em várias espécies de ouriços-do-mar de numerosas regiões geográficas. Estas regiões com os respectivos hospedeiros foram todas citadas por Kattar (1982).

Estes ciliados foram primeiramente descritos por Biggar e Wenrich (1932) e, posteriormente, por muitos outros pesquisadores como Powers (1935), Berger (1961, 1964), Urdaneta Morales e Tengler de Mc Lure (1966), Berger (1968), Grolière, Puytorac e Grain (1980), Kattar (1982), e por nós (Santa Rosa, Neto e Veiga, 1985).

Berger (1968) após examinar Metopus circumlabens e mais outras três espécies do mesmo gênero comentou que o endocomensal comparado aos Metopidae de vida livre apresentava algumas características bem distintas. Biggar (1932) já havia comentado que M. circumlabens poderia pertencer a um novo gênero, mas não denominou um novo gênero. Mais tarde, Grolière et al (1980), baseados nas investigações de Berger, acreditaram que M. circumlabens poderia ser incluído em um novo gênero, o qual denominaram Parametopus.

O tamanho e a forma geral do P. circumlabens, encontrado por nós, parecem idênticos aos descritos pelos autores citados anteriormente, porém apresentam algumas particularidades:

A ciliatura do corpo da célula apresenta um número maior de cinécias do que os P. circumlabens descritos por Grolière et al (1980), mas aproxima-se bem das descri-

ções feitas por Kattar (1982), provavelmente por se tratar de hospedeiros de regiões próximas.

Encontramos P. circumlabens, no interior do aparelho digestivo, de apenas uma espécie de ouriço-do-mar, L. variegatus, o qual vive no mesmo ambiente, com outras três espécies de Equinóides como Echinometra lucunter, Paracentrotus gai-mardi e Arbacia lixula. Não sabemos o motivo desta preferência pois os Parametopus apresentam-se muito bem adaptados em numerosas espécies de ouriços.

Aparentemente, os P. circumlabens suportam baixos teores de oxigênio. Provavelmente, foi devido a isso que observamos estes ciliados, ao serem retirados de seu hospedeiro, sofrerem autólise depois de um curto período de vida (cerca de 10 minutos). Poderiam até mesmo, serem considerados anaeróbios facultativos, se comparados com espécies afins de vida livre de ambientes sapróbios, como por exemplo, Metopus Jan-kowskii Dragesco, 1968.

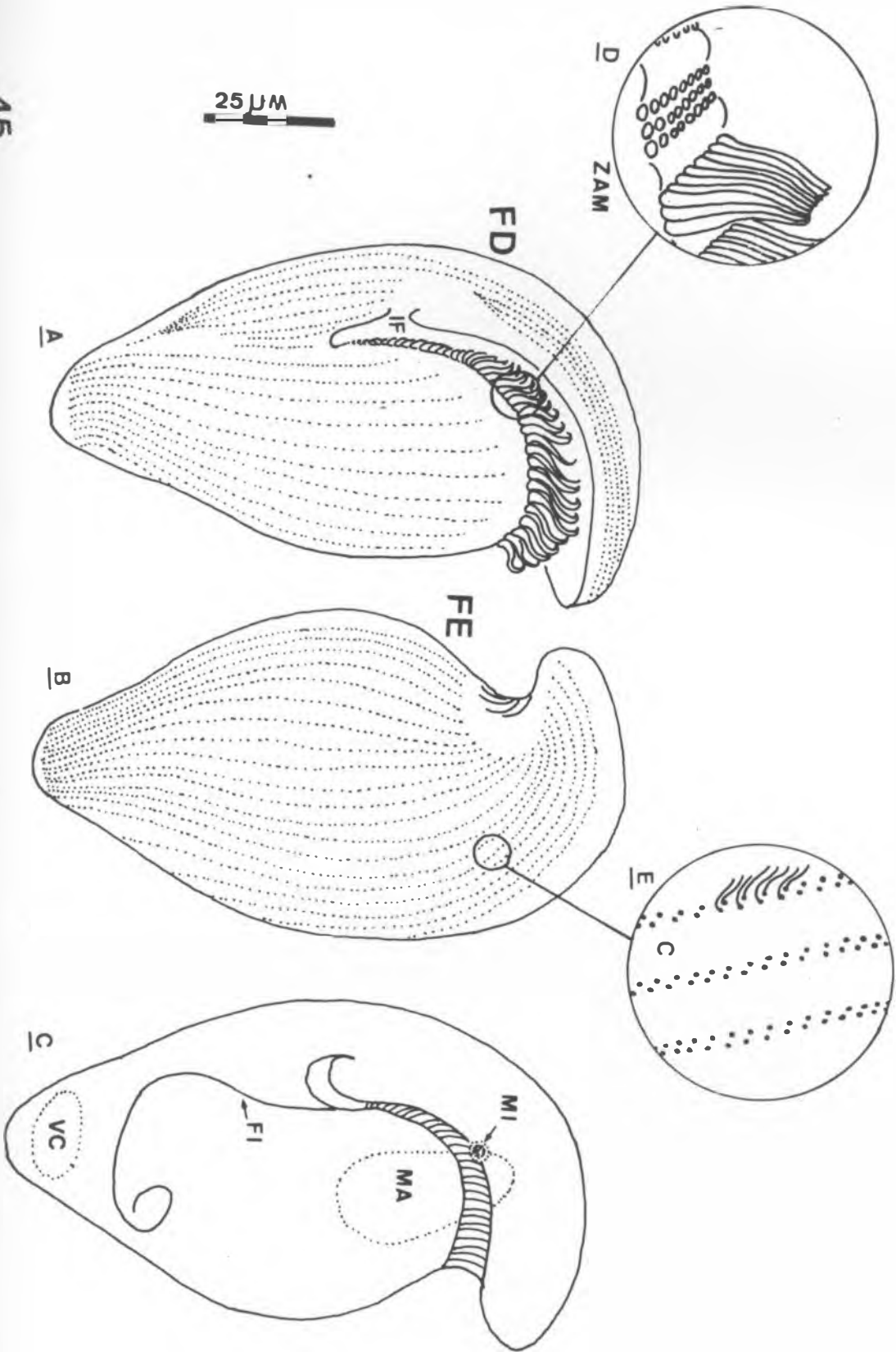


Fig. 45 - Esquemas de Parametopus circumlabens (Biggar & Wenrich, 1932)

A - face direita; B - face esquerda; C - vista em corte sagital; D - Zona adoral de membranelas ; E - cinécias somáticas com cinetosomas pareados.

FD - Face direita; FE - Face esquerda; ZAM - Zona adoral de membranelas; IF - Infundibulum; C - Cinécia; MI - Micronúcleo; MA - Macronúcleo; ; FI - Feixe fibrilar; Vacúolo contrátil.

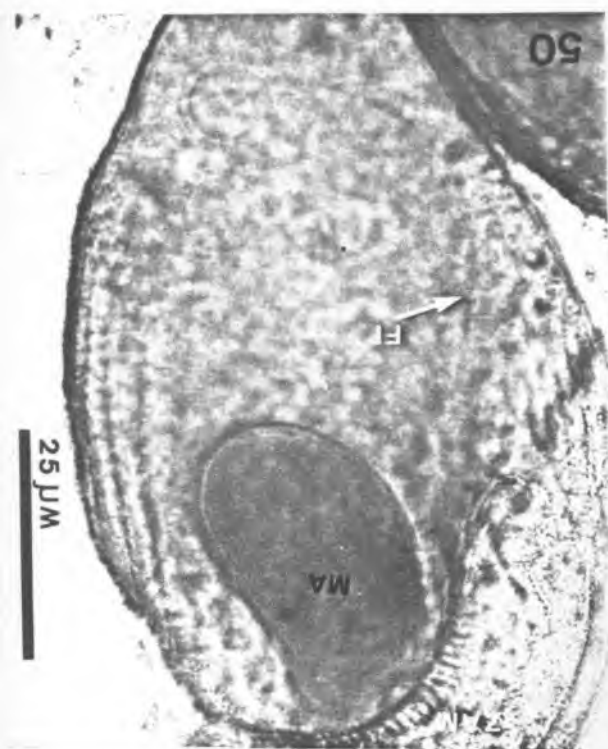
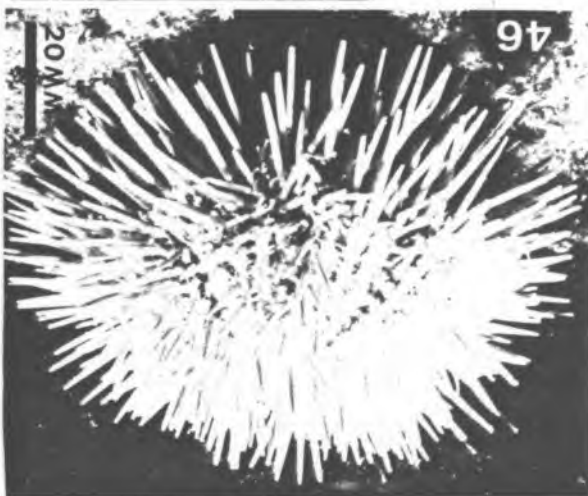
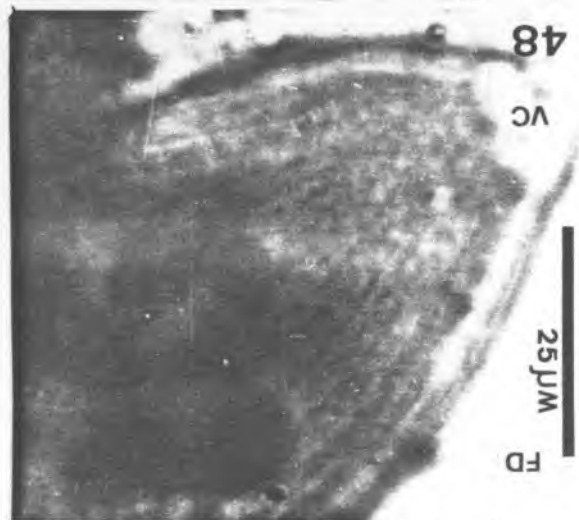
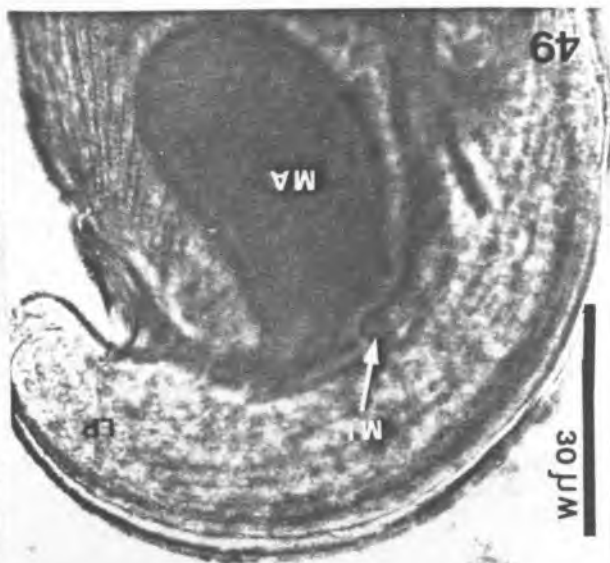


Fig. 46 - Vista geral do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus hospedeiro de Parametopus circumlabens.

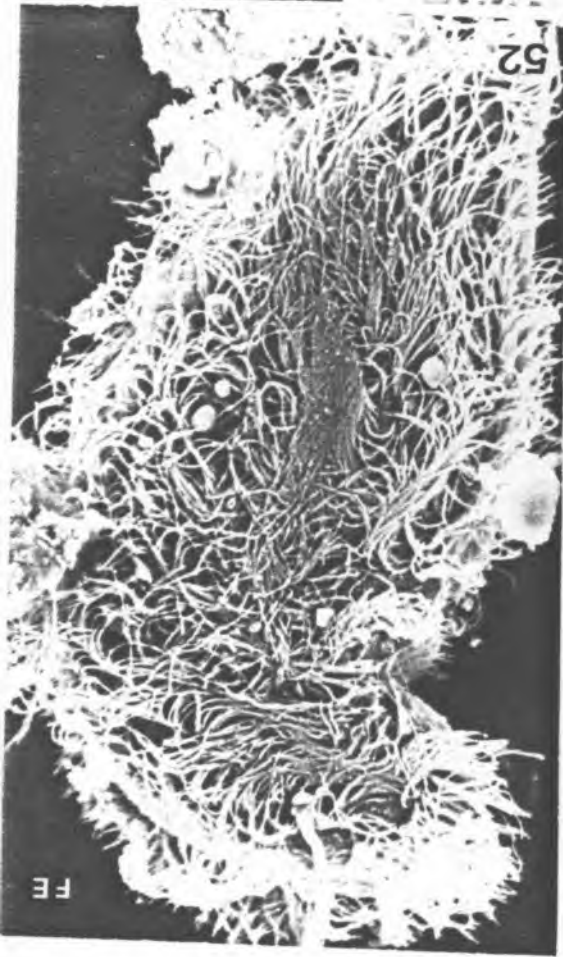
Fig. 47 - Vista geral da face esquerda de P.circumlabens ao Chatton-Lwoff, 1930. Notar as cinécias somáticas, labio pré-oral e macronúcleo. (1.400X).

Fig. 48 - Aspecto da face direita de P.circumlabens mostrando um vacúolo contrátil próximo a região posterior do ciliado. (1.400X).

Fig. 49 - Aspecto da face direita de P.circumlabens mostrando o lóbulo pré-oral (anterior), macronúcleo e micronúcleo. (1.600X).

Fig. 50 - Detalhe da Zona Adoral de Membranelas e macronúcleo de P.circumlabens. Notar o longo feixe de fibrilas que desce em direção posterior. (1.400X).

LP - Lóbulo pré-oral; MA - macronúcleo; MI - Micro núcleo; ZAM - Zona adoral de membranelas; Fi - Feixe fibrilar.



Figs. 51 e 52 - Vista geral ao SEM das faces direita e esquerda de P.circumlabens. Notar lóbulo pré-oral (LP); Cinécias somáticas ; pregas intercinecianas (PI); Sulcos (SU) (1.300X).

Fig. 53 - Detalhe ao SEM da região anterior de P.circumlabens mostrando a região dorsal (RD); Zona adoral de membranelas (ZAM); lóbulo pré-oral (LP). (5.000X).

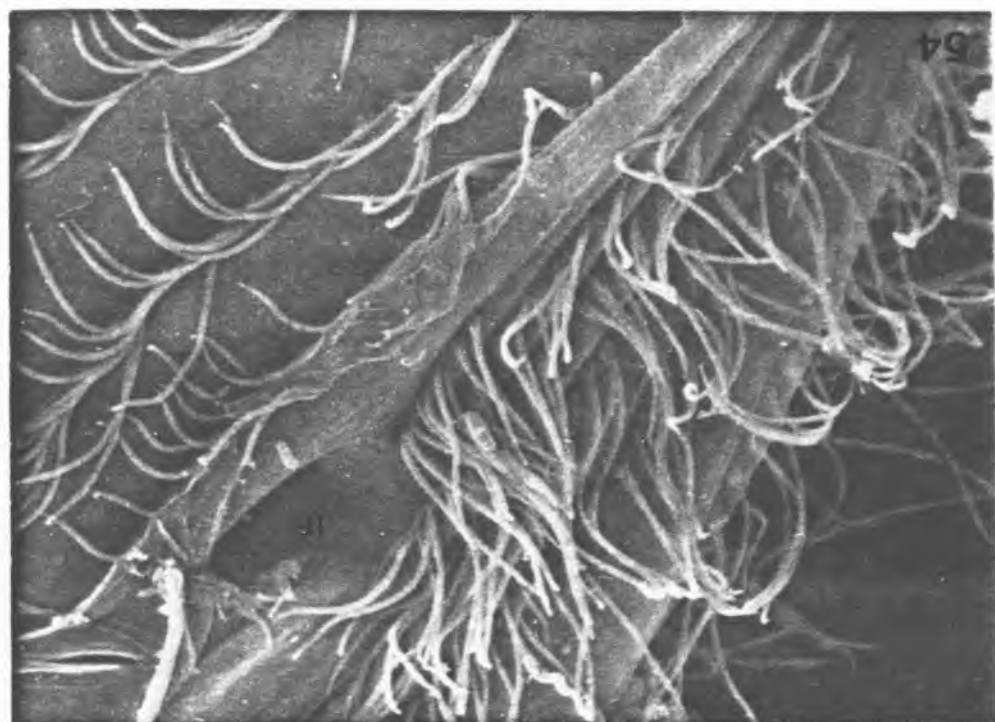


Fig. 54 - Detalhe da abertura infundibular (IF) e cinéncias somáticas de P.circumlabens ao SEM. (7.200X).

Fig. 55 - Aspecto da região posterior (RP) de P.circumlabens ao SEM, mostrando um tufo de longos cílios partindo das extremidades dos sulcos. (5.600X).

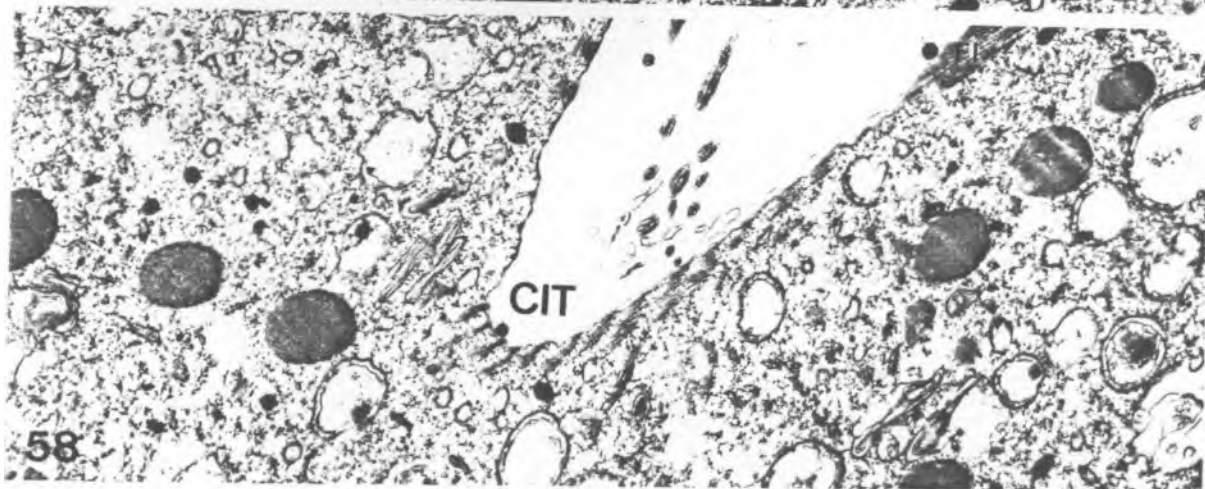
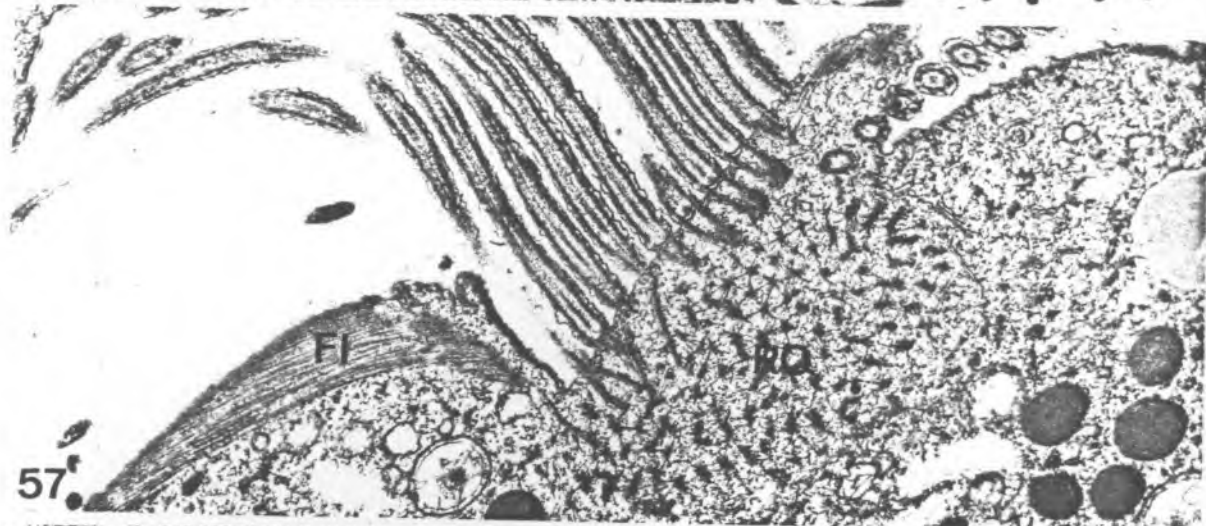
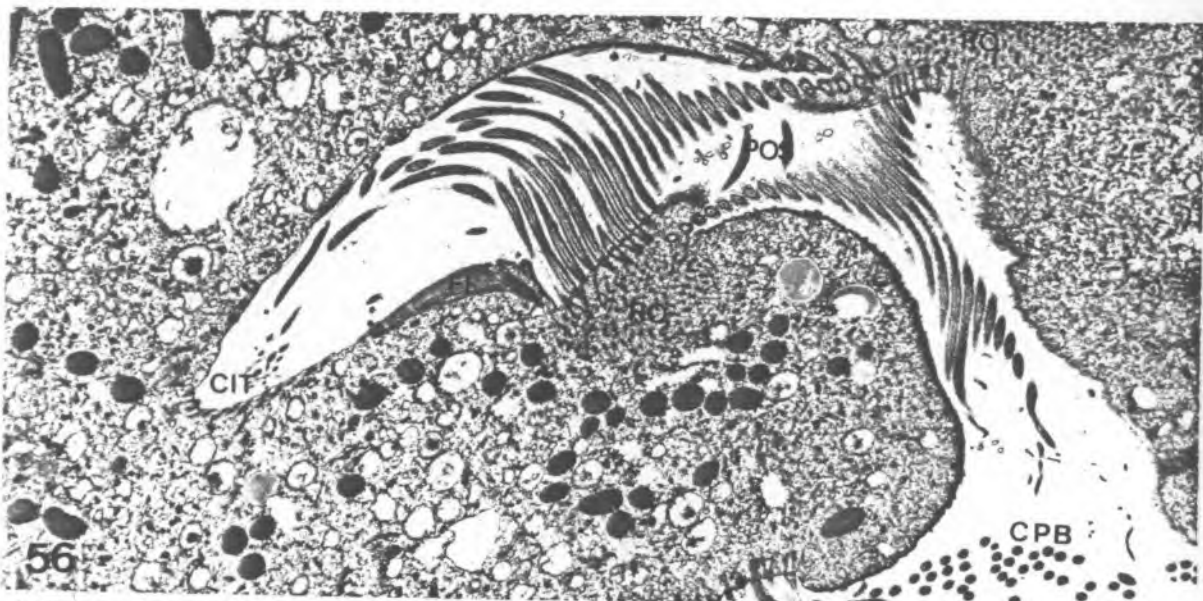


Fig. 56 - Secção longitudinal através da cavidade bucal, de P. circumlabens, onde estão implantadas as duas paraorais. CPB - Cavidade pré-bucal; RQ - rede em quinconce; POS - paraorais; FI - feixe fibrilar; CIT - citóstoma. (6.800X).

Fig. 57 - Aspecto de uma das paraorais de P. circumlabens em corte longitudinal. As bases de seus cinetosomas mais profundos originam formações fibrilares unidas por nódulos constituindo uma estrutura em quinconce (RQ). Notar o feixe de fibrilas logo abaixo. (22.000X).

Fig. 58 - Aspecto do fundo do citóstoma (CIT) de P. circumlabens ao TEM. (22.000X).

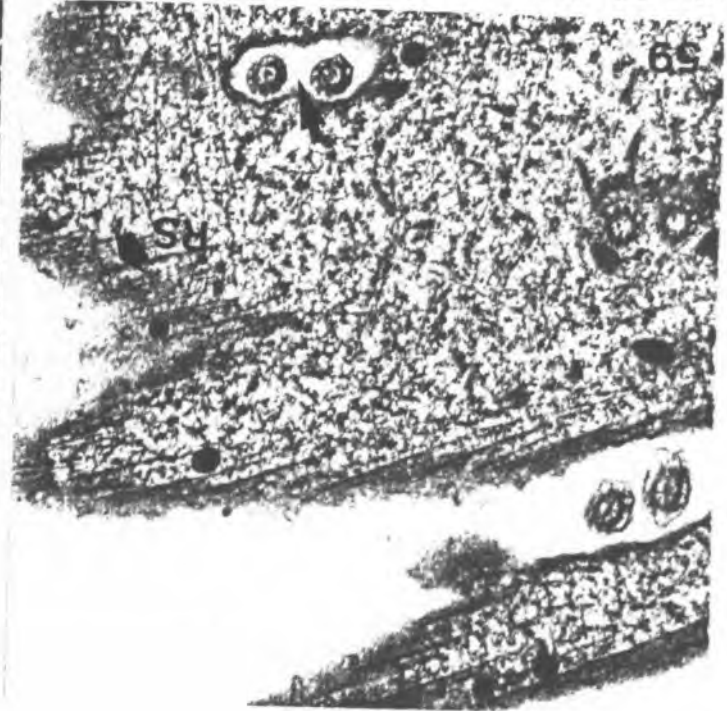
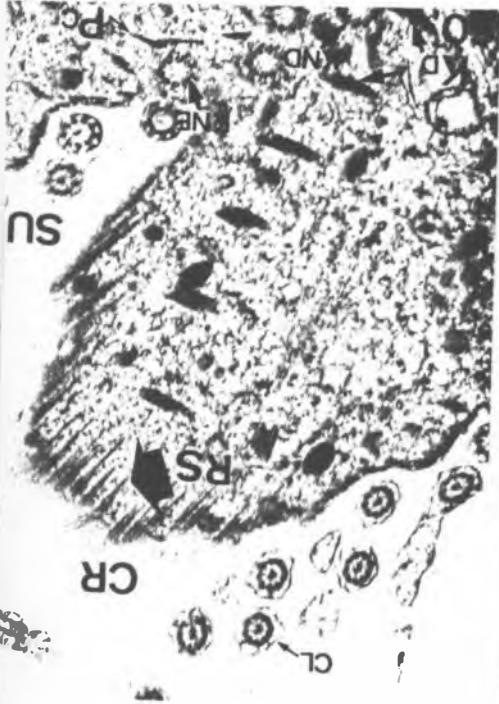
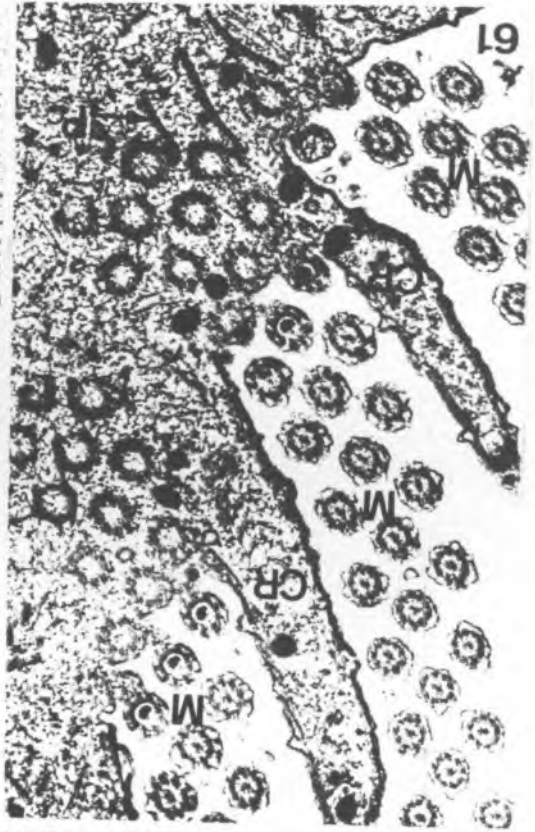
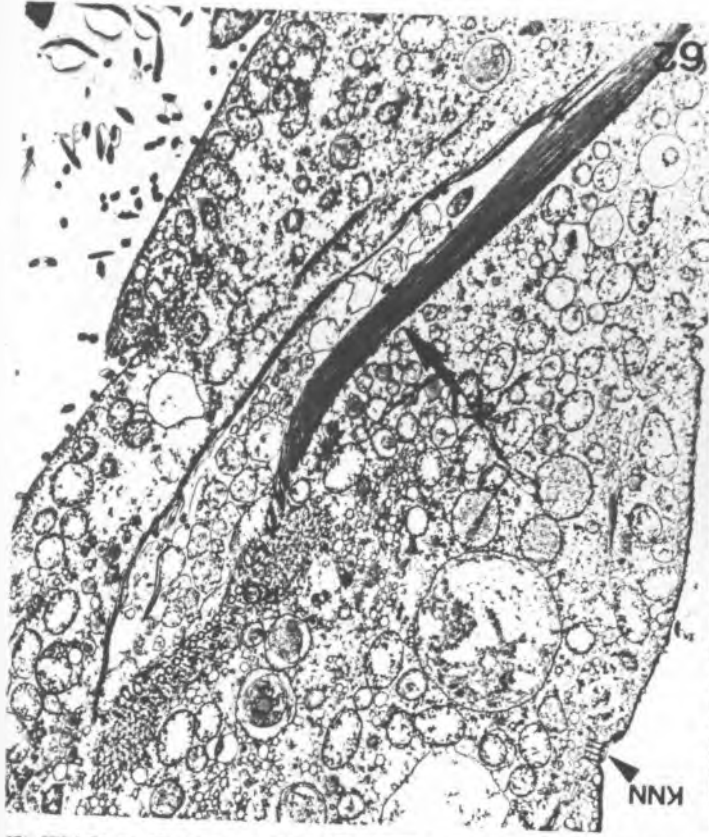


Fig. 59 - Eletronografia de um corte ultrafino, mostrando reforços microfibrilares em diversos sentidos, no córtex de P.circumlabens. Notar um par de cílios saindo de uma depressão da célula (flecha) (15000X).

Fig. 60 - Eletronografia ao TEM, do corte ultrafino de uma crista e um sulco (SU) de P.circumlabens. Notar alguns cílios (CL) pareados em corte transversal; Cinetosomas (KNE) e seus derivados (KD e PC).
Obs: vista do interior da célula. (15.000X).

Fig. 61 - Corte transversal da ciliatura adoral (M), de P.circumlabens, passando pelo fundo do infundíbulo. Notar as cristas (CR), entre as membranas (M), em corte transversal (15.000X).

Fig. 62 - Corte longitudinal de P.circumlabens mostrando dois cinetosomas nús (KNN); um denso e longo feixe de fibrilas (FI); rede em quinconce (RQ). (11.000X).

5. Metanyctotherus rancureli (Laval e Tuffrau, 1973)

5.1. Morfologia Geral

M. rancureli é um ciliado endocômensal encontrado no aparelho digestivo do bivalve Neoteredo reynei. O ciliado tem a forma do corpo ovalada com a margem dorsal mais abaulada do que a ventral. É achatado lateralmente, apresentando a face esquerda ligeiramente convexa e a face direita quase plana. As dimensões são de cerca de 80µm de comprimento por 65µm na sua maior largura (figs. 63a, 65 e 66).

A ciliatura somática é constituída de aproximadamente, uma centena de cinécias longitudinais que percorrem todo o comprimento do corpo do ciliado (figs. 63b e c; 65 e 66).

Na região anterior do M. rancureli, em ambas as faces, encontramos dois característicos sistemas secantes (figs. 63b, c e 65). Sobre a face direita o sistema secante têm uma linha de sutura bem curta, dirigida no sentido longitudinal do ciliado. Sobre a face esquerda, a secante, é mais longa e acompanha a curvatura dorsal do corpo estendendo-se até a região anterior do macronúcleo.

A área peristomiana, com sua ampla abertura triangular, localiza-se na terça parte anterior do corpo, próximo a um pequeno lóbulo apical na face direita. Do peristoma, o infundíbulo, desce ligeiramente curvado, além da região mediana do corpo da célula, para terminar em forma cônica antes da curvatura dorsal do ciliado.

As membranelas da Z.A.M., (figs. 63d, 66) enfileiradas em paralelo, dispõem-se transversalmente, ao longo da ca

vidade bucal, até ao citóstoma. Compreende cerca de oitenta membranelas, das quais, pouco mais de trinta são externas, e quase cinquenta ocupam o infundíbulo.

As paraorais (figs. 63a, 66) da mesma forma que a Z.A.M., se estende do peristoma até o citóstoma mas, em sentido longitudinal.

O macronúcleo (figs. 63a, 65, 66 e 67) têm a forma triangular-arredondada, localizado nos limites do primeiro e segundo terço da região anterior, com uma de suas pontas, próximo e parede dorsal.

Um nítido citopígio, em forma de canal, abre-se obliquamente no polo posterior do ciliado (figs. 63a, 68).

5.2. Discussão

Sabemos que Metanyctotherus rancureli, foi encontrado, até agora, unicamente em Teredo adami = Neoteredo reynei, seg. Rancurel (1967), da Costa do Marfim, e descrito por Laval & Tuffrau (1973). Através de nossos estudos, extendemos a ocorrência do ciliado comensal de N. reynei para a América do Sul.

Este ciliado pertencente ao gênero Metanyctotherus Albarét, 1970 é caracterizado por seus dois sistemas secantes anteriores, um direito reduzido e um esquerdo quase dorsal maior. Distingue-se do gênero Nycototherus que, ao contrário, possui somente um sistema secante sobre a face direita.

O sistema secante é representado por várias linhas de convergência de campos de cinécias de áreas diferentes da superfície do corpo, em linhas, formando um padrão consistente, comum aos grupos dos Heterotríficos, Astomatídeos e Tigmotríficos. Este sistema pode ser chamado, também, de linhas de suturas.

Os poucos indivíduos que encontramos apresentaram tamanhos bem aproximados. Laval & Tuffray (1973) encontraram variações no tamanho e na forma destes ciliados, inclusive gigantismo. Mostraram também detalhes das membranelas dentro do infundíbulo, que revelaram quatro cinécias paralelas, das quais, a mais anterior aparecia bem separada das outras três. Observaram, ainda, numerosas plaquetas de glicogênio dentro do citoplasma destes ciliados, provenientes, provavelmente, do hospedeiro.

Em nossas preparações, que se limitaram apenas à técnica do protargol, não evidenciamos a presença do carióforo nem do micronúcleo.

M. rancureli visto ao protargol é, aparentemente, constituído de monocinécias, embora, a dicinécia seja uma característica comum aos Heterotrichida (fig. 63e).

O citoprocto é um canal estreito, oblíquo, localizado ventralmente. Este localiza-se dentro de uma fenda, no ápice posterior, e é dotado de cílios. Um vacúolo pulsátil pode estar presente bem próximo a ele (fig. 63a, 68).

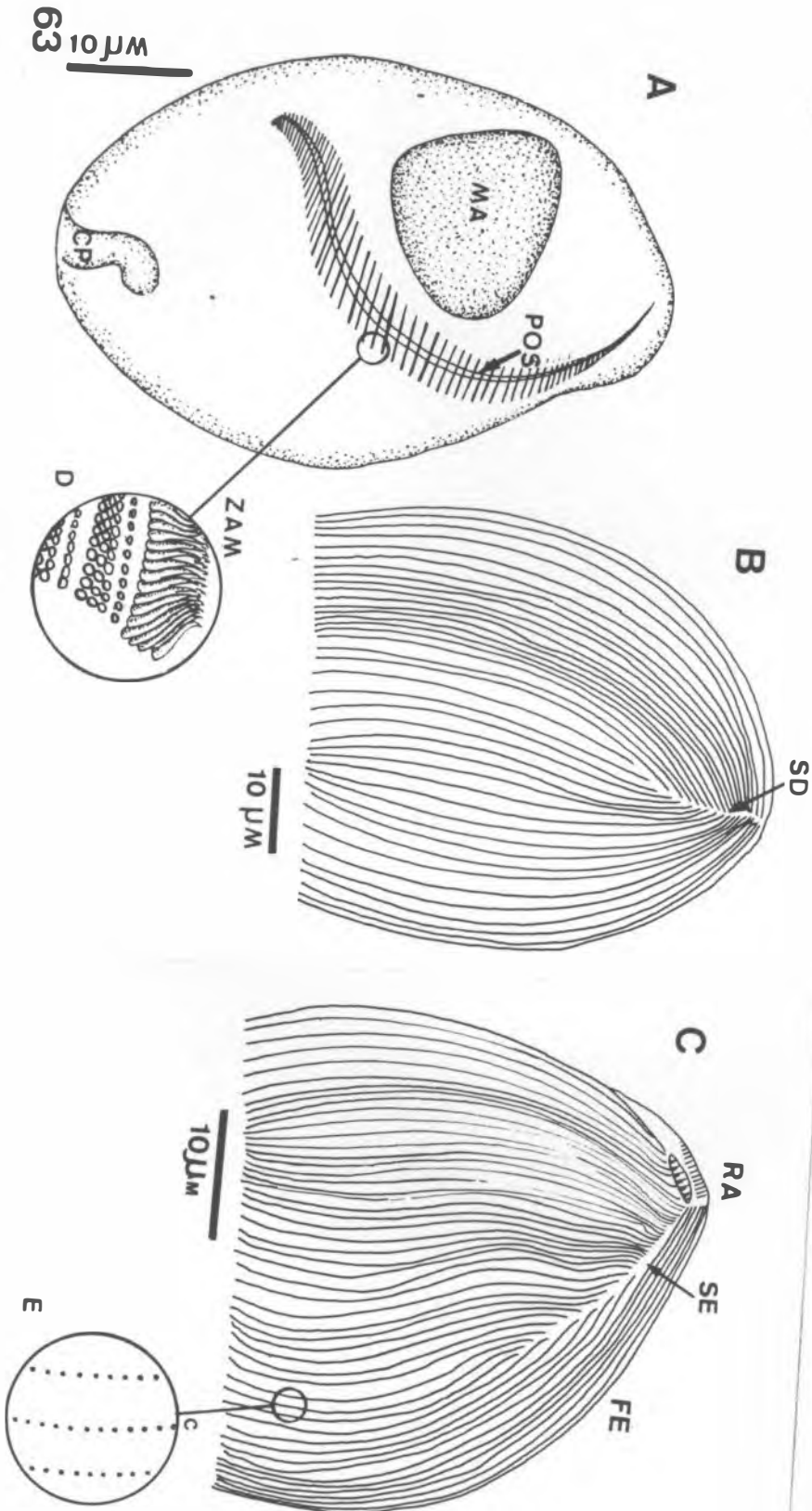


Fig. 63 - Desenho esquemático de Metanyctotherus rancureli (Laval & Tuffrau, 1973).

- A. aspecto do macronúcleo (MA); paraorais (POS); membranelas (ZAM); citoprocto (CP).
- B. secante da face esquerda (SE); C - secante da face direita (SD); cinécias somáticas (C).

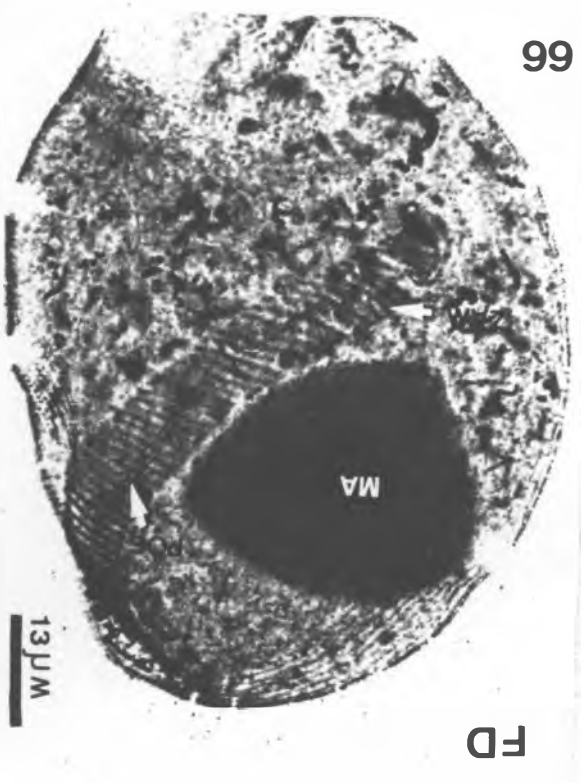
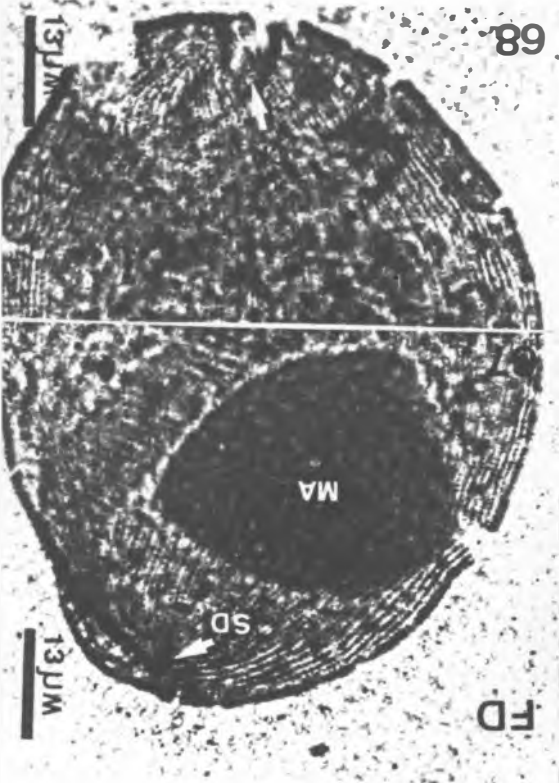


Fig. 64 - Neoteredo reynei Bartsch, 1920, bivalve hospedeiro de Metanyctotherus rancureli Laval e Tuffrau, 1973.

Fig. 65 - Vista geral da face esquerda de M. rancureli ao Protargol, mostrando a secante esquerda (SE) contornando a curvatura dorsal anterior. MA - macronúcleo (1.600X).

Fig. 66 - Aspecto geral ao Protargol de M. rancureli, mostrando pela face direita, o macronúcleo (MA), Zona adoral de membranelas (ZAM) e Paraorais (POS) (1.400X).

Fig. 67 - Aspecto da secante direita e do macronúcleo de M. rancureli ao Protargol (1.400X).

Fig. 68 - Detalhe da região posterior de M. rancureli ao Protargol mostrando o canal do citoprocto (CP) (1.400X).

6. Licnophora Claparède, 1867.

6.1. Morfologia Geral

Licnophora sp. é um ciliado epibionte das estrelas-do-mar Coscinasterias tenuispina, Astropecten armatus brasilensis, Echinaster brasiliensis e Linckia guildingii apresenta o corpo alongado, com a região anterior, oral, bem distinta da região posterior onde se encontra um disco de fixação. A região anterior, que é mais entumescida, está ligada à região posterior por uma área estrangulada, muito móvel, chamada por Stevens (1901) de pescoço (fig. 73).

Visto de perfil (fig. 75), estes ciliados são achatados ventralmente, mas apresentam o disco adesivo quase perpendicular ao corpo. A face dorsal anterior é bem mais abaulada do que a posterior. Suas dimensões, variam de 45 a 70µm de comprimento por 35 a 50µm de largura.

A ciliatura do corpo está limitada à região oral, ao disco adesivo e a uns poucos cílios laterais (fig. 73).

O amplo peristoma é contornado por uma destacada zona adoral de membranelas. As bases da ZAM são reforçadas por um importante sistema fibrilar, denominado por Balamuth (1941), fibrilas citostômicas. A partir da abertura do citofaringe afunilado, a ZAM desce em direção ao citóstoma (figs. 73 e 74).

O disco adesivo basal, de forma arredondada, é ligeiramente côncavo e está, aparentemente, envolvido por duas cinécias quase fechadas e provavelmente mais duas cinécias

mais curtas. As duas maiores apresentam cílios longos formando uma importante "membrana ondulante" (figs. 73, 74 e 75).

O "pescoço" do ciliado apresenta um pequeno pregueamento lateral. Em sua superfície ventral encontra-se um sulco que estende-se do disco basal até o peristoma (fig. 73).

O macronúcleo (fig. 76) é moniliforme e distribui-se, no corpo, em forma de rosário. Primeiramente acompanha, nitidamente, o bordo do disco oral para depois estender-se ao disco basal. O macronúcleo tem de 18 a 24 fragmentos que estão unidos, uns aos outros, por finos filamentos quase invisíveis nas preparações.

6.2. Discussão

Licnophora é o único gênero existente, até agora, na Família Licnophoridae Stevens, 1904.

Os Licnophora já foram encontrados fixados em diversos invertebrados, tais como: Moluscos, Equinodermas, Anelídeos, Cnidários e, também, fixados sobre vegetais.

Os Licnophora não têm sido objeto de estudos há mais de quarenta anos. E os principais trabalhos se limitam às publicações de Stevens (1901 e 1904), Villeneuve-Brachon (1940) e Balamuth (1941 e 1942).

Encontramos Licnophora sp. em quatro espécies de estrelas-do-mar Coscinasterias tenuispina, Astropecten armatus braziliensis, Echinaster brasiliensis e Linckia guildin-gii.

Os ciliados foram coletados, em abundância, nas estrelas-do-mar, sobre os pódios, no sulco ambulacrário e, em menor quantidade, sobre as pápulas, na superfície dorsal.

Licnophora sp., visto in vivo, geralmente, faz rotações da região anterior, através de movimentos do pescoço. Raramente deslocam-se sobre o hospedeiro mas, normalmente, se desprendem para nadarem livremente.

Se alimentam de diatomáceas, bactérias e outros ciliados menores. Segundo Stevens (1901) alimentam-se, também, de células epiteliais descasmadas do próprio hospedeiro. Grande quantidade, provavelmente, de resíduos alimentares podem ser observados retidos nas membranelas peristomianas.

As medidas do ciliado foram feitas após a impregnação ao Protargol. Suas dimensões são muito pequenas se comparadas com outros Licnophora. Segundo Balamuth (1941), estes ciliados apresentam um complexo sistema fibrilar estendido em todas as partes do corpo. Ahamos que Licnophora sp. sofreu uma considerável contração das fibrilas longitudinais, no momento da fixação.

A identificação dos Licnophora está relacionada, basicamente, às características da ZAM, número de membranas ondulantes do disco basal e aparelho nuclear.

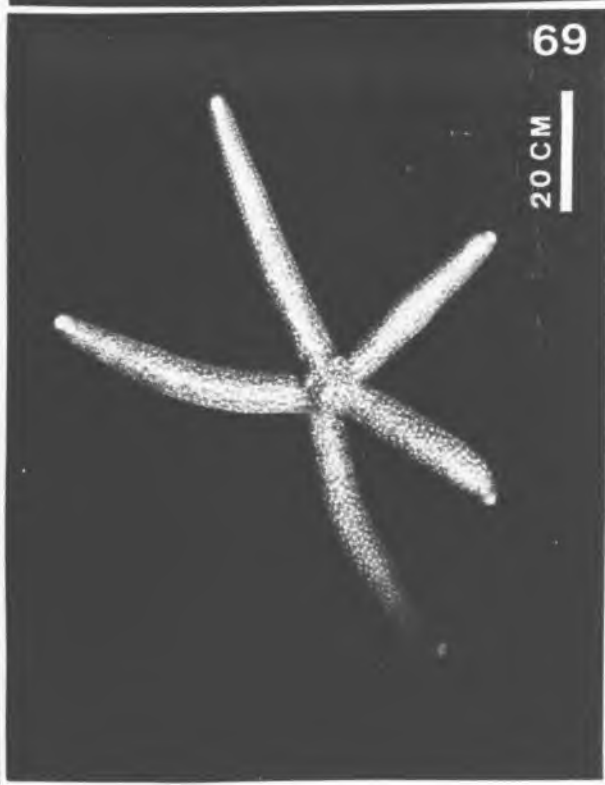
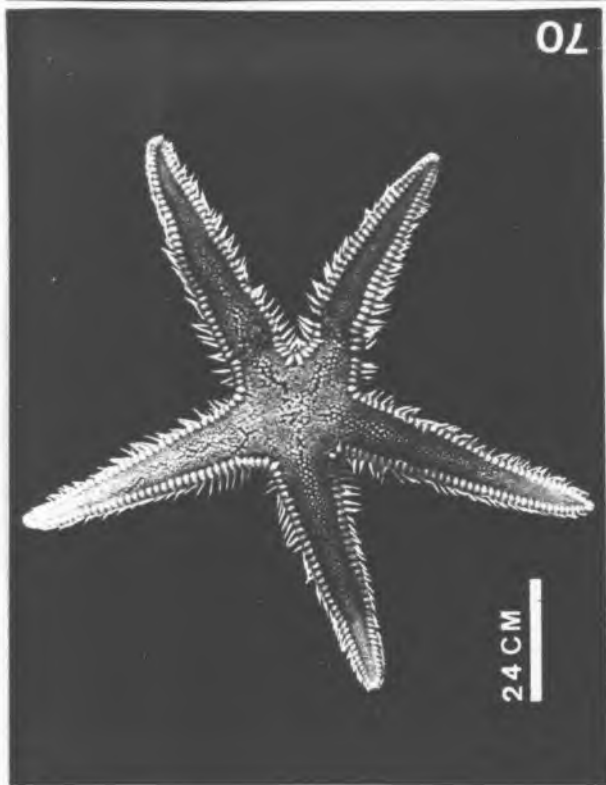
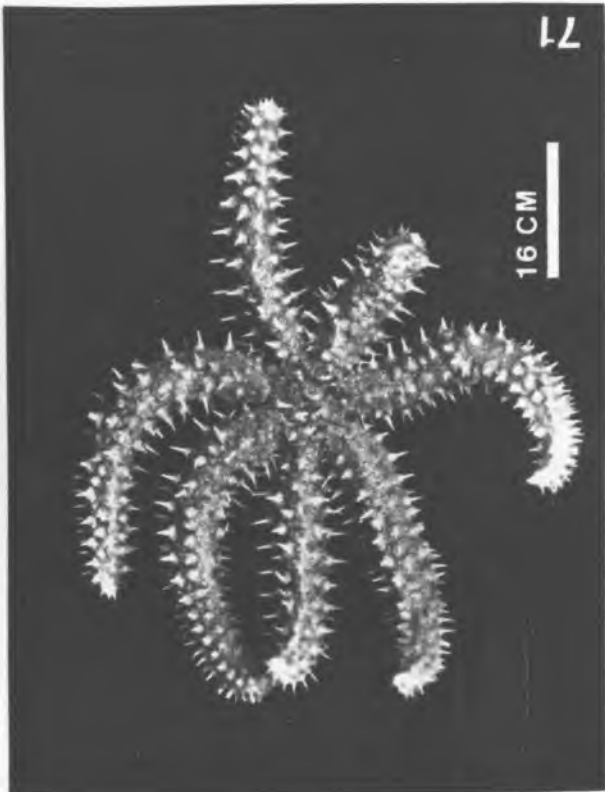
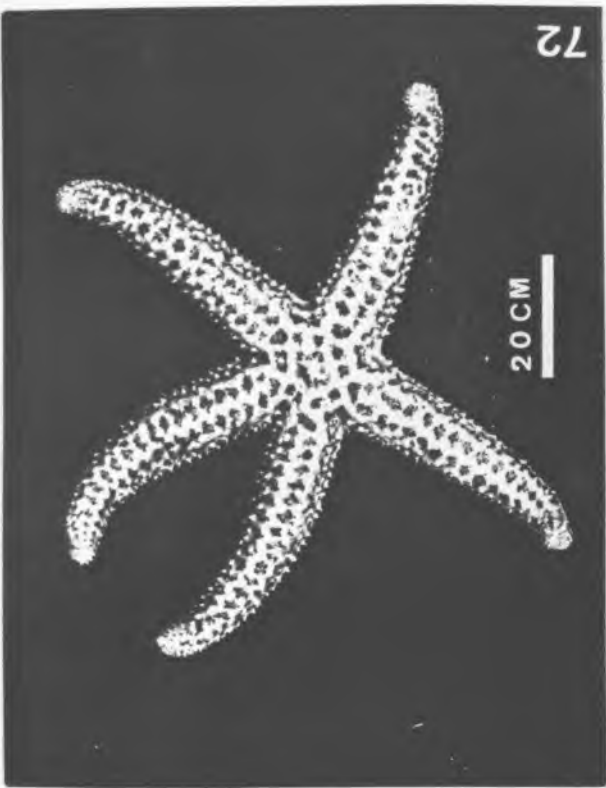
As diferentes espécies são muito semelhantes. Nossas informações ainda são insuficientes para fazermos um diagnóstico preciso.

Villeneuve-Brachon (1940) fez importantes distinções de vários Licnophora baseadas, particularmente, na morfogênese e no argiome destes ciliados.

O aparelho nuclear, geralmente segmentado, varia em número de fragmentos. Em L. macfarlandi pode alcançar até trinta e cinco fragmentos. Em Licnophora sp. encontramos um número de 18 a 24 fragmentos.

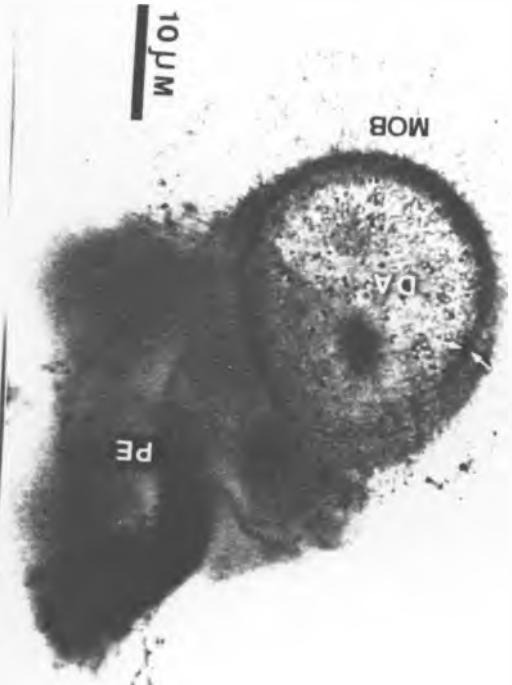
Se basearmos no tamanho e no número de fragmentos, Licnophora sp. aproxima-se de L. auerbachii encontrado sobre Asterina gibbosa, Ophiothrix fragilis, Thysanozoon tubercula, Tellina exigua, Capsa fragilis e Doris muricata.

O micronúcleo é de difícil distinção mas, segundo Balamuth (1942), localiza-se, geralmente, no disco basal, junto ao macronúcleo.

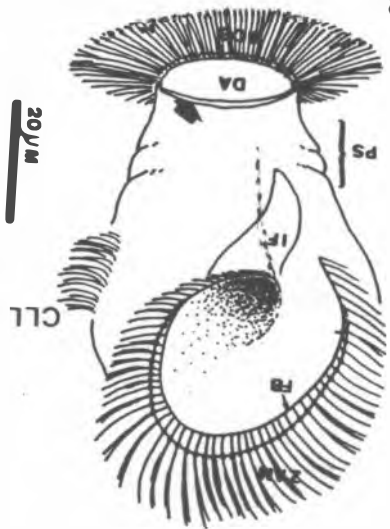


Figs. 69,70,71 e 72 - Vista geral das estrelas-do-mar
Linckia guildingii, Astropecten amatus
braziliensis, Coscinasterias tenuispina
e Echinaster brasiliensis, hospedei-
ras do ciliado Licnophora Claparède ,
1867.

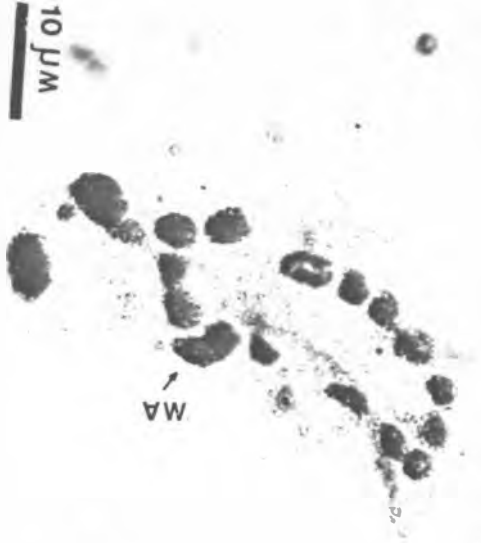
75



73



76



74

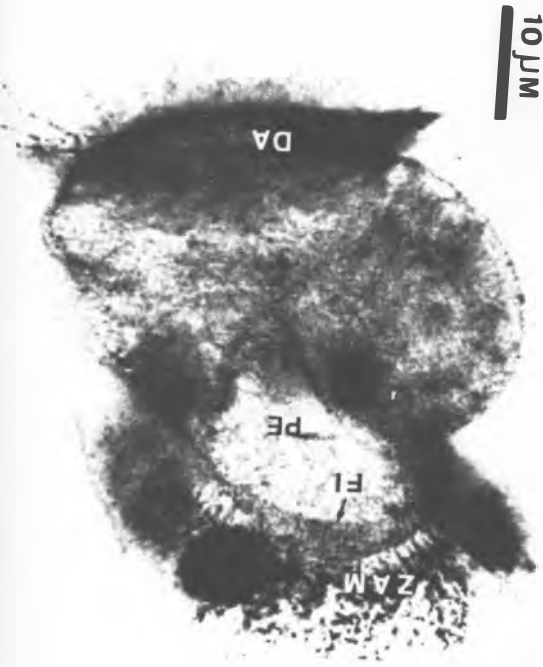


Fig. 73. Desenho esquemático de Licnophora Claparède, 1867

Fig. 74. Aspecto da região ventral de Licnophora sp. ao Protargol mostrando o amplo peristoma, sistema fibrilar da ZAM e disco adesivo (1.500X).

Fig. 75. Vista geral do disco adesivo e do peristoma de Licnophora sp. (Protargol). Notar as cinécias do disco basal (flecha) (1.500X).

Fig. 76. Aspecto geral do macronúcleo de Licnophora sp. através da reação nuclear de Feulgen, 1926. (1.500X).

ZAM- Zona adoral de membranelas; FB- fibrila basal;
IF- infundibulum; CLL- cílios laterais; DA- disco adesivo; PS-pescoço; MOB-membranela ondulante basal;
PE-peristoma; MA-macronúcleo.

7. Euplotes balteatus (Dujardin, 1841)

Ploesconia balteata Dujardin, 1841.

7.1. Morfologia Geral

E. balteatus vive juntamente com P. circumlabens no aparelho digestivo do ouriço-do-mar, L. variegatus. Tem a forma do corpo elíptica-arredondada e achatada dorso-ventralmente (figs. 77b, 78 e 82).

A face ventral é, nitidamente, plana e a dorsal levemente abaulada.

Visto ao Chatton-Lwoff, E. balteatus mostra tanto na região dorsal quanto na ventral uma formação esquelética, sub-pelicular, constituída de numerosas placas (figs. 77c, d; 79, 80). A maioria das placas, localizadas dorsalmente, tem um aspecto pentagonal e estão dispostas regularmente em sentido longitudinal. As placas ventrais são mais numerosas, mas sem forma e tamanhos definidos. Em determinados setores, da região ventral, entre algumas placas esqueléticas, encontramos placas de diferentes cirros (figs. 77c; 80). Na face dorsal, as cinécias somáticas, são em número de seis fileiras. Os cinetosomas de cada fileira, dispõem-se, quase sempre, entre duas placas adjacentes (figs. 77d, 79).

Ao SEM, a maioria das cinécias dorsais apresentam escassas cerdas deixando a região quase nua.

A superfície ventral apresenta um estreito peristoma, em forma de fenda, contornando o bordo esquerdo e anterior do ciliado (figs. 77b, c; 78, 82, 84 e 85).

Da parte anterior, no fundo da fenda peristomiana, partem numerosas membranelas em direção ao citofaringe. Estas,

em conjunto, formam a zona adoral de membranelas (Z.A.M.), (figs. 77b, 78, 82, 83, 84 e 85).

A ciliatura paraoral aparece, claramente, na parte posterior da fenda peristomiana (figs. 77b; 78; 82 e 85).

O lábio peristomiano é quase retilíneo e pouco saliente (figs. 77b, c).

A ciliatura somática ventral é constituída de 19 cirros que afloram de longos sulcos (figs. 82, 84, 85 e 86). Os cirros Fronto-ventrais, em número de 9, ocupam a metade anterior do corpo. Os cirros transversos, marginais e caudais, em número de 5, 2 e 3, respectivamente, estão dispostos na metade posterior do corpo. Os cirros transversos estão alinhados quase obliquamente. Os marginais em sentido vertical, abaixo do peristoma. Dois caudais localizam-se, lado a lado, posteriormente. O terceiro caudal localiza-se acima do último cirro transverso.

Das bases dos cirros originam-se longos feixes de fibras infracitoplasmáticas, do tipo nemadesma. Os feixes de fibras que partem dos cirros transversos são, nitidamente, os mais longos (figs. 77b, 78).

O macronúcleo é, tipicamente, em forma de C. O micronúcleo localiza-se numa pequena reentrância da curvatura dorsal e anterior do macronúcleo (figs. 77a, 81).

7.2. Discussão

E. balteatus é um ciliado cosmopolita de vida livre , mas com ampla capacidade de adaptação como endocomensal principalmente em ouriços-do-mar.

Powers (1933a) encontrou no aparelho digestivo de Strongylocentrotus drobachiensis um membro do gênero Euplotes de dimensões semelhantes as do E. balteatus. Fez, então, um importante comentário sobre a relação destes ciliados com as formas de vida livre e acrescentou que os Euplotes podem estar presentes no conteúdo intestinal do ouriço-do-mar como oportunistas ou "vagabundos errantes". Após serem engolidos com o alimento são capazes de sobreviver no canal entérico, fazendo um papel de alimentadores de matéria orgânica ou de comensal.

Powers (1933) e Kattar (1970) defenderam a hipótese de que determinadas espécies de ciliados podem estar associadas , acidentalmente, a outros animais.

Beers (1954) encontrou duas espécies de ciliados em associação com o ouriço-do-mar S. drobachienses. Um destes ciliados E. balteatus, foi encontrado, também, com frequência , na região, como um organismo de vida livre, confirmando as observações de Powers (1933). Acrescentou que E. balteatus é um comensal facultativo no processo de obtenção de hábito endozoóico.

Tuffrau (1959) encontrou formas livres de E. balteatus nas águas marinhas de Concarneau, França, e os manteve em culturas. Quando bactérias eram colocadas como alimento, os Ciliados dividiam-se isotomicamente originando células pequenas

de 30 a 50µm. Em presença de ciliados menores do gênero Philaster, os Euplotes dividiam-se anisotomicamente gerando células agigantadas de até 150µm. Concluiu que as variações de tamanho e de estrutura que caracterizavam o polimorfismo de E. balteatus resultava de um processo anisotômico e vinculado à alimentação.

Beers (1961), após exame de numerosos espécimes do ouriço-do-mar S. drobachiensis da Baía de Frenchman em Mt. Desert Island, Maine, em diferentes datas 1948 e 1954, concluiu que, há quase trinta anos, a incidência de E. balteatus tornou-se decididamente maior em S. drobachiensis, após as observações de Powers (1933). Este ciliado estaria agora em processo de adaptação à vida endocomensal.

Tuffrau (1964), além de repetir os experimentos que fez em 1959, contestou as comparações feitas por Beers (1954) entre os cirros fronto-ventrais do E. balteatus que encontrou no intestino de S. drobachiensis com os desenhos do E. balteatus de Kahl (1932).

As nossas observações são bem semelhantes à de Kahl (1932). Acreditamos que o E. balteatus encontrado por Beers e aqueles encontrados por Tuffrau, nas águas de Concarneau, diferem na distribuição dos cirros e na disposição, principalmente, das placas ventrais do E. balteatus, encontrado por nós no ouriço-do-mar Lytechinus variegatus.

Vários L. variegatus já foram examinados em diferentes regiões do mundo e a associação do E. balteatus com este ouriço-do-mar foi vista primeiramente por Neto, Santa Rosa e Ve

ga (1985). Encontramos E. balteatus juntamente com P. circumlabens no aparelho digestivo deste hospedeiro. A quantidade de Euplotes observada era, geralmente, bem maior que a do Heterotrichida. Ao contrário dos P. circumlabens, os Euplotes eram, facilmente, mantidos em laboratórios por vários dias.

É interessante notar que como em P. circumlabens, estes ciliados, foram vistos como inquilinos apenas em L. variegatus, o qual é comumente encontrada na mesma região com outras espécies. Não sabemos o motivo de tal preferência ou se se trataria de mera casualidade.

Segundo Tuffrau, Pyne & Haller (1968) na base de cada cirro os cinetosomas são agrupados em uma placa basal (figs. 77c, 80).

Puytorac, Grain & Santa Rosa (1976), através de um estudo ultraestrutural de Stylonychia mytilus Ehrbg., 1838, elucidaram a natureza ultraestrutural dos cirros: eles são envolvidos por uma muralha de material fibroso e denso da qual derivam importantes nemadesmas. Dois ou três destes, dirigem-se para a parte posterior do animal e um mais longo dirige-se para a região anterior.

Os mesmos autores descreveram, ainda, que em S. mytilus a paraoral é dupla e usaram uma nova terminologia denominando-a de diplosticomonada. No nosso caso resta a precisar a natureza simples ou dupla da paraoral.

77 ABCD

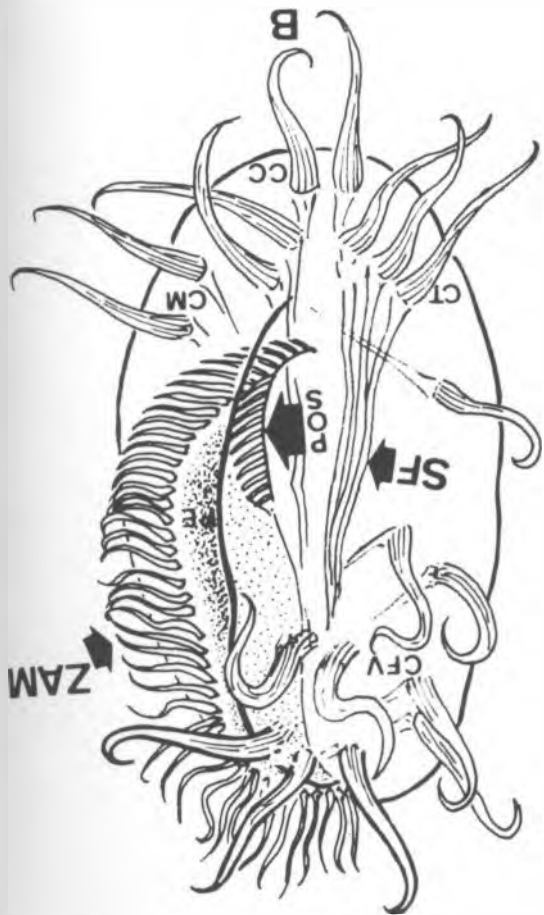
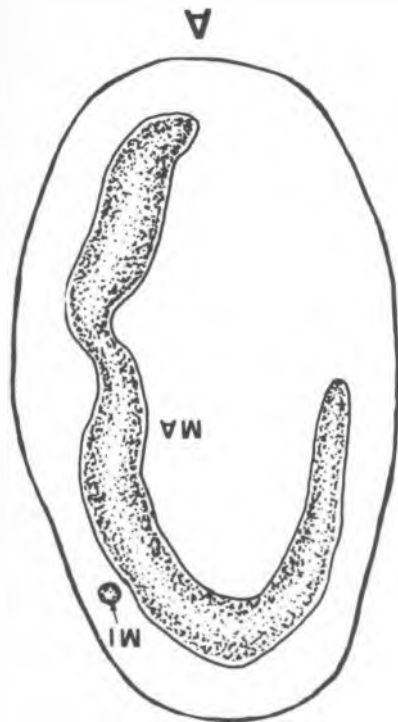
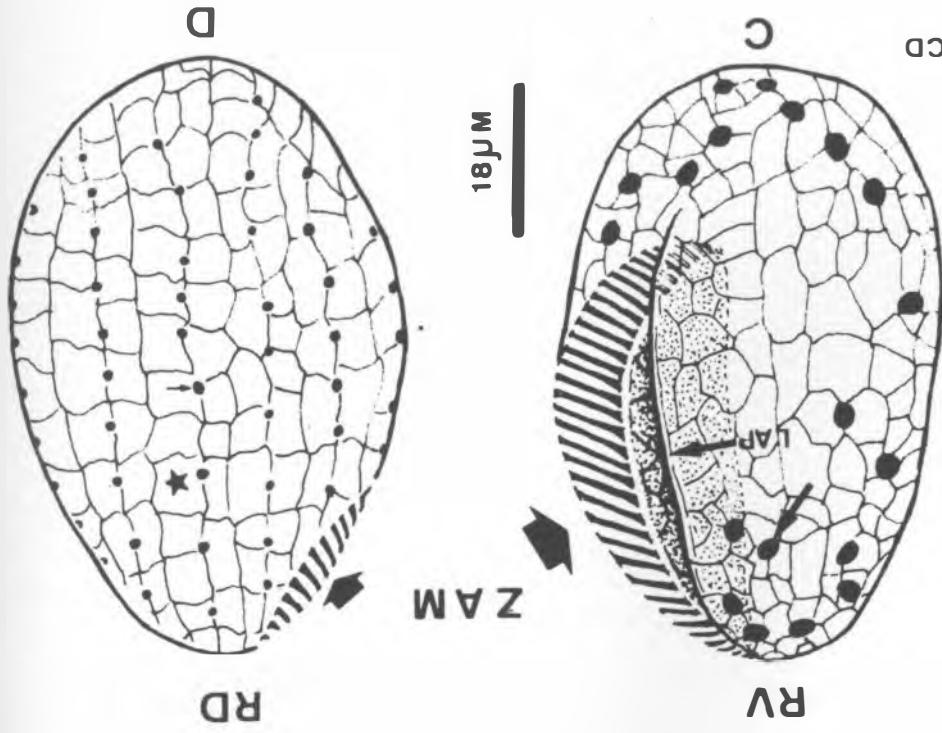


Fig. 77. ABCD - Desenho esquemático de Euplotes balteatus (Dujardin, 1841).

A - aparelho nuclear, visto pela região ventral, através da reação nuclear de Feulgen; B - face ventral; C e D - face ventral e dorsal.

ZAM - Zona adoral de membranelas; SF - sistema fibrilar; POS - paraorais; CT - cirros transversos; CM - cirros marginais; CC - cirros caudais; * - placa dorsal; flecha pequena (D) - cinetossoma; LAP - lábio peristomiano; flecha (C) - placa basal de um cirro frontoventral.

80

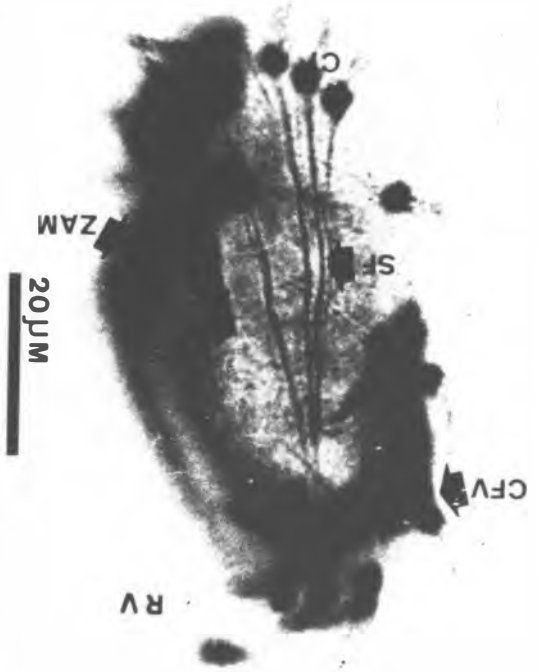
20 μm



RV

78

20 μm



RV

CFV

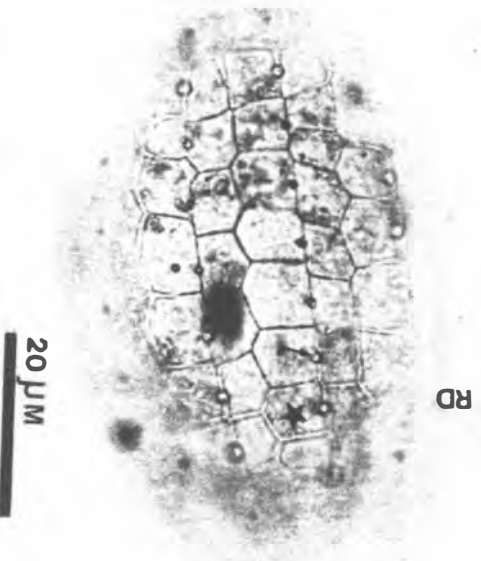
SF

ZAM

C

79

20 μm



RD

81

19 μm



MA

MA

Fig. 78. Impregnação ao proteinato de Prata de E. balteatus mostrando a face ventral onde sobressaem a implantação dos cirros fronto-ventrais (CFV), bucais (CB) e transversos (CT) com seus derivados microfibrilares (SF); Pos-Paraorais; ZAM- zona adoral de membranelas. (1200 x).

Obs: desconsiderar a abreviatura SEH.

Fig. 79 e 80. Preparação segundo Chatton-Lwoff de E. balteatus, mostrando o argiroma das faces dorsal e ventral notar as placas (*), orifícios das cerdas (flecha menor) e uma placa basal de um cirro (flecha maior) (1.200X).

Fig. 81. Reação nuclear de Feulgen mostrando o macro (MA) e micronúcleo (flecha) de E. balteatus (560X).

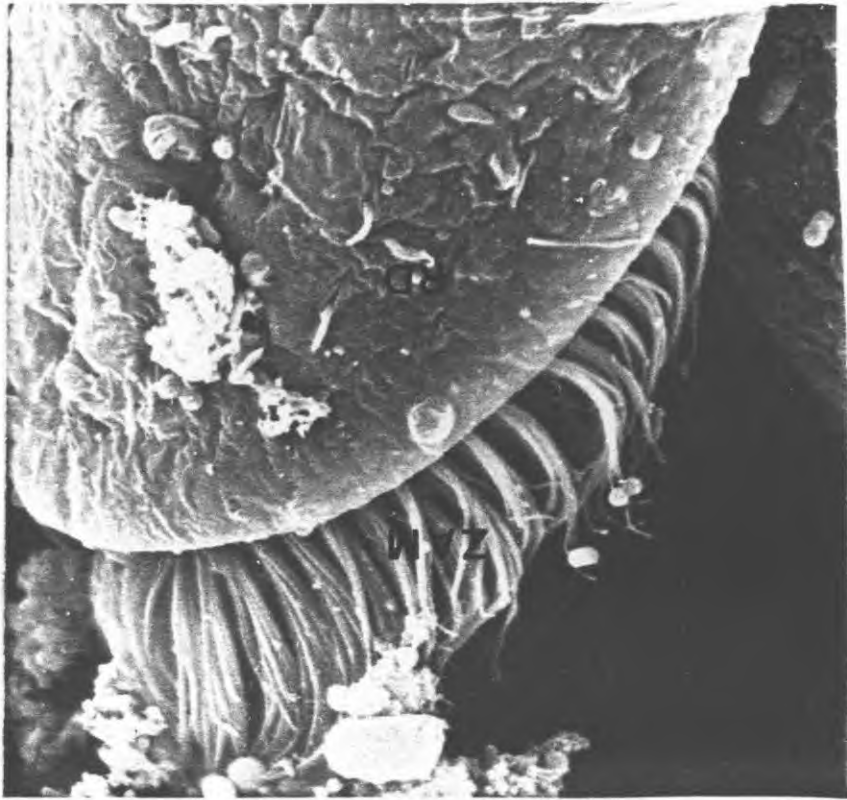


Fig. 82. Microeletronografia de varredura mostrando dois E. balteatus, a esquerda, em vista dorsal, e a direita, um congêneres voltado, ventralmente, para o observador. Notar as cerdas dorsais (flecha) (1.300X).

Fig. 83. Aspecto antero-dorsal ao SEM onde se notam algumas cerdas dorsais e algumas membranelas da ZAM (3.800X).

RD - região dorsal; RV - região ventral;

ZAM - zona adoral de membranelas; POS - paraorais



Fig. 84. Vista ventral ao SEM de E. balteatus, mostrando os cirros, o peristoma e a zona adoral de membranelas (ZAM). (1.700X).

Fig. 85. Aspecto ventro-anterior mostrando os cirros fronto-ventrais (CFV), ZAM; Paraorais (POS). (flecha) (implantação de um cirro fronto-ventral). (2.900X).

Fig. 86. Aspecto ventro-posterior em microscopia de varredura onde se vê detalhes dos cirros transversos (CT), cirros marginais (CM) e cirros caudais (CC), implantados em sulcos longitudinais; detalhe interno (DI). (3.800X).

Tabela I - Listagem dos hospedeiros dos ciliados comensais e seus respectivos locais de ocorrências.

	Praia do Forno (Arraial do Cabo - RJ)	Praia da Urca	Praia do Recreio dos Bandeirantes	Praia * (I. do Fundão)	Mangue de Coroa Grande (Município de Itaguaí)	Praia do Abraão (Ilha Grande)	Angra dos Reis
<i>Strobilidium brasiliense</i> Lima, 1903.	+	+	+	-	-	+	-
<i>Strobilidium caissarum</i> Lima, 1904.	+	+	+	-	-	+	+
<i>Strobilidium flocculiferum</i> Lima, 1917.	-	-	-	-	-	+	-
<i>Strobilidium brasiliana</i> Lima, 1911.	-	-	-	+	+	-	-
<i>Strobilidium ferrei</i> Lima, 1920.	-	-	-	-	+	-	-
<i>Strobilidium stelliferum</i> Lima, 1933.	-	+	+	-	-	-	-
<i>Strobilidium tenuispina</i> Lima, 1916).	+	-	-	-	-	+	-
<i>Strobilidium araxus brasiliensis</i> Lima & Probst, 1942.	-	+	-	-	-	-	-
<i>Strobilidium brasiliensis</i> Lima & Probst, 1942.	+	+	-	-	-	+	+
<i>Strobilidium caissarum</i> Lima, 1904.	+	-	-	-	-	+	+
<i>Strobilidium variegatum</i> Lima, 1916) & Probst, 1942.	+	+	+	-	-	+	+

*Praia localizada entre a Ponta do Baiacu e a ponte que liga a Ilha do Fundão com a Ilha do Governador.

Tabela II - Relação dos ciliados comensais seguido da classificação, hospedeiros e tipos de associações.

Ciliados comensais	Classificação	Hospedeiros	Tipos de associações
1) <u>Foettingeria actiniarum</u>	Apostomatida	<u>Anemonia sargassensis</u> <u>Phylactis flosculifera</u> <u>Bunodosoma caissarum</u>	Endocomensal
2) Haplofiriidae (?)	Astomatida	<u>Anomalocardia brasiliiana</u>	
3) <u>Trichodina</u> sp	Peritrichida	<u>Enoplopatiria stellifera</u>	Ectocomensais
4) <u>Licnonhora</u> sp.		<u>Echinaster brasiliensis</u> <u>Coscinasterias tenuispina</u> <u>Astropecten armatus brasiliensis</u> <u>Linckia quildingii</u>	
5) <u>Metanycthoterus rancureli</u>	Heterotrichida	<u>Neoterodo reynei</u>	
6) <u>Parametonus circumlabens</u>		<u>Lytechinus variegatus</u>	Endocomensais
7) <u>Euplotes balteatus</u>	Hipotrichida		

RESULTADOS

Associadas aos invertebrados marinhos coletados no litoral do Estado do Rio de Janeiro, encontramos quatro espécies de ciliados endocomensais e três espécies ectocomensais. Os sete comensais estão distribuídos em cinco grupos diferentes (vide Tabelas I e II).

Dentre os onze hospedeiros encontrados, dez consideramos novos.

Somente eram conhecidos os hospedeiros de M. rancureli e P. circumlabens.

Quanto aos ciliados Trichodina sp. e Haplofriidae (?) - Astomatida, acreditamos tratarem-se de espécies novas.

Os estudos estruturais, feitos, basicamente, com as técnicas de impregnação pela Prata, abrangeram todas as sete espécies encontradas. Foram selecionados para os estudos ultraestruturais, ao SEM, F. actiniarum, P. circumlabens e E. balteatus. Para as observações ao TEM incluímos somente P. circumlabens. Os resultados dos estudos estruturais e ultraestruturais são citados no item "descrições e discussões dos ciliados".

Encontramos associados, em alguns hospedeiros, além dos ciliados, outros animais e mesmo outros ciliados menos frequentes. Na cavidade gastrovascular das anêmonas-do-mar, além dos Foettingeria encontramos muitos vermes provavelmente cestódeos. O bivalve Anomalocardia brasiliana albergava, com frequência, em sua cavidade paleal, numeros copépodos e com menor

frequência, o ciliado Boveria sp.

O molusco Neoteredo reynei hospedava também, alguns Boveria sp., cujo estudo, omitimos deliberadamente para não extender demais nosso trabalho. No intestino do ouriço-do-mar Lytechinus variegatus, aparecia esporadicamente, pequenos os tracodas.

CONCLUSÕES

Com o presente trabalho pudemos verificar, que diversos invertebrados parecem fornecer um adequado habitat nutricional, para numerosos ciliados comensais.

Através da ajuda das diferentes técnicas, empregadas para microscopia de luz e eletrônica, obtivemos ótimos resultados morfológicos dos ciliados encontrados.

Para concluir este trabalho precisamos de um longo e exaustivo treinamento nos processos de triagem e desenvolvimento das técnicas utilizadas.

Dentre os ciliados identificados encontramos formas ectocomensais e endocomensais. É muito difícil de afirmar se estes ciliados causam danos aos seus hospedeiros. Porém não excluimos a possibilidade de algum destes inquilinos serem parasitas. Observamos que as espécies de hábitos epibionte utilizam, sempre, uma parte do corpo, geralmente posterior, para fixação sobre o hospedeiro. Esta parte do corpo pode ser um disco adesivo ou uma zona tigmotátil. Existem ciliados que indiretamente podem causar danos ao seu hospedeiro, quando presentes em número excessivo e pelo modo com que estes inquilinos se fixam sobre ele (Lom, 1973).

Após uma revisão da literatura verificamos que todos os ciliados que encontramos eram totalmente desconhecidos em nossa região. Além disso, nenhum destes ciliados foram, até agora, objeto de estudos ultraestruturais. Acrescentamos ainda, que duas das fânulas encontradas consideramos como ainda não descritas.

Com o progresso de nossos estudos conseguimos ampliar as informações de ocorrências de novos inquilinos.

Além de contribuir com diferentes relatos estruturais, fornecemos importantes informações sobre as relações hóspede-hospedeiro. Com isso, auxiliamos, enormemente, na extensão dos conhecimentos da protozoologia no Brasil e contribuimos para os conhecimentos da citologia estrutural e ultraestrutural.

Pretendemos num futuro próximo completar os estudos ultraestruturais e posteriormente, ampliar nossas informações com um estudo citoquímico.

BIBLIOGRAFIA

- ALBARET, J.L. 1970 - Observations sur les Nyctotheres des genres Nyctotherus Leidy et Metanyctotherus N. gen., Cilies Heterotriches parasites de Myriapodes africains. Protistologica. 6(2) p. 225-239.
- ANDRÉ, E. 1910 - Sur quelques infusoires marins parasites et commensaux. Rev. Suisse Zool., 18: 173-187.
- BALAMUTH, W. 1941 - Studies on the organization of ciliate Protozoa I. Microscopia anatomy of Licnophora macfarlandi. J. Morph. 68: 241-275.
- BALAMUTH, W. 1942 - Studies on the organization of Protozoa. II. Reorganization processes in Licnophora macfarlandi during binary fission and regeneration. J. exp. Zool. 91: 15-44.
- BALL H.G.; MOEBIUS E.R. 1955 - A Foettingeriidae (apostoma) from the sea anemone Anthopleura xanthogrammica. J. Protozool. 2 (4), pg 2 Abstr.
- BEERS, C.D. 1948 - The ciliates of Strongylocentrotus drobachiensis: incidence, distribution in the host, and division. Biol. Bull. 94: 99-112.

- BEERS, C.D. 1954 - Plagiophyla minuta and Euplotes balteatus ciliates of the sea-urchin Strongylocentrotus drobachiensis. J. Protozool. 1: 86-92.
- BEERS, C.D. 1961 - Is the ciliate Euplotes balteatus adapting to commensal life in the sea-urchin Strongylocentrotus drobachiensis. J. Parasitol. 47: 487.
- BERGER, J. 1960c - The entocommensal ciliate fauna of Strongylocentrotus spp. from the north-east Pacific. J. Protozool. 7 (suppl.): 17.
- BERGER, J. 1961 - Additional records of entocommensal ciliates from nearctic echinoids. (Abst), J. Protozool., (Suppl.), 14.
- BERGER, J. 1964. Entocommensal ciliates from Oceanic echinoids (Abstr.). J. Protozool. 11 (suppl.): 28-29.
- BERGER, J. 1965 - The infraciliary morphology of Euplotes tuffrani n. sp., a commensal in Strongylocentrotid echinoids, with comments on echinophilous populations of Euplotes balteatus (Dujardin) Ciliata: Hypotrichida. Protistologica. 1, 17-31.
- BERGER, J. 1968 - The infraciliary morphology of the echinophilous species of Metopus (Ciliata: Heterotrichida), (Abst). J. Protozool., 15 (suppl.).
- BERGER, J. & PROFANT, R.J. 1961 - The entocommensal ciliate fauna of the pink sea urchin, Allocentrotus fragilis. J. Parasitol., 47: 417-418.

- BIGGAR, R.B. & WENRICH, D.H. 1932 - Studies on ciliates from Bermuda sea urchins (introduction and notes by D.H. Wenrich). Jour. Parasit. 18: 252-257.
- BRADBURY, P. 1974 - Stored membranes associated with feeding in apostome trophozoites with different diets. Protistologica. T. X, 4: 533-542.
- CAULLERY, M. & MESNIL, F. 1903 - Sur la structure d'un infusoire parasite des actines. (Foettingeria n.g. actiniarum, Plagiotoma actiniarum Clap.). C.R.Soc.Bio. 55: 806-8.
- CHATTON, E. & LWOFF, A. 1927 - Le cycle évolutif de l'infusoire Foettingeria actiniarum. Nécessité d'un second hôte crustacé. C.R.Acad.Sc. 185: 675.
- CHATTON, E. & LWOFF, A. 1930 - Impregnation, par diffusion argentique de l'infraciliatura des ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. C. R. Soc. Biol. 104: 834-836.
- CHATTON, E. & LWOFF, A. 1935 - Les ciliés apostomes. I. Morphologie, cytologie, éthologie, évolution, systématique. Première partie. Aperçu historique et général. Étude monographique des genres et des espèces. Arch. Zool. Exp. Gén. 77: 1-453.
- CLAPARÈDE, E. 1863 - Plagiotoma actiniarum. Beob. Anat. D. Wirbellosen Tiere., Leipzig, 2.

- COIRO, J.R.R.; WEIGL, D.R.; KISIELIUS, J.; MENEZES, H. and BILLOTA, J.A.T. 1972 - A new embedding medium (Polylite 8001) for biological material. Ciência e Cultura, vol. 24 (7).
- CORLISS, J.O. 1979 - The ciliated Protozoa: Characterization classification and guide to the literature. Pergamon Press. N.Y. pp. 1-455.
- CUNHA, A.M. & PENIDO, J.C. 1926 - Nouveau protozoaire parasite des poissons: Zelleriella piscicola n. sp. C.R. Soc. Biol. 95: 1003.
- CUNHA, A.M. & PINTO, C. 1928 - Trichodina fariai n. sp. cilié peritriche endoparasite de Poisson marin. C.R. Soc. Biol. 98, (17): 1570-1574.
- DAVIS, H.S. 1947 - Studies on Protozoan parasites fresh-water fishes. U.S. Fisch. Wildl. Serv. Bull., 41: 1-29.
- DRAGESCO, J. 1968 - Metopus jankowskii n. sp., Sonderia sinuata Kahl et Discocefalus minimus n. sp., Ciliés nouveaux ou mal connus. Ann. Fac. Sci. Cameroun, 1: 77-88.
- DRAGESCO, J. & DRAGESCO-KERNÉIS, A. 1986 - Ciliés libres de L'Afrique intertropicale. L'Orstom. Paris. 559 pp.
- DOGEL, V.A. 1940 - On the classification of the genus Trichodina Trudy Len. Obsh. Iestiestvoispitatielei, 68: 8-31.

- DUJARDIN, F. 1841 - Histoire naturelle des Zoophites infusoires
comprenant la physiologie et la classification de ces
animaux. Paris, De Roret, 684 pp.
- FAVARD, P., CARASSO, N. & FAURÉ-FREMIET, E. 1963 - Ultraes-
tructure de l'appareil adhésif des urcéolaires (Ciliés
péritriches). J. Microsc. (Paris), 2: 337-368.
- FAURÉ-FREMIET, E. 1937 - Licnophora lyngbycola, a new species
of infusorian from woods Hole. Biol. Bull., 72: 212-216.
- FAURÉ-FREMIET, E. 1943 - Étude biométrique de quelques Tri-
chodines. Bull. Soc. Zool. France, 68: 158-169.
- FAURÉ-FREMIET, E. & THAUREAUX, J. 1944 - Protéines de struc-
ture e cytoesquelette chez les urcéolaires. Bull. Bioll. Fr.
Belg., 78: 143-156.
- FEULGEN, R. 1926 - Die Nuclealfarburg abderharden's. Haudb.
Biol. Arbests - meth Abt, 5(2): 1055.
- GRAIN, J. 1969 - Le cinétosome et ses dérivés chez les ciliés.
Ann. Biol. T. VIII, fasc. 1-2, p. 53-97.
- GROLIÈRE, C.A.; PUYTORAC, P. de & GRAIN, J. 1980 - Observations
de quelques espèces de ciliés endocommensaux d'Echinides du
golfe du Mexique et de la mer des antilles. Protistologica,
T. XVI, 2: 233-239.

- HATZIDIMITRIOU, G. & BERGER, J. 1977 - Morphology and morphogenesis of Ancistrum mytili (scuticociliátidas: Thigmotrichidina), a commensal ciliate of Mytilid of pelecypods. Protistologica, T. XIII, 4: 477-495.
- HAUSMANN, K. & HAUSMANN, E. 1981 - Structural studies on Trichodina pediculus (Ciliophora, Peritricha) I - The locomotor Fringe and the Oral apparatus. J. Ultrastruct. Res., 74: 131-143.
- HAUSMANN, K. & HAUSMANN, E. 1981b - Structural studies on Trichodina pediculus (Ciliophora Peritricha). II - The Adhesive Disc. J. Ultrastruct. Res., 74: 144-155.
- JOURDAN, 1888 - Les zoanthaires du Golge de Marseille. Ann. Sc. Nat. Zool., 6^a sér., T. X, p. 77.
- KAPLAN, H.M. 1969 - Anaesthesia in invertebrates. Feel. Proc. Fed. Amerc. Soc. Exp. Biol., 28: 1557-1569.
- KATTAR, M.R. 1970 - Estudo dos Protozoários Ciliados psamófilos do litoral brasileiro. Bol. Zool. Biol. Mar. São Paulo, N.S. 27: 123-206.
- KATTAR, M.R. 1982 - Protozoários endocomensais de ouriços-do-mar do Brasil. Rev. Nortest. Biol., 5(2): 157-165.
- KLEIN, B.M. 1958 - The "dry" Silver Method and its proper use. J. Protozool., 5: 99-103.
- LAVAL, M. & TUFFRAU, M. 1973 - Les ciliés endocommensaux d'un

- taret de côte d'Ivoire, Teredo adami, mollusque Teredini-
dae I - Infraciliature et Polymorphisme de metanyctothe-
rus rancureli, sp. nov. (Hétérotriche). Protistologica ,
T. IX. 1: 149-157.
- LOM, J. 1964 - The morphology and morphogenesis of the buccal
ciliary organelles in some Peritrichous ciliates. Arch.
Protistenk., 107: 131-162.
- LOM, J. 1973 - The adhesive disc of Trichodinella epizootica
ultrastructure and injury to the host tissue. Folia Para-
sitologica (PRAHA), 20: 193-202.
- MASLIN-LENY, Y. 1983 - Les Trichodines (Ciliés, Peritriches ,
Urceolariidae) épibionte des Poissons des lagunes du sud
Bénin: Cytologie, Ecologie, Ecophysiologie. Thèse 3 cy-
cle, Université Lyon I, 123 p.
- MASLIN-LENY, Y. & BOHATIER, J. 1984 - Cytologie ultrastructu-
rale de Trichodina et Tripartiella (Ciliés Péritriches) .
Protistologica, T. XX, 1: 113-132.
- MORGAN DE, 1924 - Foettingeria actiniarum (parasitic in Ane-
mones). Quart. Jal. O. Microsc. Sc., 68: 343.
- NETO, I.D. da S.; SANTA ROSA, M.R. de; VEIGA, F.V. da 1985a-
Observações estruturais e ultraestruturais de Euplotes
balteatus (Dujardin, 1842), ciliado endocomensal de Ly-
techinus variegatus. I Reunião da Sociedade Brasileira de
Protozoologia, Vol. I: 09 Comunicação PZ-04.

NETO, I.D. da S.; SANTA ROSA, M.R. de; VEIGA, V.F. da. 1985b- Aspectos morfológicos de Trichodina sp., ciliado Peritricha epibionte de Enoplopatiria stellifera. I Reunião da Sociedade Brasileira de Protozoologia, Vol. I: 08 Comunicação PZ-03.

NETO, I.D. da S.; SANTA ROSA, M.R. de; VEIGA, V.F. 1986 - Estudo estrutural do Apostomátideo Foettingeria actiniarum (Claparède 1863) ciliado endocomensal de anêmonas-do-mar. V Congresso Brasileiro de Biologia Celular - UFRJ.

PANTIN, C.F.A. 1948 - Notes on Microscopical Techniques for Zoologists. 77 pp. Cambridge University Press.

PAULIN, J.J. 1967 - The fine structure of Nyctotherus cordiformis (Ehrenberg). J. Protozool., 14(2): 183-196.

PHILLIPS, P.J. 1973 - Protozoan symbionts from the anemone Bunodosoma cavernata from Galveston Island, Texas. Gulf Res. Rpts., 4: 186-190.

POWERS, J. 1935 - Studies on the ciliates of sea urchins. A general survey of the infestations occurring in Tortugas echinoids. Papers from Tortugas Labor, Carnegie Inst. Wash., 29: 293-326.

PUYTORAC, P. de 1954 - Contribution à l'étude cytologique et taxonomique des infusoires astomes. Ann. Sci. Nat. Zool. (série 11), 16: 85-270.

- 1957a - L'infra-ciliature de quelques ciliés Haptophryidae. Comparaison avec celle de certains thigmotriches. Compt. Rend. Acad. Sci., 244: 1962-1965.
- 1957b - Nouvelles données sur les ciliés Hoplitophryidae. I. Nécessité d'une mise au point de la classification. Arch. Zool. Exp. Gén., 94 (Notas et Rev.): 89-120.
- 1959b - Observations sur quelques ciliés astomes des oligochètes du Lac d'Ohrid (Yougoslavie). I. Famille des Radiophryinae. J. Protozool., 6: 157-166.
- 1959c - Nouvelles observations sur l'argyrome des ciliés astomes, par l'emploi du microscope électronique. Compt. Rend. Assoc. Anat., 46th Reunion Montpellier, March 1959, pp. 675-679.
- 1969a - Particularités ultrastructurales (squelettiques et nucléaires) du cilié astome: Steinella uncinata C. Compt. Rend. Soc. Biol., 163: 2311-2313.
- 1972a - Les ciliés astomes Hoplitophryidae. II. Revision de la systematique de ce groupe. Protistologica, 8: 5-42.
- PUYTORAC, P. de; GRAIN, J. & SANTA ROSA, M.R. 1976 - A propos de l'ultrastructure corticale du cilié Hypotriche Stylonychia mytilus Ehrbg., 1838: Les caractéristiques du cortex buccal adoral et paraoral des polyhymenophora jankowski, 1967. Trans. Amer. Micros. Soc., 95(3): 327-345.
- RAABE, Z. & RAABE, Z. 1958 - Trichodina pediculus (O. F. Muller, 1786) Ehrenberg, 1838 et Trichodina domerguei (Wallengren, 1897). Acta Parasit. Polon., 7: 189-202.

1959. Urceolariidae of molluscs of the Baltic Sea. Acta Parasit. Polon., 7: 453-465.
- RAABE, Z. 1963 - Systematics of the family Urceolariidae. Du jardin 1841. Acta Protozool., 1: 121-138.
- REYNOLDS, E.S. 1963 - The use of the lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17: 208-212.
- SANTA ROSA, M.R. de; SILVA NETO, I.D. da & VEIGA, V.F. da. 1985 - Aspectos ultraestruturais de Parametopus circula-bens (Biggar & Wenrich, 1932), ciliado Heterotrichida. X Colóquio da Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica - São Paulo - p. 7
- SANTA ROSA, M.R. de; SILVA NETO, I.D. da & VEIGA, V.F. da. 1986 - Aspectos estruturais e ultraestruturais de um Astomatídeo (Ciliophora-Hypostomata), Atípico, comensal de Anomalocardia brasiliana Gmelin, 1791, molusco bivalve. V Congresso Brasileiro de Biologia Celular-UFRJ.
- STEVENS, N.M. 1901 - Studies on ciliate infusoria. Proc. Calif. Acad. Sci., Ser. 3, Zool., 3: 1-42.
- 1904 - Further studies on the ciliate infusoria, Licnophora and Boveria. Arch. Protistenk., 3: 1-43.
- TUFFRAU, M. 1959 - Polymorphisme par anistomie chez le cilié Euplotes balteatus (Dujardin). C. R. Acad. Sci., 248:3055-7.
- 1964 - Quelques variantes techniques de l'impregnation des ciliés par le Protéinate d'argent. Arch. Zool. Exp., 104: 186-190.

1967. Perfectionnement et pratique de la technique d'im-
pregnation au Protargol des Infusoires Ciliés. Protistolo-
gica, 3(1): 91-98.
- TUFFRAU, M.; PYNE, K.C. & HALLER, G. 1968 - Organization de
l'infraciliature chez quelques ciliés Hypotriches. Pro-
tistologica. T. IV, 2: 289-307-
- URDANETA-MORALES, S. & TENGLER DE MCLURE, M. 1966 - The en-
docommensal ciliates of Venezuelan sea urchins. J. Pro-
tozool., 13: 5-8.
- UYEMURA, M. 1933 - On two ciliates: Entorpidium tenue and
Metopus circumlabens. J. Nat. Hist. Soc. Tokio, 31: 5.
- UZMANN, J.R. & STICKNEY, A.P. 1954 - Trichodina myicola n.
sp., a paritrichous ciliate from the marine bivalve
Mya arenaria L. J. Protozool., 1: 149-155.
- VILLENEUVE-BRACHON, S. 1940 - Recherches sur les ciliés hé-
térotriches cinétome, argyrome, myonèmes, formes nou-
velles ou peu connues. Arch. Zool. Exp. Gén., 82: 1-180.
- WELCH, M.P. 1977 - The apostome Foettingeria and other ci-
liate symbionts from the sea anemone Bunodosoma cavernata
from Galveston Island, Texas. Trans. Amer. Microsc. Soc.,
96: 489-496.
- WESSENBERG, H. & ANTIPA, G.A. 1970 - Capture and ingestion of
Paramecium by Didinium nasutum. J. Protozool., 17: 250-270.