

VACÚOLOS DE GÁS E FLUTUAÇÃO EM *DIFFLUGIA MITRIFORMIS* WALLICH (PROTISTA, RHIZOPODA, TESTACEOLOBOSEA)

Vladimir Stolzenberg Torres ¹

ABSTRACT. GAS VACUOLES AND FLOTATION IN *DIFFLUGIA MITRIFORMIS* WALLICH (PROTISTA, RHIZOPODA, TESTACEOLOBOSEA). The natural formation of gas vacuoles as a method of locomotion is described for *Diffflugia mitriformis* Wallich, 1984. These vacuoles may contain different compositions of gases, basically carbondioxide or oxygen, with a membranous limitation similar or identical to other types of vacuoles. Those vacuoles are utilised by the organism as a mode of dislocation from the bottom to the water surface by flotation permitting better conditions for the survival of the individual, with the consequence of the perpetuance of the taxon.

KEY WORDS. Gas vacuoles, *Diffflugia mitriformis*, flotation

BLES (1929) observou e resumiu o processo de formação de vacúolos de gás em espécies de *Arcella* Ehrenberg, 1830. Nos experimentos realizados por BLES (1929), ENGELMANN (1869) e ODGEN (1991) a formação de vacúolos de gás foi induzida. SCHIMIDT-NIELSEN (1970) correlacionou o comportamento dos gases com os organismos e seu papel no metabolismo. O comportamento observado em *A. discoïdes* Ehrenberg, 1830 por ODGEN (1991) em muito assemelha-se ao constatado em *Diffflugia mitriformis* Wallich, 1864.

Tal similaridade e o fato de que em todos os experimentos relatados foi induzida a formação de vacúolos, diferentemente do aqui apresentado, onde não houve uma indução intencional, proporciona objetivo e justificativa para a realização deste trabalho.

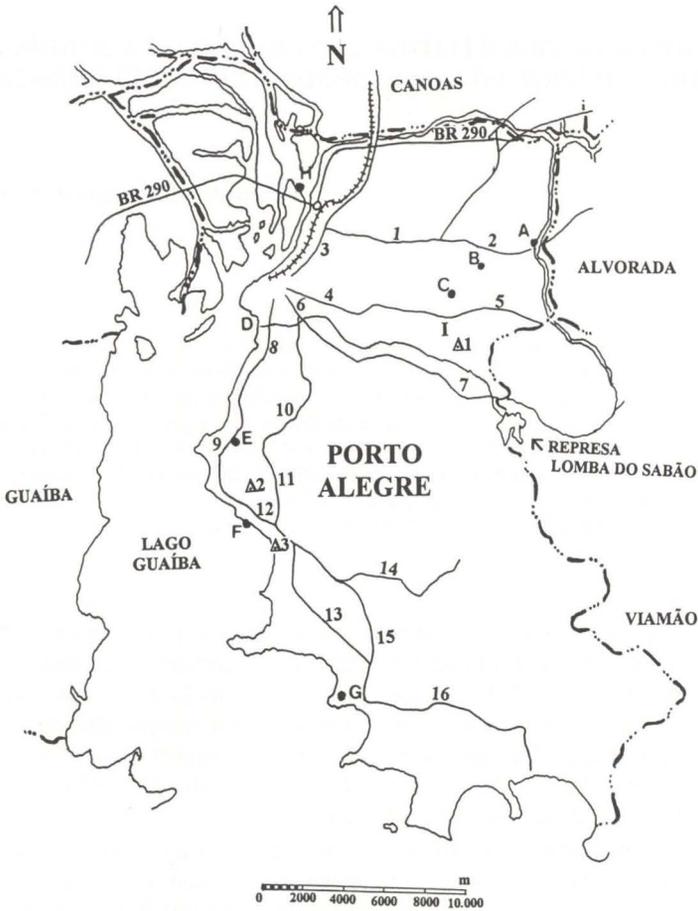
MATERIAL & MÉTODOS

Os indivíduos utilizados neste estudo foram obtidos através de amostras d'água coletadas em diferentes pontos (Fig. 1) de Porto Alegre (Rio Grande do Sul) durante o ano de 1993. Foram estabelecidas culturas de clones conforme JEBRAM (1993) e TORRES & JEBRAM (1993).

Desde o início, os cultivos foram constantemente vigiados a fim de se verificar o surgimento dos primeiros indivíduos com vacúolos.

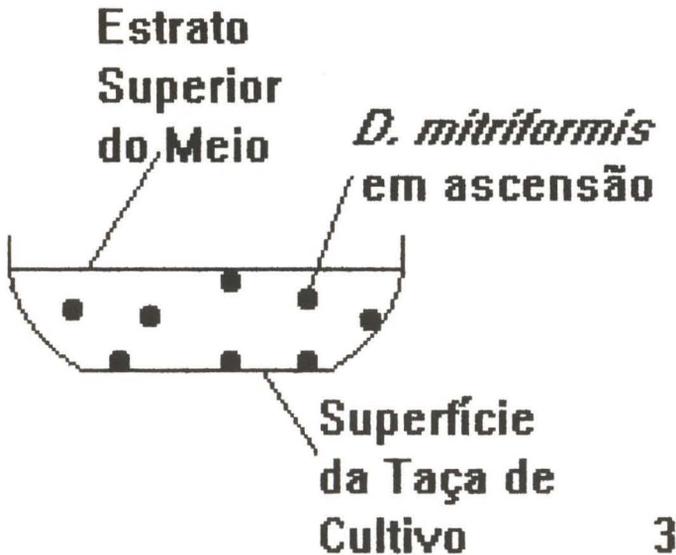
Os organismos mantidos em tacinhas de cultivo (Fig. 2), foram examinados e fotografados em microscopia de contraste de fase.

1) Laboratório de Protistologia, Instituto de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Avenida Ipiranga 6681, prédio 12, 90619-900 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.



CONVENÇÕES			
****	Linha do Trensurb	7	Av. Bento Gonçalves
Δ1	Morro Santana - 311,20 m	8	Av. Borges de Medeiros
Δ2	Morro do Osso - 188,00 m	9	Av. Icarai
Δ3	Morro do Sabiá - 40,00 m	10	Av. Carlos Barbosa
1	Av. Assis Brasil	11	Av. Cavalhada
2	Av. Baltazar de Oliveira Garcia	12	Av. Coronel Marcos
3	Av. Farrapos	13	Estrada da Serraria
4	Av. Osvaldo Aranha	14	Estrada Edgar P. de Castro
5	Av. Protásio Alves	15	Estrada Juca Batista
6	Av. João Pessoa	16	Estrada do Lami

Fig. 1. Lugares de coleta assinalados por um pequeno ponto preto. (A) Arroio Dornelles; (B) banhado junto ao Parque Chico Mendes; (C) Arroio no Sítio do Vô Chico; (D) Arroio Dilúvio; (E) Arroio Cavalhada; (F) Arroio Capivara; (G) Arroio na Heitor Vieira; (H) Ilha do Pavão; (I) no Morro Santana não houve um local específico para coletas, a escolha foi aleatória, em pequenas poças de água.



Figs 2-3. (2) Esquema do frasco de cultivo; (3) indivíduos de *Diffugia mitriformis* em processo de ascensão ao estrato superior do meio.

RESULTADOS

A testa de *D. mitriformis* caracteriza-se por apresentar uma forma ovalada. Ela é constituída de uma matriz rica em proteínas e glicoproteínas provenientes da coalescência de “grânulos testagênicos”, estes originados no complexo de Golgi (BONNET *et al.* 1979), sendo finamente alveolada, à qual são cimentados materiais inorgânicos aglutinantes em especial partículas arenáceas.

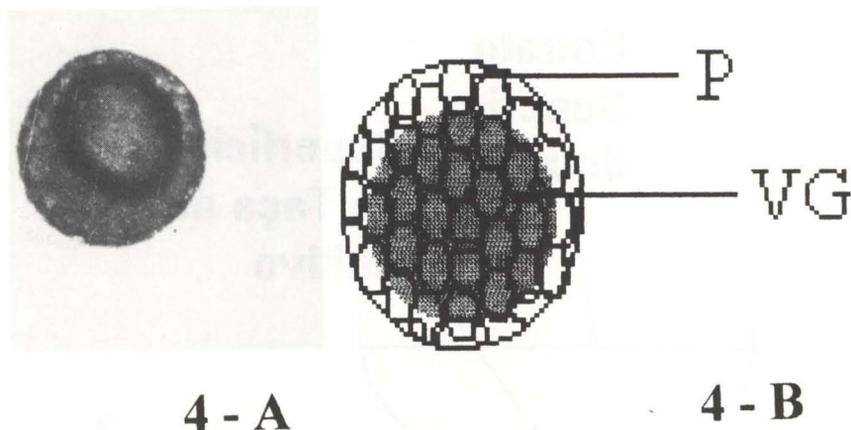


Fig. 4. Vacúolo de gás situado junto a região superior da testa. (A) Foto do organismo; (B) figura esquemática. (P) partículas da testa, (VG) vacúolo de gás.

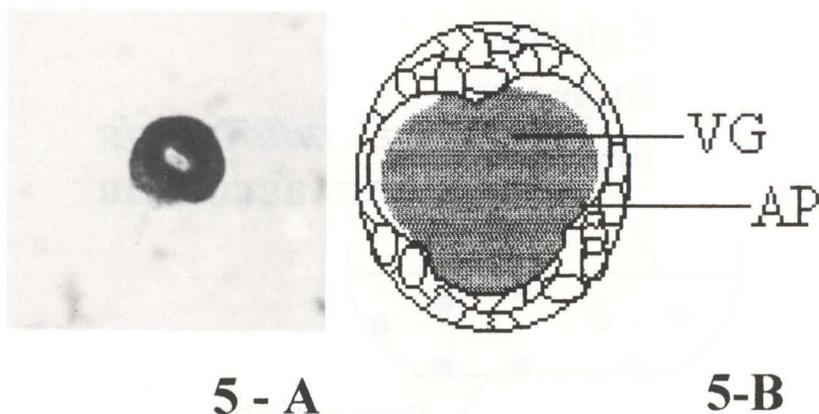


Fig. 5. Vacúolo de gás situado junto a região inferior (oral) da testa. (A) foto do organismo; (B) figura esquemática. (AP) abertura pilomar, (VG) vacúolo de gás.

A formação de vacúolos foi observada em espécimes isolados e clonados, três semanas após sua inoculação em meio de cultura, quando eles migraram (Fig. 3) do frasco para o estrato superior do meio de cultivo. Nesta fase, normalmente observa-se uma lâmina de bactérias na superfície do frasco.

Os vacúolos de gás formam-se dentro de sítios específicos no citoplasma, sendo então conduzidos para a região situada junto a parte superior ou inferior interna da testa (Figs 4, 5), de forma diferente, portanto, da ocorrente em *Arcella* (SCHMIDT-NIELSEN 1970; ODGEN 1991) onde estas deslocam-se espacialmente pelo citoplasma junto ao perímetro da mesma.

Os vacúolos, independentemente do número formado inicialmente, deslocam-se para a região superior ou inferior interna da testa onde fusionam-se formando geralmente um único grande vacúolo, este se expande por acoplamento de novos

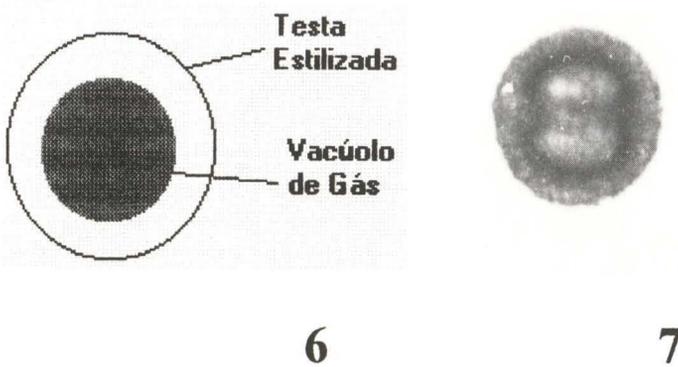
pequenos vacúolos até ocupar aproximadamente 80% da superfície dorsal da testa, assumindo uma forma esférica (Figs 6, 7).

Conforme observado, o processo de formação de vacúolos e ascensão no meio de cultivo (Fig. 8) é mais acentuado quando do esgotamento dos nutrientes do meio, nas camadas mais inferiores. Um mecanismo de “fuga” é então estabelecido, o que possibilita o movimento de ascensão. Nem todos os indivíduos desenvolvem este mecanismo e a maior parte acaba por morrer.

O mecanismo de “fuga” é a forma através da qual, por ação de estímulos do meio, o testáceo começa a formação de vacúolos de gás que possibilitarão a ascensão-deslocamento vertical.

Os indivíduos que não se deslocam, por não conseguirem produzir os vacúolos de gás ou por não o fazer a tempo, morrem por razões diversas como inanição, queda na taxa de oxigênio dissolvido e aumento na concentração do meio provocando forte pressão osmótica (LEVEAU & BOUX 1985; DUMONT & MEESTER 1990).

Os indivíduos flutuantes encontrando organismos fototróficos e outros como alimento, além de encontrar material inorgânico adequado, conseguem mesmo se reproduzir (Figs 9-11).



Figs 6-7. (6) Testa estilizada de *Diffugia mitriformis*, em vista dorsal e com vacúolo de gás ao centro; (7) organismo em cultivo apresentando dois grandes vacúolos de gás; um fato raro nesta espécie.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Conforme BACHOFEN (1991) (Tab. I) os microorganismos podem produzir e consumir uma série de diferentes gases de acordo com a capacidade de cada táxon.

Diffugia mitriformis não é exceção a esta regra, consumindo oxigênio e produzindo dióxido de carbono. Suspeita-se que outros gases sejam também utilizados ou produzidos, embora não se possa afirmar tal fato.

Sendo *D. mitriformis* um organismo aeróbico, é de se esperar que a composição dos vacúolos seja de dióxido de carbono proveniente de ação metabólica ou oxigênio retido em grandes quantidades.

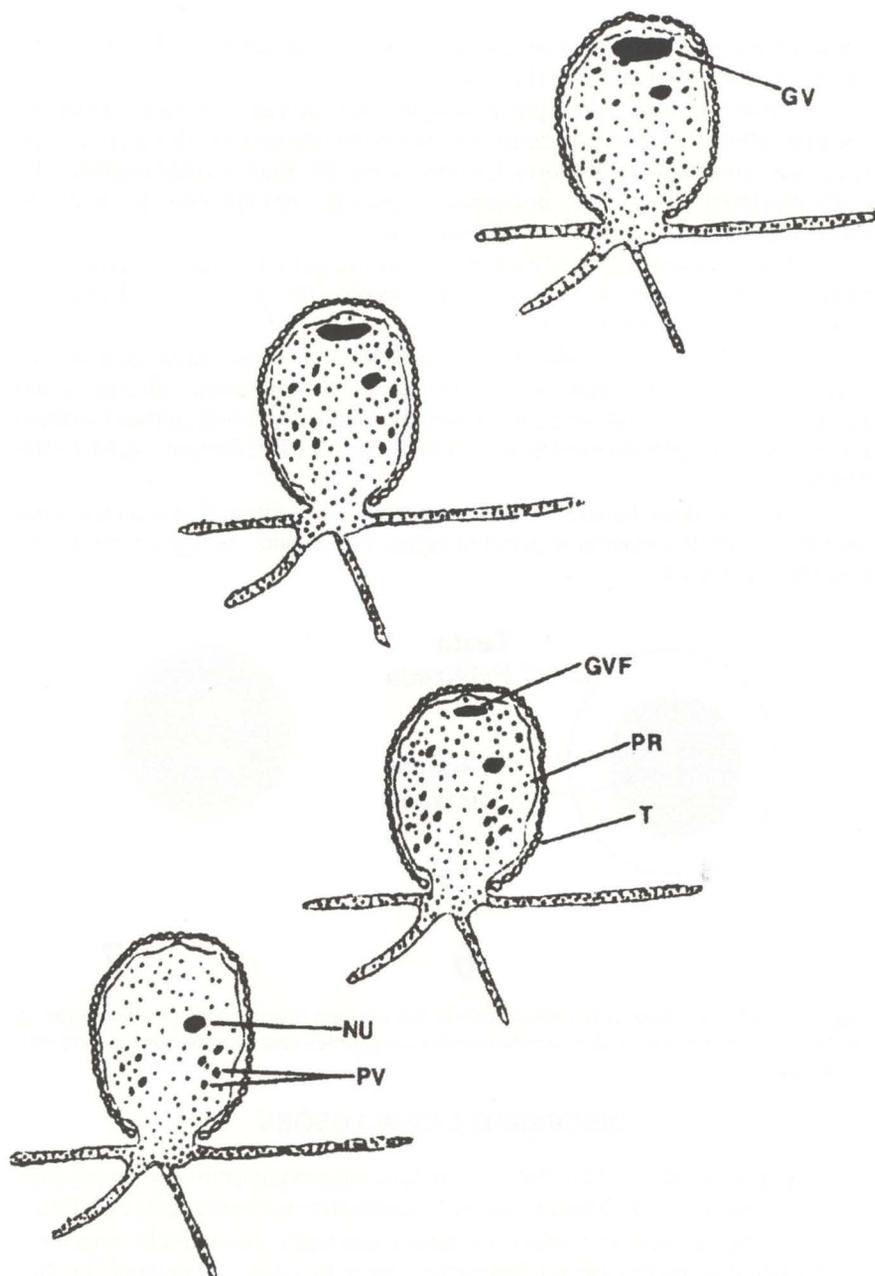
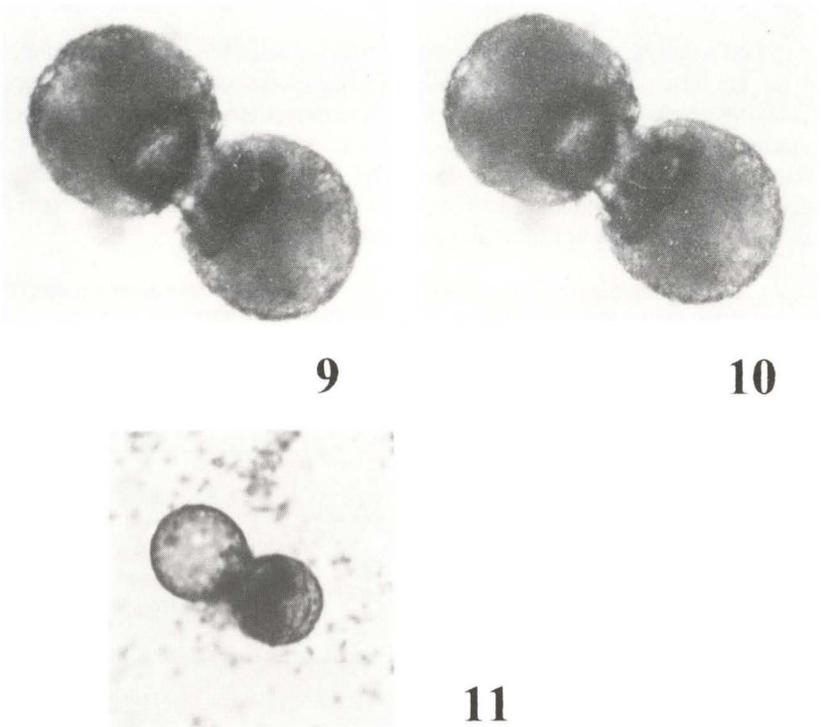


Fig. 8. A formação de vacúolos de gás e o movimento de ascensão em *Diffugia mitriformis*. (NU) núcleo, (PV) primeiros vacúolos em formação, (GVF) grande vacúolo em formação, (PR) protoplasma, (GV) grande vacúolo, (T) testa.



Figs 9-11. Reprodução por fissão binária de indivíduo de *Diffugia mitriformis*. (9) O vínculo citoplasmático é ainda bem visível e em segundo plano há um filme bacteriano; (10) já iniciada contração, vínculo citoplasmático e as células já estão quase divididos; (11) célula morta por razões desconhecidas, observa-se em segundo plano a presença de filme bacteriano e sílica em pó em suspensão.

Qualquer que seja o gás dos vacúolos, é efetiva a presença de uma membrana vacuolar (HUSZAR 1977; WALSBY 1977), por ser o dióxido de carbono tóxico em certas concentrações – variável para cada táxon, assim como o oxigênio, o qual pode se unir a radicais livres e prejudicar a estrutura do DNA, destruir membranas lipídicas e inativar uma série de enzimas celulares (FRANK & MASSARO 1980; DEBY 1991).

Conforme WALSBY (1977), esta membrana vacuolar se apresenta composta de uma estrutura protéica, sendo a face interna hidrófoba pela presença de aminoácidos alifáticos, o que parece lógico, pois apenas o gás ocorre internamente e a água não penetra nem por difusão.

Diferentemente de *Arcella discoides*, que leva aproximadamente dez minutos, e *Arcella catinus* (Penard, 1890), que leva cerca de 20 minutos para formar os vacúolos e se deslocar até a superfície do meio (ODGEN 1991), não foi possível determinar o tempo do mesmo processo em *Diffugia mitriformis*. O tempo de duração, entretanto, deste vacúolo pode ser de horas, quando então parece se esvaziar e o protista volta ao substrato.

FINLAY (1981) relata o comportamento de ciliados em migração periódica vertical, em busca de oxigênio. Considerando que o comportamento de formação de vacúolos de gás em *D. mitriformis* foi também observado nos habitats de origem dos organismos coletados, pode-se dizer que a ascensão permite, além da sobrevivência do indivíduo, a perpetuação da espécie e sua dispersão, uma vez que tais organismos podem facilmente aderir às pernas de outros animais ou à plumagem de aves, deste modo sendo transportados para outras regiões.

Tabela I. Gases produzidos ou consumidos por microorganismos. Médias de produção e consumo global são de aproximadamente 10^{14} a/ano (BACHOFEN 1991).

Gás	Produção	Consumo
H ₂	0,07 - 0,10	1,2
O ₂	10 ³ *	10 ³
Compostos de carbono		
CO ₂	3.10 ³	3.10 ³ *
CH ₄	5,3 - 8,3	?
CO	0,2 - 1,2	5,0
Hidrocarbonetos	?	?
Etileno	?	0,07 (para EUA)
Ácidos voláteis oleosos	?	?
Compostos de nitrogênio		
N ₂	?	1,75
N ₂ O	1,6 - 2,6	?
NO _x	0,77	6,0
NH ₃	11,9	?
Compostos sulfurosos		
H ₂ S	0,98	?
SO ₂	?	?
(CH ₃) ₂ S	?	?
(C ₂ H ₅) ₂ S	?	?

*. Por organismos fototróficos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACHOFEN, R. 1991. Gas metabolism of Microorganisms. *Experimentia* **47**: 508-513
- BLES, E.J. 1929. *Arcella*. A Study in Cell Physiology. *Q. J. Microscop. Sci.* **72**: 527-648.
- BONNET, L. 1979. Nouvelles observations sur l'ultrastructure de la paroi de la thèque chez les Thécamoebiens (Rhizopodes Testacés). *C.R. Acad. Sci. Serie D*, Paris, **288**: 227-230.
- DEBY, C. 1991. La Bioquímica del Oxígeno. *Mundo Científico* **111** (11): 286-294.
- DUMONT, H.J. & MEESTER, L. DE. 1990. Are Contrasting Patterns of Vertical Migration in Zooplankton the Result of Differential Natural Selection? *Rev. Brasil. Biol.* **50** (4): 867-874.

- ENGELMANN, T.W. 1869. Sur le Développement Périodique de Gaz dans le Protoplasma des Arcelles vivantes. **Archs néerl. Sci.** **4**: 424-173
- FINLAY, B.J. 1981. Oxygen Availability and Seasonal Migrations of Ciliated Protozoa in a Freshwater Lake. **Jour. Gen. Microbiology** **123**: 173-178.
- FRANK, L. & D. MASSARO. 1980. Toxidade por el Oxígeno. **Amer. J. Med.** **69**: 117-126.
- HUSZAR, V.L. DE M. 1977. **Contribuição ao Conhecimento das Algas Planctônicas do Lago da Barragem Santa Bárbara, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.** Dissertação de Mestrado, não publicada, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 143p.
- JEBRAM, D.H.A. 1993. Métodos básicos e novos para o cultivo de Protistas livres. **Comun. Mus. Ciênc. PUCRS**, Porto Alegre, **50**: 3-20.
- LEVEAU, J-Y. & M. BOUIX. 1985. Cinéticas Microbianas. In: R. SCRIBAN (Ed.). **Biotecnologia**. São Paulo, Manole, 489p.
- ODGEN, C.G. 1991. Gas Vacuoles and Flotation in the Testate Amoeba *Arcella discooides*. **J. Protozool.** **38** (3): 269-270.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1970. **Animal physiology in foundations of modern biology series**. New Jersey, Englewoodcliffs, 3rd edition.
- TORRES, V.S. & D.H.A. JEBRAM. 1993. *Arcella gibbosa microsoma* var.n. (Protozoa: Sarcodina, Arcellinida) descrição e observações feitas em seu cultivo. **Biotemas**, Porto Alegre, **6** (2): 20-29.
- . 1994. Amébas Testáceas Ocorrentes na Região de Porto Alegre, RS. **Biotemas**, Porto Alegre, **7** (1/2): 65-78.
- WALSBY, A.E. 1977. The Gas Vacuoles of Blue-Green Algae. **Sci. Amer.** **237** (2): 90-97.