



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**CARACTERIZAÇÃO DOS DIDEMNIDAE (CHORDATA:TUNICATA)  
EM SIMBIOSE COM MICROALGAS NO LITORAL DO CEARÁ**

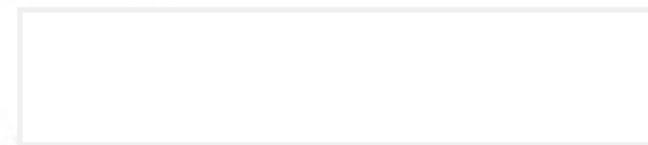
**FRANCISCA ANDRÉA DA SILVA OLIVEIRA**

---

**MONOGRAFIA APRESENTADA AO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA  
DO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, COMO  
PARTE DAS EXIGÊNCIAS PARA A OBTENÇÃO  
DO TÍTULO DE ENGENHEIRO DE PESCA.**

---

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL  
DEZEMBRO/2007**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Prof. Tito Monteiro da Cruz Lotufo, D.Sc**  
**Orientador/Presidente**



**Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias**  
**Membro**

---

**Eng. Pesca José Ariévilto Gurgel Rodrigues**  
**Membro**

**VISTO:**

---

**Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc**  
**Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca**

---

**Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, D.Sc**  
**Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

O47c Oliveira, Francsica Andréa da Silva.

Caracterização dos didemnidae (Chordata: tunicata) em simbiose com microalgas no litoral do Ceará / Francsica Andréa da Silva Oliveira. – 2007.  
30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2007.

Orientação: Prof. Dr. Tito Monteiro da Cruz Lotufo.

1. Chordata (Tunicata) - Litoral cearense. 2. Tunicata - Vertebrado. 3. Acidiacea - Litoral cearense. 4. Microalgas - Simbiose. 5. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

---

**Este trabalho dedico a Deus, aos meus pais, à  
minha filha Thaís e ao meu marido Clerton**

## **AGRADECIMENTOS**

**Ao Prof. e orientador Tito Monteiro da Cruz Lotufo, por me ensinar mais que o conteúdo acadêmico.**

**À Dra. Maria Odete Parente Moreira, pelos ensinamentos e compreensão.**

**A todos do laboratório de Ecologia Animal da UFC (Fabiano, Teresa, Ronaldo, Eduardo, Wander...) pela amizade e companheirismo no local de trabalho.**

**Às meninas da Ecotoxicologia (Janisi, Marcionília.....), pelas ajudas fornecidas.**

**Às minhas amigas de turma (Aline, Alice, Darly, Leila) , pois só nós sabemos como somos amigas.**

**Aos demais colegas, pelos anos que passamos juntos.**

**A todos que fazem parte do Departamento de Engenharia de Pesca, por ter contribuído de alguma forma para minha formação acadêmica.**

**Ao LOE (Laboratório de Oncologia Experimental da UFC), em especial Luciana e Prof. Letícia, pela ajuda.**

**Ao meu marido, pela paciência, força e carinho.**

**À minha família (Meus pais Cláudio e Thaís e aos meus irmãos, Socorro, Cláudia, Ricardo, Patrícia, Raquel e Esther), pelos ensinamentos, ajudas, e principalmente por me mostrarem que a família e a base para termos uma vida melhor.**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	4
2.1 – Coleta em campo.....	4
2.2 – Atividades de laboratório .....	5
2.3 – Análises das colônias .....	6
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
3.1 - Espécies encontradas e ausência ou presença de organismos simbiontes	7
3.2 - Localização de Prochloron nas colônias de ascídias .....	8
3.3 - Descrição das características da Prochloron.....	11
3.4 - Descrições das colônias examinadas .....	12
3.4.1 - <i>Didemnum galacteum</i> (LOTUFO e DIAS, 2007).....	12
3.4.2 - <i>Didemnum ligulum</i> (MONNIOT., 1983).....	13
3.4.3 - <i>Didemnum psammatodes</i> (SLUITER, 1985) .....	14
3.4.4 - <i>Polysyncrator</i> sp. ....	15
3.5 - Aspectos histológicos das túnicas .....	16
3.5.1 - <i>Didemnum galacteum</i> .....	16
3.5.2 - <i>Didemnum psammatodes</i> .....	17
3.5.3 - <i>Didemnum ligulum</i> .....	18
3.5.4 - <i>Polysyncrator</i> sp .....	18
4. CONCLUSÕES.....	21
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

## RESUMO

Os tunicados pertencem ao filo Chordata, são organismos exclusivamente marinhos, sendo encontrados em colônias, ou na forma solitária. Sendo Ascidiacea o táxon mais representativo em número de espécies. As ascídias são animais sésseis, filtradores, hermafroditas, e podem habitar desde regiões entre marés até grandes profundidades. As ascídias podem ser encontradas em associação de simbiose com algas *Prochloron*, que são algas procarióticas, de cor verde, esféricas, possuem clorofila *a* e *b* e não possuem ficobilinas. Foram analisadas quatro colônias de ascídias da família Didemnidae para verificar essa associação, sendo elas: *Didemnum galacteum*, *Didemnum ligulum*, *Didemnum psammatodes* e *Polysyncraton* sp. A metodologia utilizada foi de análises histológicas em microscópio e dissecação sob lupa. Duas dessas espécies, *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum*, apresentaram células simbiontes na superfície externa da colônia. *Didemnum psammatodes* e *Polysyncraton* sp não apresentaram células simbiontes. Uma descrição da estrutura das colônias, das túnicas dos animais e das células de *Prochloron* é apresentada. Neste trabalho é possível conhecer a ecologia desses organismos. Na costa cearense não se conhece nada a respeito dessa associação, levando-se em consideração a carência de estudo, o objetivo deste trabalho foi conhecer quais espécies de ascídias da família Didemnidae no litoral do Ceará apresentam esses organismos simbiontes, onde eles estão localizados e quais são esses simbiontes.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Foto do local de coleta, na praia da Taíba.....	4
Figura 2 – Aspecto externo da colônia <i>Didemnum galacteum</i> com presença de células simbiotes em sua superfície. ....	8
Figura 3 – Aspecto externo da colônia <i>Didemnum ligulum</i> com presença de células simbiotes.....	9
Figura 4 - Células de <i>Prochloron</i> removidas da superfície externa de uma colônia de <i>Didemnum galacteum</i> . ....	11
Figura 5 - Espículas de <i>Didemnum galacteum</i> . ....	12
Figura 6 - Espículas de <i>Didemnum ligulum</i> . ....	13
Figura 7 - Aspecto externo da colônia <i>Didemnum psammatores</i> .....	14
Figura 8 - Espícula de <i>Didemnum psammatores</i> .....	15
Figura 9 - Aspecto externo da colônia <i>Polysyncratoron</i> sp. ....	15
Figura 10 - Espícula de <i>Polysyncratoron</i> sp.....	16
Figura 11 – Corte histológico da colônia de <i>Didemnum galacteum</i> . AD- Abdome, CC – Cavidade cloacal. ....	17
Figura 12 – Corte histológico da colônia de <i>Didemnum psammatores</i> . PF- Pelotas fecais, CC- Cavidade cloacal.....	17
Figura 13 – Corte transversal da colônia <i>Didemnum ligulum</i> . TR – Tórax, AD- abdome, PF – Pelotas fecais. ....	18
Figura 14 – Corte histológico da colônia de <i>Polysyncratoron</i> sp. TR – Tórax, AD- Abdome. ....	19
Figura 15 – Corte histológico da colônia de <i>Polysyncratoron</i> sp. CB - Células bladder.....	19
Figura 16 – Corte histológico da colônia de <i>Didemnum psammatores</i> . CN- Células net.....	20

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Espécies coletadas, locais de coletas e presença de células simbiotes .....	7
--	---

# CARACTERIZAÇÃO DOS DIDEMNIDAE (CHORDATA:TUNICATA) EM SIMBIOSE COM MICROALGAS NO LITORAL DO CEARÁ

Francisca Andréa da Silva Oliveira

## 1. INTRODUÇÃO

Os tunicados pertencem ao subfilo Tunicata do filo Chordata e compreendem organismos exclusivamente marinhos, que vivem em colônias ou são solitários (MILLAR, 1971). Dentre os tunicados, o táxon mais representativo em número de espécies é Ascidiacea (BARNES, 1990). As ascídias são animais sésseis, filtradores, podem viver desde regiões entre marés até grandes profundidades, sendo bastante comuns em regiões costeiras.

Normalmente os tunicados são hermafroditas, podendo apresentar reprodução assexuada (brotamento) ou reprodução sexuada (MONNIOT et al., 1991). Na reprodução sexuada, a fecundação pode ser interna com os ovos incubados no átrio ou em outras cavidades, ou externos com o desenvolvimento planctônico, resultando em larvas (VILLEE et al., 1984). As larvas são girinóides, fixando-se ao substrato com a região anterior. De acordo com Ruppert e Barnes, (1996), ocorre uma torção de 180° na região ântero-posterior, na qual possibilita que o sifão branquial fique do lado oposto ao local de fixação da larva.

No estágio larval ocorre a presença de notocorda, de um tubo nervoso e de fendas faríngeas, características que incluem as ascídias no filo Chordata.

A família Didemnidae se destaca dentre os Ascidiacea em termos de número de espécies. As Didemnidae são ascídias coloniais da ordem Aplousobranchia (KOTT, 2001), apresentando indivíduos simétricos, que possuem uma cavidade cloacal comum onde são liberadas suas excretas (VILLEE et al., 1984). Cada colônia é formada por pequenos zoóides, divididos em tórax e

abdômen, e geralmente estão na extensão da cavidade cloacal comum (KOTT, 2001).

Alguns organismos necessitam manter uma associação íntima com outros, na qual denominamos de simbiose, onde existe o hospedeiro que é o organismo maior e o simbiote que é o organismo menor, no caso, o simbiote sempre recebe algum benefício, diferente do hospedeiro que nem sempre é beneficiado (VILLEE et al., 1984).

As associações simbióticas com algas procarióticas são bastante comuns e estão presentes na maioria dos grandes táxons animais, como esponjas, moluscos, entre outros (HIROSE e HIROSE, 2007). Em praticamente todos os casos a associação é estabelecida com o dinoflagelado *Symbiodinium microadriaticum*, mas no caso das ascídias a associação que ocorre com as *Prochloron* é única (MONNIOT et al., 1991). NEWCOMB e PUGH (1975) foram os primeiros a descrever a associação de simbiose de ascídias com algas do gênero *Prochloron*.

As ascídias podem abrigar algas unicelulares dos gêneros *Prochloron* e *Synechocystis*. *Prochloron* são algas procarióticas, esféricas, que apresentam clorofila a e b e não possuem ficobilinas (MONNIOT et al., 1991). Encontram-se divididas em duas camadas, a região periférica onde estão os tilacóides e a região central com os vacúolos. Alguns gêneros próximos, como *Prochlorothrix* e *Prochlorococcus* são algas procarióticas que também apresentam clorofila b, porém não são simbiotes (HIROSE et al., 2006).

O registro de simbiose com essas algas ocorre em muitas espécies da família Didemnidae, incluindo os gêneros *Trididemnum*, *Didemnum*, *Lissoclinum*, entre outros (KOTT, 2001). O número de *Trididemnum* simbiotes com *Prochloron* é maior do que no gênero *Didemnum* apesar da diversidade deste último gênero ser muito maior (KOTT, 1984).

Algumas espécies adquirem os fotosimbiotes do meio ambiente o que denominamos de transmissão horizontal (HIROSE e HIROSE, 2007). Essas células vivem livres no plâncton, tornando a associação simbiótica facultativa, tanto para o simbiote como para o hospedeiro (MONNIOT et al., 1991). Já nas

simbioses obrigatórias a larva carrega consigo as células de simbioses (KOTT, 2001). Neste caso, as larvas herdam as células algais das colônias mães durante o processo de reprodução, a que chamamos de transmissão vertical (HIROSE e HIROSE, 2007).

As células de *Prochloron* podem ser encontradas tanto na superfície da túnica da colônia, como embutidas na matriz da túnica ou dentro da cavidade cloacal (COX, 1986).

Inúmeros trabalhos foram feitos em outros países para registrar a associação de simbiose das *Prochloron* com ascídias, como também para descrever a importância da transferência de carbono para o hospedeiro (KUHL et al., 2002), assim como a reciclagem de nitrogênio (KOIKE et al., 1993).

Mesmo assim, as ascídias ainda são pouco estudadas em grande parte do planeta, e o litoral nordeste do Brasil representa uma lacuna importante nesse sentido. No Ceará as ascídias estão presentes em grande parte do litoral, crescendo também sobre os afloramentos de arenito na região entre marés. Atualmente há o registro de 27 espécies de ascídias no litoral cearense (LOTUFO e SILVA, 2006).

Na costa cearense não se conhece nada a respeito dessa associação, levando-se em consideração a carência de estudo, o objetivo deste trabalho foi conhecer quais espécies de ascídias da família Didemnidae no litoral do Ceará apresentam esses organismos simbioses, onde eles estão localizados e quais são esses simbioses.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 – Coleta em campo

As coletas foram realizadas em regiões entremarés, durante as baixamares de sizígia, nas praias do Pacheco e Taíba (Figura 1), região oeste do estado do Ceará, em 20/04/07 e 31/08/2007, respectivamente. As colônias foram fotografadas e removidas do substrato com o auxílio de uma espátula metálica, colocadas em sacos plásticos com água do mar, vedados e levados ao laboratório.



Figura 1 – Foto do local de coleta, na praia da Taíba.

## 2.2 – Atividades de laboratório

No laboratório, as amostras foram observadas em lupa e fotografadas, sendo em seguida, anestesiadas com metanosulfonato de tricaína (marca Finquel). Após relaxadas, uma parte da colônia foi fixada em fixador Davidson no qual passou 24 h, e a outra parte fixada com formol salino a 4%. A parte da colônia fixada em Davidson foi lavada em água corrente para retirada do excesso do fixador, sendo depois colocada em EDTA 10% para retirada das espículas e em seguida, transferidas para álcool 70%.

Do álcool 70%, as amostras sofreram um processo de desidratação, o qual consiste em cinco etapas onde o tecido é imerso em álcool 80%, 95%, 95%, 100% e 100% durante 30 minutos cada. Posteriormente foram transferidas para álcool e xilol em uma proporção de 1:1, fechando o ciclo de desidratação.

Em seguida, foi feita a diafanização, que consiste em duas imersões em xilol 100% durante 30 minutos cada. Logo após foi feito o 1º banho em parafina histológica a 60°C em 1 h, dentro da estufa, depois o 2º banho, na mesma temperatura e mesmo período de tempo. Em seguida, cada pedaço da colônia foi colocado em uma caixa de papel onde foi coberto por parafina histológica, realizando assim o emblocamento.

Os blocos de parafina foram levados ao LOE – Laboratório de Oncologia Experimental da UFC, onde foram feitos os cortes em um micrótomo, com uma espessura de 5 µm. Após realização de cada corte, ele é colocado em banho-maria para preparação das lâminas. Depois das lâminas estarem feitas elas foram levadas à estufa para retirada da parafina. Depois de todos esses procedimentos, as lâminas foram coradas, mas antes disso, elas passam por um processo de hidratação, com xilol 100%, álcool em diversas concentrações, sendo depois coradas com hematoxilina e lavadas em água corrente, em seguida com eosina e lavadas em água corrente, depois a seqüência foi feita inversamente até chegar

novamente no xilol 100%. Após esta etapa de coloração das lâminas, elas foram montadas com bálsamo do Canadá, ficando assim prontas para serem analisadas em microscópio composto.

Os cortes histológicos foram analisados quanto à estrutura da túnica e presença de células simbiotes.

### **2.3 – Análises das colônias**

As colônias foram identificadas com o auxílio do guia de identificação de (RODRIGUES et al., 1998). Os aspectos internos foram descritos de acordo com os da literatura. Já para verificação das espículas foi necessária a retirada de um pedaço pequeno da colônia, onde foi queimado, para retirada da porção orgânica, ficando apenas as espículas. Em seguida, foi adicionado ao material queimado álcool etílico para dissolução e preparação das lâminas. O material foi colocado na lâmina e após a evaporação de todo o álcool, foram montadas com o bálsamo do Canadá. Essas lâminas foram levadas a microscópio, onde foi possível descrever e caracterizar as espículas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Espécies encontradas e ausência ou presença de organismos simbiotes

Nas coletas foram encontradas ascídias Didemnidae de quatro espécies; *Didemnum galacteum* (LOTUFO e DIAS, 2007), *Didemnum ligulum* (MONNIOT F, 1983), *Didemnum psammatodes* (SLUITER, 1985) e *Polysyncraton* sp, sendo que as duas primeiras eram encontradas com maior abundância no ambiente. Algumas dessas espécies apresentavam células simbiotes na superfície externa da túnica, já em outras espécies, não era perceptível a presença das células simbiotes. Isso ocorreu mesmo em algumas colônias da mesma espécie onde eram encontradas as células simbiotes. No quadro 1 consta a listagem das espécies de ascídias coletadas, destacando os locais de coleta e a presença ou ausência de células simbiotes observadas no momento da coleta.

Quadro 1 - Espécies de ascídias coletadas, destacando os locais de coleta e a presença ou ausência de células simbiotes observadas no momento da coleta

Espécies	Locais de coleta		Presença de simbiotes
	Pacheco	Taíba	
<i>Didemnum galacteum</i>	X	X	X
<i>Didemnum ligulum</i>	X	X	X
<i>Didemnum psammatodes</i>		X	
<i>Polysyncraton</i> sp		X	

### 3.2 - Localização de *Prochloron* nas colônias de ascídias

As células simbiotes foram encontradas na superfície externa da túnica das colônias de ascídias *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum* (Figuras 2 e 3) respectivamente. Na análise dos cortes histológicos se procurou observar a presença de células simbiotes nos locais onde geralmente elas podem ser encontradas, no entanto, não foi encontrado nenhum registro de células simbiotes na matriz da túnica e nem na cavidade cloacal. Porém para *Didemnum psammatoedes*, observou-se que o fixador tornou-se esverdeado, o que pode indicar a presença de clorofila na colônia.



Figura 2 – Aspecto externo da colônia *Didemnum galacteum* com presença de células simbiotes em sua superfície.



Figura 3 – Aspecto externo da colônia *Didemnum ligulum* com presença de células simbiotes.

Das quatro espécies de ascídias da família Didemnidae, que poderiam apresentar relação de simbiose com *Prochloron*, apenas duas continham células simbiotes: *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum*. No entanto, não existe trabalho indicando relação de simbiose entre ascídias e *Prochloron* no Brasil, o que vêm demonstrar a carência de trabalhos realizados com a ecologia desses organismos.

Em outras regiões, como Austrália e Japão, diversos estudos já foram realizados mostrando a presença de algas simbiotes com outras espécies, principalmente *Trididemnum miniatum* (KOTT, 1977) e *Didemnum molle* (HIROSE e FUKUDA, 2006). Segundo Hirose e Hirose (2007), a relação de simbiose ocorre em quatro gêneros da família Didemnidae; *Didemnum*, *Trididemnum*, *Lissoclinum* e *Diplosoma*.

No caso de *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum* a simbiose provavelmente não é obrigatória, pois as células de *Prochloron* foram encontradas apenas na superfície da colônia. Hirose e Hirose (2007) estudando *Didemnum candidum* também mostraram que a simbiose dessas ascídia com *Prochloron* não é obrigatória, já que as células simbiotes foram encontradas apenas na superfície

da colônia. Já Hirose e Fukuda (2006), estudando *Didemnum molle* registra que a simbiose é obrigatória, com as células de *Prochloron* encontradas exclusivamente na cavidade cloacal. Essas células que são encontradas na cavidade cloacal geralmente são herdadas da colônia mãe, sendo coletadas com a porção posterior do tronco da larva, antes do momento de saída, ou no momento de saída. Esse tipo de transmissão é caracterizado como transmissão vertical.

Em *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum* elas possivelmente adquirem suas células simbiotes do meio ambiente, o que é denominado de transmissão horizontal. Tal fato é curioso, pois não se encontra *Prochloron* livre no ambiente, nem foi possível até o momento cultivar esses organismos em laboratório, fora de uma colônia de ascídias.

As espécies que adquirem suas células simbiotes através da transmissão vertical podem utilizar de dois artifícios para capturá-las, como alguns *Diplosoma* sp. e *Didemnum molle*, que adquirem seus fotosimbiotes de forma muito semelhante. Oka et al., (2005) mostrou que as larvas de espécies de *Diplosoma* que abrigam células simbiotes, adquirem essas células com uma estrutura denominada de rastrum. Uma característica que é uma sinapormorfia das *Diplosoma*, já que essa estrutura não está presente nos outros gêneros que abrigam *Prochloron*.

Em *Didemnum psammatores* não foi possível registrar a presença de células simbiotes, apenas a presença esverdeada do fixador que caracteriza a presença de clorofila. Kott et al., (1984), por outro lado, quando estudava a presença de simbiotes na Austrália verificou que *Didemnum psammatores* pode abrigar células simbiotes e que a simbiose não é obrigatória. Dentro da cavidade cloacal dessa mesma colônia foi encontrado micro-crustáceo (anfípodo) provavelmente parasitando a colônia. Hirose et al., (2005), estudando *Diplosoma virens*, espécie que também têm relação de simbiose com *Prochloron*, mostraram que ocorre parasitismo da colônia por copépodos que se abrigam dentro da cavidade cloacal, juntamente com as células *Prochloron*, e que eles nutrem-se da matriz da túnica, raramente ingerindo os zoóides das ascídias ou células de *Prochloron*.

### 3.3 - Descrição das características da *Prochloron*

As células simbiotes foram analisadas em microscópio, onde foram fotografadas, medidas e observadas. São células esféricas, de cor verde, com diâmetro em média de 18  $\mu\text{m}$  (Figura 4), tilacóides poucos expandidos nas extremidades da parede celular e grande concentração de pequenos vacúolos na região central, de acordo com as características descritas na literatura, e com o trabalho original de (LEWIN, 1976) onde ele descreve as características das *Prochloron* propondo uma nova divisão de algas.

As células simbiotes encontradas nesta pesquisa são as mesmas descritas por (COX, 1986), que divide as células de *Prochloron* em três grupos, de acordo com as características morfológicas, sendo estas representadas pelo grupo I, pois estão presentes na superfície externa da colônia, caracterizando que essa associação não é obrigatória para o hospedeiro, no entanto é obrigatória para as *Prochloron*.

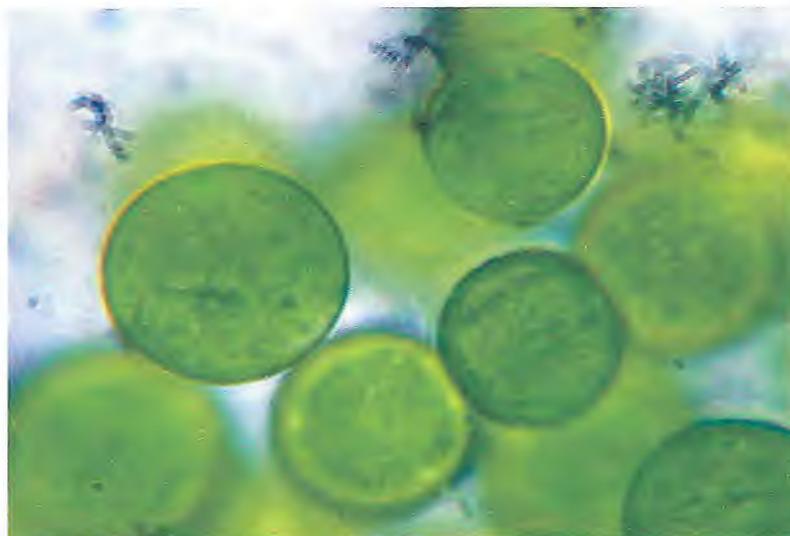


Figura 4 - Células de *Prochloron* removidas da superfície externa de uma colônia de *Didemnum galacteum*.

### 3.4 - Descrições das colônias examinadas

#### 3.4.1 - *Didemnum galacteum* (LOTUFO e DIAS, 2007)

Colônias incrustantes com espessura de cerca de 2,0 mm. Cor branca leitosa, por vezes encontrada com a superfície coberta por algas simbiontes (Figura 2). Túnica com muitas espículas, sendo estas pequenas (26  $\mu\text{m}$ ), esféricas e com pontas pequenas e cônicas (Figura 5). Lotufo e Dias (2007) descreveram em detalhes as características de *Didemnum galacteum*, indicando que os zoóides medem 1,3 mm, possuem grande pedúnculo esôfagico-retal, sífões branquiais curtos com 6 lóbulos, saco branquial com 8-9 estigmas por meia fileira.

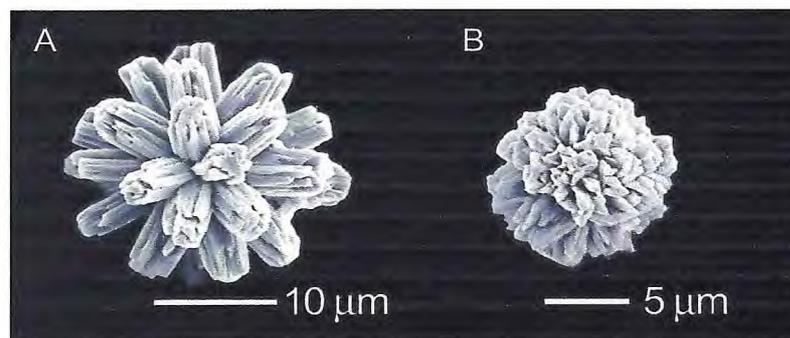


Figura 5 - Espículas de *Didemnum galacteum*.

### 3.4.2 - *Didemnum ligulum* (MONNIOT .,1983)

Colônias incrustantes, com espessura de cerca de 2,0 mm. Cor alaranjada, podendo ser encontrada com a superfície da túnica coberta por algas simbiotes (Figura 3). Apresenta várias cavidades cloacais por colônia. Túnica grande quantidades de espículas, pequenas (30  $\mu\text{m}$ ) e esféricas (Figura 6), principalmente ao redor das cloacas e sífões inalantes. Lotufo (2002), descreve que os zoóides são alaranjados mesmo após fixação, medindo cerca de 1,5 mm (tórax, 0,5 mm;abdome, 1,0 mm). Sífão branquial com 6 lobos, de comprimento mediano, abertura atrial grande, com lingüeta na borda dorsal. Cerca de 8 fendas em cada meia fileira, sendo a quarta fileira sempre difícil de observar. Apêndice muscular variando de 0,5 a 1,0 mm. Abdome com pigmento concentrado na região das gônadas. Estômago globular esbranquiçado, intestino com uma constrição pós estomacal e alça dobrada em ângulos retos. Apenas um óvulo em geral, testículo pequeno com um único folículo, coberto por espermiduto em espiral anti-horária com 7 voltas.



### 3.4.3 - *Didemnum psammatoedes* (SLUITER, 1985)



Figura 7 - Aspecto externo da colônia *Didemnum psammatoedes*

Colônias incrustantes, com espessura ao redor de 2,0 mm. Cor de lodo, túnica transparente com a presença de pelotas fecais por toda túnica (Figura 7). Após fixação permanece a cor, no entanto o fixador tornou-se esverdeado. Espículas pequenas (19  $\mu\text{m}$ ), com pontas grossas e pequenas (Figura 8), sendo sua maior concentração ao redor das cloacas e sífões inalantes. Cavidades cloacais grandes, nas quais observou-se a presença de micro-crustáceos. Lotufo (2002), descreveu os zoóides como esbranquiçados, medindo 1 mm, com sífões branquiais largos com 6 lobos, abertura atrial expondo grande parte da cesta branquial. Cesta branquial com 6 estigmas de cada lado na 1ª fileira e 7 na segunda. Apêndice muscular de comprimento variável (0,5 a 1,0 mm), fixado no longo pedúnculo esofágico-retal. Estômago globular, alaranjado. Intestino com óvulo maduro. Testículo com um folículo, coberto por espermiduto em espiral geralmente com 7 voltas anti-horárias.

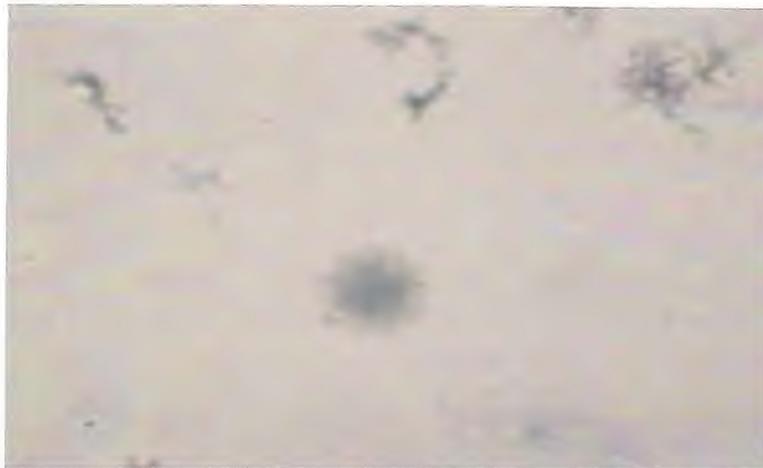


Figura 8 - Espícula de *Didemnum psammatores*

#### 3.4.4 - *Polysyncraton* sp.



Figura 9 - Aspecto externo da colônia *Polysyncraton* sp.

Colônias incrustantes, com coloração vermelha intensa, sendo mais intensa nas cavidades cloacais e cerca de 3,0 mm de espessura (Figura 9). Após a fixação a coloração é perdida. Espículas esféricas (Figura 10), mais concentradas ao redor dos sífões inalantes. Lotufo (2002) cita que os zoóides são geralmente avermelhados, medindo de 1 a 2 mm, dependendo do estado de contração. Sífão

branquial com 6 lobos e abertura atrial com lingüeta dorsal, expondo parte da cesta branquial, na altura da 2ª e 3ª fileiras de fendas. Estômago globular e intestino dividido em 3 regiões por 2 constrições.



Figura 10 - Espícula de *Polysyncraton* sp

### 3.5 - Aspectos histológicos das túnicas

#### 3.5.1 - *Didemnum galacteum*

Túnica pouco espessa, sem células pigmentadas, com grande concentração de células "bladder" (Figura 15) e células "net" (Figura 16) livres por toda túnica. Corte demonstrando a região do abdome e cavidades cloacais (Figura 11).

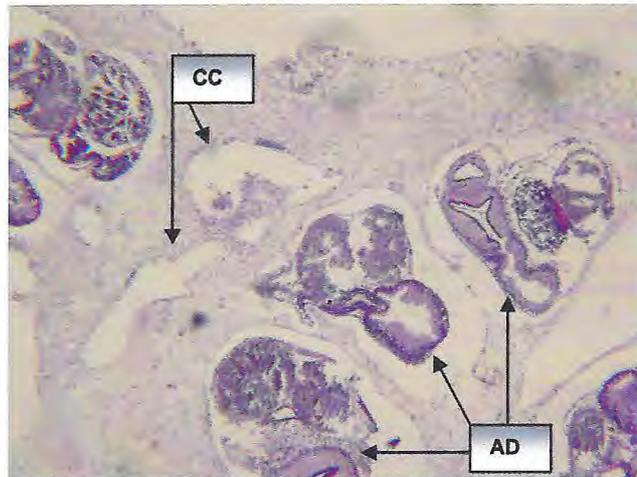


Figura 11 – Corte histológico da colônia de *Didemnum galacteum*. AD- Abdome, CC – Cavidade cloacal.

### 3.5.2 - *Didemnum psammatoedes*

Túnica de pouca espessura, com grande concentração de células “net”, e uma menor concentração de células “bladder”. Corte mostrando a grande concentração de pelotas fecais por toda a túnica e a cavidade cloacal.

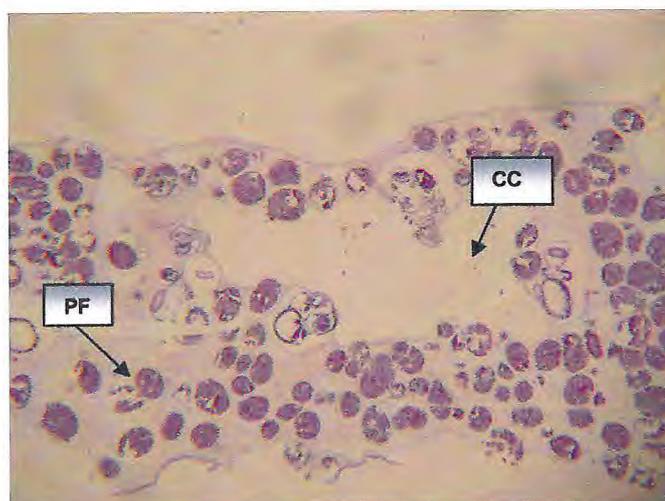


Figura 12 – Corte histológico da colônia de *Didemnum psammatoedes*. PF- Pelotas fecais, CC- Cavidade cloacal.

### 3.5.3 - *Didemnum ligulum*

Túnica pouco espessa, com grande concentração de células “bladder”, poucas células “net”. Corte mostrando tórax, pelotas fecais e abdome.

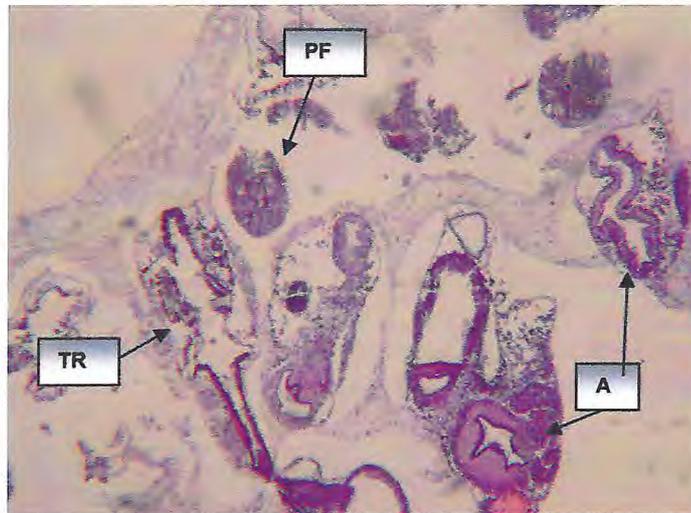


Figura 13 – Corte transversal da colônia *Didemnum ligulum*. TR – Tórax, AD- abdome, PF – Pelotas fecais.

### 3.5.4 - *Polysyncraton* sp

Túnica espessa, grande concentração de células “bladder” e células “net”, distribuídas por toda túnica. Presença de algumas pelotas fecais distribuídas pela túnica. Corte transversal da colônia, indicando o tórax e abdome zoóide (Figura 14).

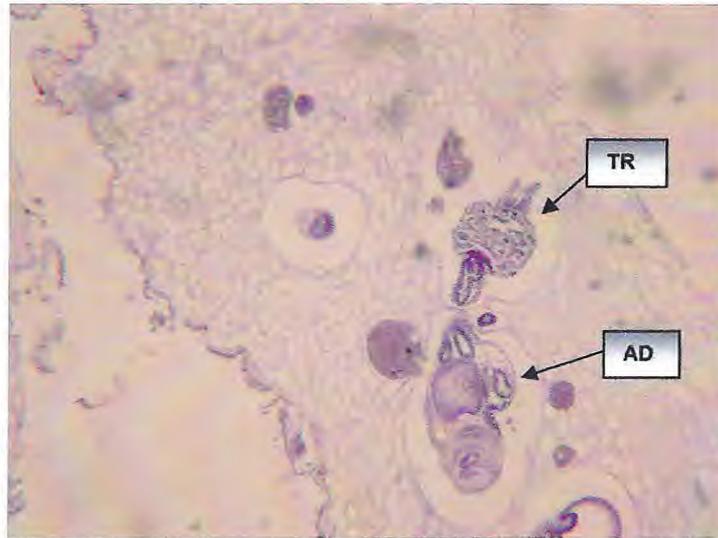


Figura 14 – Corte histológico da colônia de *Polysyncraton* sp. TR – Tórax, AD-  
Abdome.

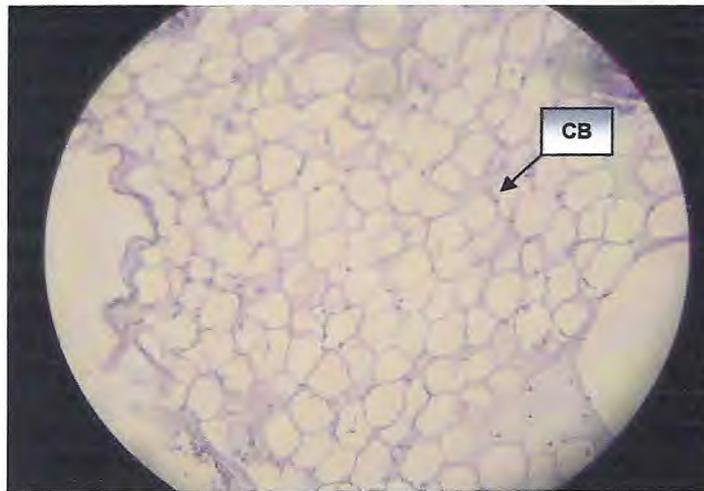


Figura 15 – Corte histológico da colônia de *Polysyncraton* sp. CB - Células  
bladder.

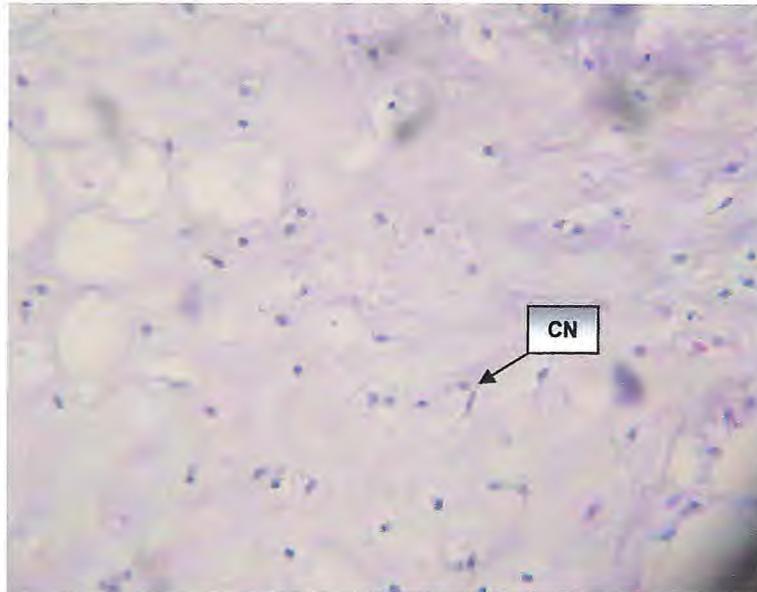


Figura 16 – Corte histológico da colônia de *Didemnum psammatoles*. CN- Células net.

As células “bladder” foram encontradas em maior concentração na colônia de *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum* . Em *Polysyncraton sp* elas encontravam-se com uma concentração semelhante as células “net”. Já em *Didemnum psammatoles* a predominância é de células “net”, sendo as células “bladder” encontradas em menor concentração. Essas células são encontradas livres na túnica. Hirose (2001), as células “bladder” são encontradas exclusivamente nas Didemnidae, localizadas abaixo da camada da superfície da túnica. Rottmayr et al., (2001), as células “bladder” contém ácido hipoclorídrico e sulfúrico, que são liberados quando as células são destruídas. Essas células formam camadas ácidas ao redor dos zoóides, protegendo eles contra predadores. Hirose (2001) As células “net” não são encontradas em todas as Didemnidae. Elas são responsáveis pela fagocitose, contração e relaxamento da túnica.

#### 4.CONCLUSÕES

As colônias de *Didemnum galacteum* e *Didemnum ligulum* dentre as colônias estudadas foram as únicas a apresentarem células de *Prochloron*, sendo encontradas apenas na superfície da túnica. A associação entre *Didemnum galacteum*, *Didemnum ligulum* e células de *Prochloron* parece ser não obrigatória, visto que, foram encontradas na superfície externa da túnica. Em *Polysyncratoron* sp e *Didemnum psammátodes* não foi encontrado nem uma célula de *Prochloron*. Células “bladder” e “net” estão presentes na túnica das quatro colônias analisadas, confirmando os dados da literatura.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNES, R.D. *Zoologia dos invertebrados*. 4.ed. São Paulo: Roca, 1990. 1179p.

COX, G.C. Comparison of *prochloron* from different hosts. *New Phytologist*, v. 104, p. 429-445, 1986.

HIROSE, E. Acid containers and cellular networks in the ascidian tunic with special remarks on ascidian phylogeny. *Zoological Science*, v. 18, p.723-731, 2001.

HIROSE, E.; OKA, A.T.; AKAHORI, M. Sexual reproduction of the photosymbiotic ascidian *diplosoma virens* in the ryukyu archipelago, japan: vertical transmission, seasonal change, and possible impact of parasitic copepods. *Marine Biology*, v. 146, p.677-682, 2005.

HIROSE, E.; HIROSE, M.; NEILAN, B.A. Localization of symbiotic cyanobacteria in the colonial ascidian *trididemnum miniatum* (Didemnidae, ascidiacea). *Zoological Science* v. 23, p.435-442, 2006.

HIROSE, E.; FUKUDA, T. Vertical transmission of photosymbionts in the colonial ascidian *didemnum molle*: the larval tunic prevents symbionts from attaching to the anterior part of larvae. *Zoological Science*, v 23, p.669-674, 2006.

HIROSE, E.; HIROSE, M. Morphological process of vertical transmission of photosymbionts in the colonial ascidian *trididemnum miniatum* Kott, 1977. *Marine Biology*, v. 150, p.359-367, 2007.

KOIKE, ISAO.; YAMAMURO, M., POLLARD, P.C. Carbon and nitrogen budgets of two ascidians and their symbiont, *prochloron*, in a tropical seagrass meadow. *Aust. J. mar. Freshwater Res*, v. 44, p. 173-182, 1993.

KOTT, P.; PARRY, D.L.; COX, G.C. Prokaryotic symbionts with a range of ascidian hosts. *Bolletín of Marine Science*, v. 34, n.2, p. 308-312, 1984.

KOTT, P. Related species of *tridemnum* in symbiosis with cyanophyta. *Proc. Linn. Soc. N.S.W.*, v.107, n. 4, p. 515-520, 1984.

KOTT, P. The Australian ascidiacea. part 4. Aplousobranchia (3), Didemnidae. *Memoirs of the Queensland Museum*, v. 47, n. 1, 407p , 2001.

KÜHL, M.; LARKUM, A. W.D. The microenvironment and photosynthetic performance of *Prochloron* sp. In symbiosis with didemnid ascidians. *Kluwer Acad. Publ.*, Dordrecht, v. 03, p. 273-290, 2002.

LEWIN, R.A. Prochlorophyta as a proposed new division of algae. *Nature*, v.26, p. 697-698, 1976.

LOTUFO, T.M.C. Ascidiacea (Chordata:Tunicata) do litoral tropical brasileiro. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia. 183p, 2002.

LOTUFO, T.M.C.; SILVA, A.M.B. Ascidiacea. In: MATTHEWS-CASCON, H.M.C.; LOTUFO, T.M.C. Orgs. Biota marinha da costa oeste do Ceará. *Ministério do Meio Ambiente*, v.24, 221- 247p, 2006.

LOTUFO, T.M.C.; DIAS, G.M. *Didemnum galacteum*, a new species of white didemnid (chordata: ascidiacea: didemnidae) from brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 120, n.2, p.137-142, 2007.

MILLAR, R.H. The biology of ascidians. *Adv. Mar. Biol.*, v.9, p. 1-100, 1971.

MONNIOT, C.; MONNIOT, F.; LABOUTE, P. Coral reef ascidians of new caledonia. *Coléction faune tropicale*, n.30, Paris: Orstom, Paris, 1991. 247 p.

NEWCOMB, E.H.; PUGH, T.D. Blue-green algae associated with ascidians of the great barrier reef. *Nature*, v. 253, p. 533-534, 1975.

OKA, A.T.; SUETSUGU, M.; HIROSE, E. Two new species of *diplosoma* (ascidiacea:didemnidae) bearing prokaryotic algae *prochloron* from Okinawajima

(Ryukyu Archipelago, Japan). *Zoological Science*, v. 22, p.367-374, 2005.

RODRIGUES, S.A.; ROCHA, R.M.; LOTUFO, T.M.C. *Guia ilustrado para identificação das ascídias do estado de São Paulo*. 1 ed. São Paulo: Parma, 1998. 190p.

ROTTMAYR, E-M.; STEFFAN, B.; WANNER, G. Pigmentation and tunic cells in *Cystodytes dellechiajei* (Urochordata, Ascidiacea). *Zoomorphology*, v. 120, p. 159-170, 2001.

RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. *Zoologia dos Invertebrados*. 6.ed. São Paulo:Roca, 1996. 1029p..

VILLEE, C. A.; BARNES, R.D.; WALKER, W.F. *Zoologia Geral*. Rio de Janeiro: Disco CBS, 1984. 683p.