

CULTIVO DE CLADÓCEROS (CRUSTACEA: BRANCHIOPODA: CLADOCERA) ADULTOS, EM LABORATÓRIO PROVENIENTES DO LAGO TUPÉ, MANAUS – AM

Raize Castro MENDES¹
Assad José DARWICH²
Edinaldo Nelson dos Santos SILVA³

¹Bolsista PIBIC/FAPEAM; ²Orientador INPA; ³Co-orientador

INTRODUÇÃO

Os Cladoceros são microcrustáceos da classe Branchiopoda, possuem tamanho entre 0,2 a 3,0 mm, e a cabeça e o corpo cobertos por uma dobra de cutícula, a qual se estende para trás e para baixo, a partir do lado dorsal da cabeça, constituindo uma carapaça bivalva (Wetzel 1983; Elmoor-Loureiro 1998; Edmondson 1976).

Podem ser encontrados em todos os tipos de água doce, mas geralmente os lagos, reservatórios e viveiros contêm uma densidade muito maior do que os rios (Sipaúba-tavares e Rocha 2001).

Em sistemas com um regime hidrológico com grandes variações, as condições ecológicas são muito complexas por causa da alternância entre fases terrestres e aquáticas (Wantzen 2006). Alguns autores consideram “wetlands” como ecótonos onde espécies aquáticas e terrestres se encontram (Hansen e Castri 1992; Naiman e Decamps 1990).

Gopal e Junk (2000) definem espécies de áreas alagáveis como “plantas, animais e micro-organismos que vivem em áreas alagáveis permanentemente ou periodicamente (incluindo migrantes de habitats adjacentes ou distantes), ou que dependem diretamente ou indiretamente desses habitats alagáveis, ou de outro organismo vivendo nessas áreas”. Áreas úmidas periodicamente alagáveis são ecossistemas caracterizados por uma pronunciada mudança entre fases aquáticas e terrestres. Eles recebem água de rios, lagos, chuva e águas subterrâneas. Conectividade com habitats aquáticos permanentes é de fundamental importância para a biodiversidade por causa da troca entre as espécies. Áreas alagáveis isoladas de outros corpos d'água permanentes terão menor riqueza de espécies ou ausência de muitas espécies (Junk e Wantzen 2006).

Dependendo do regime hidrológico local, a variação do nível da água varia em amplitude, duração, frequência, forma, ocorrência e previsibilidade. Mudanças de nível de poucos decímetros ou metros podem modificar consideravelmente o impacto da inundação e aumentar a diversidade de habitats. Processos hidromórficos podem modificar permanentemente a superfície desses ambientes, afeta a consistência e heterogeneidade dos sedimentos e, pela erosão e deposição de sedimentos (Junk *et al.* 1989).

Áreas alagáveis alojam um número de espécies unicamente adaptadas às mudanças entre as condições terrestres e aquáticas. Variações previsíveis do nível da água favorecem o aparecimento de adaptações. Por outro lado, mudanças permanentes nas condições ambientais requerem plasticidade morfológica e fisiológica, que são pré-requisitos para especiação e diversidade de espécies (West-Eberhard 1989; Henderson *et al.* 1998).

Espécies vivendo no ATTZ (Zona de Transição Aquático Terrestre) (Junk *et al.* 1989) precisam tolerar a alternância de alagamento e seca, ou mudar-se periodicamente para corpos d'água permanentes, ou habitats terrestres.

Macrófitas aquáticas e zooplâncton podem produzir sementes ou ovos que resistem à dessecação. Na Austrália 73 espécies de macrófitas e 67 de organismos zooplanctônicos, de áreas alagáveis, produzem formas de resistência e experimentos têm obtido formas ativas de sedimentos que permaneceram secos por longo tempo (Brock *et al.* 2003). Estas formas de resistência não eclodem todas de uma vez em um único ou mesmo em sucessivos eventos de alagamento e, portanto, são cruciais para a resiliência desses organismos e por conseguinte podem recolonizar sucessivamente estes ambientes.

Na Amazônia as áreas alagáveis correspondem a uma grande parte da região. Pouco se conhece sobre os organismos, principalmente os microcrustáceos, que vivem no ATTZ na sua fase aquática.

No lago Tupé foram encontradas 67 espécies que vivem no ATTZ, quer associadas à *Utricularia foliosa*, quer à serapilheira inundada (Ghidini 2011). Muitas dessas espécies são exclusivas desse ambiente e não são encontradas nas áreas permanentemente com água no lago. Mas estas espécies são encontradas a cada período que o ATTZ volta a ser aquático. Isto demonstra claramente que o ATTZ, que neste caso corresponde ao igapó, tem um papel fundamental na existência dessas espécies localmente e no papel que elas desempenham no sistema.

A ausência dessas espécies do ATTZ nas áreas permanentes levou a busca por possíveis explicações para seu sucesso no lago. Depois de algumas evidências (Couto *et al.* 2009; Ghidini 2011) a busca por formas de resistência destes organismos no sedimento se intensificou. Experimentos de eclosão foram feitos (Couto, dados não publicados), obteve-se 9 espécies, sendo duas delas do ATTZ e as outras planctônicas.

Em vista disso, neste trabalho propõem-se estabelecer uma metodologia confiável para manter vivos os organismos eclodidos, neste caso os cladóceros até que atinjam o estágio adulto, aumentando a resolução taxonômica do grupo e assim contribuir para ter um panorama mais aproximado da diversidade de organismos do lago Tupé, contribuindo também para demonstrar se a estratégia de produzir formas de resistência é a mais utilizada pelos organismos que vivem no ATTZ, em sua fase aquática.

MATERIAL E MÉTODOS

- Área de Estudo

O lago Tupé está localizado na margem esquerda do rio Negro, a Oeste de Manaus distante aproximadamente 25 km em linha reta do centro da cidade, a uma altitude média 20m a.n.m, dentro da Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé. Composto de cinco cursos d' água (igarapés), ligados ao rio Negro por um canal. Durante a seca o lago se mantém isolado do rio Negro e, durante a cheia ocorre a entrada de água deste rio de água preta.

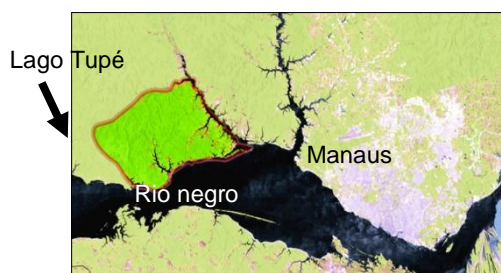


Figura 1. Localização do Lago tupé
Fonte: <http://biotupe.inpa.com.br>

- Amostragem

As amostras de sedimento foram coletadas no dia 24 de Outubro de 2012 no canal do igarapé chefe, e foi escolhido por que mesmo em época de seca fica constantemente inundado e também porque segundo Couto, (2013) estudando a comunidade ativa e dormente de Cladóceras, este igarapé foi o que apresentou uma grande quantidade de efípios.

Para obtenção do sedimento foi utilizado um coletor do tipo CORER de 60mm de diâmetro. Foram coletadas 10 amostras aleatoriamente, de cada uma delas utilizaram-se apenas quatro centímetros superficiais do sedimento, que foram homogeneizadas, formando uma única amostra. Esta amostra foi acondicionada em saco plástico escuro e levada ao laboratório de plâncton do INPA, onde está sendo mantida em uma sala escura à temperatura ambiente até o momento de seu processamento.

- Teste da Metodologia

Foram utilizados 5 aquários transparentes de PVC com área (15 cm de largura e 23 cm de comprimento), este permite que o sedimento se deposite em uma camada mais fina, garantindo que as formas dormentes sejam expostas igualmente aos estímulos necessários a eclosão. Foram pesados 20g do sedimento e colocado em cada aquário, em seguida, 400 ml de água destilada foram adicionadas a cada aquário, homogeneizados e levados à incubadora da marca ELETROLAB modelo EL202 com temperatura primeiramente 25 °C e posteriormente 33 °C, o fotoperíodo (12 horas claro e 12 horas escuro) foi controlado para cada experimento.

Os cinco aquários foram analisados todos os dias para verificar os organismos eclodidos neste período, estes foram separados e colocados em recipientes de 20 mL (figura 2), devidamente preparados para mantê-los até atingirem o estágio adulto.

Estes recipientes tem duas aberturas laterais onde foram coladas malhas de 40 µm. Os mesmos foram mantidos em aquários (figura 3) com água, suficiente para que fiquem totalmente submersos. O alimento (algas) para esses organismos foram adicionados na água desse aquário e a malha nas aberturas laterais permitiu que as partículas entrassem para os recipientes de 20 ml, propiciando assim condições para que os organismos se alimentassem adequadamente.

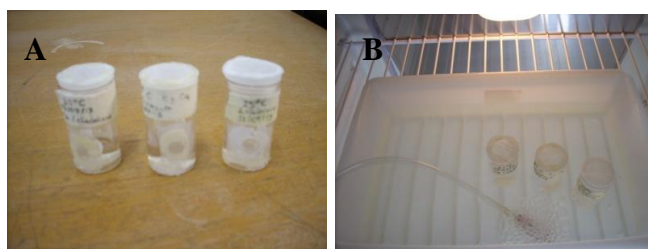


Figura 2. A. Recipiente de 20 mL; B. Aquário contendo os recipientes.

- Alimentação

O alimento foi obtido através de filtração, por uma malha de 20 µm, de água de um dos tanques da estação de piscicultura do INPA e oferecido todos os dias, após renovação da água dos aquários.

Os aquários foram mantidos em incubadoras com temperatura e fotoperíodo constantes e nas mesmas condições em que os experimentos de eclosão foram sendo realizados. Estes recipientes foram acompanhados todos os dias para monitorar quando os indivíduos atingissem o estágio adulto, ocasião em que seriam fixados para posterior identificação.

As identificações seriam feitas em nível de espécie. Para isso utilizou-se microscópio óptico, ajuda de especialistas do Laboratório de Plâncton e literatura especializada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Essa nova metodologia proporcionaria a facilidade de se cultivar cladocera e possivelmente outros organismos zooplânctônicos como rotífera e copepoda.

Oliveira e Santos-Silva (2012) e Oliveira e Santos-Silva (2013) conseguiu cultivar *Diaphanosoma spinulosum* pelo método de aclimação, onde os organismos foram colocados em béqueres com 600 mL de água filtrada do tanque de piscicultura e 400 mL de água destilada em temperatura ambiente, alimentados com algas provenientes dos tanques de piscicultura do INPA e do banco de microalgas do laboratório de plâncton deste mesmo instituto.

Prieto *et al.* 2006, também cultivou cladóceros em laboratório em aquários de vidro com uma capacidade de 20 L, alimentados com *Ankistrodesmus sp.*

Diferentemente do que ocorreu com esse experimento, pois testando essa metodologia verificou-se que os cladóceros eclodidos de ovos de resistência sobrevivem menos de 24 horas. Onde, nenhum cladocero conseguiu atingir o estágio adulto morrendo antes de se reproduzirem.

Não foi possível obter indivíduos adultos como o esperado, o que leva a uma série de questões e dúvidas, principalmente em relação a alimentação desses organismos. Neste experimento os indivíduos foram alimentados com algas provenientes do tanque de piscicultura do INPA-Campus III, algas provenientes do lago das tartarugas do INPA-Campus I e, também foram alimentados por duas espécies de algas (*Scenedesmus quadricauda* e *Ankistrodesmus gracilis*) do banco de algas do laboratório de plâncton do INPA.

Verificou-se que as espécies *Scenedesmus quadricauda*, *Pediastrum duplex* e *Ankistrodesmus gracilis* presentes nestes tanques e, segundo Hardy a Castro 2000, essas espécies são consideradas adequadas para alimentação de cladóceros.

Bandeira *et al.* (2013), testando a influência da temperatura na eclosão de formas dormentes do lago Tupé encontrou *Ceriodaphnia cornuta* que eclodiu em temperaturas de 29 e 31 °C e, Caraballo (2011), conseguiu cultivar essa espécie alimentando-a com seston, que é definido como todo material particulado presente em águas livres (Wetzel 2001). Segundo Fileto *et al.* (2004), representa o principal alimento consumido pelos cladóceros em lagos.

Sipaúba-Tavares e Rocha (2001), afirmam que algumas espécies de cladocera cultivadas em laboratório tem preferência alimentar, por *Moina micrura* e *Daphnia laevis* por *Ankistrodesmus gracilis*. Um dos motivos pelos quais os cladóceros não chegaram ao estágio adulto pode ser considerado o fato de terem uma preferência alimentar e, como varias espécies eclodiram ao mesmo tempo não foi possível alimentá-los com qualidade das células algais. A quantidade e a qualidade do alimento é um importante fator que controla o crescimento e a reprodução desses organismos.

Outros fatores abióticos podem ter influenciado ao não desenvolvimento de cladóceros, pois segundo Sipaúba-Tavares (2001) afirma que a maturidade sexual também é influenciada pela temperatura, pelo pH e pela salinidade.

A temperatura também foi testada, e verificou-se que os indivíduos morrem tanto em temperatura controlada na incubadora quanto em temperatura ambiente, o que leva a acreditar que realmente a dificuldade está na alimentação ou, esses ovos de resistência não são viáveis, pois os indivíduos eclodem mas não crescem, não reproduzem.

A temperatura é um fator abiótico que influencia na eclosão dos ovos de resistência do lago tupé, mas as que foram testadas nesta metodologia podem não ter sido ideais para o crescimento desses organismos.

A água utilizada neste experimento foi água destilada, diferentemente utilizada por Oliveira (2012), que utilizou água do mesmo local de onde os organismos foram coletados, o que seria uma dificuldade nesta metodologia, pois além desses organismos serem recém eclodidos de ovos de resistência em condições controladas, seria difícil obter água do lago tupé diariamente, devido a distância entre o mesmo e o local de cultivo.

Portanto, não foi possível obter ou cultivar cladóceros eclodidos de ovos de resistência em laboratório. É necessário rever várias questões até mesmo genéticas em relação a viabilidade desses ovos de resistência. Onde um dos objetivos deste trabalho era testar esta metodologia para o cultivo de cladóceros e, observou-se que a mesma precisa ser aprimorada. Novos testes devem ser realizados para responder o porquê que esses indivíduos eclodidos de formas dormentes em condições controladas não sobrevivem nestas mesmas condições, considerando esses fatores discutidos.

Diversos estudos atualmente estão sendo realizados a respeito de formas dormentes no lago Tupé como, por exemplo, o teste em condições controladas de temperaturas para eclosão de ovos de resistência, sabe-se que os cladóceros eclodem em determinadas temperaturas, porém devido a diversos fatores descritos anteriormente e, devido também a dificuldade em estrutura para realização deste trabalho, estes organismos eclodidos não sobrevivem após a eclosão, os mesmos nascem e morrem sem alcançar o estágio adulto.

CONCLUSÃO

Portanto, não foi possível neste estudo obter-se cladoceros adultos para resoluções taxonômicas e melhor identificação dos mesmos. É necessário um aprimoramento na metodologia, aplicação de novos testes para tentar explicar, encontrar uma resposta à não sobrevivência desses organismos em condições controladas.

REFERÊNCIAS

- Bandeira, M.G.S.; Santos-Silva, E.N.; Calixto, L.S.F. 2013. *Influência da temperatura na eclosão das formas dormentes de organismos zooplanctônicos do lago Tupé, baixo rio Negro, Manaus/AM*. Programa de iniciação científica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- Brock, M.A.; Nielsen, D.L.; Shiel, R.J.; Green, J.D.; Langley, J.D. 2003. Drought and aquatic community resilience: the role of eggs and seeds in sediments of temporary wetlands. *Freshwater Biology*, 48: 1207–1218.
- Couto, C.A.; Ghidini, A.R.; Santos-Silva, E.N. 2009. Aspectos da reprodução de cladóceros associados aos bancos de *Utricularia foliosa* L. (Lentibulariaceae) no Lago Tupé, Manaus-AM. In XVIII Jornada de Iniciação Científica - Ciência, Sociedade e Meio Ambiente – Popularização do Conhecimento (L.M. Barbosa, coord.). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, p. 458 – 461.
- Couto, C.A. 2013. *Comunidade ativa e dormente de Cladocera (Crustacea: Branchiopoda) no lago Tupé, Manaus-AM*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas.
- Couto, C.A.; Ghidini, A.R.; Santos-Silva, E.N. 2010. Estratégias reprodutivas de *Simocephalus serrulatus* Koch, 1841 (Crustacea: Anomopoda: Daphnidae) em um lago de água preta na Amazônia Central. In XIX Jornada de Iniciação Científica - Biodiversidade (L.M. Barbosa, coord.). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Edmondson, W.T. *Freshwater Biology*. London, John Willey e sons Inc., 1248pp, 1976.
- Fileto, C.; Ferrao-Filho, A.; Arcifa, S.; Silva, L. 2004. Influence of phytoplankton fractions on growth and reproduction of tropical cladocerans. *Aquatic Ecology*, 38(4): 503-514.
- Ghidini, A. R. 2001. *Cladóceros (Crustacea: Anomopoda e Ctenopoda) associados a diferentes habitats de um lago de águas pretas da Amazônia Central (Lago Tupé, Amazonas, Brasil)*. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Gopal, B.; Junk, W.J. 2000. *Biodiversity in wetlands: An introduction*. In *Biodiversity in wetlands: Assessment, function and conservation*. Gopal, B.; Junk, W. J. e Davies, A, (eds.), 1: 1-10. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers.
- Hardy, E.R.; Castro, J.G.D.S.O. 2000. Qualidade nutricional de três espécies de clorófitas cultivadas em laboratório. *Acta Amazonica*, 30(1): 39-47.
- Hansen, A.J.; Castri, F. 1992. Landscape boundaries: consequences for biotic diversity and ecological flows. *Ecological Studies* 92. Berlin, Germany: Springer.
- Junk, W.K. 1980. *Áreas inundáveis – Um desafio para a limnologia*. *Acta Amazonica*, 10: 775-795.
- Junk, W.J.; Wantzen, K.M. 2006. *Flood pulsing and the development and maintenance of biodiversity in floodplains*. In *Ecology of Freshwater and Estuarine Wetlands*. Batzer, D.P.; Sharitz, R. (eds.), 407-435. Berkeley, Los Angeles, London, University of California Press. 568 pp.
- Junk, W.J.; Bayley, P.B. Sparks, R.E. 1989. *The flood pulse concept in river-floodplain systems*, 110-127. In: Dodge, D. P. (ed.) Proceedings of international large river symposium. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat., Sci.* 106.
- Mitsch, W.J.; Gosselink, J.G. 2000. *Wetlands*. 3ª. Ed. New York: John Wiley e Sons.
- Naiman, R.J.; Decamps, H. 1990. *The ecology and management of aquatic-terrestrial ecotones*. Carnforth Hall, U. K.: Parthenon.
- Oliveira, H.S.; Santos-Silva, E.N. 2012. Cultivo de *Diaphanosoma spinulosum* Herbst, 1967 (Cladocera, sididae) em laboratório. Programa de iniciação científica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. 13pp
- Oliveira, H.S. Santos-Silva, E.N. 2013. História de vida de *Diaphanosoma Spinulosum* Herbst, 1967 (Crustacea, Sididae) em laboratório. Programa de iniciação científica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. 13 pp.
- Odum, E. P. 1981. Foreword. In *Wetlands of bottomland hardwood forests*, Clark, J. R. e Benforado, J. (eds.), 8-10. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Prieto, M.; De la Cruz, L.; Morales, M. 2006. Cultivo experimental del cladóceros *Moina* sp alimentado con *Ankistrodesmus* sp y *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. MVZ. Córdoba*, 11(1).

- Sipaúba-Tavares, L.H.; Rocha, O. 2001 Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. São Carlos: Rima.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. San Diego: Academic press.
- Wetzel, R.G. 1983. (Ed.). *Periphyton on Freshwater Ecosystems*. Haia, Holanda: Dr. W. Junk Publishers, Kluwer Academic Publishers.