

**OBSERVAÇÕES SÔBRE A REPRODUÇÃO DE BLEPHARISMA
SINUOSUM SAWAYA, 1940 (CILIATA — HETEROTRICHIA)****

(Com 2 estampas)

MONIR RAGEL KATTAR *

Departamento de Fisiologia Geral e Animal da Universidade
de São Paulo — Laboratório de Zoologia — Invertebrados
da Universidade de Minas Gerais.

O presente trabalho foi efetuado no Departamento de Fisiologia Geral e Animal e refere-se a observações e experiências com culturas e processos de divisão de Ciliados Heterótricos.

Com a intenção de obter boas culturas de *Blepharisma* para estudos experimentais, procurei, primeiramente tentar vários meios, de modo a manter os animais em boas condições. No decorrer deste trabalho, foi também possível observar aspectos interessantes da divisão destes Ciliados, podendo então completar os estudos de SAWAYA (1940)

Depois de algumas tentativas, numerosos *Blepharismas* mantiveram-se em condições satisfatórias, para o que se utilizaram separadamente dois meios de cultura:

Meio (A):

Arroz em casca	2-3 grãos
Água filtrada de torneira	200 ml
NaCl	traços

Coloca-se a cultura em Erlenmeyer de 50 ml nos quais se faz a semeadura dos *Blepharisma*.

Meio (B):

Fermento Fleischmann	4 g
Água filtrada de torneira	200 ml

* Bolsista da Universidade de São Paulo.

** Entr.gue para publicação em Julho de 1963.

Divide-se a solução em tubos de ensaio de 30 ml, nos quais se semeiam os animais.

Manteve-se o pH das soluções entre 6,7 e 7

No meio A o desenvolvimento é mais lento, os *Blepharisma* aparecem com coloração vermelho-clara, tendendo a róseo, e o comprimento varia de 200 a 220 micra.

No meio B o desenvolvimento é rápido. Em 2-3 dias se obtêm culturas densas, e os animais aparecem de côr vermelho vivo e com dimensões avantajadas, atingindo de 300 a 350 micra.

Ambas as culturas foram conservadas a 28°C. Repicagem semanal, em média.

Nestas condições culturas estão sendo mantidas há 4 anos o que possibilitou observações interessantes.

A primeira refere-se à variação do número do macronúcleo, obtendo-se exemplares com até 9 macronúcleos, todos do mesmo tamanho dentro de cada exemplar e da mesma forma, interligados por uma ponte nuclear (Fig. 1)

Como é sabido, um dos caracteres para a distinção das espécies dêste Ciliado vem a ser justamente o número de macronúcleos. Sawaya (1940, p. 305) ao descrever a nova espécie *B. sinuosum* indica a presença de 5 ou 6 porções de macronúcleos como um dos caracteres principais.

As observações feitas em abundante material das culturas autorizam a afirmar que êste número deverá ser modificado, indicando-se na diagnose da espécie *sinuosum* 3 a 9 e não 5 ou 6.

Os Ciliados vivendo nos tubos de cultura, permitiram o processo de divisão dos macronúcleos, conseguindo-se assim anotar outros fenômenos não menos interessantes, cujo relato justifica o presente trabalho.

O processo de divisão binária não difere, em linhas gerais, do que ocorre em vários Ciliados, como é descrito por Calkins (1933, pp. 217-221) para *Uroleptus mobilis*; Villeneuve-Brachon (1940, pp. 50-51) para *Blepharisma bimicronucleata*; Weisz (1951, p. 231) para *Stentor coeruleus*; Stolte (1924, p. 249) para *Blepharisma undulans*; Padmavathi (1956, pp. 382-383) para *Spirostomum ambiguum*, e outros.

A divisão binária dêste *Blepharisma*, como se sabe, precede a conjugação, e consiste na bipartição igual do núcleo e do citoplasma que apresentam as seguintes características:

a) os 5 ou 6 macronúcleos de um indivíduo adulto se aglutinam numa só massa compacta e volumosa ocupando o centro do citoplasma ou suas proximidades (Fig. 2);

b) logo a seguir, há um início de compressão e alongamento da massa nuclear, no sentido do comprimento do animal. Êste alongamento progride cada vez mais até que o macronúcleo forme um bastão alongado, quando então começa a aparecer um estrangulamento no meio de tal bastão (Figs. 3 e 4);

c) depois começa a aparecer no citoplasma um estrangulamento (Fig. 5);

d) a divisão da grande massa nuclear, assim como a do citoplasma, progride, mas a divisão da massa macronuclear precede, de alguns instantes, a bipartição do citoplasma;

e) enquanto o citoplasma se divide, "reorganiza-se" nôvo peristoma com as duas fileiras de cílios e membrana ondulante, assim como aparece um nôvo vacúolo contrátil na parte posterior do animal (Fig. 6)

f) após a separação dos dois indivíduos, cada um apresenta um peristoma com as duas características fileiras de cílios, uma membrana ondulante e um vacúolo contrátil; os indivíduos são menores do que o que lhes deu origem; cada um dêles apresenta uma metade do grande bastão macronuclear (Fig. 7)

g) durante a divisão, o citoplasma torna-se homogêneo, desaparecem os vacúolos nutritivos e, provàvelmente, o citóstoma se fecha; nesta fase não se alimentam;

h) a seguir, dentro de cada indivíduo filho, o bastão macronuclear inicia um nôvo estrangulamento, mas não seguido por divisão citoplásmica. Há, então, dentro de cada indivíduo 2 macronúcleos, que continuam a se subdividir até que a condição normal, isto é, com 5 ou 6 macronúcleos seja restabelecida, sem que o citoplasma os acompanhe (Figs. 8 e 9);

i) nas culturas, numerosos são os exemplares com 7, 8 ou 9 macronúcleos (Figs. 10-11)

De um indivíduo isolado numa microcuba, de 1,5 cms de diâmetro e 1 cm de profundidade, foi possível acompanhar o desenvolvimento durante 15 dias, confirmando-se as observações acima relatadas.

O *Blepharisma* dividiu-se totalmente em 7 horas. O par resultante multiplicou-se obtendo-se, nesse período de 15 dias, 100 *Blepharisma*, os quais foram fixados em Schaudinn e corados com hematoxilina de Ehrlich, com o que se pode contar os macronúcleos existentes em cada exemplar. Os resultados foram os seguintes:

10 *Blepharisma* com 3 macronúcleos

17	"	"	4	"
38	"	"	5	"
15	"	"	6	"
14	"	"	7	"
3	"	"	8	"
3	"	"	9	"

Todos os Ciliados da cultura tinham a mesma coloração rósea, devida à presença da zoopurpura, pigmento assim denominado por Arcychozsky (1905, p. 227) que o julga originário de bactérias sulfúreas.

Observações

Depois de várias tentativas, estabeleceu-se ser o meio de cultura B o melhor para se obter os *Blepharisma* em bom estado.

E' de se notar que em tal meio, em tempo relativamente curto (três dias) se obtêm quantidade satisfatória de Ciliados.

O fato mais relevante vem a ser que nas culturas se encontram tanto animais em bipartição como em conjugação, sendo possível acompanhar, com certa facilidade, o fenômeno interessante da divisão dos macronúcleos.

O número de macronúcleos (3-9) dêste animal, com maior frequência de 4-5, deve ser levado em conta como um dos caracteres taxonômicos, como é observado também em outros *Blepharisma* (*persicinum*, *musculus* e *undulans*) conforme citação de Kahl (1930, pp. 444 e 446) e Young (1939, p. 307)

Nas formas císticas, que aparecem freqüentemente quando aumenta ou diminui a temperatura ótima (25°C) ou quando ocorre a dessecação do meio, os animais conservam o mesmo número de macronúcleos, como aliás ocorre com *Blepharisma undulans* tal como é assinalado e figurado por Stolte (p. 266, fig. 7)

Outro fenômeno a chamar a atenção vem a ser o da conjugação. Nas culturas numerosos foram os casos em que êstes Ciliados se apresentavam nesse estado. Houve mesmo ocasião em que se encontraram animais em dupla e mais raramente em tripla conjugação (conjugação múltipla)

Tôdas as observações foram feitas à temperatura do laboratório, em média de 20 a 25°C.

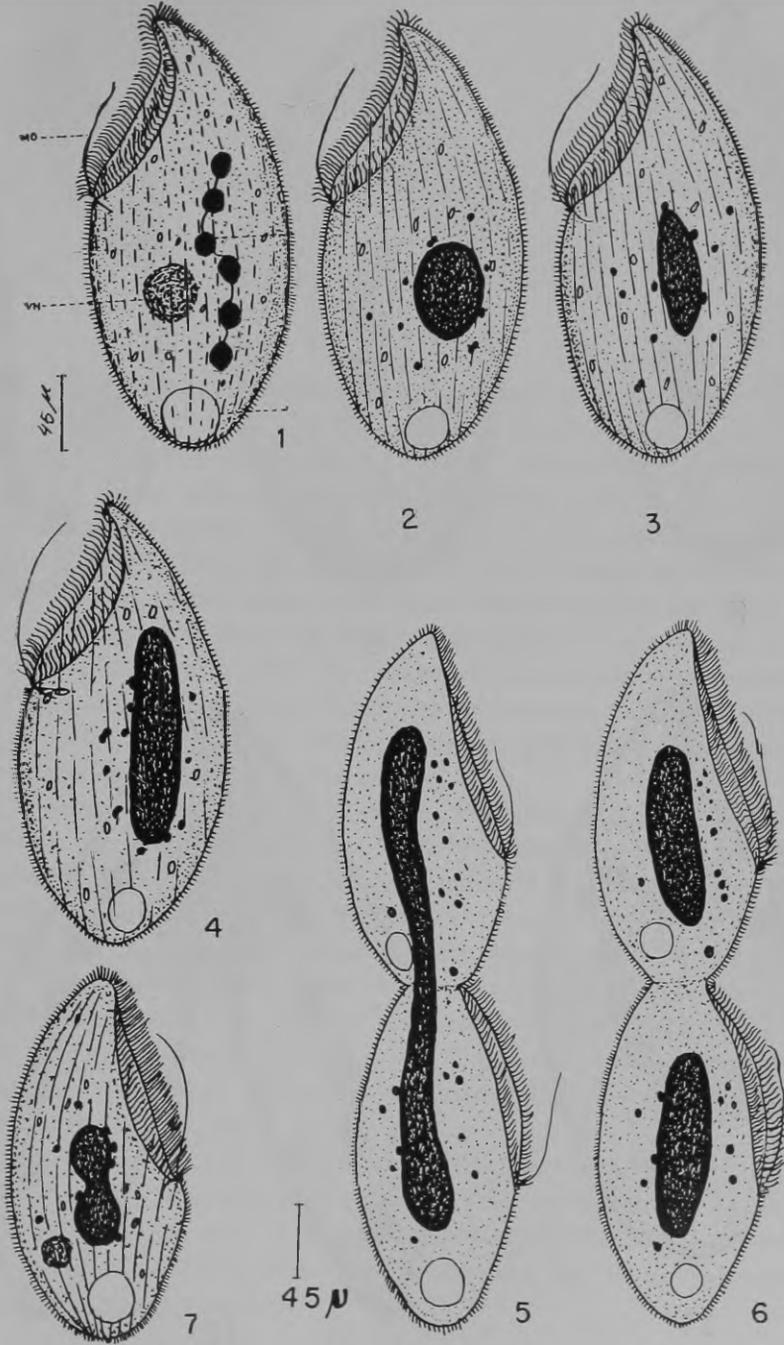
ABSTRACT

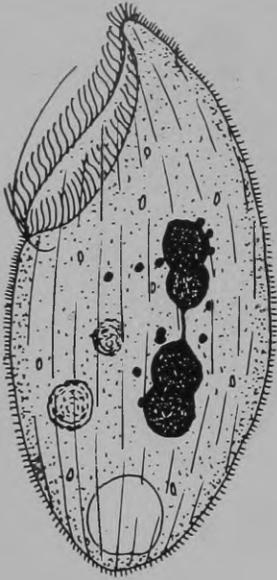
Observations on the reproduction of *Blepharisma sinuosum* (Sawaya 1950), a Heterotrichan Ciliate, are reported. Two culture media are proposed. One (A) consists of 2-3 grains of unpeeled rice, filtered tap water and NaCl; the other (B) of baker's yeast and filtered tap water. Development is better in medium B. Cultures are being kept under such conditions (media A and B) during 4 years, providing the chance of following the variations of the number macronucleus, an important taxonomic character, which in *B. sinuosum* ranges from 3 to 9. Division of the macronuclei was also studied: it does not differ essentially from that observed in many Ciliates. A full description of it is given. Conjugation was also taken into consideration. Observations of color variation in function of the medium are reported in detail.

BIBLIOGRAFIA

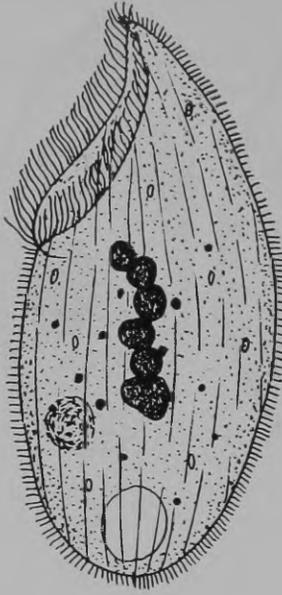
- CALKINS, G. N. — 1933 — The Biology of the Protozoa. IX + 607 pp. London.
- PADMAVATHI, P. B. — 1956 — "Fission zone" in *Spirostomum ambiguum*. *Experientia*, v. 12, f. 10, pp. 382-383. Basel.
- FÉNARD, E. — 1922 — Études sur les Infusoires d'eau douce. Genève.
- SAWAYA, M. P. — 1940 — Sobre um ciliado nôvo de São Paulo: *Blepharisma sinuosum*, sp. n. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letr. Univ. São Paulo, Zool.* n. 4, pp. 303-308. São Paulo.

- STOLTE, H. A. — 1924 — Morphologische und physiologische Untersuchungen an *Blepharisma undulans* Stein. Arch. f. Protistenk., v. 48, pp. 245-301.
- VILLENEUVE-BRACHON, S. — 1940 — Recherches sur les ciliés hétérotriches. Arch. Zool. exp. Gen., v. 82, pp. 1-180, 5 t. Paris.
- WEISZ, P. B. — 1951 — An Experimental analysis of Morphogenesis in *Stentor coeruleus*. J. exp. Zool., v. 116, pp. 231-256.

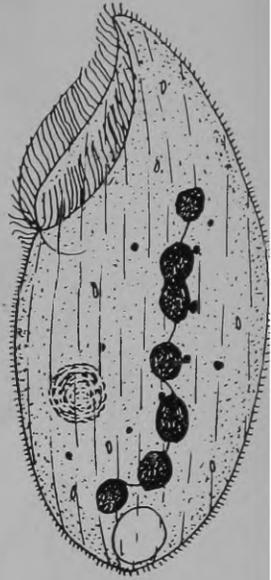




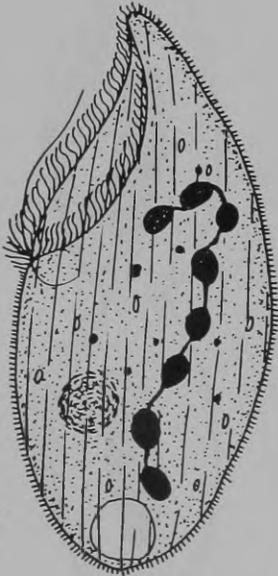
8



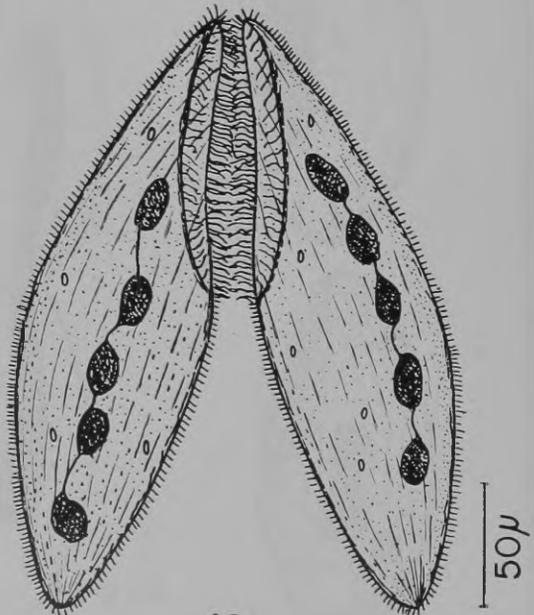
9



10



11



12