

**Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais**

**DIVERSIDADE DOS CYCLOPOIDA (COPEPODA,  
CRUSTACEA) DE ÁGUA DOCE DO ESTADO DE SÃO  
PAULO: TAXONOMIA, ECOLOGIA E GENÉTICA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Recursos Naturais, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciências Biológicas) área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Doutorando: William Marcos da Silva  
Orientadora: Takako Matsumura-Tundisi.

São Carlos, 2003

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S586dc

Silva, William Marcos da.

Diversidade dos Cyclopoida (Copepoda, Crustácea) de água doce do estado de São Paulo: taxonomia, ecologia e genética / William Marcos da Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2003.

154 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2003.

1. Copepoda. 2. Distribuição geográfica. 3. Taxonomia. 4. Citogenética. 5. Biologia molecular. I. Título.

CDD: 595.34 (20ª)



**Este trabalho de Pesquisa foi desenvolvido e realizado nos Laboratórios do Instituto Internacional de Ecologia, São Carlos, SP, em convênio com os laboratórios da Dra. Grace Wyngaard (JMU, Virginia EUA) e do Dr. Flavio Henrique da Silva (LBM, UFSCar, São Carlos, SP).**



Dedico à

*Moderato*



Wave (tom Jobim)



Claudia, minha incansável  
companheira e ao meu pai...

in - sus - ce - bet

Jesus alegria dos Homens (J.S. Bach)

## **Agradecimentos**

A Prof. Dra. Takako Matsumura-Tundisi pela convivência, orientação e apoio.

A Prof. Dra. Odete Rocha pelas idéias e apoio.

Ao Prof. Dr. José Galizia Tundisi pelo incentivo e exemplo de vida.

Ao Prof. Dr. Carlos E. F. Rocha pela ajuda em conseguir parte da Bibliografia e dicas taxonômicas.

Ao Prof. Dr. Flavio Henrique da Silva pela grande ajuda nas técnicas de DNA e por ceder espaço em seu laboratório.

A Prof. Dra. Grace Wyngaard pela oportunidade trabalhar com biologia molecular e por acolher-me seus laboratórios na James Madison University, Harrisonburg, VA, EUA.

A Prof. Dra. Sarah Gerken por ensinar as técnicas de biologia molecular.

Ao Prof. Dr. Andrei Grishanin por ensinar-me a técnica de citogenética e pelas valiosas dicas e convivência em Harrisonburg.

Ao Prof. Dr. Orlando Moreira Filho pelas valiosas dicas sobre a preparação do material para citogenética.

A bióloga Joelma Regina Flores Furchi pela paciência e inestimável ajuda nas técnicas de Biologia Molecular.

Aos colegas do IIE pela ajuda inestimável nas análises de laboratório e nas expedições (em ordem alfabética): Andréia, Anna Paula, Deives, Fernando, Nestor e Valéria. E aos demais colegas pela convivência: Denise, José Eduardo, Michelle, Mirian, Rogério e Regina.

Aos amigos de sala e de cafezinho, João Durval e Donato Seiji Abe, e Igor pela convivência e trocas de idéias.

Aos colegas da James Madison University, pela convivência (em inglês) e pela ajuda na manutenção dos organismos.

A todos que direta e indiretamente influenciaram na tese, por convivência ou ensinamentos.

A Claudia Stefane por acompanhar-me em todos os momentos dando apoio e incentivo, além de muito amor.

A FAPESP pelo apoio financeiro processo: 98/5091-2 e pela bolsa concedida, processo: 99/05104-0.

A tese fez parte do programa Biota/FAPESP, Instituto Virtual da Biodiversidade ([www.biota.org.br](http://www.biota.org.br)).

## SUMÁRIO

<b>Lista de figuras</b> .....	i
<b>Lista de tabelas</b> .....	iii
<b>Resumo</b> .....	vii
<b>Abstract</b> .....	viii
<b>1- Introdução</b> .....	1
<b>2- Objetivos</b> .....	6
<b>2.1. Hipótese</b> .....	6
<b>3- Materiais e métodos</b>	
3.1. Área de estudo.....	7
3.2. Taxonomia.....	15
3.3. Citogenética.....	19
3.4. Biologia molecular.....	19
3.4.1. Modelos Markovianos aplicados à genética.....	20
3.5. .Ecologia: Distribuição e biodiversidade dos Cyclopoida de sistemas eutróficos e oligotróficos.....	21
<b>4- Resultados</b>	
<b>4.1. Taxonomia</b>	23
4.1.2.1. Chave de identificação para Subfamílias e Gêneros.....	23
4.1.2.2. Chave de identificação para espécies.....	28
<b>4.2. Descrição da espécie nova.</b> .....	32
4.2.1. <i>Termocyclops</i> n. sp.....	32
<b>4.3. Diagnose para as espécies dos gêneros encontrados</b> .....	36
4.2.1. Gênero <i>Acanthocyclops</i> .....	37
4.3.2. Gênero <i>Ectocyclops</i> .....	38
4.3.3. Gênero <i>Eucyclops</i> .....	41
4.3.4. Gênero <i>Macrocyclops</i> .....	49
4.3.5. Gênero <i>Mesocyclops</i> .....	51
4.3.6. Gênero <i>Metacyclops</i> .....	60
4.3.7. Gênero <i>Microcyclops</i> .....	62
4.3.8. Gênero <i>Paracyclops</i> .....	69
4.3.9. Gênero <i>Thermocyclops</i> .....	70
4.3.10. Gênero <i>Tropocyclops</i> .....	74
<b>4.4. Distribuição, abundância relativa e ocorrência das espécies de Cyclopoida nas UHGRHs do Estado de São Paulo.</b> .....	77
4.4.1. Unidade Mantiqueira.....	77
4.4.2. Unidade Paraíba do Sul.....	80
4.4.3. Unidade Litoral Norte.....	81
4.4.4. Unidade Pardo.....	82
4.4.5. Unidade Piracicaba/Capivari/Jundiá.....	82
4.4.6. Unidade Alto Tietê.....	83
4.4.7. Unidade Baixada Santista.....	85
4.4.8. Unidade Sapucaí/Mirim/Grade.....	85
4.4.9. Unidade Mogi-Guaçú.....	86
4.4.10. Unidade Sorocaba/Médio Tietê.....	88
4.4.11. Unidade Ribeira do Iguape.....	88
4.4.12. Unidade Baixo Pardo/Grande.....	89
4.4.13. Unidade Tietê/Jacaré.....	90
4.4.14. Unidade Paranapanema (Alto, Médio e Pontal).....	92

4.4.15. Unidade Turvo/Grande.....	92
4.4.16. Unidade Tietê/Batalha.....	93
4.4.17. Unidade São José dos Dourados.....	94
4.4.18. Unidade Baixo Tietê.....	95
4.4.19. Unidade Aguapeí.....	96
4.4.19. Unidade Peixe.....	97
<b>4.4.2. Mapa de distribuição geográfica das espécies de Cyclopoida do Estado de São Paulo durante o período de estudo (1999-2003).....</b>	<b>99</b>
<b>4.5. Análise comparativa da diversidade de Cyclopoida em relação ao estado trofia de reservatórios das Unidades Alto Tietê, Médio Tietê, Ribeira do Iguape e Sapucaí Grande.....</b>	<b>106</b>
<b>4.6. Citogenética.....</b>	<b>112</b>
<b>4.7. Biologia molecular.....</b>	<b>116</b>
4.7.1.Extração do DNA.....	116
4.7.2. Amplificação do gene do ITS2.....	116
4.7.3.Sequenciamento.....	117
4.7.4. Obtenção da seqüência de ITS2.....	117
4.7.5. Comparação entre as seqüências obtidas nos EUA e no Brasil.....	119
4.7.6.Comparação entre espécies de mesmo gênero.....	122
4.7.6. Modelos Markovianos aplicados à genética.....	125
<b>5- Discussão.....</b>	<b>127</b>
<b>6- Conclusões .....</b>	<b>137</b>
<b>7- Referencia bibliográfica.....</b>	<b>139</b>
Anexos.....	145
Protocolo 1- Citogenética.....	146
Protocolo 2- Extração de DNA de microcrustáceos.....	148
Protocolo 3- Amplificação do DNA do ITS2.....	149
Seqüência de ITS2 das espécies <i>Mesocyclops ogunnus</i> , <i>M. longisetus</i> , <i>M. longisetus longisetus</i> , <i>Thermocyclops decipiens</i> e <i>Thermocyclops inversus</i> .....	151



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> 22 UHGRHs do estado de são Paulo (1-Mantiqueira, 2-Paraíba do Sul, 3-Litoral Norte, 4-Pardo,, 5-Piracicaba/Capivari/Jundiai, 6-Alto-Tietê,7-Baixada Santista, 8-Sapucaí-Mirim/Grande, , 9-Mogi-guaçu, 10-Sorocaba-Medio-Tietê, 11-Ribeira do Iguape e litoral sul, 12-Baixo Pardo/Grande, 13-Tietê/Jacaré, 14-Alto Paranapanema, 15-Turvo/Grande, 16-Tiete/Batalha, 17-Médio Paranapanema,18-São José dos Dourados, 19-Baixo Tietê, 20-Aguapeí, 21-Peixe, 22-Pontal do Paranapanema).....	7
<b>Figura 2.</b> Fêmea. Esquema, nomenclatura e localização das estruturas anatómicas de interesse taxonômico em Cyclopoida.....	18
<b>Figura 3.</b> A - P5 de <i>Macrocylops</i> ; B- P5 de <i>Eucyclops</i> ; C- P5 de <i>Tropocyclops</i> ; D- P5 de <i>Ectocyclops</i> ; E- Ramos caudais de <i>Paracyclops</i> ; F- Ramos caudais de <i>Eucyclops</i> ; G- Ramos caudais de <i>Ectocyclops</i> ; H- Segmento genital e receptáculo seminal de <i>Tropocyclops</i> .....	26
<b>Figura 4.</b> P5: A- <i>Metacyclops</i> ; B e C:- <i>Microcylops</i> , D- <i>Thermocyclops</i> ; E- <i>Mesocyclops</i> ; F- <i>Acanthocyclops</i> .....	27
<b>Figura 5.</b> <i>Thermocyclops</i> n.sp. A - fêmea; B - Antena 1; C- Antena 2; D- Mandíbula; E- Maxílpede; F- Maxila; G- Maxílula; H- P1; I- P2; J- P3; L-P4; M-P5; N- Segmento genital e receptáculo seminal; O- Último segmento abdominal e ramos da furca.....	34
<b>Figura 6.</b> <i>Thermocyclops</i> n.sp. A - Macho; B- Antena 1; C- Abdome e ramos da furca. ....	35
<b>Figura 7.</b> <i>Acanthocyclops robustus</i> . A - 5 <sup>o</sup> . apêndice torácico e segmentos abdominais (seta indica ornamento do ultimo seg. torácico).; B-coxa e esclerito intercoxal do P4 (Seta indicando os espinhos da parte distal da coxa); C- P5.;D- Endopodito 3 do P4. ....	37
<b>Figura 8.</b> <i>Ectocyclops herbsti</i> . A - P5.; B - Antena 1; C- Segmentos genital e abdominais. ....	39
<b>Figura 9.</b> <i>Ectocyclops rubescens</i> . A - Segmento abdominal e ramos caudais; B- P5; C- Antena 1. ....	40
<b>Figura 10.</b> <i>Eucyclops cf. ensifer</i> . A- Segmentos abdominais e ramos da cauda(seta indicando os espinhos ornamentais).; B-P5.; C- P4.; E- Antena 1	44
<b>Figura 11.</b> <i>Eucyclops elegans</i> . A- Segmento abdominais e ramos caudais.; B- P5.; C- P4.; D- Antena 1. ....	45
<b>Figura 12 .</b> <i>Eucyclops cf. prinophorus</i> . A- Segmentos abdominais e ramos caudais.; B-5o. segmento e P5; C- Antena 1.; D- P4. ....	46
<b>Figura 13.</b> <i>Eucyclops subciliatus</i> . A - Segmentos abdominais.; B-P4; C- P5 (seta indicando a posição subapical do espinho). ....	47
<b>Figura 14.</b> <i>Eucyclops sp.</i> A - Segmentos abdominais.; B-P4; C- 5 <sup>o</sup> . segmento torácico e P5; D- Antena 1. ....	48
<b>Figura 15.</b> <i>Macrocylops albidus</i> . A - último artículo da antena 1 (seta indicando a membrana hialina).; B - Antena 2.; C- P5.; D- Ramos caudais.; E- Esclerito intercoxal.; F - Ultimo artículo do endopodito do P4.; G- Receptáculo seminal. ....	49
<b>Figura 16.</b> <i>Mesocyclops aspericornis</i> . A-último artículo da antena 1.; B- Antena 2.; C- P4, artículo terminal do endópodo.; D - Esclerito intercoxal e coxopodito do P4.; E - Receptáculo seminal e ultimo segmento torácico (seta indica parte posterior do braço sem curvatura).; F - Ramos caudais (seta indica as cerdas internas).....	54

- Figura 17. *Mesocyclops ellipticus*.** A - Artículo terminal da antena 1.; B- antena 2.; C- Coxopodito e esclerito intercoxal do P4 (seta indica projeções do esclerito); D- Receptáculo seminal (seta indica a posição de inserção dos braços do receptáculo).; E -Último artículo do endopodito do P4 (seta indica espinho apical interno).; F - Ramos caudais. .... 55
- Figura 18. *Mesocyclops meridianus*.** A - Último artículo da antena 1.; B- Antena 2.; C- Ramos caudais.; D - Esclerito intercoxal do P4 (seta indica a margem distal do esclerito intercoxal).; E - Receptáculo seminal; F - P4, último artículo do endópodo. .... 56
- Figura 19. *Mesocyclops ogunnus*.** A - Antena 2, basípodo face caudal seta indica espinhos transversais).; B - Palpo da maxilula (seta indica espinhos ornamentais).; C - Coxopodito e esclerito intercoxal do P4.; D - Receptáculo seminal.; E - Ramos da cauda.; F - ultimo artículo do endopodito do P4..... 57
- Figura 20. *Mesocyclops longisetus longisetus*.** A- Último artículo da antena 1.; B- Antena 2, basípodo face frontal.; C- P4, último artículo do endópodo.; D- Ramos caudais.; E - Receptáculo seminal (seta indica braços do receptáculo seminal).; F - Esclerito intercoxal. .... 58
- Figura 21. *Metacyclops mendocinus*.** A - Ramos da cauda.; B-P4; C - P5; D - Segmento genital..... 60
- Figura 22. *Microcyclops anceps anceps*.** A- Basípodo da A2; B- Segmentos abdominais.; C - Cefalotorax e 2º.segmento torácico (seta indica ornamentações); D- P1; E- P4; F- P5 (seta indica espinho lateral); 63
- Figura 23. *Microcyclops ceibaensis*.** A - Basípodo da antena 2; B- Segmentos abdominais e receptáculo seminal; C- Furca (seta indica ornamentos acima do espinho lateral); D- P5 torácico e segmento genital; E- P4 ; F- Segementos torácicos 4 e 5 e seg. genital; G-1º apêndice torácico (P1). 64
- Figura 24. *Microcyclops finitmus*.** A - Basípodo da A2; B - Segmentos abdominais.;C-4o e 5o segmentos torácicos e segmento genital; D- P1; E- Detalhe do segmento torácico 4 (seta indica ornamentos); F- P4. 65
- Figura 25. *Microcyclops alius*.** A - Segmentos abdominais e ramos da cauda (seta indica espinhos ornamentais).; B-P1; C-P4; D - P5. .... 66
- Figura 26. *Paracyclops chiltotni*** A - Segmento anal e ramos caudais (seta indica depressões cuticulares); B - Segmento genital; C- P5..... 68
- Figura 27. *Thermocyclops decipiens*.** A - Coxopodito e esclerito intercoxal do P4(seta indica ornamentos na margem distal).; B - Último artículo do endópodo do P4.; C-P5.; D - Receptáculo seminal.; E - Ramos da cauda. 71
- Figura 28 *Thermocyclops minutus*.** A -Coxopodito e esclerito intercoxal do P4.; B - Último artículo do endópodo do P4.; C: P5;D- Receptáculo semina (seta indica depressão n aparte proximal do na margem anterior). E - Ramos caudais..... 72
- Figura 29. *Thermocyclops inversus*.** A- Coxopodito e esclerito intercoxal do P4 (seta indica espinho apical interno).; B - último artículo do endópodo do P4.; C -Receptáculo seminal.; D- P5.; E - Ramos da cauda..... 73
- Figura 30. *Tropocyclops prasinus meridionalis*.** A - Esclerito intercoxal e coxopodito do P4 .; B - Ultimo artículo do endopodito do P4.; C- P5.; D- Ramos caudais..... 75
- Figura 31. *Tropocyclops prasinus prasinus*.** A - Antena 1 .; B- P5.; C- 3º endopodito do P4.; D - segmentos abdominais e ramos caudais..... 76
- Figura 31.** Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A-

<i>Acanthocyclops robustus</i> ; B- <i>Ectocyclops herbsti</i> ; C- <i>Ectocyclops rubescens</i> .....	99
<b>Figura 33.</b> Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A - <i>Eucyclops elegans</i> ; B- <i>Eucyclops cf. ensifer</i> ; C- <i>Eucyclops prinophorus</i> ; D- <i>Eucyclops sp</i> ; <i>Eucyclops subciliatus</i> ; E- <i>Macrocyclus albidus</i> .....	100
<b>Figura 34.</b> Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A - <i>Metacyclops mendocinus</i> ; B- <i>Mesocyclops l. longisetus</i> ; C- <i>Mesocyclops meridianus</i> ; D- <i>Mesocyclops aspericornis</i> ;E- <i>Mesocyclops ellipticus</i> ; F- <i>Mesocyclops ogunnus</i> .....	101
<b>Figura 35.</b> Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A - <i>Microcyclus anceps</i> ; B- <i>Microcyclus alius</i> ; C- <i>Microcyclus ceibaensis</i> ; D- <i>Microcyclus finitimus</i> ; E- <i>Paracyclops chiltoni</i> .....	102
<b>Figura36.</b> Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- <i>Thermocyclops decipiens</i> ; B- <i>Thermocyclops n. sp.</i> ; C- <i>Thermocyclops inversus</i> ; D- <i>Thermocyclops minutus</i> ; E- <i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i> ; F- <i>Tropocyclops prasinus prasinus</i> .....	103
<b>Figura 37.</b> Localização das represas estudadas. 1- Billings; 2- Barra Bonita; 3- Bariri; 4-Ibitinga; 5-Promissão; 6- Nova Avanhandava; 7- Três Irmãos;8-França; 9- Fumaça; 10- Barra; 11- Porto Raso; 12- Alecrim; 13- Serraria; 14-Iporanga; 15-Jurupará; 16- Estreito; 17- Jaguará, 18- Iguarapava; 19- Volta Grande.....	106
<b>Figura 38.</b> Valores obtidos pelo Índice de Carlson para fósforo e clorofila. HE= Hipereutrófico; Eu= Eutrófico; Me= Mesotrófico; Ol= Oligotrófico. 1- Billings; 2- Barra Bonita; 3-Bariri; 4-Ibitinga; 5-Promissão; 6- Nova Avanhandava; 7- Três Irmãos;8-França; 9- Fumaça; 10- Barra; 11- Porto Raso; 12- Alecrim; 13- Serraria; 14-Iporanga; 15-Jurupará; 16- Estreito; 17- Jaguará, 18- Iguarapava; 19- Volta Grande.....	108
<b>Figura 39.</b> Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas da bacia do Rio Tietê.....	110
<b>Figura 40.</b> Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas da Unidade Ribeira do Iguape.....	111
<b>Figura 41.</b> Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas do Rio Grande.....	112
<b>Figura 42.</b> Ovo de <i>Mesocyclops longisietus longisetus</i> apresentando diversas células em divisão celular, e no detalhe 7 cromossomos em metáfase incompleta e o esquema ilustrando posição e forma dos cromossomos....	113
<b>Figura 43.</b> Ovo <i>Mesocyclops longisietus longisetus</i> com célula em metáfase com os cromossomos duplicados, 2n=14 e o esquema ilustrando a posição e forma dos cromossomos.....	114
<b>Figura 44.</b> A- Células do ovo de <i>Mesocyclops longisietus longisetus</i> em anáfase antes da 4ª clivagem, sem perda de cromatina; B- Célula na 4ª clivagem com cromatina excluída ↑; C- Células após 4ª clivagem com cromossomos sem parte da cromatina.....	115
<b>Figura 45.</b> Esquema do gene do ribossomo que apresenta o ITS2 e locais de atuação dos primers.....	116
<b>Figura 46.</b> Resultados obtidos pela comparação da seqüência de <i>M. ogunnus</i> e seqüências do banco de genes, com as seqüências entre <i>M. ogunnus</i> (Sbjct) , <i>Cleptocampus deitersi</i> (Query) e <i>Oithona simplex</i> (query).	119
<b>Figura 47.</b> Alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie <i>M. ogunnus</i> extraído	

	no EUA (MO_EUA) e extraído no Brasil (MO-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2.....	120
<b>Figura 48.</b>	Alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie <i>Thermocyclops decipiens</i> extraído no EUA (Td_EUA) e extraído no Brasil (Td-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2.....	121
<b>Figura 49.</b>	Alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie <i>Mesocyclops longisetus</i> coletado nos EUA (MI_EUA) e coletado no Brasil (MI-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2.....	122
<b>Figura 50.</b>	Alinhamento das seqüências das espécies <i>Mesocyclops ogunnus</i> e <i>M. longisetus longisetus</i> .....	123
<b>Figura 51.</b>	Alinhamento das seqüências das espécies <i>Thermocyclops decipiens</i> (TD) e <i>T. inversus</i> (TI).....	124
<b>Figura 52.</b>	cladograma baseada nas diferenças das seqüências de ITS2. As espécies com “Br” tiveram as seqüências feitas no Brasil e as “EUA” tiveram as seqüências feitas nos Estados Unidos. A espécie <i>Mesocyclops longisetus longisetus</i> é a espécie brasileira e <i>M. longisetus</i> é a espécie norte americana.....	125
<b>Figura 53.</b>	Análise de modelo Markoviano para as espécies de Cyclopoida. A- <i>Thermocyclops decipens</i> ; B- <i>Mesocyclops ogunnus</i> C- <i>Mesocyclops longisetus longisetus</i> .....	126

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> As 22 Unidades hidrográficas e o número de corpos de água amostrados em cada unidade.....	8
<b>Tabela 2.</b> Lista dos corpos de água amostrados por UHGRH e suas receptoras coordenadas geográficas em Latitude e Longitude.....	8
<b>Tabela 3.</b> Frequência de ocorrência das espécies nas Unidades Hidrográficas de São Paulo.....	78
<b>Tabela 4.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Mantiqueira .....	79
<b>Tabela 5.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Paraíba do Sul. ....	80
<b>Tabela 6.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Litoral norte.....	81
<b>Tabela 7.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Pardo.....	82
<b>Tabela 8.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade piracicaba-Capivari-Jundiá.....	83
<b>Tabela 9.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Alo Tietê.....	84
<b>Tabela 10.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Baixada Santista.....	85
<b>Tabela 11.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Sapucaí/Mirim/Grande.....	86
<b>Tabela 12.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Migi-Guaçú.....	87
<b>Tabela 13.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Sorocaba/Médio Tietê.....	88
<b>Tabela 14.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Ribeira do Iguape.....	89
<b>Tabela 15.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Pardo/Grande.....	90
<b>Tabela 16.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Tietê/Jacaré.....	91

<b>Tabela 17.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Paranapanema (Alto, Médio e Pontal).....	92
<b>Tabela 18.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Turvo/ Grande.....	93
<b>Tabela 19.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Tietê/Batalha.....	94
<b>Tabela 20.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade São Jose dos dourados.....	95
<b>Tabela 21.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Baixo Tietê.....	96
<b>Tabela 22.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Agauapeí.....	97
<b>Tabela 23.</b> Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Peixe.....	98
<b>Tabela 24.</b> Valores para Oxigênio dissolvido, pH, condutividade, fósforo total, nitrato, nitrogênio total orgânico e clorofila a.....	107
<b>Tabela 25.</b> Índice de estado trófico das represas estudadas e o índice de estado trófico trófico de Carlson.....	108
<b>Tabela 26.</b> Número de espécies de Cyclopoida nas represas estudadas.....	109

## RESUMO

Com o objetivo de conhecer a biodiversidade de Copepoda Cyclopoida do Estado de São Paulo foi realizado coletas de água em suas 22 unidades hidrográficas de gerenciamento de recursos hídricos (UHGRH). As coletas foram realizadas em diversos sistemas incluído represas, lagoas e rios, totalizando 207 corpos de água e todos georeferenciados com GPS. As amostras de Cyclopoida foram coletadas com rede de 68  $\mu\text{m}$  de poro em arrastos verticais na zona limnética e coletados com equipamentos apropriados na região litorânea. As amostras foram preservadas em formol 4%. A identificação das espécies de Cyclopoida foi realizada analisando as fêmeas adultas. A distribuição das espécies foi realizada por submissão dos dados georreferenciados para plataforma do SinBiota/FAPESP. A biodiversidade e abundância das espécies em reservatórios de diferentes graus de trofia foi realizado para as represas do Rio Tietê, da Unidade Ribeira do Iguape e da Unidade Pardo Grande. Foi realizado pela primeira vez no Brasil a extração e sequenciamento do DNA de Cyclopoida. Foi sequenciado o DNA do ITS 2 das espécies: *Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops inversus*, *Mesocyclops ogunnus* e *Mesocyclops longisetus longisetus*. Foi realizado também pela primeira vez no Brasil a citogenética para Cyclopoida, sendo utilizada a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus*. Foi registrado para o Estado de São Paulo mais 6 espécies, sendo uma espécie nova *Thermocyclops n. sp.* e 5 novos registros, *Acanthocyclops robustus*, *Eucyclops elegans*, *Eucyclops cf. prinophorus*, *Microcyclops alius* e *Mesocyclops aspericornis*. Totalizando para o Estado de São Paulo 10 gêneros e 26 espécies. Com base nas diferenças morfológicas foi elaborado uma chave de identificação para gêneros e espécies do Estado de São Paulo com ilustrações das partes anatômicas de interesse. Foi constatado que as espécies *Mesocyclops ogunnus* e *Mesocyclops meridianus* são respectivamente *M. kieferi* e *M. brasilianus* anteriormente identificadas no Estado de São Paulo. Do gênero *Paracyclops* a espécie *P. chiltoni* encontrada nos corpos de água do Estado é a mesma encontrada na represa do Broa identificada como *P. fimbiratus*. As espécies mais amplamente distribuídas nas 22 UHGRHs foi *Thermocyclops decipiens* presente em 20 UHGRH seguida por *Mesocyclops longisetus longisetus* presente em 16 UHGRHs e *Thermocyclops minutus*, *Mesocyclops ogunnus*, *Mesocyclops meridianus* e com presença em 15 UHGRHs. As represas mais eutrofizadas apresentaram uma maior riqueza e densidades similares de distribuição das espécies de Cyclopoida do que as represas menos eutrofizadas. As espécies *Thermocyclops decipiens*, *Mesocyclops ogunnus*, *Acanthocyclops robustus* e *Thermocyclops inversus* foram mais abundantes em sistemas eutrofizados enquanto que as espécies *Thermocyclops minutus* e *Thermocyclops n. sp.* apresentaram maior abundância nos sistemas menos eutrofizados. A espécie *Thermocyclops igaupensis* n.sp. teve sua distribuição geográfica restrita as Unidades Ribeira do Iguape e Paraíba do Sul. As seqüências do DNA do ITS2 apresentou alta variação entre as diferentes espécies e baixa ou nenhuma variação entre as mesmas espécies. A análise citogenética feita na espécie *Mesocyclops longisetus longisetus* mostrou que a espécie possui  $2n = 14$  cromossomos e apresenta perda de cromatina a partir da 4ª clivagem do ovo. Os estudos mostraram que a biodiversidade é melhor conhecida se estudada em diversos aspectos tais como taxonômico, ecológico e genético. Esta tese fez parte do Programa BIOTA/FAPESP o instituto virtual da biodiversidade.

**ABSTRACT**

In the present work, the diversity of the Copepoda Cyclopoida from Sao Paulo State was studied. Samples of zooplankton were collected along with water samples were collected in 22 Hydrographic Management Units (UHGRH) of the State. Different environments, such as Reservoirs, Ponds, and Rivers were sampled totalizing 207 water bodies. All of them were positioned by using GPS. Samples of zooplankton were collected using net with 68 $\mu$ m of mesh size. Vertical hauls were performed in limnetic zone, while in littoral zone horizontal hauls and bucket were used. The plankton samples were preserved in formaldehyde 4%. Identifications of Cyclopoida were achieved using adult females forms. The data thus obtained were submitted to the SinBiota World Web Site where Geographical distribution of Cyclopoida was plotted to the map of the Sao Paulo State using the geographic coordinates obtained from GPS. It was compared the biodiversity and abundance of Cyclopoida in Reservoirs with different trophic degrees located in the Basins of rivers Tietê, Ribeira do Iguape, and Grande. ITS 2 sequence of DNA of the Cyclopoida was obtained for the following species: *Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops inversus*, *Mesocyclops ogunnus* and *Mesocyclops longisetus longisetus*. Number of chromosomes *Mesocyclops longisetus longisetus* was counted and a chromatin diminution observed. New Cyclopoida species, *Thermocyclops* n. sp., was first described and five species, *Acanthocyclops robustus*, *Eucyclops elegans*, *Eucyclops cf. prinophorus*, *Microcyclops alius*, and *Mesocyclops aspericornis*, were newly registered in the São Paulo State. With this, there are now 10 genera and 26 species recorded in the Sao Paulo State. A key to genres and species in the São Paulo State was proposed based on morphological differences, including draws from the anatomical characteristics which are important for taxonomy. It was proved that species identified earlier in the São Paulo State as *Mesocyclops kieferi* and *Mesocyclops brasiliensis* were actually confused with species *Mesocyclops ogunnus* and *Mesocyclops meridianus*, respectively. It was found that *Pacyclops fimbriatus*, recorded earlier in the Broa Reservoir, is actually *Pacyclops chiltoni* inhabiting Sao Paulo water bodies. *Thermocyclops decipiens* was found to be the most broadly distributed species of the Cyclopoid recorded in 20 of 22 hydrographic units followed by *Mesocyclops longisetus longisetus* recorded in 16 units and *Thermocyclops minutus*, *Mesocyclops ogunnus* and *Mesocyclops meridianus* recorded in 15 units. Based on our observations, we concluded that, in contrast to the common opinion, highly eutrophicated Reservoirs present the highest species richness and distribution equitability as compared to oligotrophic ones. It was found that *Acanthocyclops robustus*, *Mesocyclops ogunnus*, and *Thermocyclops inversus* present the high abundance in eutrophic systems, along with *Thermocyclops decipiens*. On the other hand, *Thermocyclops* n. sp., as well as *Thermocyclops minutus*, have presented the high abundance in systems less eutrophicated streams. We found that the newly described species *Thermocyclops* n. sp. is distributed specifically in the Basins of Ribeira do Iguape and Paraíba do Sul. ITS 2 sequence of DNA varied greatly between different species, while no significantly variation was observed between specimens of the same species. *Mesocyclops longisetus longisetus* was found to possess  $2n = 14$  chromosomes and presented the chromatin diminution in 4<sup>th</sup> egg cleavage. The present study clearly shows that the exhaustive study of the biodiversity needs the use complex approaches as taxonomy, ecology and genetics.

This work is part of Biota/FAPESP program, the virtual institute of biodiversity.



## 1-Introdução

A biodiversidade é a informação genética não redundante contida num segmento da biosfera (Margalef, 1994). Esta informação quando aparente se reflete na diversidade de espécies, logo a diversidade esta intrinsecamente ligada à biodiversidade. A biodiversidade tem sido perdida com o aumento da população e com o uso dos recursos naturais pelos seres humanos. Neste contexto, o sistema aquático é um dos principais receptores dos impactos antrópicos. Tundisi (2003) sintetiza os principais impactos causados pelas alterações nos ecossistemas aquáticos que são refletidos em perda de biodiversidade, são eles: Introdução de espécies exóticas, remoção de vegetação ciliar, remoção de áreas alagadas, eutrofização excessiva, usos de equipamentos de recreação, construção de áreas alagadas, aumento da navegação, aumento da toxicidade aquática, poluição e contaminação, construção de represas, aumento do material em suspensão, interferência no regime hidrológico e canalização excessiva.

O zooplâncton é uma fração da comunidade aquática que por seu tamanho diminuto e por possuir um curto ciclo de vida são os primeiros a refletirem as mudanças ambientais. Um dos principais componentes do zooplâncton de água doce é o grupo dos Cyclopoida, que são os copépodos mais abundantes e de maior sucesso nos sistemas dulciaquícolas (Huys & Boxshall, 1991). Os estudos para o conhecimento da biodiversidade dos Cyclopoida, assim como os de outros grupos, têm sido realizados de maneira fragmentada. Estes estudos muitas vezes se pautam em trabalhos exclusivamente ecológicos que contém erros de identificação. Logo, o estudo taxonômico mais profundo sobre o grupo dos Cyclopoida é essencial para o mapeamento da biodiversidade destes organismos e para o melhor entendimento do papel dos impactos antrópicos na diversidade de espécies.

O estudo taxonômico dos Cyclopoida de água doce teve início no século XVIII com pesquisadores europeus. Inicialmente os Copepoda Cyclopoida foram classificados como insetos da ordem aptera por Linnaeus (1758), incluído todos no gênero *Monoculus*. Em 1785, Müller adotou a nomenclatura *Cyclops* para os gêneros do grupo dos Cyclopoida e divisões subsequentes foram propostas por Rehberg (1880), Claus (1893) e Kiefer (1927 e 1929). Atualmente os Copepoda Cyclopoida de água doce estão em duas sub-famílias: Eucyclopinae e Cyclopinae, compostas por 8 e 35 gêneros respectivamente (Karaytug, 1999).

No Brasil a taxonomia de Cyclopoida de água doce teve início no fim do século XIX com a vinda das expedições de pesquisadores europeus tais como as de Richard (1897) e Sars (1901). Nestes primeiros estudos, as espécies foram registradas baseado-se em descrições de espécies européias. Em estudos posteriores, Kiefer (1925, 1929, 1933, 1935) e Lowndes (1934), descreveram espécies novas para o Brasil e América do Sul. Reid (1985), elaborou através de revisão bibliográfica uma compilação para os Copepoda Cyclopoida, propondo uma chave de identificação para as espécies da América do Sul. Entretanto, estes esforços de compilação apresentaram falhas de perpetuar erros cometidos por outros autores, pois, os "tipos" não foram analisados.

No Estado de São Paulo, os estudos taxonômicos de Cyclopoida foram iniciados por Douwe (1912). Os corpos de água analisados até meados do século XX foram rios, lagoas marginais e temporárias, uma vez que o estado de São Paulo no início do século era desprovido de grandes lagos artificiais.

Nos ambientes anteriormente citados as espécies planctônicas são pouco desenvolvidas prevalecendo mais espécies de fundo. Com o aumento da construção de represas para fins de hidreletricidade e de irrigação iniciado na década de 60, as espécies planctônicas se proliferaram ocupando todos estes sistemas artificiais (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999).

Na década de 80 as pesquisas sobre Copepoda Cyclopoida no estado de São Paulo tiveram início com o projeto "Tipologia de Represas". Estes estudos resultaram nos primeiros levantamentos de espécies dos reservatórios do estado. Sendacz & Kubo (1982) fizeram os primeiros registros para os reservatórios das Bacias do Alto-Tiete, Ribeira do Iguape e Paraíba do Sul, Matsumura-Tundisi et al. (1981) realizaram estudos nos reservatórios das bacias dos rios Grande Médio-Tietê, Pardo, Paraná e Paranapanema e Arcifa (1984) em alguns reservatórios do Paraíba do Sul, Alto Tietê e Piracicaba. Matsumura-Tundisi & Rocha (1983), aprofundaram os estudos taxonômicos com levantamento de fauna de Copepoda Cyclopoida da represa do Broa, interior do Estado de São Paulo.

Entretanto, Matsumura-Tundisi & Silva (1999), em sua revisão sobre os Copepoda Cyclopoida do Estado de São Paulo verificaram a necessidade de uma melhor identificação taxonômica deste grupo. A maioria dos estudos que envolvem a comunidade zooplânctônica se preocupa com aspectos ecológicos de abundância, distribuição e dominância em relação à comunidade e deixando em segundo plano, o estudo taxonômico que exige uma identificação correta em nível de espécie.

A distribuição dos Copepoda Cyclopoida atualmente está sendo revista. Kiefer (1981) em seu artigo sobre a distribuição da espécie *Mesocyclops leuckarti*, discutiu a distribuição desta espécie até então considerada cosmopolita, e a partir de sua revisão foi constatada que a espécie *M. leuckarti* era restrita à Europa e à Ásia. Confirmando os estudos de Kiefer (1981), Van de Velde (1984) ao estudar a distribuição e taxonomia de *Mesocyclops* do continente africano, concluiu que muitas espécies consideradas amplamente distribuídas eram na verdade espécies restritas ao continente africano e que foram mal identificadas. Dussart & Fernando (1986), ao verificarem a distribuição das espécies de *Mesocyclops* concluíram que poucas espécies são cosmopolitas, e que estas espécies necessitariam de uma revisão para confirmar o *status* de cosmopolita.

Karaytug & Boxshall (1998) e Karaytug (1999) estudando também a distribuição de espécies do gênero *Paracyclops* concluíram que espécies consideradas cosmopolitas, como a espécie tipo *Paracyclops fimbriatus*, não é cosmopolita e sim restrita geograficamente. Há entretanto, caso de espécies cosmopolitas, como por exemplo a espécie *Acanthocyclops americanus* identificada como espécie nova da América do Norte tratar-se de sinonímia da espécie européia *Acanthocyclops robustus-vernalis* segundo a revisão feita por Kiefer (1976).

Variações morfológicas nas populações de Cyclopoida são normais e que ocorrem com maior ou menor frequência dependendo da espécie. Dodson (1984), estudando populações do grupo *Acanthocyclops robustus-vernalis*, verificou que esse grupo possui grande plasticidade em relação a variação de temperatura e aos diferentes habitats, constituindo populações isoladas morfológica e reprodutivamente. Estes problemas de variação morfológica encontram na genética e na bioquímica uma forte ferramenta para sua solução. Entretanto, algumas dificuldades têm sido encontradas para padronizar os estudos com estas técnicas como diagnosticado por Huys e Boxshall (1991). Contudo, são técnicas que vêm para auxiliar na solução de problemas de filogenia, evolução e distribuição dos Copepoda Cyclopoida.

Wyngaard & Rasch (2000) propõem a utilização dos conhecimentos sobre números de cromossomos (citogenética), tamanho do DNA e padrões de perda de cromatina como ferramentas para a taxonomia. A citogenética de Cyclopoida teve seu primeiro estudo sistemático realizado por Braun (1909), que o fez para diversas espécies européias: *Macrocyclus albidus*,  $2n=14$ , *Macrocyclus fuscus*,  $2n=14$ , *Macrocyclus fuscus distinctus*,  $2n=11$ , *Ectocyclops pharellatus*,  $2n=13$ , *Mesocyclops leuckarti*,  $2n=14$ , *Cyclops insignis*,  $2n=22$ , *C. strenus*,  $2n=22$ , *Acanthocyclops vernalis*,  $2n=10$ , *A. veridis*,

2n=11, *Diacyclops bicuspidatus*, 2n=18, *D. b. odessanus*, 2n=18, *Metacyclops gracilis*, 2n=6, *Cryptocyclops bicolor*, 2n=12, *Thermocyclops dybowskii*, 2n=18.

Chambers (1912) realizou os estudos citogenéticos para espécies de Cyclopoida norte-americanas: *Macrocyclus albidus*, 2n=14, *Macrocyclus albidus*, 2n=14, *Acanthocyclops veridis*, 2n=11, *Acanthocyclops americanus*, 2n=10, *Acanthocyclops robustus*, 2n=6, *Orthocyclops modestus*, 2n=8. Makino (1951) organizou as informações disponíveis e confeccionou uma listagem com as espécies de Cyclopoida e seus respectivos números de cromossomos.

Chinnapa & Victor (1979) utilizaram a citogenética como uma ferramenta para auxiliar na taxonomia, identificando espécies de Cyclopoida do lago Ontário, Canadá. Seus resultados mostraram que algumas espécies americanas concordam totalmente com seus respectivos europeus, entretanto algumas espécies consideradas cosmopolitas não tiveram uma resposta positiva quanto à alguns padrões citogenéticos.

Wyngaard & Chinnapa (1982) ao estudarem a biologia e genética de Cyclopoida, mostraram que para estudos taxonômicos, filogenéticos e evolutivos têm que se considerar diversos aspectos da citologia para se fazer uma boa correlação. Segundo estes autores os estudos devem considerar o número de cromossomos assim como fenômenos como perda de cromatina e meiose com ou sem quiasma.

Estudos minuciosos sobre a perda de cromatina em Cyclopoida foram realizados por Beerman (1977) e forneceram informações para o estudo filogenético do grupo utilizando-se dos padrões de cada espécie para a perda de cromatina. Dorward & Wyngaard (1997), listam as espécies norte americanas e européias que apresentam este fenômeno e aqueles que não o apresentam, e fornecem os possíveis usos destes conhecimentos para organização filogenética e na evolução dos grupos de Cyclopoida. O tamanho do DNA também proposta como ferramenta taxonômica para o grupo dos Cyclopoida foi utilizada por Wyngaard & Rasch (2000), com a listagem para algumas espécies da Europa e Estados Unidos. Com os avanços na biologia molecular no campo da taxonomia, mais e mais grupos de pesquisa nesta área estão se valendo das ferramentas oferecidas por esta tecnologia para aprimorar seus estudos. O sucesso obtido com a filogenia de bactérias que teve o grupo *Archea* que foi desvinculada dos *procariontes* com base no RNA ribossômico alavancou os estudos baseados em taxonomia molecular (Perry & Stanley, 1997).

O Filo dos Arthropoda teve seu grande salto na taxonomia molecular a partir de 2001 com os estudos de Gibiret et al (2001). Este autor sugeriu uma nova organização

para o filo com o agrupamento dos subfilos Mandibulata e Myriapoda baseado em oito conservativos loci gênicos e na morfologia. Entretanto, para níveis próximos como gênero e espécies é aconselhado utilizar loci menos conservativos e um dos mais usados é o ITS2, sigla inglesa para os espaços intergênicos que ficam localizados no gene que codifica o RNA. Segundo Hoezel & Dover (1991) os espaços intergênicos são um dos mais úteis componentes do genoma nuclear para identificação de indivíduos, pois se repetem varias centenas de milhares de vezes no genoma.

Atualmente com os avanços da biologia molecular, outras ferramentas tais como: a seqüência de RNA e padrões bioquímicos dos nucleotídeos estão sendo propostas para auxiliar na taxonomia, filogenia, evolução e distribuição do filo Artropoda (Regier & Shultz ,2001 e Giribet et al., 2001). A utilização destas ferramentas para auxiliar na taxonomia de Copepoda esta sendo pesquisada e aprimorada. Para o grupo dos Cyclopoida esforços para mapear alguns locis-gênicos e seqüências de RNA ribossômicos de importância taxonômica têm sido feitas por Wyngaard et al. (1995), Rasch & Wyngaard (2001). Estes esforços pretendem tornar a taxonomia menos artificial e mais precisa quanto à filogenia e à evolução.

O presente estudo contempla em seus objetivos aspectos dos três ramos da atual sistemática: a taxonomia, a ecologia e a genética para o grupo dos Cyclopoida de água doce, contribuindo para o conhecimento da Biodiversidade do Estado de São Paulo.

## **2-Objetivos**

- 1- Conhecer a biodiversidade do Cyclopoida do Estado de São Paulo, aprofundando o estudo taxonômico, identificando as espécies de forma correta baseando-se em literaturas de descrição original das espécies, eliminando problemas de sinonímia e erros de identificação.
- 2 Produção de mapas de distribuição geográfica das espécies de Cyclopoida no estado de São Paulo através da inserção dos dados bióticos no SINBIOTA/FAPESP.
- 3 Produzir chave de Identificação das espécies de Cyclopoida continentais de água doce do Estado de São Paulo.
- 2- Usos técnicas de citogenética e genética molecular para solucionar problemas de taxonomia de espécies de Cyclopoida .

### **2.1- Hipótese**

O conhecimento da biodiversidade dos Copepoda Cyclopoida do Estado de São Paulo aumenta com o aprofundamento dos estudos taxonômicos, ecológicos e genéticos.

### 3- Materiais e métodos

#### 3.1. Área de estudo

A figura 1 mostra o estado de São Paulo e suas 22 Unidades Hídricas de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UHGRH). Foram amostradas no mínimo de 2 e máximo de 20 corpos de água por unidade abrangendo represas, lagoas marginais e rios, sendo exploradas as regiões litorânea e limnética, quando os possuíam. A tabela 1 lista as unidades e o número de amostras em cada uma, totalizando 207 corpos de água, estes listados na tabela 2 com suas respectivas coordenadas geográficas obtidas por GPS Garmin III.

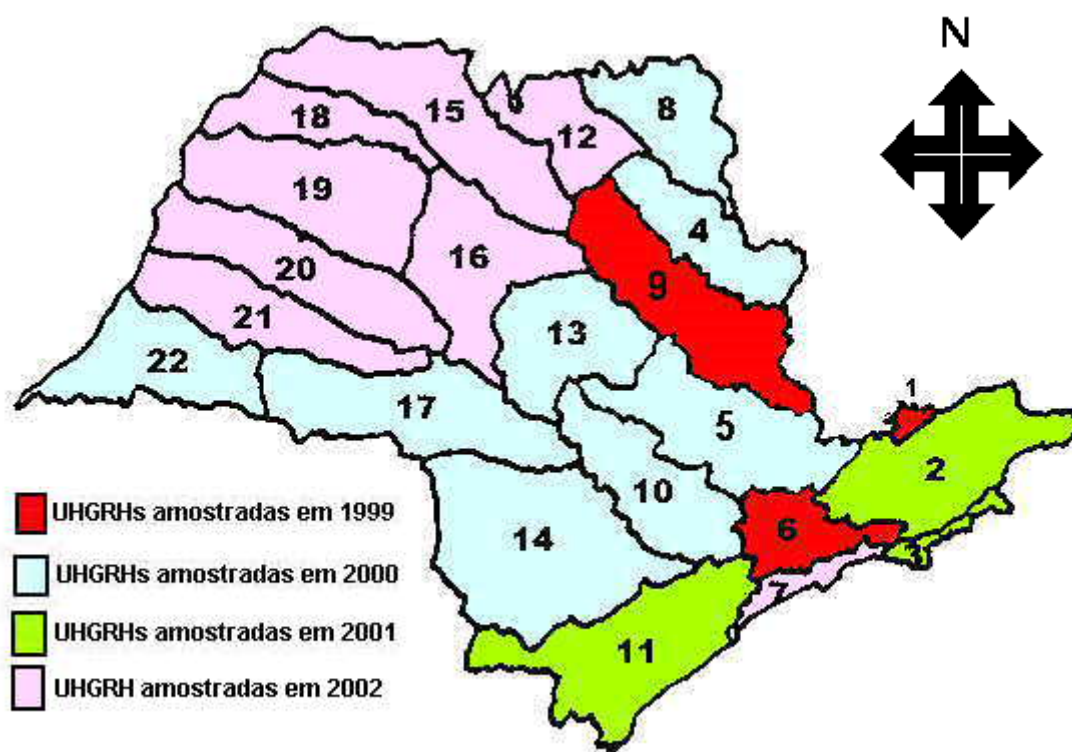


Figura 1. 22 UHGRHs do estado de São Paulo (1-Mantiqueira, 2-Paraíba do Sul, 3-Litoral Norte, 4-Pardo,, 5-Piracicaba/Capivari/Jundiaí, 6-Alto-Tietê, 7-Baixada Santista, 8-Sapucai-Mirim/Grande, 9-Mogi-Guaçú, 10-Sorocaba-Medio-Tietê, 11-Ribeira do Iguape e litoral sul, 12-Baixo Pardo/Grande, 13-Tietê/Jacaré, 14-Alto Paranapanema, 15-Turvo/Grande, 16-Tiete/Batalha, 17-Médio Paranapanema, 18-São José dos Dourados, 19-Baixo Tietê, 20-Aguapeí, 21-Peixe, 22-Pontal do Paranapanema).

Tabela 1. As 22 Unidades hidrográficas e o número de corpos de água amostrados em cada unidade.

UHGRH	Número de amostras coletas
Mantiqueira (1)	19
Paraíba do Sul (2)	8
Litoral Norte(3)	11
Pardo(4)	5
Piracicaba/Capivari/Jundiai (5)	6
Alto-Tietê (6)	16
Baixada Santista (7)	7
Sapucaí-Mirim/Grande (8)	4
Mogi-guaçu (9)	29
Sorocaba-Medio-Tietê (10)	3
Ribeira do Iguape e litoral sul (11)	11
Baixo Pardo/Grande(12)	7
Tietê/Jacaré (13)	21
Parapanema (14, 17 and 22 )	7
Turvo/Grande (15)	13
Tiete/Batalha (16)	8
São José dos Dourados (18)	5
Baixo Tietê (19)	8
Aguapeí (20)	12
Peixe (21)	7
<b>Total amostrado</b>	<b>207</b>

Tabela 2. Lista dos corpos de água amostrados por UHGRH e suas receptoras coordenadas geográficas em Latitude e Longitude. Os corpos de água foram assim classificados: Hidrelétricas (Hi), Represas (Re) (abastecimento, piscicultura, irrigação e desedentação de animais), Redutores de velocidade (RV) (usados para abastecimento), Lagoa Marginal (LM), Lagoa (área inundada) e Rio.

UHGRH 1 Mantiqueira		
Corpos de água	Latitude	Longitude
Re Fojo Est. I	22°42.910' S	045°32.097' W
ML Fojo I	22°42.946' S	045°32.087' W
ML Lambaris	22°41.394' S	045°28.966' W
ML Ninfóides	22°41.442' S	045°29.140' W
Re H. Florestal . 1	22°41.43' S	045°29.140' W
Re H. Florestal -. 2	22°41.422' S	045°29.140' W
Re H. Florestal -. 3	22°41.40' S	045°29.140' W
Re H. Florestal .4	22°41.392' S	045°29.140' W
Re H. Florestal . 5	22°41.3' S	045°29.140' W
Re Sta Isabel Est.I	22°43.582' S	045°27.016' W
Rio das Trutas	22°43.343' S	045°27.096' W



Re Tundra	22°43.304' S	045°27.130' W
Re Lavrinhas 1	22°42.130' S	045°25.202' W
Re Lavrinhas 2	22°41.846' S	045°25.154' W
Re Inst. Pesca	22°42.846' S	045°28.154' W
Re Itapeva - pelág.	22°46.190' S	045°31.794' W
Re Hípica 1	22°43.394' S	045°33.093' W
Re Hípica 2	22°43.346' S	045°33.070' W
Re Vila Inglesa	22°44.474' S	045°34.106' W
<hr/>		
UHGRH 2- Paraiba do Sul		
<hr/>		
Hi Santa Branca	23°22' 05,5" S	045°51' 28,2" W
Hi Paraibuna	23°26' 53,2" S	045°33' 43,5" W
ML Olaria	22°49' 06,5" S	045°13' 24,2" W
ML Marginal	23°49' 19,1" S	045°12' 45,3" W
Hi Funil	22°30' 43,3" S	044°38' 01,2" W
Re Hotel	22°37' 32,5" S	044°38' 47,7" W
Rio Parque Bocaina	22°44' 33" S	044°36' 58,2" W
Re Ch. S.Bocaina	22°38' 54,4" S	044°35' 37,6" W
<hr/>		
UHGRH 3- Litoral Norte		
<hr/>		
Re Rio Macaco	23°25'29,9"S	45°08'09,5"W
RV Rio Grande	23°23'42,8"S	45°07'10"W
RV Rio Piaba	23°31'45,0"S	45°15'28,1"W
RV Cantinho do Céu	23°31'54,1"S	45°15'31,5"W
L Poção	23°35'40,7"S	45°23'35,5"W
Rio Guaximduba	23°36'29,3"S	45°23'39,4"W
Rio Baixo	23°41'55,8"S	45°29'14,0"W
RV Rio Macaco	23°32'08,0"S	45°17'30,6"W
RV S.Francisco	23°45'28,8"S	45°25'14,3"W
RV Água Branca	23°50'11,7"S	45°21'30,3"W
RV Pombo II	23°52'04,4"S	45°25'29,2"W
<hr/>		
UHGRH 4- Pardo		
<hr/>		
Re Graminha	21°34.'48,2"S	47°37'9,6W
Re Itaiquara	21°35'4,98"S	46°44' 52"W
Re Faz Graminha	21°32'55,8"S	46°49'36,2"W
Hi Euclides da Cunha	21°36'3,1"S	46°56'54,4"W
Re FazSanta Helena	21°32'06"S	46°50 '29,7"W
<hr/>		
UHGRH 5- Piracicaba/Capivari/Jundiá		
<hr/>		
Hi Igaratá	23°11' 24,78"S	46°07' 14,5"W
Hi Cachoeira	23 °07 30,54"S	46°17' 18,9"W
Re Piracaia	23°04 '14,46"S	46°19' 19,4"W
Re Atibainha	23°10' 33,3 "S	46°23' 12,2"W
Re Atibaia	23°05'29,34'"S	46°38' 8,16"W
Hi Salto Grande	22° 42' 19" S	47° 15'54"W

(Americana)

## UHGRH 6 - Alto Tiete

Re Pedro Beicht	23°43.052' S	046°57.636' W
Re Cach. das Graças	23°39.224' S	046°58.062' W
Re P. Paiva Castro	23°19.935' S	046°39.247' W
Re. Águas Claras	23°23.910' S	046°39.524' W
L.Parque Ecológico 1	23°29,196' S	046°30,805' W
L.Parque Ecológico 2	23°29.071' S	046°31,080' W
Re. Billings (Riacho Grande)	23°47.488' S	046°32,681' W
Re Billings (Estoril)	23°45.894' S	046°30.966' W
L. Rib. Pires	23°41.318' S	046°22.419' W
Re Taiaçupeba	23°34.801' S	046°16.922' W
Re Jundiá	23°39.017' S	046°11.516' W
Re Ribeirão do Campo	23°38.690' S	045°49.882' W
L. Aterro	23°38.742' S	045°51.649' W
Re Ponte Nova	23°35.834' S	045°56.786' W
Re Pirapora	23°23.479' S	046°59.663' W
Re Guarapiranga	23° 40' 48,3"S	46° 43' 24,9"W

## UHGRH 7- Baixada Santista

RV Sub-Alvea	23° 53' 13,9"S	46° 27' 10,1"W
RV Jurubatuba	23° 51' 12,2"S	46° 16' 20,5"W
RV Jurubatuba Mirin	23° 51' 27,1"S	46° 17' 26,0"W
RV Mambu	24° 02' 00,5"S	46° 49' 22,6"W
RV Aguapeú	24° 06' 52,4"S	46° 47' 19,3"W
Rio Cabuçú	24o 19' 27,5"S	47° 04' 49,8"W
Re Rio das Pedras	23o 51' 24,7"SS	46° 27' 52,5"W

## UHGRH 8- Sapucaí / Grande

Hi Estreito	20°09'454'S	47°15'934' W
Hi Jaguará	20°04'755'S	47°24'610' W
Hi Volta Grande	20°08'669'S	48°02'343' W
Hi Igaratá	20°07'669'S	49°02'343' W

## UHGRH 9 – Mogi-Guaçú

RV Elektro- Cach. de Emas	21°58.982'S	47°52.682' W
Re dos Biguás	25°08.555'S	52°01.528' W
Re Urbano	19°59.500'S	49°23.900' W
Re do David	22°19.433'S	46°45.446' W
Re Fazenda Aurora	20°59.820'S	47°58.946' W
L. do Diogo	21°37.450'S	47°48.403' W
Re Cristal	21°36.414'S	47°47.948' W
Re Santa Margarida	21°27.555'S	48°02.020' W
L do Barro Preto	21°29.638'S	48°01.987' W
L das Cabras	21°29.149'S	48°03.723' W

L do Peixe	21°37.420'S	47°48.403' W
L Verde	21°20.624'S	48°07.125' W
Re Urbano	21°37.420'S	47°48.403' W
Re 2J (Usina Santa Adélia)	21°55.906'S	48°04.739' W
Re do Paço Municipal	21°05.016'S	48°33.530' W
Re São Geraldo	22°19.434'S	46°45.446' W
Re Fazenda Sobrado II	22°00.784'S	47°10.097' W
Re Interlagos	22°03.362'S	46°59.043' W
Re da Praça Basílio		
re.Seschini	21°56.060'S	46°42.947' W
Re da Churrascaria	21°57.289'S	46°43.218' W
Re Irmãos Ribeiro	22°10.016'S	46°46.717' W
Re Municipal Íria Mota Silva	22°10.782'S	46°44.627' W
Re Churrascaria Sto Antonio	22°33.866'S	46°32.313' W
Re Ivo Carotini	22°27.959'S	46°37.660' W
Re dos Macaquinhos	22°36.901'S	46°44.272' W
Re Jovino Silveira	22°37.892'S	46°43.630' W
Re. CEPTA	22°01.982'S	47°52.682' W
Re Mogi-Guaçu	22°22.935'S	46°53.935' W
Re Lago Municipal	22°21.638'S	47°23.009' W
<hr/>		
UHGRH 10- Sorocaba		
<hr/>		
Re Itupararanga	23°35.813' S	047°18.075' W
Re Prainha	23°34.894' S	047°26.045' W
Re Hedberg	23°25.607' S	047°35.678' W
<hr/>		
UHGRH 11- Ribeira do Iguape		
<hr/>		
Rio Rib. Iguape	24°35'25,2"S	48°35'44,7"W
Re Cong.Cris. no Brasil	24°33'01,6"S	48°08'04,1"W
Re de Juquiazinho	23°56'00,5"S	47°30'25,0"W
Hi do Porto Raso	24°03'30,6"S	47°24'35,1"W
Hi da Serraria	24°08'43,2"S	47°32'27,8"W
Hi Alecrim	24°04'46,1"S	47°28'34,1"W
Hi Cach. da França	23°56'04,4"S	47°11'20,7"W
Hi fumaça	24°00'16,2"S	47°15'40,6"W
Hi Barra	24°00'00,5"S	47°20'37,3"W
Hi do Iporanga-CBA	24°06'08,2"S	47°43'48,1"W
Hi. de Jurupará	23°57'19,0"S	47°23'58,0"W
<hr/>		
UHGRH 12- baixo pardo/Grande		
<hr/>		
Re Urbano	20° 46' 32,3"SS	48° 27' 03,0"W
Rio do Turvo	20° 40' 40,6"SS	48° 30' 40,1"W
Re Cestari	20° 33' 53,4"S	48° 34' 46,2"W
Hi Porto Colômbia	20° 07' 35,5"S	48° 33' 43,3"W
Rio Foz do Rio Pardo	20° 10' 23,2"S	48° 37' 41,4"W

Re dos Soppa	20° 11' 12,3"S	48° 38' 59,9"W
Hi Marimbondo	20° 18' 30,1"S	49° 10' 29,4"W

---

 UHGRH 13- Jacaré / Tiete
 

---

Re Jardim Botânico	22°20.304'S	49°00.866' W
Re Zoológico	22°20.515'S	49°01.060' W
Re Rio Batalha	22°22.875'S	49°06.924' W
Re Secretaria da Agricultura	22°21.340'S	48°45.387' W
Re da Fazenda Primavera	22°07.724'S	47°51.630' W
Re Instituto Florestal	22°14.864'S	47°49.421' W
Re da Areia que Canta	22°18.904'S	48°03.072' W
Re Fazenda Sonho Meu I	22°24.902'S	48°14.353' W
Re Sítio Mariano Lopes	22°23.317'S	48°22.859' W
Re Marisa (Usina Tamoio)	21°55.523'S	48°06.590' W
Re Faz. Méia Ribeirão		
Itaquê	21°47.654'S	48°33.896' W
Re Fazenda Palmeiras	21°45.708'S	48°41.953' W
Re Sítio Boa Vista	21°47.281'S	48°47.831' W
Hi Broa	22°10.224'S	47°54.244' W
Re 29	21°53.742'S	47°49.034' W
Re do Chile	21°52.024'S	47°51.917' W
Re do Clube Náutico	21°42.405'S	48°01.614' W
Hi Jacaré Pepira	22°05.224'S	46°54.244' W
Hi Bariri	22°09.728'S	48°44.560' W
Hi Barra Bonita	22°31.818'S	48°31.231' W

---

 UHGRHs 14, 17 & 22 Alto Paranapanema, Médio Paranapanema e pontal do Paranapanema
 

---

Hi Jurumirim	23°13.38'S	49°13.30,7"W
Hi Chavantes	23°8 26,7'S	49°42.24,3"W
Hi Canoas I	22°56.30,7'S	50°30.41,3"W
Hi Salto Grande	22°53.53'S	49°59.32,5"W
Hi Capivara	22°39.3,3'S	51°20.27"W
Hi Taquaruçu	22°32.36,4'S	51°59.18,6"W
Hi Rosana	22°35.40'S	52°51.13,8"W

---

 UHGRH 15- Turvo/ Grande
 

---

Re Rio Grande	21° 16' 11,6"S	48° 31' 42,2"W
Re Faz.Sucesso	20° 57' 48,5"S	48° 40' 45,3"W
Re Sítio Liberdade	20° 52' 34,1"S	48° 40' 31,2"W
Re Tabapuã	20° 56' 02,3"S	49° 05' 15,8"W
Re.São Domingos	21° 05' 37,8"S	49° 01' 20,4"W
Re Santana	20° 56' 24,9"S	49° 15' 29,0"W
Re Fazenda Brasil	20° 45' 45,8"S	49° 32' 58,4"W
Re Chác. Pomarco	20° 48' 51,4"S	49° 28' 55,1"W

Re Rio Preto	20° 51' 37,1"S	49° 20' 08,2"W
Re Tanabi	20° 32' 40,6"S	49° 37' 40,0"W
Re Ibiporanga	20° 24' 59,8"S	49° 29' 10,3"W
Hi Água Vermelha	19° 53' 06,6"S	50° 18' 32,9"W
Re Urânia	20° 14' 27,7"S	50° 36' 57,6"W

## UHGRH 16- Tietê Batalha

Re Rio das Pedras	21° 50' 49,8"	21° 57' 23,4"
Rio Tietê	21° 50' 36,4"	48° 57' 14,7"
Re Borborema	21° 39' 31,4"	49° 08' 36,3"
Re Rio Formoso	21° 21' 44,4"	49° 23' 07,5"
Hi Promissão	21° 20' 33,6"	49° 44' 37,2"
Hi Ibitinga	21° 50' 49,8"S	48° 57' 23,4"W
Re Faz. Sta. Catarina	21° 44' 07,9"S	48° 55' 47,6"W
Hi Promissão	21° 20' 33,6"S	49° 44' 37,2"W

## UHGRH 18- S. Jose dos Dourados

Hi Ilha Solteira	20° 22' 57,9"S	51° 20' 11,9"W
Re Estância Semax	20° 33' 11,6"S	50° 01' 37,6"W
ML SP-310	20° 39' 04,4"S	50° 27' 11,0"W
Re Sítio São Pedro	20° 42' 39,5"S	49° 52' 05,6"W
ML Monte Aprazível	20° 45' 18,0"S	49° 43' 20,2"W

## UHGRH 19- Baixo Tietê

Hi Nova Avanhandava	21° 06' 21,3"	50° 10' 55,8"
ML Birigui	21° 14' 47,2"	50° 23' 40,8"
L SP-463	21° 04' 41,5"	50° 27' 49,7"
L Araçatuba	21° 12' 03,4"	50° 32' 42,3"
L Rondon - Km 580	21° 11' 44,3"	50° 53' 52,0"
Hi Jupiá	20° 45' 09,3"	51° 37' 20,7"
Hi Três Irmãos	20° 40' 16,0"	51° 17' 00,0"
ML Rondon - Km 628	20° 57' 03,9"	51° 16' 41,9"

## UHGRH 20 – Aguapeí

Re urbano	22° 12' 56,6"S	49° 38' 44,6"W
Re Santa Thereza	22° 12' 11,8"S	49° 43' 49,7"W
Re 7 de Setembro	21° 51' 44,5"S	50° 32' 09,8"W
Re Country Clube	21° 56' 48,2"S	50° 25' 12,2"W
Re Rio Aguapeí	21° 42' 24,4"S	50° 30' 47,8"W
ML A. Chateaubriand	21° 41' 00,9"S	50° 36' 34,9"W
Rio Paraná	21° 20' 52,9"S	51° 51' 45,0"W
L central - R. Paraná	21° 17' 44,6"S	51° 51' 02,1"W
L central -R. Paraná 2	21° 14' 35,9"S	51° 51' 07,3"W
ML do Pau da Onça	21° 05' 15,8"S	51° 42' 42,1"W
ML do Marreco	21° 06' 04,1"S	51° 43' 53,3"W
Rio Foz do Aguapei	21° 03' 04,0"S	51° 45' 58,4"W

---

UHGRH 21- Peixe		
Re Municipal Cascata	22° 12' 52,2"S	49° 55' 31,9"W
Re Fazenda 3 Rios	22° 17' 48,8"S	49° 59' 33,5"W
Re Fazenda Jabuti	21° 47' 26,7"S	51° 03' 51,0"W
ML dos Patos	21° 44' 25,3"S	51° 22' 33,5"W
ML Rio do Peixe	21° 46' 12,9"S	51° 21' 04,1"W
Re Nasc. do Rib. Claro	21° 57' 03,0"S	51° 37' 48,2"W
Rio do Peixe	21° 32' 41,0"S	51° 57' 44,7"W

---

### **3.2. Taxonomia.**

A obtenção do material biológico para estudo o taxonômico foram realizadas com rede de plâncton 68  $\mu\text{m}$  de malha. As amostras foram coletadas em arrastos verticais nas regiões limnéticas e horizontais nas regiões litorâneas. Em locais extremamente rasos e com macrófitas utilizou-se balde para coletar água e realizar as filtragens. O material obtido foi concentrado e preservado em formol 4% e depositado na Universidade Federal de São Carlos, no Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva e no Instituto Internacional de Ecologia, São Carlos, SP.

As análises das populações para registrar a abundância relativa e a dominância de espécies foram realizadas em microscópio estereoscópico contando 20 ml por amostra, dependendo da densidade da amostra e em alguns casos de extrema pobreza do ambiente a análise foi realizada observando a amostra total.

Para a identificação dos Copepoda Cyclopoida foram utilizadas as fêmeas adultas. A identificação foi realizada com auxílio de microscópio óptico com aquisição de imagem. As peças de importância taxonômicas foram destacadas do corpo dos animais utilizando agulhas e colocadas em lâminas com adesivos para facilitar a movimentação das peças sob o microscópio e que posteriormente foram utilizadas para realizar os desenhos no programa TurboCad  $\text{\textcircled{R}}$  versão 6.5, programa de distribuição livre. Foram desenhadas as principais estruturas para identificação de cada espécie encontrada.

A fig. 2 mostra os esquemas e a localização das estruturas anatômicas numa fêmea adulta. A terminologia utilizada para estruturas, baseou-se em Barnes (1984) e Huys & Boxshall (1991) e para as estruturas específicas relativa a segunda antena do Cyclopoida foi utilizada a terminologia proposta por Van de Velde (1984). Segue a lista da terminologia das estruturas:

➤ Corpo dividido em duas partes:

**1-Cefalotórax ou prossoma**

**2-Abdome ou urossoma.**

**1-Cefalotórax ou prossoma** é composto por uma parte cefálica e outra torácica, sendo que o primeiro segmento torácico é fundido com o segmento cefálico e os demais segmentos livres.

1.1. Apêndices do segmento cefálico, são todos pares:

**A1- Primeira antena ou antenula**

**A2 - Segunda antena.**

**md - mandíbula**

**mxl - maxílula,**

**mx - maxila**

**mxx - maxilípede**

1.2. Apêndices dos segmentos torácicos:

**P1- Primeiro par de apêndices torácicos.**

**P2- Segundo par de apêndices torácicos**

**P3 -Terceiro par de apêndices torácicos**

**P4 - Quarto par de apêndices torácicos**

**P5 - Quinto par de apêndices torácicos**

Os quatro primeiros pares de apêndices torácicos (P1 a P4) são birremes e cada par de apêndice é composto por: *coxopodito* e *basipodito*, e nesse basipodito se insere dois ramos: o *exopodito* (ramo externo) e *endopodito* (ramo interno). Tanto o *endopodito* como *exopodito* são compostos por dois ou três *segmentos ou artículos*, denominados *primeiro segmento* (ligada ao basipodito), *segundo segmento* (unido ao primeiro) e *terceiro segmento* (unido ao segundo segmento). Os pares de apêndices destes segmentos torácicos são unidos por uma placa que une os coxopoditos, chamada de *esclerito intercoxal*.

O quinto segmento (**P5**) é diferenciado e reduzido, possuindo segmentos ou artículos que podem ser fundidos ao corpo, ou com um ou dois segmentos livres ornamentados com setas e ou espinhos.

**2- Abdome ou urossoma** (5 segmentos):



**Primeiro e segundo segmentos abdominais** se fundem formando o segmento genital.

**Terceiro segmento abdominal**

**Quarto segmento abdominal**

**Quinto segmento abdominal**

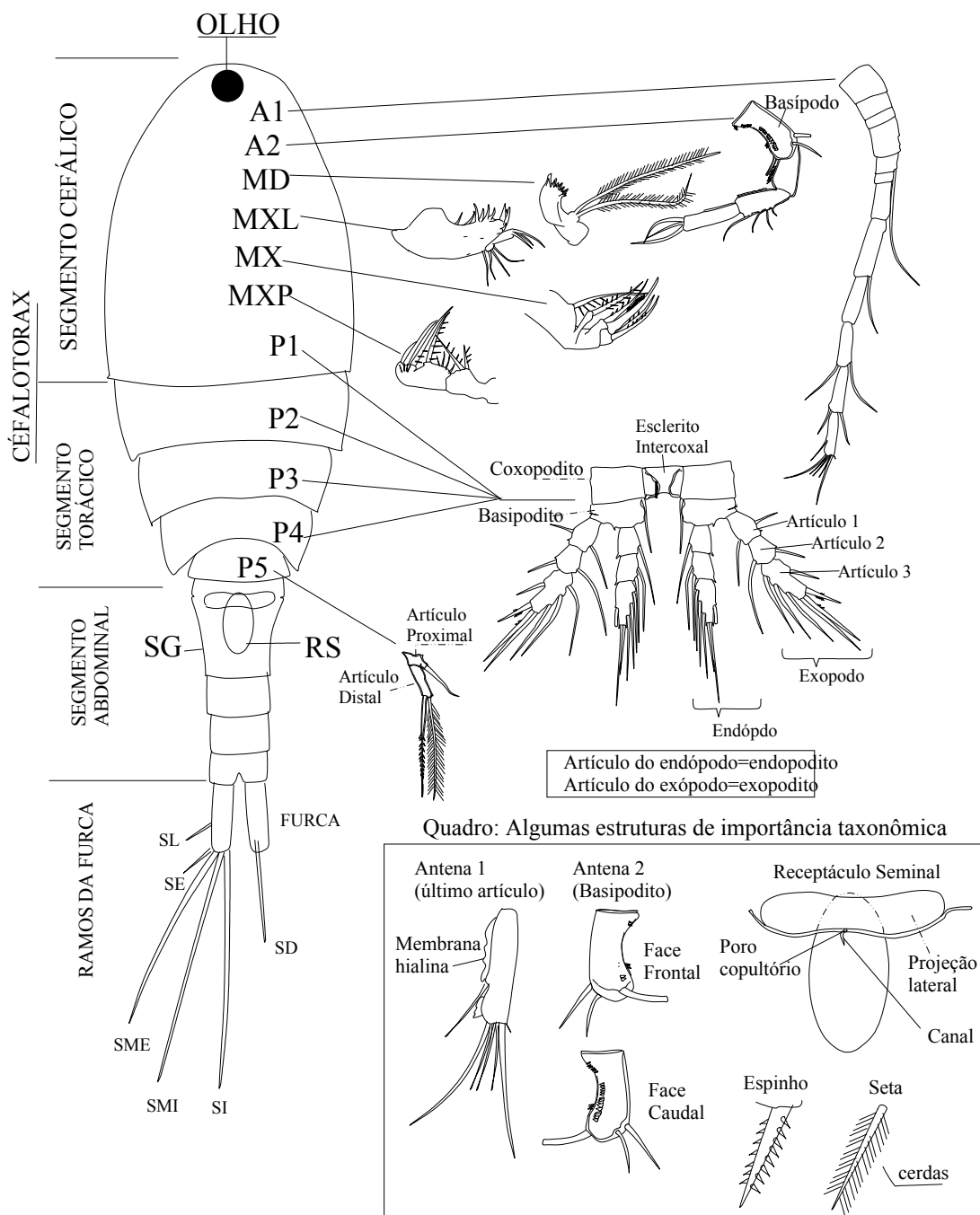
O *segmento genital* na fêmea fica localizado o ***receptáculo seminal***. No macho são evidentes ornamentos ou apêndices abdominais laterais formando um sexto par atrofiado de artículos (P6), este artículo na fêmea é vestigial.

No quinto segmento abdominal localizam-se os ***ramos caudais*** que formam a ***furca***. **As ornamentações consistem em** (Fig. 2, Quadro):

- *Setas*: são estruturas maleáveis de tamanho geralmente maior que o espinho e ornamentadas com cerdas delgadas.
- *Espinhos*: são estruturas firmes que podem ser ornamentados com pequenos dentes laterais ou lisos.
- *Cerdas*: pêlos delgados que ornamentam setas, ramos caudais lateralmente, segmentos torácicos e outras estruturas.

**Denominação utilizada para as faces do basípodo da antena 2** (Fig. 2, Quadro):.

***Face frontal*** é a parte do basípodo onde se insere o endopodito reduzido, esta face é voltado para o lado interno animal. ***Face caudal***: é a parte do basípodo contrária a inserção do endopodito reduzido, esta face é voltado para o lado externo do animal.

**Legenda:**

**Segmento cefálico:** A1: antena 1 ou antenula ; A2: antena 2 ou antena; MD: mandíbula;

**MXL:** maxilula; **MX:** Maxila; **MXP:** maxilípede; **P1:** apêndice torácico 1.

**Segmento torácico:** P2, P3, P4 e P5: apêndices torácicos 2, 3, 4 e 5 respectivamente.

**Segmento abdominal:** SG: segmento genital; RS: receptáculo seminal.

**Ramos da Furca:** SL: seta lateral; SE: seta externa; SME: seta mediana externa; SMI: seta mediana interna; SI: seta interna; SD: seta dorsal.

Figura 2. Fêmea. Esquema, nomenclatura e localização das estruturas anatômicas de interesse taxonômico em Cyclopoida

### 3.3. Citogenética

Pela primeira vez no Brasil foi realizada a citogenética para Copepoda Cyclopoida. Foi utilizada a técnica do ácido láctico/Ácido acético orceína, detalhes da técnica se encontram no protocolo 1 (Grishanin, não pub.). Para melhor visualização das mitoses foram utilizados ovos, pois a visualização do fenômeno em animais adultos é extremamente difícil (Grishanin, com. Pessoal). Além da vantagem na visualização das mitoses, a utilização de ovos é desejável em estudos citogenéticos de Cyclopoida para acompanhar o fenômeno da perda da cromatina, que ocorre em algumas espécies e tem valor taxonômico (Wyngaard & Chinnappa, 1982).

Foi utilizada a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus*, a escolha desta espécie foi devido a facilidade de obtenção do material, pois esta espécie encontra-se em tanques de cultivo na área de proteção da Universidade de São Carlos, São Carlos, SP.

Antes de fixar os ovos, estes foram colocados em uma solução de água destilada e colchicina. Este procedimento, acrescentado à técnica original, permite um espalhamento dos cromossomos na célula melhorando a visualização.

Os esfregaços foram obtidos utilizando os sacos ovígeros corados segundo a técnica do ácido láctico/ácido acético orceína. Os ovos corados foram colocados sobre lâmina de vidro, estas lavadas com solução sulfocrômica. Em seguida os sacos ovígeros foram cobertos com lamínula e utilizando um papel fez-se pressão com o polegar sobre a lamínula para obter o esfregaço. O esfregaço foi levado ao microscópio óptico e as fotografias foram obtidas por sistema de aquisição de imagem.

### 3.4. Biologia molecular

Foram realizadas também pela primeira vez no Brasil as técnicas de extração e sequenciamento de DNA de microcrustáceos. Para realização dos experimentos com biologia molecular foram utilizadas as espécies: *Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops inversus*, *Mesocyclops ogunnus*, *Mesocyclops meridianus*, este último preservado em formol 4%. Estas espécies foram coletadas na represa de Barra Bonita, SP. Além das espécies de Cyclopoida foram realizadas extrações, a fim de teste da técnica, para duas espécies de Calanoida e uma de Cladocera.

Foi extraído o DNA dos organismos utilizando o kit RNA-suv da Promega corp., os detalhes estão no protocolo 2 (Wyngaard & Gerken, não pub.). O DNA extraído deve ser preservado em freezer -80°C para longos períodos de tempo. Para curtos períodos de tempo pode-se preservar o DNA a temperatura de -20° C.

A seqüência escolhida para trabalhar foi o ITS2 (espaço interno transcrito). Esta seqüência é filogeneticamente pouco conservativa e faz parte do gene que codifica o RNA ribossômico, estando presentes em várias partes do DNA do genoma nuclear dos animais.

Para sequenciar o ITS2 foram utilizados 2 “primers” que tem início nos flancos da seqüência desejada. Os “primers” foram desenhados por Sarah Gerken (James Madison University, VA, EUA). Depois de amplificado, o produto desta amplificação foi corrido em gel de agarose para ser isolado e recortado. Após este procedimento o produto recortado foi limpo e re-amplificado, obtendo assim DNA do ITS2. Detalhes sobre o procedimento e seqüência dos “primers” estão no protocolo 3 (Wyngaard & Gerken, não pub.). Os sequenciamentos foram feitos no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de São Carlos, utilizando sequenciador automático modelo ABI PRISM 377 pelo método dideoxi (Sanger et al, 1977).

A verificação das seqüências foi realizada pela submissão ao Banco Mundial de Genes, o GenBank. Este banco é virtual e de acesso livre no endereço: [www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). Quando a seqüência enviada era reconhecida e alinhada com outros grupos na porção do DNA ribossômico a seqüência era validada.

As seqüências validadas para as espécies de Cyclopoida foram alinhadas utilizando o programa GeneRunner versão 3.5 (licença livre). Onde, as diferenças nos alinhamentos foram contadas e os erros expressos em porcentagem.

### **3.4.1 Modelos Markovianos ocultos aplicado à Genética**

São modelos estatísticos que procuram por uma seqüência homogênea em um determinado conjunto de dados. Este modelo estatístico foi testado pela primeira vez em seqüências reais de DNA para verificação da validação ou não do modelo. Foi testada nas seqüências obtidas para *Mesocyclops ogunnus*, *M. longisetus longisetus* e *Thermocyclops decipiens* para verificar padrões nas seqüências. A ferramenta estatística foi proposta e aplicada pela mestrandia Gislaïne Cristina Batistela, sob orientação do

Prof. Dr. Luiz A. Milan, do Departamento de Matemática e Estatística da Universidade Federal de São Carlos que produziram o texto explicativo abaixo:

“Em processos estocásticos, muitos problemas consideram modelos Markovianos no qual cada estado corresponde a um evento físico (observável). O conceito de modelos Markovianos pode ser estendido para incluir o caso onde a observação é uma função probabilística do estado, levando ao conceito de modelo Markoviano oculto (HMM), que é a união de dois processos estocásticos, onde um desses processos é oculto. Esse conceito pode ser aplicado em seqüências de DNA com a finalidade de modelar segmentos homogêneos (ocultos) dentro destas seqüências”.

Com a recente expansão na pesquisa relacionada ao DNA, tal como Projeto Genoma Humano, aumentou essa importância, implicando em uma série de trabalhos desta linha de pesquisa na literatura.

Para o presente trabalho foi considerada uma seqüência de DNA sendo uma realização de um processo aleatório. Suponha que existam  $r$  tipos de segmentos homogêneos (ocultos) dentro da seqüência de DNA, denotados por  $S$ . Assumimos que as transições entre as bases nitrogenadas se fazem segundo as transições de uma cadeia de Markov, com matriz de probabilidades de transição determinada pelo estado oculto  $S$ . A fim de estimar  $S$  e as matrizes de transições associadas a esse processo foi utilizada a técnica de simulação de Monte Carlo em Cadeias de Markov, mais precisamente o procedimento *Gibbs Sampling*, para retirar amostras aproximadas da distribuição *a posteriori* e obter, através da média destas amostras, estimativas bayesianas para os parâmetros de interesse.”

### **3.5. Ecologia: Distribuição e biodiversidade dos Cyclopoida de sistemas eutróficos e oligotróficos.**

A distribuição foi obtida pela inserção das espécies identificadas na plataforma do SINBIOTA/FAPESP. Além das espécies, foram inseridas na plataforma dados referentes a localização tais como, coordenadas geográficas, município, nome do corpo de água e dados referentes a características físicas e químicas da água tais como, pH, temperatura, condutividade e oxigênio dissolvido. Estes dados estão disponíveis no endereço eletrônico [www.biota.org.br](http://www.biota.org.br).

A biodiversidade dos Cyclopoida foi analisada para sistemas oligotróficos e eutróficos. Foi escolhida a represa Billings do Alto Tietê, as represas de Barra Bonita, Bariri, Ibitinga, Promissão, Nova Avanhandava e Três Irmãos do médio Tietê, as represas de Estreito, Jaguará, Igaratá e Volta Grande da unidade Pardo Grande e as represas de Fumaça, França, Alecrim, Iporanga, Porto Raso, Serraria e Jurupará da unidade Ribeira do Iguape. O estado trófico foi realizado aplicando-se o índice de Carlson para fósforo total e clorofila.

A fórmula para o cálculo do Índice de Estado Trófico de Carlson (1977) é dado abaixo, onde o IET (P) utiliza valores de fósforo total e IET (Cl) utiliza valores de clorofila, ambos em  $\mu\text{g/L}$ .

$$\text{IET (P)} = 10 \times (6 - \ln(48/\text{FT})/\ln 2)$$

$$\text{IET (Cl)} = 10 \times (6 - (2,4 - 0,695 \times \ln \text{CL})/\ln 2)$$

Onde: FT é o valor de fósforo total e CL é o valor de clorofila a.

Os dados de temperatura, pH, condutividade e oxigênio dissolvido foram obtidos pela sonda multi-parâmetro Horiba U23. Os dados de nitrato, nitrito e amônia foram obtidos pelo analisador de íons modelo Dionex DX – 80 e os dados de nitrogênio total foram obtidos pela metodologia de Kjeldahl (APHA, 1985). Os dados de fósforo total foram obtidos com a metodologia descrita em APHA (1985) e os dados de clorofila foram obtidos pela metodologia de Nush (1980).

## 4- Resultados

### 4.1. Taxonomia

Foram registrados 10 gêneros e 25 espécies para o estado de São Paulo. Sendo uma espécie nova (*Thermocyclops* n. sp.) e cinco novos registros (*Acanthocyclops robustus*, *Eucyclops elegans*, *Eucyclops prinophorus*, *Microcyclops alius* e *Mesocyclops aspericornis*). Dentre os gêneros, apenas o gênero *Acanthocyclops* não tinha registro no estado.

#### 4.1.2 Chave de identificação para Subfamílias e Gêneros.

Esta chave inclui exclusivamente as espécies registradas no projeto BIOTA/FAPESP. Por se tratar de coletas em águas doces interiores, abrangendo represas, lagos e lagoas marginais as subfamílias se restringiram as duas exclusivas de águas doce, *Eucyclopinae* e *Cyclopinae*. O símbolo “↑” mostra que a figura tem a estrutura apontada por uma seta.

#### Subfamílias

- 1- Articulo terminal do P5 com três espinhos e ou setas (Fig. 3A)

Subfamília: *Eucyclopinae* Kiefer, 1927

- Articulo terminal do P5 com um ou dois espinhos e ou setas (Fig. 4E).

Subfamília: *Cyclopinae* Kiefer, 1928

## Subfamília *Eucyclopinae*

### Gêneros

- 1- P 5 com dois artículos, o terminal com dois espinhos e uma seta (Fig.3 A)  
*1. Macrocylops* Claus, 1893  
 P 5 com um artículo.....2
- 2- P 5 com o artículo destacado do corpo (Fig. 3 B, C).....3  
 - P 5 com artículo atrofiado fundido ao corpo e com duas setas e um espinho  
 (Fig.3D) ramos caudais com cerdas delgadas em fileiras transversais.  
*2. Ectocylops* Brady, 1904
- 3- Receptáculo seminal **com** extensões laterais em forma de cornos (↑Fig. 3G),  
 ramos caudais 1,5 a 3 vezes mais longo que largo e sem ornamentos laterais.  
*3. Tropocylops* Kiefer, 1927
- Receptáculo seminal sem extensões laterais em forma de cornos (fig.3H).....4
- 4- Artículo do P5 com duas setas e um espinho apical, ramos caudais com uma  
 fileira de pequenos espinhos transversais na altura da seta lateral (↑Fig. 3E).  
*4. Paracylops* Claus, 1893  
 - Artículo do P 5 com um espinho subapical e duas setas, podendo ser uma ou  
 as duas apicais (Figs. Xx e xx), ramos caudais com espinhos laterais (↑Fig 3F)  
*5. Eucyclops* Claus, 1893



## Subfamília *Cyclopinae*

### Gêneros

- 1- P5 com dois artículos.....3  
     P5 com um único artículo.....2
- 2- Artículo terminal do P5 curto com a mesma largura e comprimento e com dois espinhos pequenos terminais (fig. 4A) e endopodito e exopodito de P1 a P4 com dois artículos.
- 1. *Metacyclops*** Kiefer, 1927
- ...- Artículo único do P5 longo, cerca de duas vezes mais longo que largo, com espinho pequeno inserido lateralmente ou apicalmente e uma seta longa inserida apicalmente (fig. 4B, C), endopodito e exopodito de P1 a P4 com dois artículos.
- 2. *Microcyclops*** Claus, 1893
- 3- Artículo distal do P5 com espinho e uma seta, ambos longos, inseridos apicalmente (fig. 4D)
- 3. *Thermocyclops*** Kiefer, 1927
- Artículo distal do P 5 com um espinho longo inserido subapicalmente e uma seta longa inserida apicalmente. (fig. 4E)
- 4. *Mesocyclops*** Sars, 1904
- Artículo distal do P 5 com um espinho pequeno e uma seta longa. (fig. 4F)
- 5. *Acanthocyclops*** Kiefer, 1927

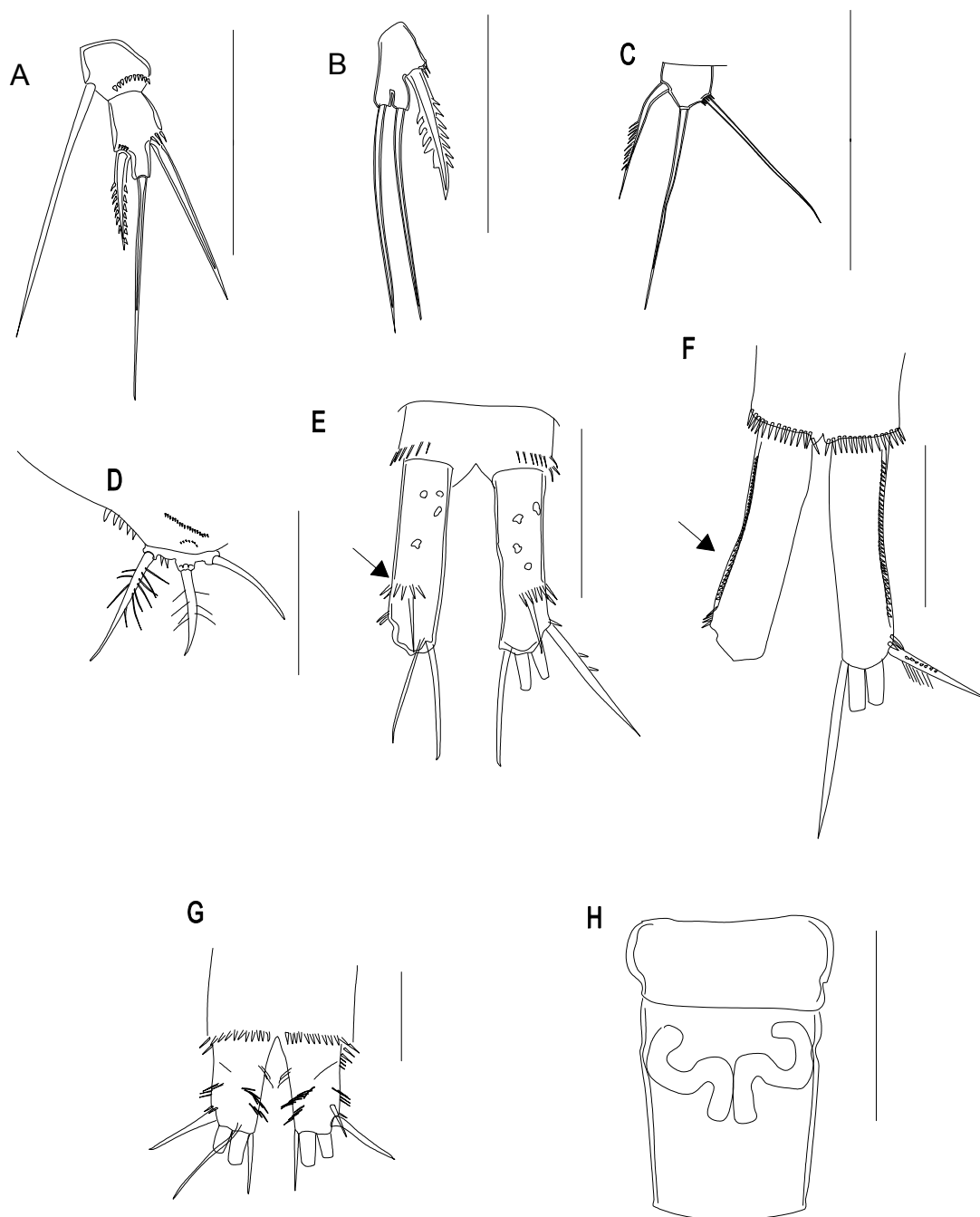


Figura 3. A- P5 de *Macrocylops*; B- P5 de *Eucyclops*; C- P5 de *Tropocyclops*; D- P5 de *Ectocyclops*; E- Ramos caudais de *Paracyclops*; F- Ramos caudais de *Eucyclops*; G- Ramos caudais de *Ectocyclops*; H- Segmento genital e receptáculo seminal de *Tropocyclops*. Escala=100 $\mu$ m.

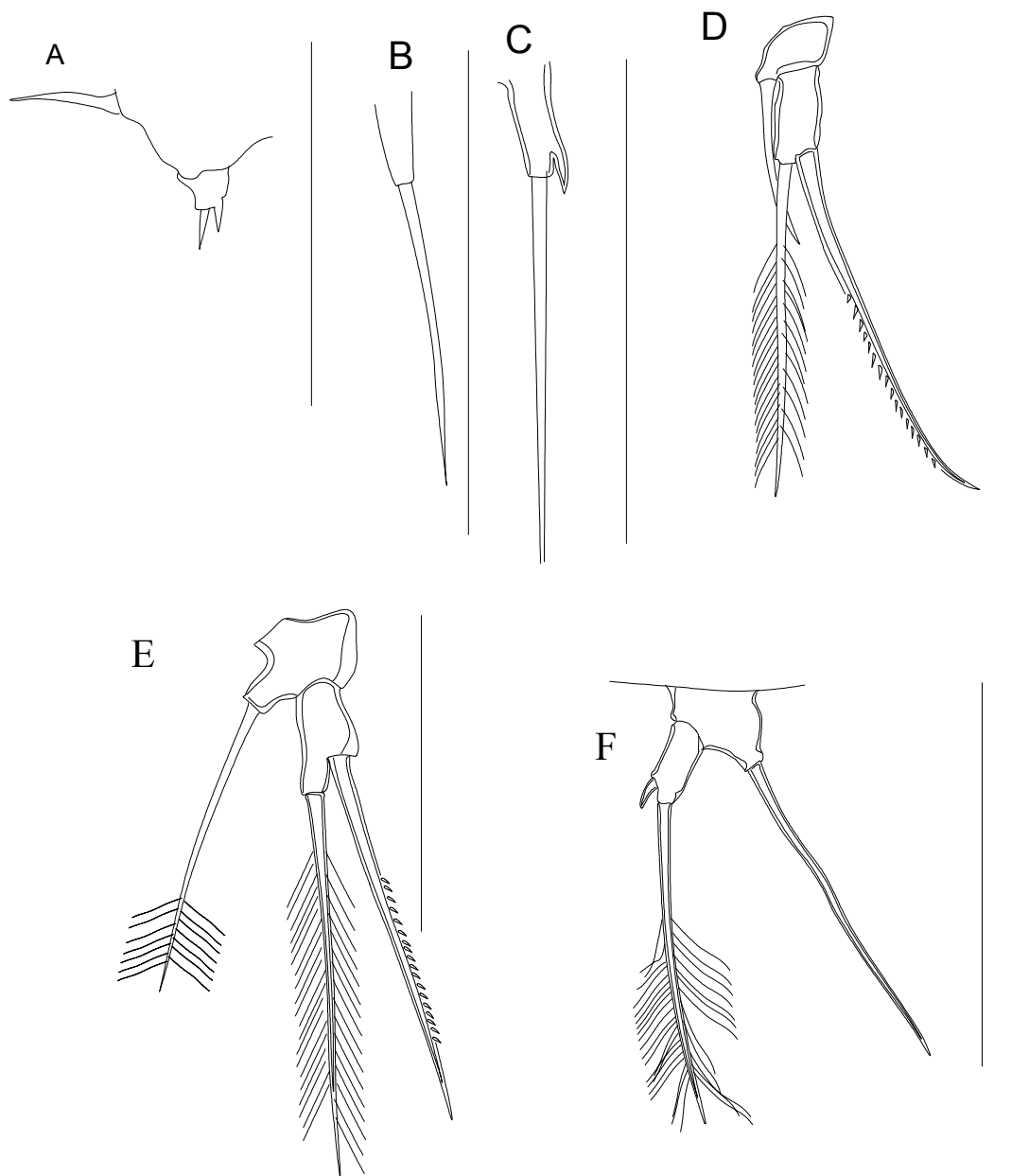


Figura 4. P5 : A- *Metacyclops*; B e C- *Microcyclops*, D- *Thermocyclops*; E- *Mesocyclops*; F- *Acanthocyclops*. Escala=100 $\mu$ m.

### 4.1.3. Chave de identificação para espécies

As espécies estão agrupadas por gêneros, que estão dispostos em ordem alfabética.

#### 1. *Acanthocyclops*

- a- P1 a P4 tri-articulados, espinho apical do P5 (menor) cerca de 40 a 50% menor que artículo apical (fig. 7 C ), ornamentos da parte distal da base do P4 com menos de 16 espinhos (↑fig 7B).....*Acanthocyclops robustus* (Sars, 1863)

#### 2. *Ectocyclops*

- a- Espinho interno P5 1,2 vezes o espinho externo(fig. 8B).....**b**  
 - Espinho interno P5 1,6 vez maior que o espinho externo (fig. 8C ), ramos da cauda com serie de ornamentos transversais (fig.8A).....*Ectocyclops herbsti* Dussart, 1984  
 b- Ramos da cauda com série de ornamentos transversais em parte do ramo (fig. 9A) ..... *Ectocyclops rubescens* Brady, 1904

#### 3. *Eucyclops*

- a- Ramos da cauda com comprimento menor ou igual a 5 vezes sua largura.....**c**  
 - Ramos da cauda maior que 5 vezes mais longa do que largo.....**b**  
 b- Ramo da cauda cerca de 6,5 mais longa que larga, espinho interno do P5 mais que 3 vezes o comprimento do artículo de inserção(fig. 11A ),espinhos ao longo do ramo caudal com gradação de tamanho.....*Eucyclops elegans* (Herrick, 1887)  
 - Ramo da cauda 6 vezes mais longo que largo, espinho do P5 cerca de 2 vezes o comprimento do artículo de inserção (fig. 14C), ornamento ao longo do ramo caudal **sem** gradação de tamanho (fig. 14 A).....*Eucyclops sp* Herbst 1959

- c- Seta mediana e externa do P5 apicais e espinho interno subapical (↑Fig.14 ), ramos da cauda cerca de 3,6 mais longa que largo.....*Eucyclops subciliatus* Dussart, 1984
- Seta interna e mediana do P5 em níveis diferentes, seta mediana mais que duas vezes o comprimento do espinho interno (fig. 10B), ramos da cauda cerca de 3,5 vezes mais longo que largo e ornamento ao longo do ramo caudal com graduação de tamanho (↑fig. 10A).....*Eucyclops cf. ensifer* Kiefer 1936
- Seta mediana do P5 cerca de 1,25 vezes mais longo que o espinho interno, ramos da cauda cerca de 4,6 vezes mais longo que largo e ornamento ao longo do ramo caudal **sem** graduação de tamanho (fig. 12A)....*Eucyclops prinophorus* Kiefer 1931

#### 4. *Macrocylops*

- a- Ramos da cauda sem cílios na parte interna (Fig. 15D ), membrana hialina lisa no último artículo da antena lisa (↑Fig. 15A).....*Macrocylops albidus* (Jurine, 1820)

#### 5. *Mesocyclops*

- a- Ramos da cauda com cílios internos (↑Fig. 16F ).....b
- Ramos da cauda sem cílios internos, e 3 vezes mais longos que largos (Fig.19C), palpo da maxílula com espinhos (↑fig.19B ) e receptáculo seminal com as projeções laterais afilando externamente (fig.19D).....*Mesocyclops ogunnus* Onabamiro, 1957
- b- Esclerito intercoxal **sem** projeções pontiagudas (↑fig.18D), ramos da cauda 3,5 vezes mais longos que largos, receptáculo seminal com projeções laterais originando da parte superior da projeção vertical (Fig.19E). *Mesocyclops meridianus*(Kiefer, 1926)
- Esclerito intercoxal com projeções pontiagudas (↑fig.17C).....c
- c- Receptáculo seminal com projeções finas originando do terço superior da projeção vertical (↑Fig.17D), ramos da cauda 4 vezes mais longos que largos (fig. 17F),.....*Mesocyclops ellipticus* Kiefer, 1936
- Receptáculo seminal com projeções largas originando da parte superior da projeção vertical (Fig.↑20E ).....d

- d-** Receptáculo seminal com projeções laterais com parte distal sem curvatura (↑fig.16E), ramos da cauda cerca de 3,2 vezes mais longos que largos (fig.16F).....*Mesocyclops aspericornis* (Daday, 1906)
- Receptáculo seminal com projeções laterais com a parte terminal com curvatura a e curvada (↑Fig. 19E), ramo da cauda cerca de 3,2 vezes mais longo que largo (fig. 20D.).....*Mesocyclops longisetus longisetus*(Thiébaud, 1914)

## 6. *Metacyclops*

- a-** Ramo caudal cerca de 4 vezes mais longo que largo (Fig. 21A), espinho externo do P5 com o mesmo comprimento que o artigo onde está inserido (Fig. 21C).....*Metacyclops mendocinus*(Wierzejski, 1892)

## 7-*Microcyclops*

- a-** Série de espinhos ornamentando o espinho lateral da furca (↑Fig. 23C).....**b**
- Furca sem a série de espinhos ornamentando o espinho lateral (Fig. 22B).....**c**
- b-** P5 com um espinho longo apical e um lateral pequeno (Fig23D.)  
.....*Microcyclops ceibaensis* (March, 1919)
- c-** Segmentos torácicos sem ornamentações.....**e**
- Segmentos torácicos com ornamentações e um ou mais segmentos torácicos (↑24C).....**d**
- d-** Borda inferior do segundo segmento torácico serrilhada (↑Fig.23C), P5 com uma seta terminal longa e um espinho sub-terminal pequeno e forte (Fig. ↑22F).....*Microcyclops anceps anceps* (Richard, 1897)
- Borda inferior do 4<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> segmentos torácicos ornamentadas com pequeno espinhos (Fig. ↑24E) .....*Microcyclops finitimus* Dussart , 1984
- e-** Segmentos torácicos sem ornamentações, setas terminais da furca ornamentadas com espinhos em sua porção superior e finas cerdas em sua porção inferior (↑Fig. 25A)..... *Microcyclops alius* Kiefer 1935

## 8. *Paracyclops*

- a- Ramos da cauda com pequenas depressões cuticulares ou não (fig. ↑26A), seta medial e externa do P5 cerca de 1,25 vezes o tamanho do espinho interno  
 .....*Paracyclops chiltoni* (Thomson, 1882)

## 9. *Thermocyclops*

- a- Esclerito intercoxal do P 4 **com** espinhos ornamentando as projeções da margem distal (↑Fig. 27).....**b**  
 - Esclerito intercoxal do artículo 4 **sem** espinhos ornamentando as projeções da margem distal .....**c**  
**b**-3º endopodito do P4 com o espinho apical interno 2,4 maior que o espinho interno (fig. 27A)..... *Thermocyclops decipiens* (Kiefer, 1929)  
**c**- 3º endopodito do P4 com o espinho apical interno menor que o externo e ambos longos (↑Fig 29B)..... *Thermocyclops inversus* Kiefer, 1936  
 - 3º endopodito do P4 com o espinho apical interno maior que o externo.....**d**  
**d**- 3º endopodito do P4 com o espinho apical interno cerca de 5 vezes maior que o externo (fig.26) e o receptáculo seminal com a margem anterior com uma depressão na parte proximal(↑Fig.28)..... *Thermocyclops minutus* (Lowndes, 1934)  
 -3º endopodito do P4 com o espinho apical cerca de 3,5 vezes maior que o externo (fig. 5L).....**e**  
**e**- Receptáculo seminal com a margem anterior sem depressão na parte proximal (Fig. 5O).. .....*Thermocyclops n. sp* (Silva & Matsumura-Tundisi)

## 10. *Tropocyclops*

- a- Ramos da cauda cerca de 1,8 vezes mais longos que largos (Fig. 30D).....**b**  
 - Ramos da cauda maior que 2 vezes mais longos que largos (Fig. 31D).....**c**  
**b** - P5 como na figura 29C.....*Tropocyclops prasinus meridionalis*(Kiefer, 1931)  
**c** -P5 como na figura 30B..... *Tropocyclops prasinus prasinus*(Fischer, 1860)

## 4.2. Descrição da espécie nova.

### 4.4.1. *Thermocyclops* n. sp.

**Holótipo** ♀: Brasil, São Paulo, Ibiúna (Represa de Fumaça 24° 00'16" S e 47° 15'40"W), coletados por William M. Silva. Tamanho corporal: 720 µm, espécime dissecada e montada em duas laminas. **Alótipo** ♂: Tamanho corporal : 589, espécime dissecada e montada em duas laminas. **Parátipo**: 20 ♀ (tamanho médio: 735 µm ± 21) e 10 ♂ (tamanho médio: 585 µm ± 9), não dissecados e preservados em álcool 70%.

#### Fêmea.

Figura 4A mostra aspecto geral da fêmea. Antena 1 (fig. 4B) : 17 segmentos, se estendendo além do 3° segmento torácico, com o segmento 17 desprovido de membrana hialina. Antena 2 (fig. 4C): 1° segmento com poucos ornamentos e com o 4° segmento com membrana hialina serrilhada. Apêndices bucais: mandíbula (fig. 4D), maxílula (fig. 4E), maxila (fig. 4F) e maxilipede (fig. 4G) sem ornamentações especiais. P1 a P4 (figs. 4H – 4L): todos os apêndices com três artículos com formula de espinhos: 2,3,3,3 e com esclerito intercoxal sem ornamentos em sua margem distal. Endopodito 3 do P4 com espinho apical interno (↑fig. 4L) 3,4 vezes mais longo que o espinho apical interno. P5 (fig. 4M) com espinho inserido no artículo proximal curto, cerca de 1,4 vezes mais longo que o artículo de inserção. Receptáculo seminal (fig. 4N) com a margem anterior dos braços laterais sem curvatura com a junção dos canais laterais na porção proximal com o poro copulatório. Ramos da cauda: 3,15 mais longo do que largo. Medidas das setas apicais do ramo caudal: seta apical externa=61µm; seta mediana externa= 243µm; seta mediana interna= 131 µm e seta apical interna= 24µm.

#### Macho

A figura 6A mostra o aspecto geral do macho. Antena 1(fig. 6B): 17 segmentos geniculada em dois pontos no 9° e 15° artículos. P5 (fig. 5C): espinho apical interno passando a inserção do P6.



**Diagnose diferencial:**

Esta espécie se diferencia das demais espécies por uma combinação de características tais como: esclerito intercoxal do P4 sem ornamentação em sua margem distal, relação entre os espinhos apicais do endopodito do P4 e a principal diferença é a morfologia do receptáculo seminal.

**Observação:**

A espécie *Thermocyclops* n. sp. foi registrada nas represas do Ribeira do Iguape e nas represas da unidade Paraíba do Sul por Sedacz & Kubo (1982) mas foi identificada como *Thermcoyclops minutus*. As figuras (51 a 56) apresentadas pelos autores mostram as mesmas características que *Thermocyclops* n. sp e não coincide com as características do *T. minutus*, principalmente na morfologia do receptáculo seminal.

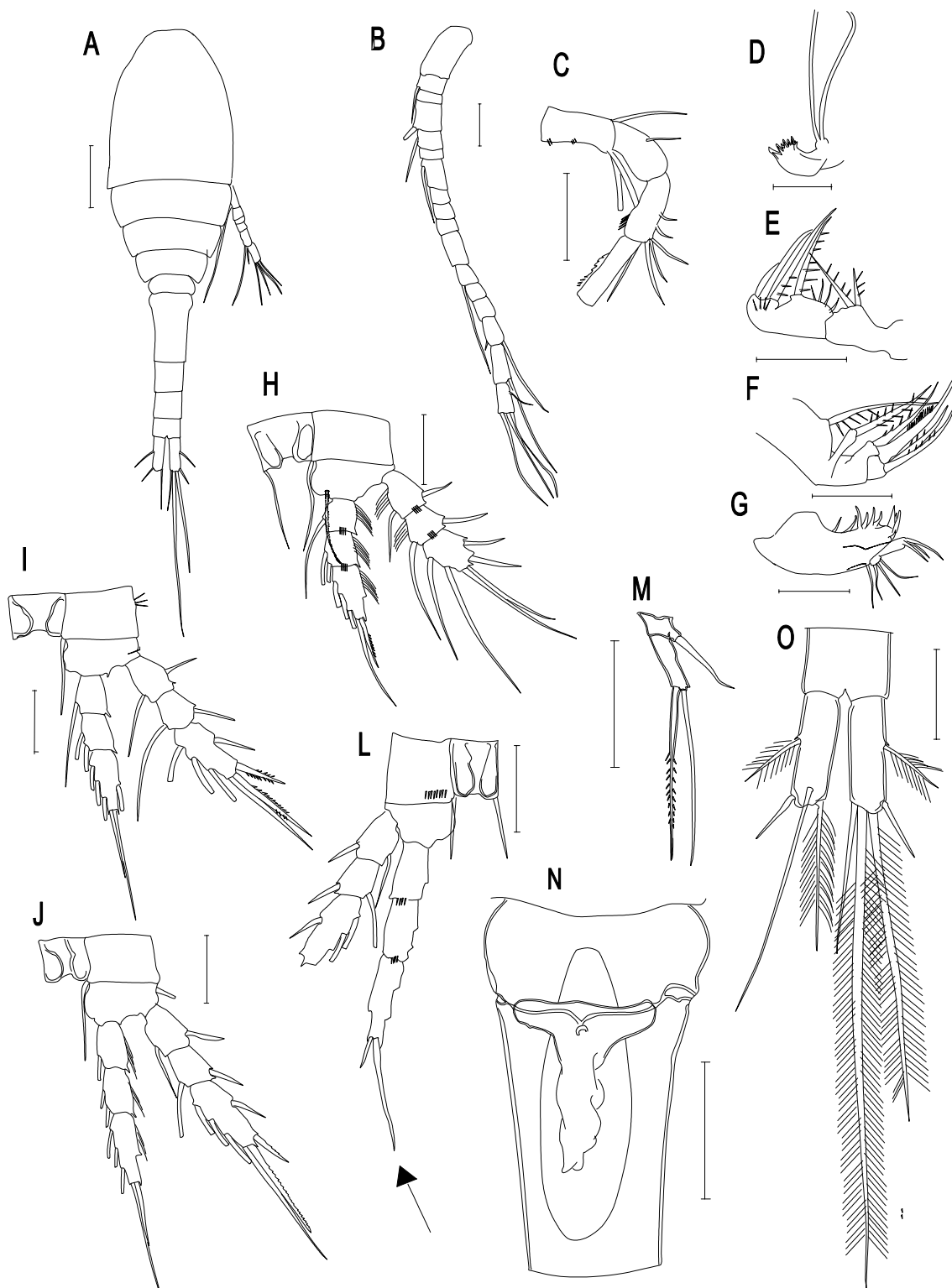
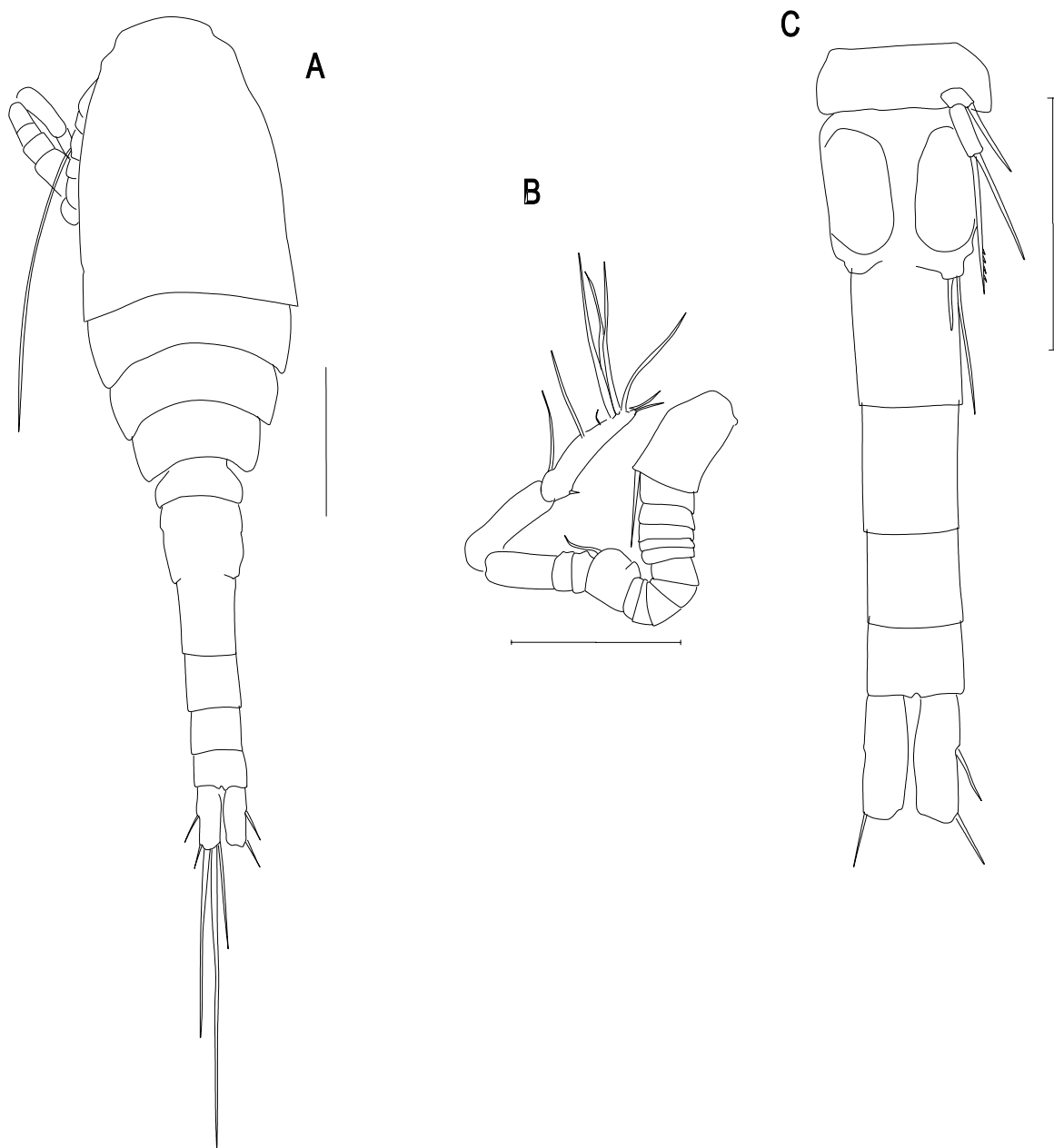


Figura 5. *Thermocyclops iguapensis* n. sp. A- fêmea; B- Antena 1; C- Antena 2; D- Mandibula; E- Maxilipede; F- Maxilula; G- Maxilula; H- P1; I- P2; J- P3; L-P4 (seta mostra espinho interno do endopodito); M-P5; N- Segmento genital e receptáculo seminal; O- Último segmento abdominal e ramos da furca. Escala: 100µm.



**Figura 6.** *Thermocyclops* n.sp. A- Macho; B- Antena 1; C- Abdome e ramos da furca.  
Escala = 100 $\mu$ m.

### 4.3. Diagnose para as espécies de Cyclopoida do Estado de São Paulo

As diagnoses realizadas são para as espécies encontradas nos corpos de água estudados. O tamanho das fêmeas se refere a medida a partir do cefalotórax até a fim do ramo caudal.

#### 4.3.1. Gênero *Acanthocyclops*

##### 4.3.1.1. *Acanthocyclops robustus* (fig 7)

Tamanho da fêmea:  $1375 \pm 145 \mu\text{m}$ .

Esta espécie é considerada cosmopolita por Dussart & Defaye (1985). Kiefer (1976) fez uma revisão para as espécies do gênero *Acanthocyclops* (*A. robustus* e *A. vernalis*) denominando “complexo *robustus-vernalis*” por estas espécies apresentarem uma grande semelhança entre si e grande plasticidade. A espécie *Acanthocyclops americanus* descrita por Marsh (1893) foi considerada uma variação do grupo *robustus-vernalis*. No Brasil a espécie *A. robustus* foi registrada no sul do país por Gloedem & Amaral (1990) in Rocha & Botelho (1997) em um lago artificial. Segundo Dodson (1984) a espécie *A. robustus* é encontrada preferencialmente em região pelágica de águas perenes.

#### Diagnose diferencial

**Último segmento torácico** com parte distal curva (↑fig. 7A). **P4** - Coxopodito com poucas e pequenas fileiras de espinhos delgados, endopodito cerca de 3 vezes mais longo que largo, espinho terminal interno maior que o externo com espinho lateral setiforme. **Receptáculo seminal** com segmentado horizontalmente sendo dividido em duas porções sendo a superior maior e sem invaginação e a inferior menor e invaginada na porção proximal. **Ramos caudais** cerca de 4,4 vezes mais longo que largo.

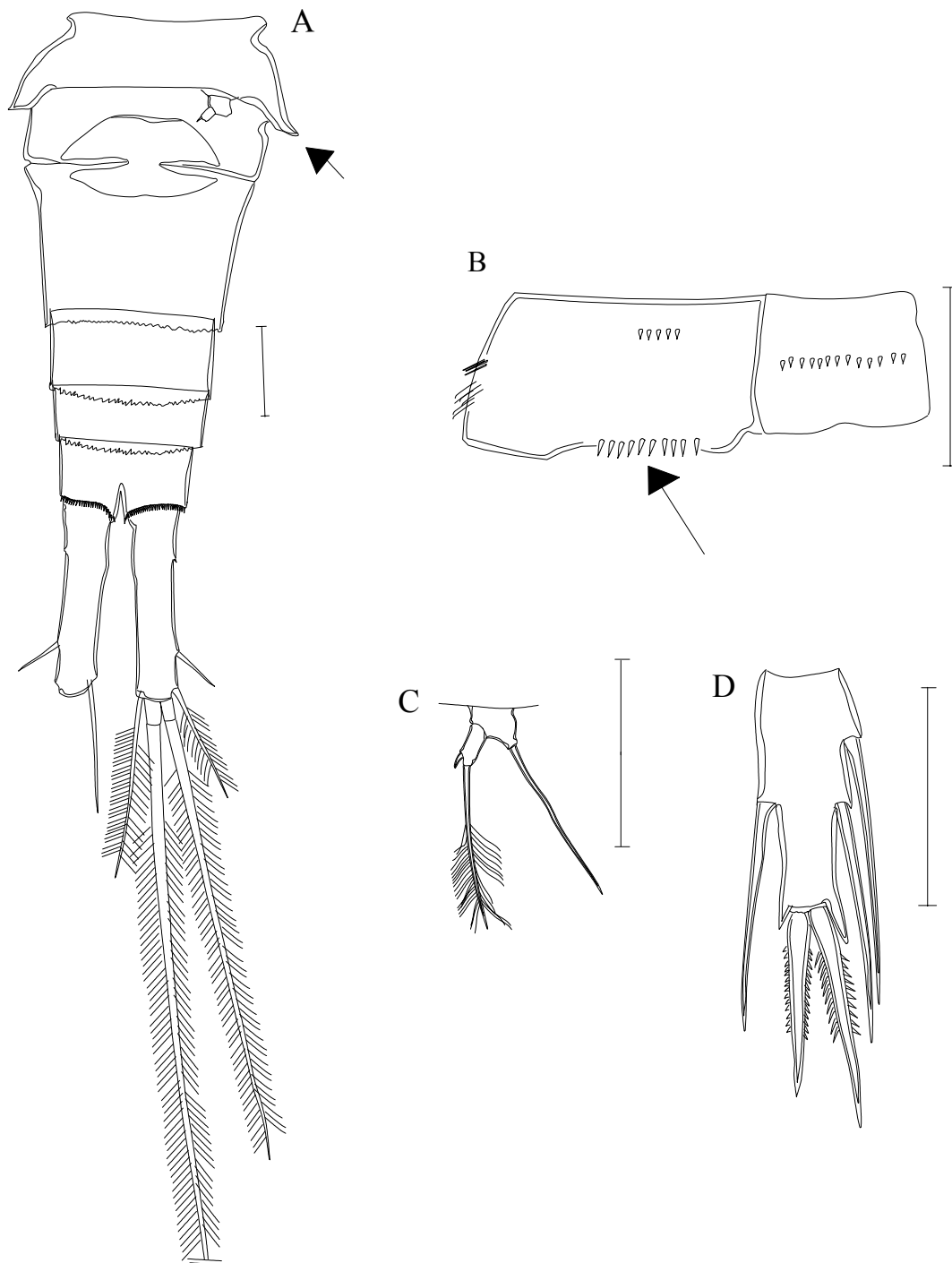


Figura 7. *Acanthocyclops robustus*. A- 5<sup>o</sup> apêndice torácico e segmentos abdominais (seta indica ornamento do ultimo seg. torácico).; B-coxa e esclerito intercoxal do P4 (Seta indicando os espinhos da parte distal da coxa); C- P5.; D -Endopodito 3 do P4. Escala=100 $\mu$ m.

### 4.3.2. Genero *Ectocyclops*

#### 4.3.2.1. *Ectocyclops herbsti* (fig 8)

Tamanho da fêmea:  $979 \pm 86 \mu\text{m}$ . Espécie descrita por Dussart (1984) como novo nome para os espécimes registrados por Herbst, (1959), sendo esta espécie registrada também em Cananéia, São Paulo.

#### **Diagnose diferencial**

**Antena 1** com 10 ou 11 artículos (fig. 8B). **P5**- Espinhos e setas do apêndice apresentando a proporção 1: 0,65: 0,74 (interno para externo) (fig. 8A). **Ultimo segmento abdominal**: sem projeções (fig. 8C). **Ramos da cauda** curtos, cerca de 1,2 a 1,8 mais longo que largo, com ornamentos de cerdas transversais, sendo a fileira proximal com cerdas mais longas.

#### 4.3.2.2. *Ectocyclops rubescens* (fig. 9)

Tamanho da fêmea:  $768 \pm 53 \mu\text{m}$ . Espécie considerada sinonima ou subespécie de *Ectocyclops pharellatus*, (Kock, 1838) (Reid, 1985; Rocha & Botelho, 1998). Entretanto pequenos detalhes no 5 apêndice torácico o diferenciam *E. rubescens* de *E. pharellatus*. Carvalho (1982) estabeleceu algumas diferenças taxonômicas entre as duas espécies sendo a espécie encontrada se encaixando melhor em *Ectocyclops rubescens*.

#### **Diagnose diferencial**

**Antena 1** com 10 artículos (fig. 9C). **P5**-Espinho interno maior que as setas mediana e externa, espinho com gradações de ornamentações (próximo a inserção cerdas e distalmente espinhos) (Fig.9B). **Ramos da cauda** cerca de 2,0 vezes mais longa que larga três fileiras de cerdas transversais, até a metade do ramo (Fig. 9A).

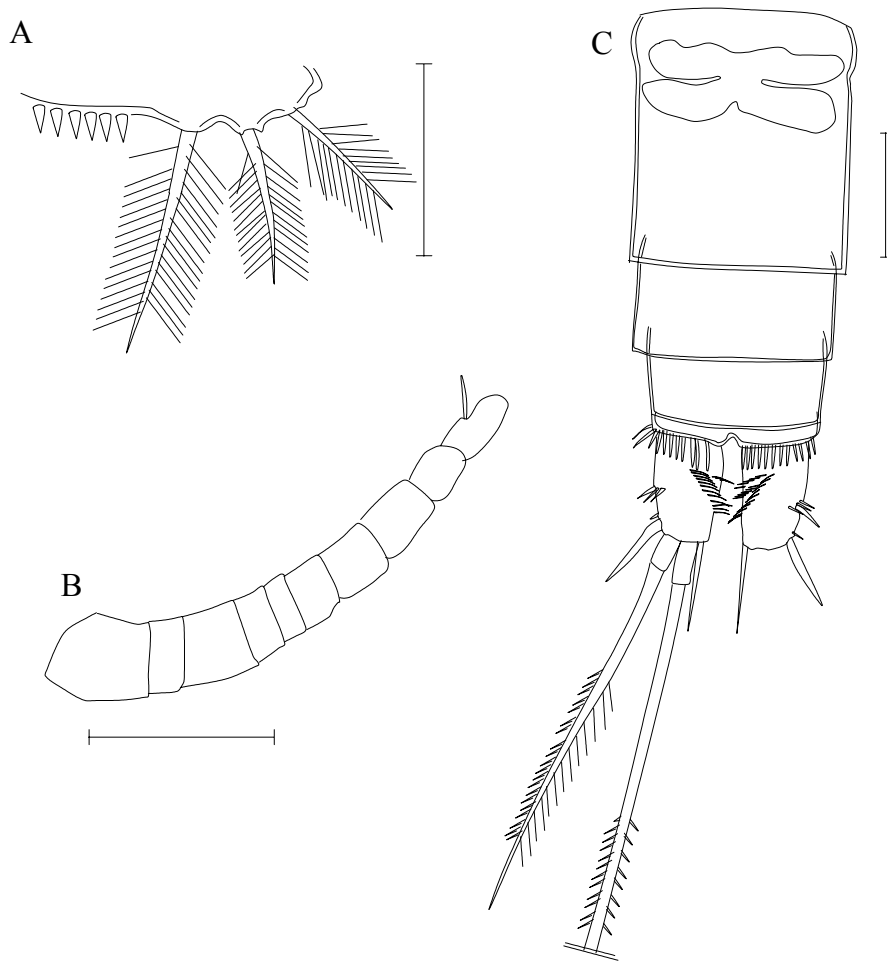


Figura 8. *Ectocyclops herbsti*. A- P5.; B- Antena 1; C- Segmentos genital e abdominais.  
Escala=100 $\mu$ m

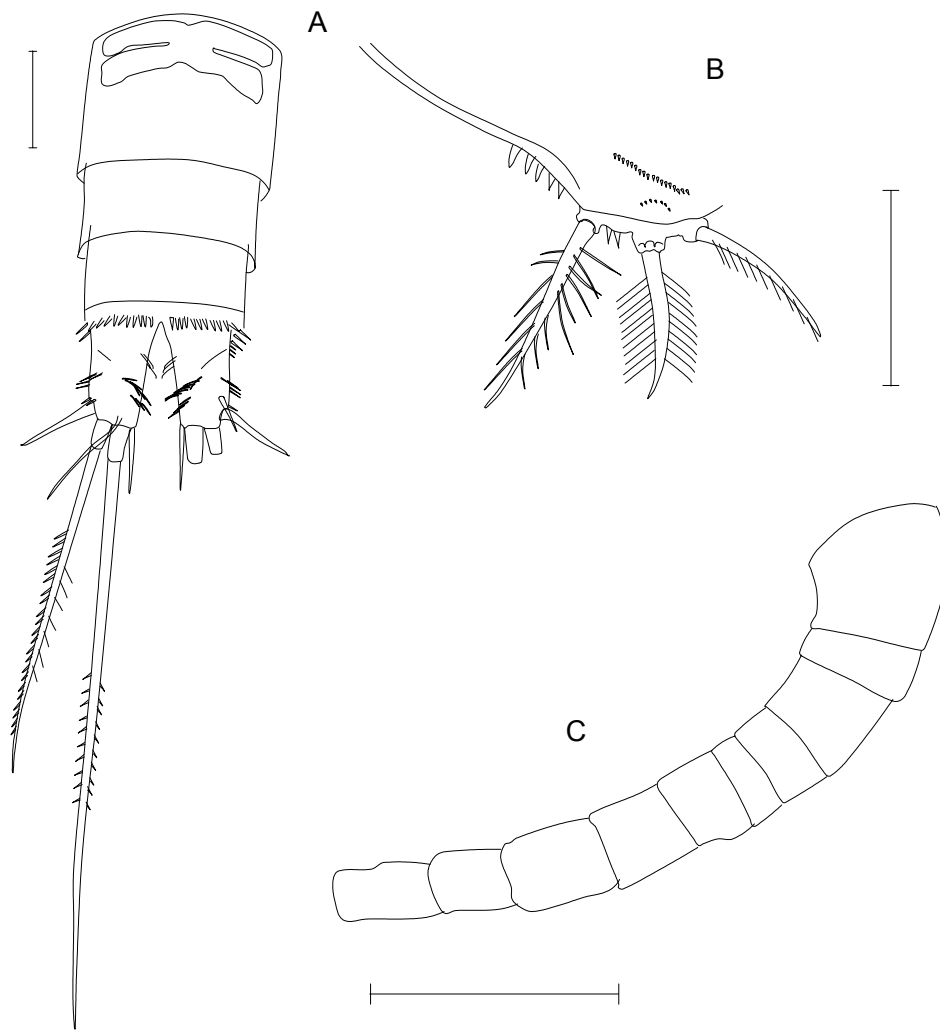


Figura 9. *Ectocyclops rubescens*. A - Segmento abdominal e ramos caudais; B - P5; C - Antena 1.

Escala = 100 $\mu$ m.



### 4.3.3. Gênero *Eucyclops*

#### 4.3.3.1. *Eucyclops cf. ensifer* (fig. 10)

Tamanho da fêmea: 962  $\mu\text{m}$ . Espécie registrada por Lindberg (1954) com pequenas diferenças com a espécie descrita por Kiefer (1936), a diferença fundamental entre as duas formas está nas graduações de cerdas e espinhos que ornamentam as setas dos ramos caudais. Na espécie aqui a seta terminal do P5 tem tamanho sensivelmente diferente em relação ao espinho subapical, podendo ser esta uma nova forma para a espécie.

#### **Diagnose diferencial**

**P5** com espinho e seta subapicais em níveis diferentes, sendo o espinho com inserção mais proximal e uma seta apical, longa 2,8 vezes o tamanho do espinho (fig. 10B). **Ramos caudais** cerca de 3,5 vezes mais longo que largo, ornamentos laterais com aumento de tamanho da base para o término, cerdas terminais com ornamentos diferenciados (espinhos próximos a inserção e cerdas finas do meio para o fim) (Fig. 10A)

#### 4.3.3.2. *Eucyclops elegans* (fig. 11)

Tamanho da fêmea: 1172 $\mu\text{m}$ . Hudson et al. (1998) aponta esta espécie sendo comum nos Estados Unidos e que é frequentemente confundido com a espécie européia *E. speratus*. Herbst (1954) chama atenção para a semelhança do comprimento dos ramos da cauda com a espécie *E. solitarius*, entretanto diferindo no P5.

#### **Diagnose diferencial.**

**Antena 1** com os últimos artículos com membrana hialina lisa (fig. 11D). **P5**-espinho longo (cerca de 3 vezes o comprimento do artículo de inserção), seta lateral no mesmo nível que o espinho (Fig. 11B). **Ramos caudais** longos cerca de 6,5 vezes mais longo que largo com espinhos ornamentando toda a extensão da parte externa (fig. 11B)

#### 4.3.3.3. *Eucyclops prinophorus* (fig. 12)

Tamanho da fêmea: 1023  $\mu\text{m}$ . Espécie registrada por Kiefer 1931 e 1936, tem como características as inserções dos espinhos e setas do p5 em níveis diferentes, sendo dois subapicais e um apical. Dussart e Dafaye (1985) apontam registro para as Américas

do norte e do Sul (Paraguai e Uruguai). A espécie encontrada é similar a descrita por Kiefer (1936), entretanto, o tamanho dos ramos da cauda destes espécimes são maiores.

**Diagnose diferencial.**

**Quinto segmento Torácico** com longas cerdas na região distal (fig. 12 B). **P5**- Espinho no mesmo nível e comprimento que a seta lateral, seta mediana 1,2 x maior que espinho (Fig. 12B). **Ramos da furca** cerca de 4,6 vezes mais longo que largo, com ornamentos laterais (espinhos) sem gradação de tamanho (Fig.12A)

**4.3.3.4. *Eucyclops subciliatus* (fig. 13)**

Tamanho da fêmea: 1198µm. Registrado por Dussart (1984) na Venezuela e posteriormente na Argentina (Dussart & Frutos, 1986). Não tendo registros anteriores no Brasil.

**Diagnose diferencial.**

**P5**-Espinho com inserção subapical e setas com inserção apical cerca de 1,7 vezes mais longa que o espinho.(↑fig. 13C). **Ramos da furca** cerca de 4 vezes mais longo que largo, ornamentos laterais com gradação, e com finas cerdas na parte interna (13A).

**4.3.3.5. *Eucyclops sp* (fig. 14)**

Espécie registrada por Herbst (1959) para o Brasil. Embora o comprimento da furca da espécie descrita seja menor que da encontrada, as características do P5, P4 e os padrões de espinhos nos ramos caudais são idênticos.

**Diagnose diferencial.**

**P4** com espinho externo apical 1,13 vezes mais longo que o interno. **P5** com espinho e seta lateral com inserção no mesmo nível , seta apical cerca de 1,8 vezes mais comprida que o espinho (Fig.14C).**Ramos da furca** cerca de 6 vezes mais longo que largo e ornamentos laterais sem gradação.(13A).

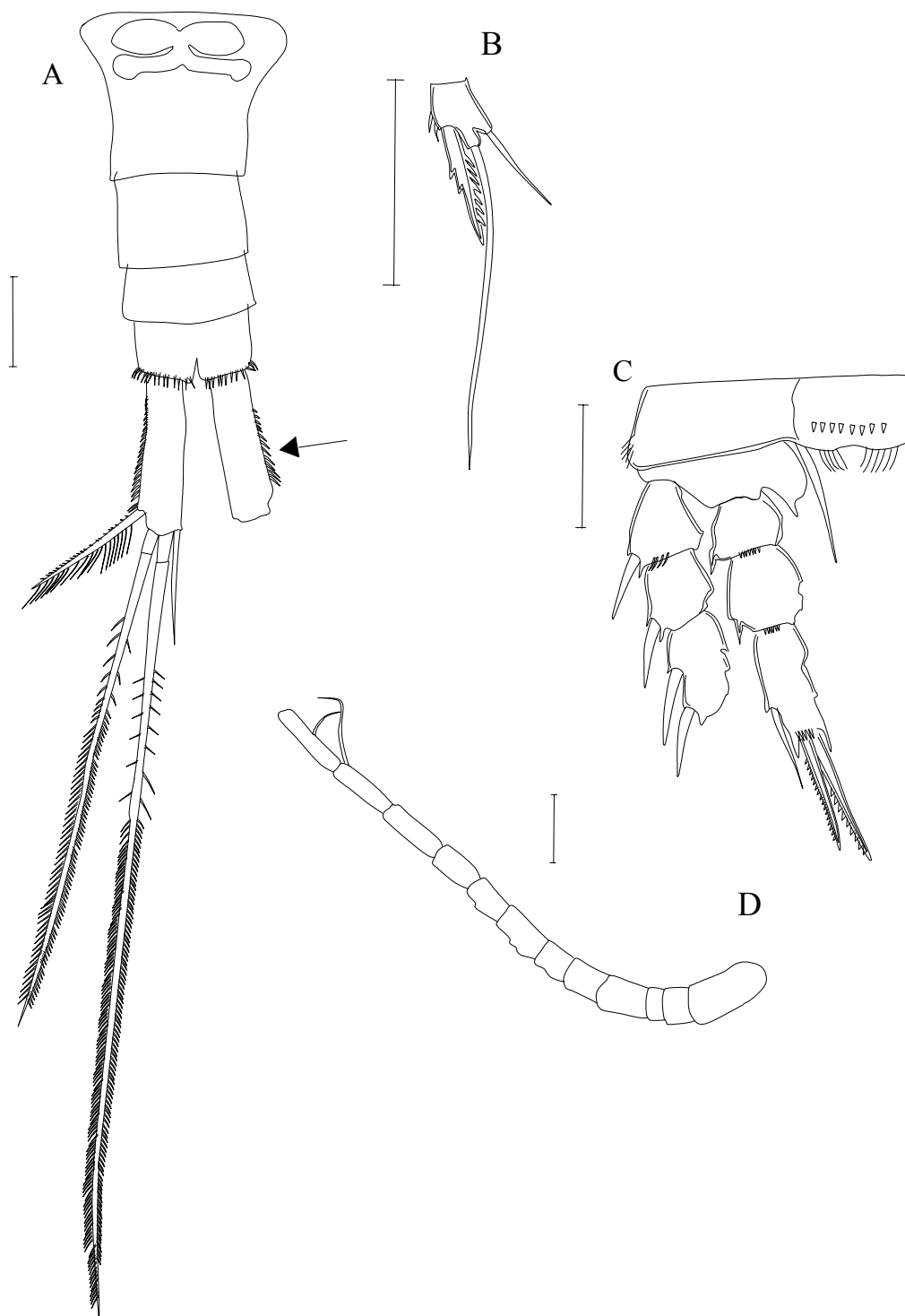


Figura 10. *Eucyclops cf. ensifer*. A - Segmentos abdominais e ramos da cauda (seta indicando os espinhos ornamentais); B - P5.; C - P4.; D - Antena 1. Escala=100 $\mu$ m.

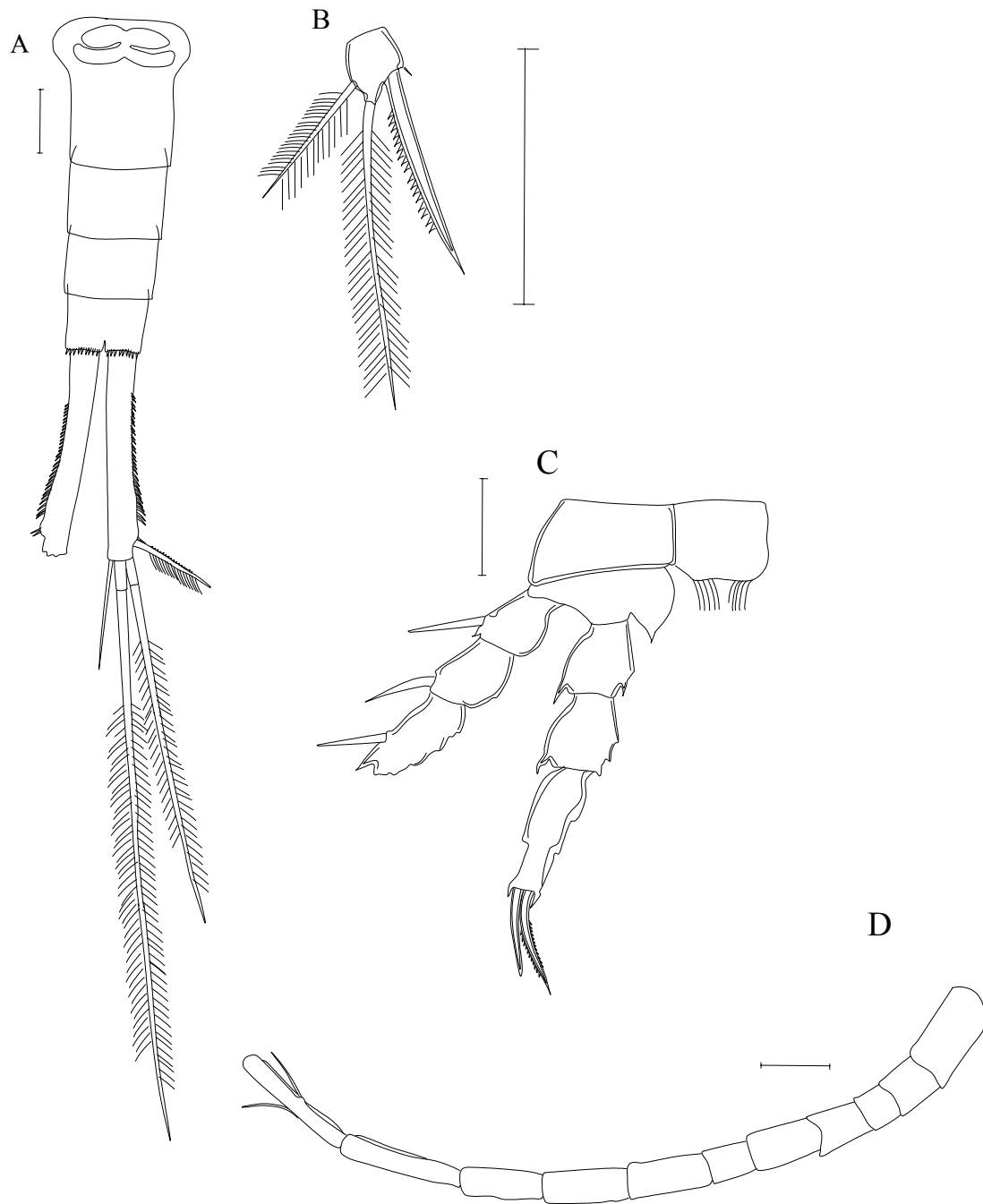


Figura 11. *Eucyclops elegans*. A - Segmentos abdominais e ramos da cauda.; B - P5; C- P4.; D - Antena 1. Escala=100 $\mu$ m.

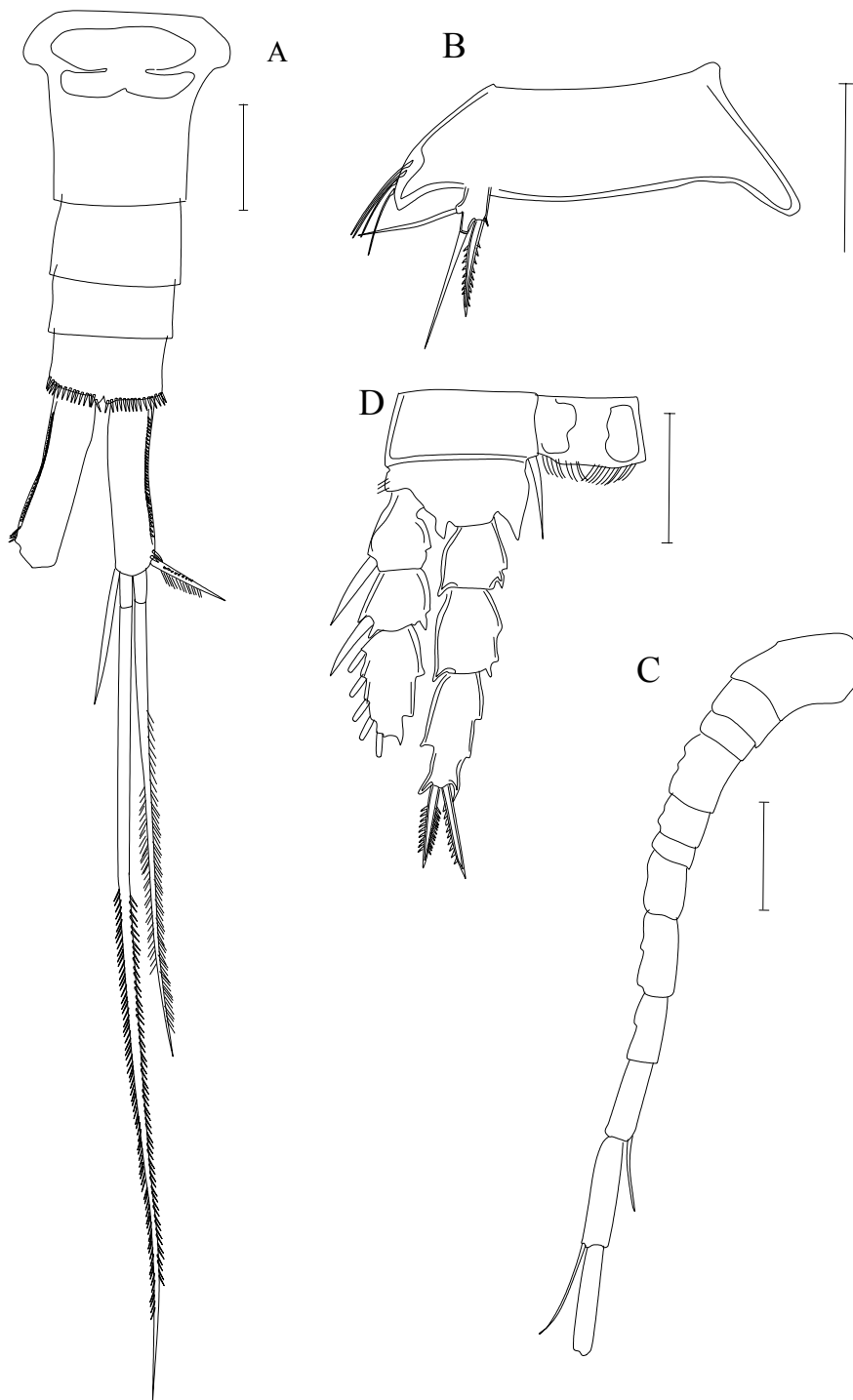


Figura 12. *Eucyclops prinophorus*. A - Segmentos abdominais e ramos caudais; B-5º segmento torácico e P5; C - Antena 1; D - P4. Escala=100µm

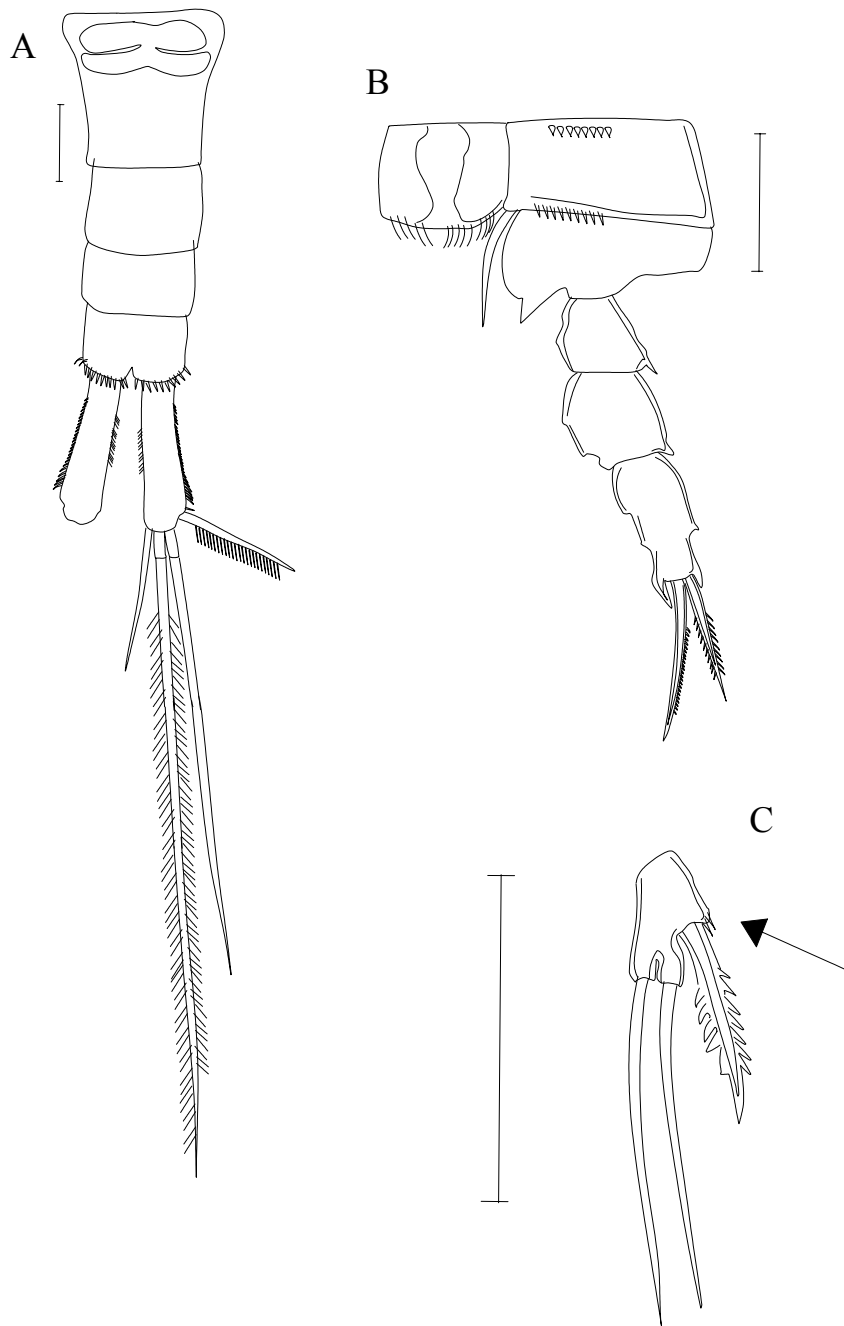


Figura 13. *Eucyclops subciliatus*. A - Segmentos abdominais.; B-P4; C - P5 (seta indicando a posição subapical do espinho). Escala = 100 $\mu$ m

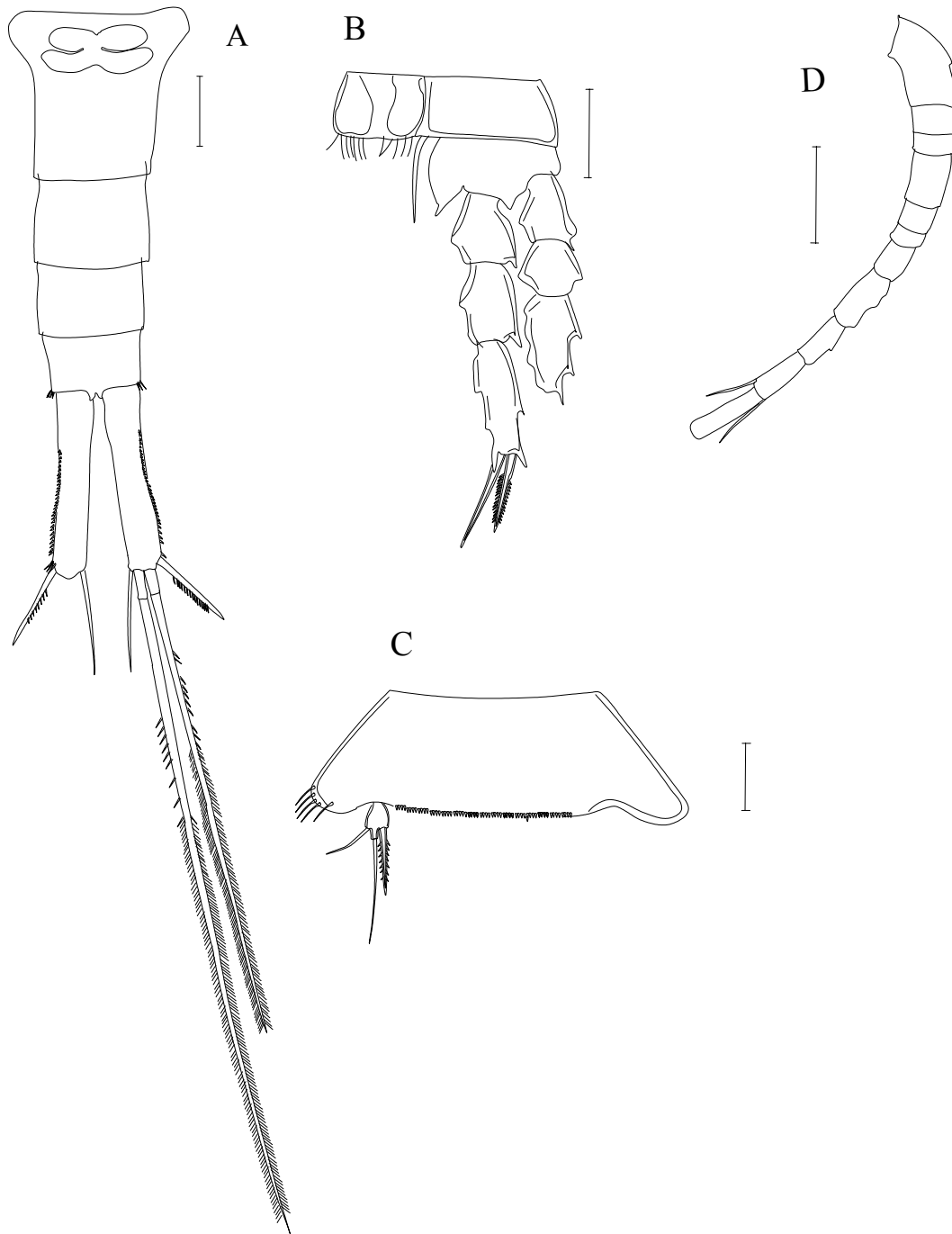


Figura 14. *Eucyclops* sp. A - Segmentos abdominais; B-P4; C - 5<sup>o</sup>. segmento torácico e P5;  
D- Antena 1. Escala =100 $\mu$ m

#### 4.3.4. Gênero *Macrocylops*

##### 4.3.4.1. *Macrocylops albidus* (fig. 15)

Tamanho da fêmea:  $1285 \pm 21\mu\text{m}$ . Trata-se de uma espécie cosmopolita segundo Dussart & Dafaye (1985). Pertencente ao grupo *fuscus-albidus*. Neubaur (1913) elaborou a diferenciação das espécies do grupo, fazendo uma revisão taxonômica, biológica e fisiológica. Espécie de hábito litorâneo, sendo registrada em lagos produtivos como o lago Monjolinho da Universidade Federal de São Carlos, SP (Okano, 1994).

#### **Diagnose diferencial.**

**Antena 1** com membrana hialina no artigo terminal sem invaginações (fig. 15A). **Antena 2**; estrutura e tamanho dos artigos, artigo 3 curto (fig. 15B). **Esclerito intercoxal do P4**, com três fileiras de espinhos (fig. 15E). **P4** com o último artigo do endopodito com espinho interno e externo de mesmo tamanho (fig. 15F). **P5** com seta apical cerca de 3,5 vezes o comprimento do artigo distal (fig. 15F). **Receptáculo seminal** com forma característica com invaginação lateral, dividindo o receptáculo em duas porções sub-iguais (fig. 15G). **Ramos caudais** sem de cerdas internas e cerca de 2,0 vezes mais longo que largo (fig. 15D).



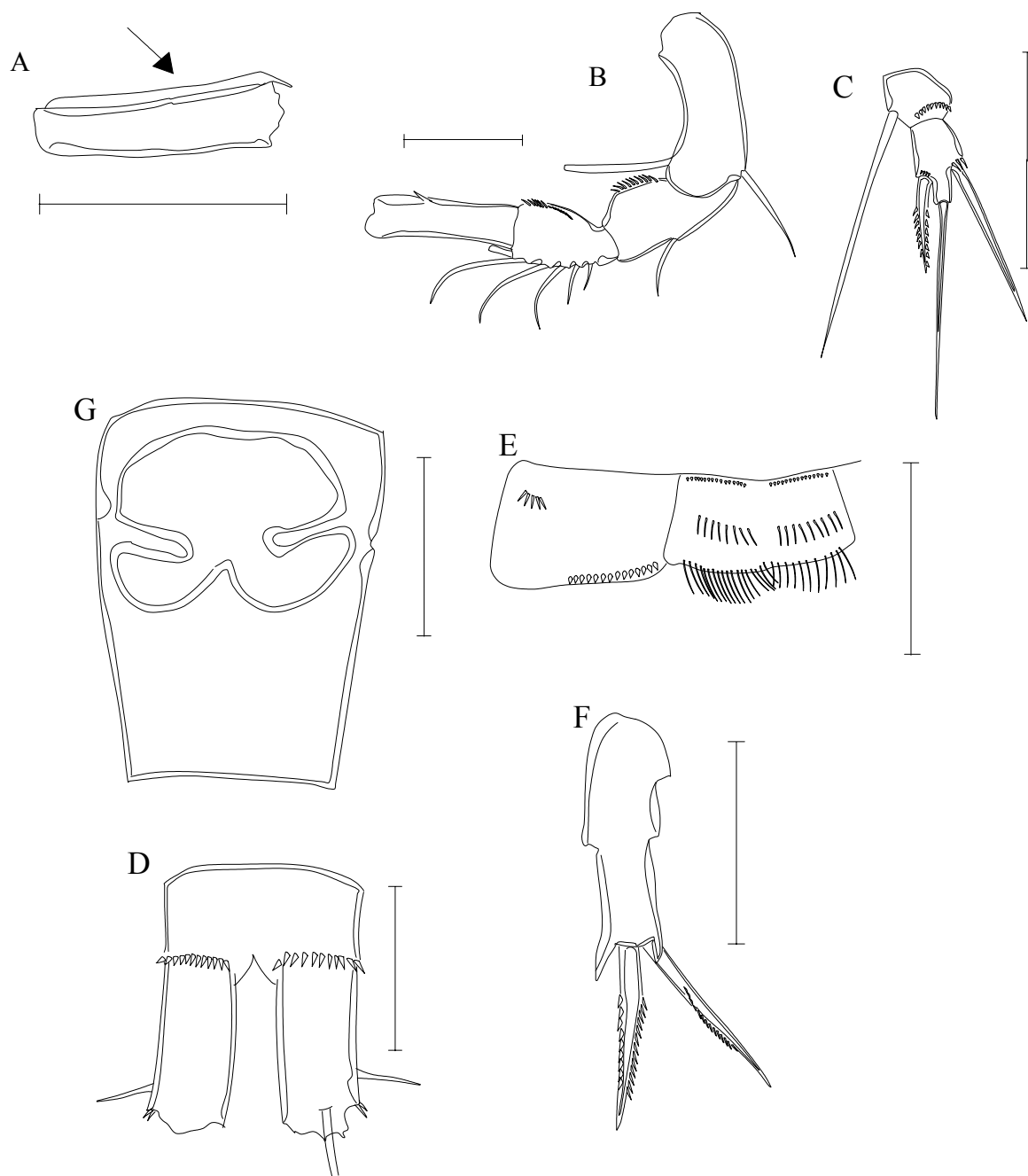


Figura 15. *Macrocyclus albidus*. A-Último artículo da antena 1 (seta indicando a membrana hialina).; B- Aantena 2.; C- P5.; D - Ramos caudais; E - Esclerito intercoxal.; F - Último artículo do endopodito do P4.; G-Receptáculo seminal. Escala = 100 $\mu$ m.

#### 4.3.5. Gênero *Mesocyclops*

##### 4.3.5.1. *Mesocyclops aspericornis* (fig. 16)

Tamanho da fêmea:  $1392 \pm 43\mu\text{m}$ . Uma das poucas espécies de *Mesocyclops* a serem consideradas cosmopolitas (Dussart & Fernando, 1984), Segundo Rocha & Botelho (1998). Trata-se de uma espécie pantropical (Holynska, 2000), com distribuição pelos continentes tropicais. Van de Velde (1984) fez a redescrição para esta espécie nas populações africanas e Holynska, (op. cit.) registrou esta espécie no continente australiano.

Trata-se do primeiro registro da espécie no Estado de São Paulo. No Brasil Reid & Pinto-Coelho (1988) e Reid et al. (1994) registraram esta espécie no Distrito Federal e em Minas Gerais.

#### **Diagnose diferencial.**

A **ntena 1** com a membrana hialina fortemente invaginada (fig. 16A). **Basípodo da antena 2** com espinhos longitudinais (Fig 16B). **P4** com projeções no esclerito e padrões de espinhos no coxopodito (fig. 16D), espinho apical interno do endopodito 3 cerca de 1,14 maior que o externo. **Receptáculo seminal** com afilamento na região distal dos prolongamentos laterais (Fig. ↑16E). **Ramos caudais**: presença de cerdas internas e cerca de 3 vezes mais longo que largo (fig. ↑16F).

##### 4.3.5.2. *Mesocyclops ellipticus* (fig. 17)

Tamanho da fêmea:  $1409 \pm 19\mu\text{m}$ . Espécie distribuída em alguns países da América do Sul (Dussart & Dafaye, 1985, Rocha & Botelho, 1998). Em São Paulo tinha sido registrada apenas para lagoas marginais do Rio Paraná (Sendacz, 199?). Dussart (1984) e Rocha & Botelho (1998) referiram à esta espécie como sendo de hábitos limnéticos e melhor adaptadas a ambientes oligotróficos.

Neste trabalho esta espécie foi encontrada em Barra Bonita, reservatório extremamente eutrofizado.

#### **Diagnose Diferencial.**

**Antena 1** com membrana hialina sem grandes invaginações (fig. 17A). **Basípo** da **antena 2** com espinhos longitudinais na borda interna (Fig. 17B). **Esclerito intercoxal do P4** com prolongamentos pontiagudos na porção distal do (↑Fig. 17C) e padrões de espinhos e cerdas no coxopodito. **Endopodito 3 do P4** com o espinho externo apical cerca de 1,2 vezes o tamanho do espinho interno (↑Fig. 17E). **Receptáculo seminal e último segmento torácico**, aspecto geral, projeções laterais finas e projeção vertical levemente elíptica, cerdas no último segmento torácico (fig. 17E). **Ramos caudais** com cerdas internas e cerca de 4 vezes mais longo que largo (fig. 17F).

#### 4.3.5.3. *Mesocyclops meridianus* (fig. 18)

Tamanho da fêmea:  $1166 \pm 27\mu\text{m}$ . Espécie descrita por Kiefer (1926) de amostras provenientes do Rio Paraguai é muito semelhante a espécie *M. brasilianus* descrita por Kiefer (1933) de amostras provenientes da região amazônica. Dussart (1984), em estudo sobre *Mesocyclops* da América do Sul verificou ser a espécie *Mesocyclops meridianus* uma possível sinonímia de *M. brasilianus*. Posteriormente Dussart (1987), analisando o grupo *Mesocyclops* da Venezuela propôs que a espécie encontrada era uma variedade do *M. meridianus* denominando-a de *M. meridianus - brasilianus*. Entretanto Gutierrez-Aguirrez (2001) em revisão para espécies de *Mesocyclops* tropicais americanos identificou a espécie encontrada em Barra Bonita como *M. meridianus*, concordando com a espécie encontrada em São Paulo.

#### **Diagnose diferencial**

**Antena 1** com a membrana hialina do último artículo bem recortada (fig. 18A). **Antena 2** com o primeiro artículo (Basípodo) evidenciando os padrões de fileiras de espinhos e projeções de pequenos espinhos nos terceiros e quarto artículos (fig. 18B). **Esclerito intercoxal do P4** liso em sua margem distal (↑fig. 18D). **Ramos caudais** com presença de cerdas delgadas na margem interna e cerca de 4 vezes mais longo que largo (fig. 18C). **Receptáculo seminal** com prolongamentos laterais delgados posicionados na parte superior (fig. 18E).

#### 4.3.5.4 *Mesocyclops ogunnus* (fig. 19)

Tamanho da fêmea:  $1106 \pm 24\mu\text{m}$ . *Mesocyclops ogunnus* foi descrita por Onabamiro (1957) com exemplares provenientes da África e redescrita por Van de Velde (1984) em seu artigo sobre distribuição e revisão taxonômica das espécies africanas do gênero *Mesocyclops*. Suárez-Morales *et al.* (1998) registrou a ocorrência de *M. ogunnus* nas Ilhas Caimã (América Central). No Brasil Reid & Pinto-Coelho (1993 e 1994) registraram a ocorrência de *Mesocyclops ogunnus* em Minas Gerais na Represa de Furnas. Estes autores sugeriram ser uma espécie introduzida, pois a presença de *M. ogunnus* estava restrita a esta localidade estudada não havendo registro anteriores. Porém esta espécie, muito semelhante a *M. kieferi*, já havia sido registrada nas represas do Estado de São Paulo (represas do Médio e Baixo Tietê: Represas de Barra Bonita, Bariri, Ibitinga, Promissão, Nova Avanhandava, Três Irmãos e Ilha Solteira) como foi demonstrado após revisão realizada por Matsumura-Tundisi & Silva (2002), que concluíram que todos os registros anteriores de *M. kieferi* se trata de *M. ogunnus*.

#### Diagnose diferencial

**Basípodo da antena 2** com a face caudal com serie de espinhos transversais na parte distal (↑Fig. 19A). **Palpo da maxilula** com a presença de uma fileira de espinhos na região anterior (↑fig. 19B). **P4** com fileira de cerdas presentes na porção proximal do coxopodito Esclerito intercoxal com pequenas projeções na margem distal (fig. 19C). Terceiro artículo do endopodito cerca de 2,46 vezes mais longo que largo, espinho apical interno excede o espinho apical externo, entretanto podem ter tamanhos iguais (fig. 19F). **Receptáculo seminal** com projeções laterais largos e com pouca curvatura para trás. Canal do poro copulatório curvado na parte proximal (fig. 19D). **Ramos caudais** cerca de 2,7 vezes mais longo que largo, com parte interna sem cerdas (fig. 19E).

#### 4.3.5.5 *Mesocyclops longisetus longisetus* (fig. 20)

Tamanho da fêmea:  $1514 \pm 75\mu\text{m}$ . Espécie muito comum nos reservatórios de São Paulo (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999). Dussart (1984) na revisão de alguns grupos de *Mesocyclops* da América do Sul, propôs a sub-especiação para a espécie *M. longisetus* baseando-se em algumas características do receptáculo seminal, do terceiro artículo do endopodido do P4 e da membrana hialina da A1. São características muito

sutis, entretanto a espécie encontrada se encaixa na forma *M. longisetus longisetus*, quanto a forma do receptáculo seminal e membrana hialina, mas uma detalhada revisão deve ser feita com diferentes populações para corroborar ou não a sub-especiação.

### **Diagnose diferencial**

**Antena 1** com o último artículo com membrana hialina com invaginação leve (Fig. 20A). , **Basípodo do A2** (face frontal), padrões de espinhos (Fig. 20B). **P4** com o artículo terminal do endopodito, artículo cerca de 1,5 vezes maior que os espinhos apicais (Fig 20C). **Ramos caudais** com cerdas na parte interna e cerca de 3,5 a 4,0 vezes mais longo que largo (Fig. 20D). **Receptáculo seminal** com projeções laterais perpendiculares à projeção vertical (Fig. 20E).

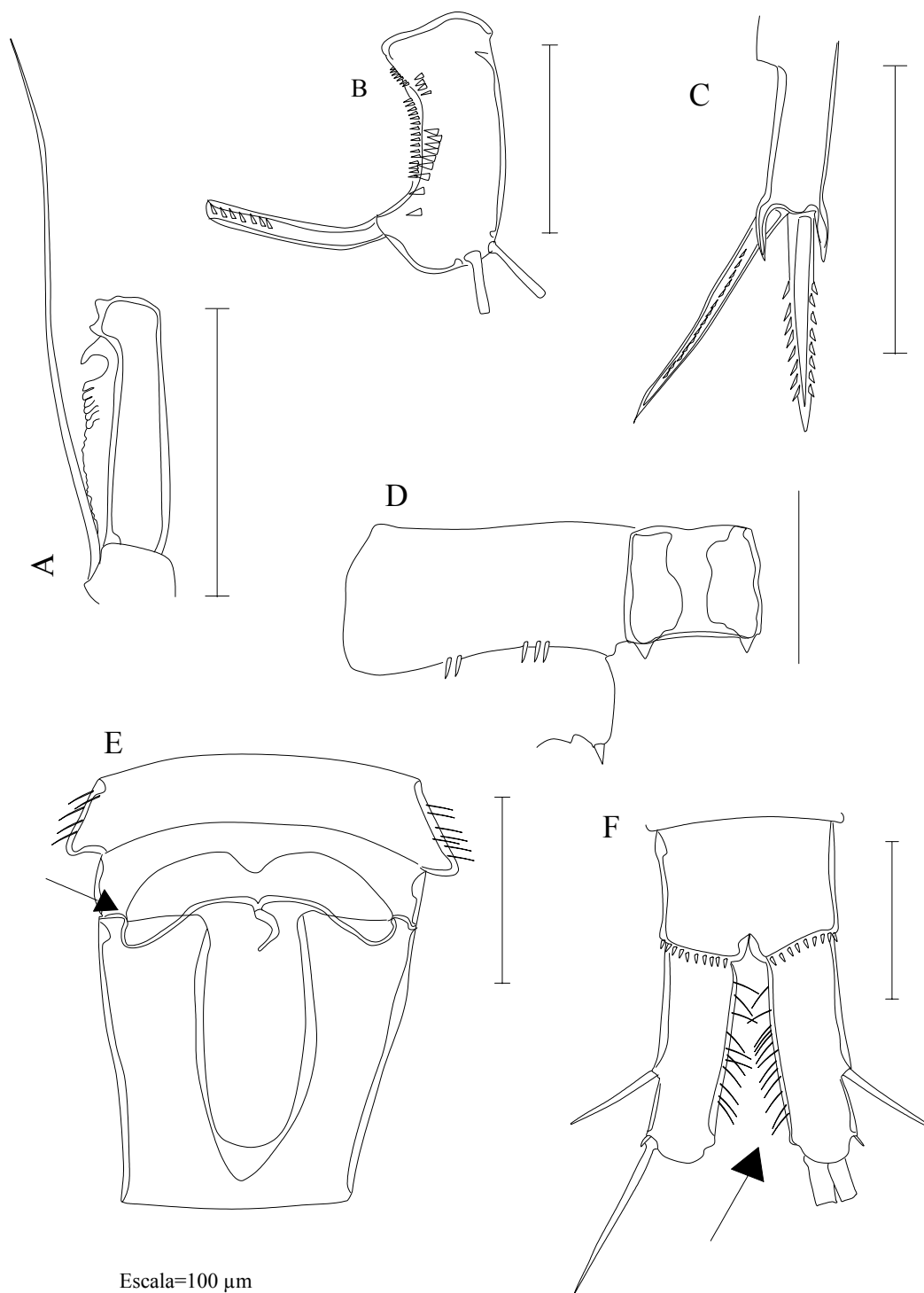


Figura 16. *Mesocyclops aspericornis*. A - Último artículo da antena 1.; B- Antena 2.; C- P4, artículo terminal do endópodo; D - Esclerito intercoxal e coxopodito do P4; E- Receptáculo seminal e último segmento torácico (seta indica parte posterior do braço sem curvatura).; F - Ramos caudais (seta indica as cerdas internas).

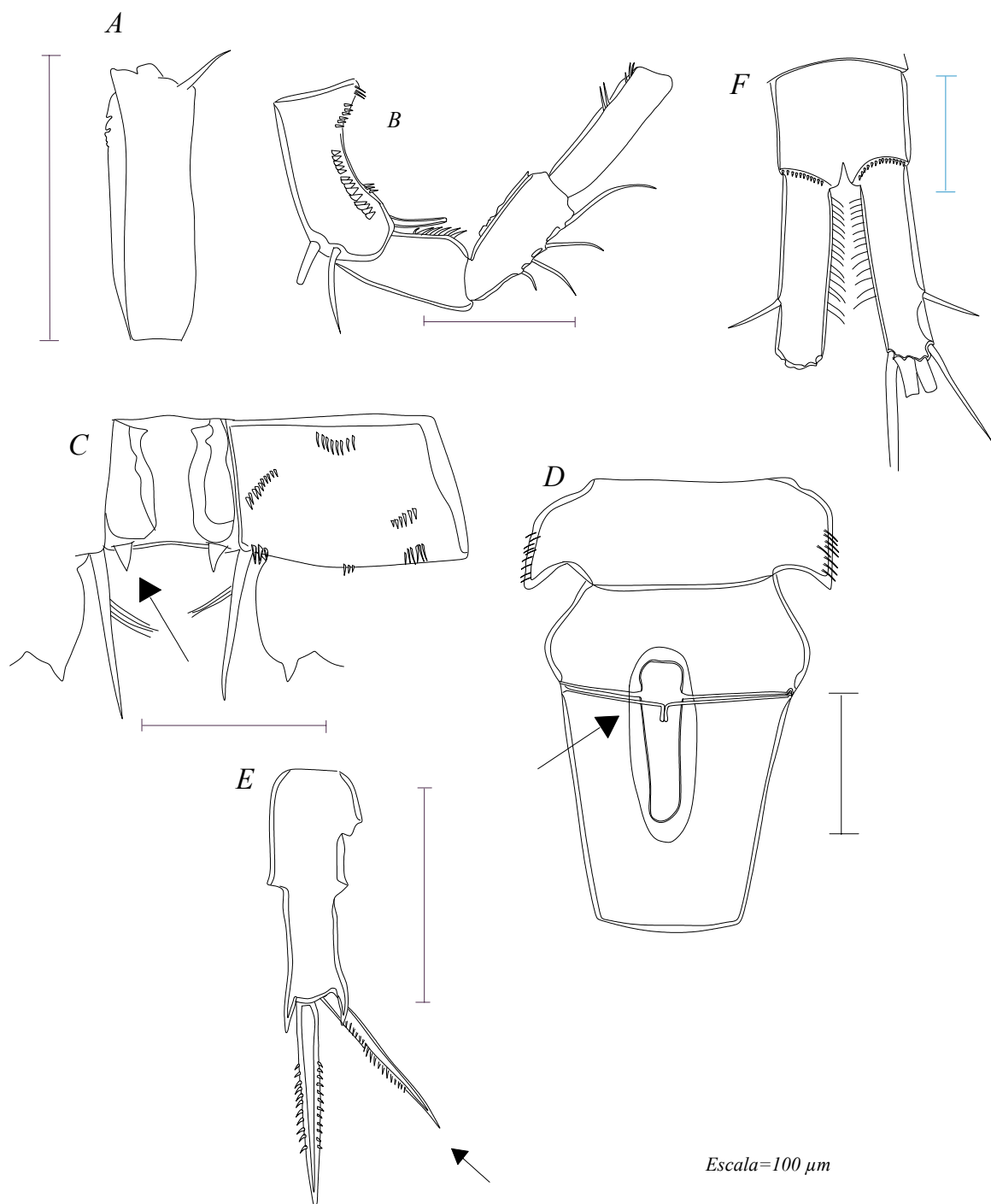
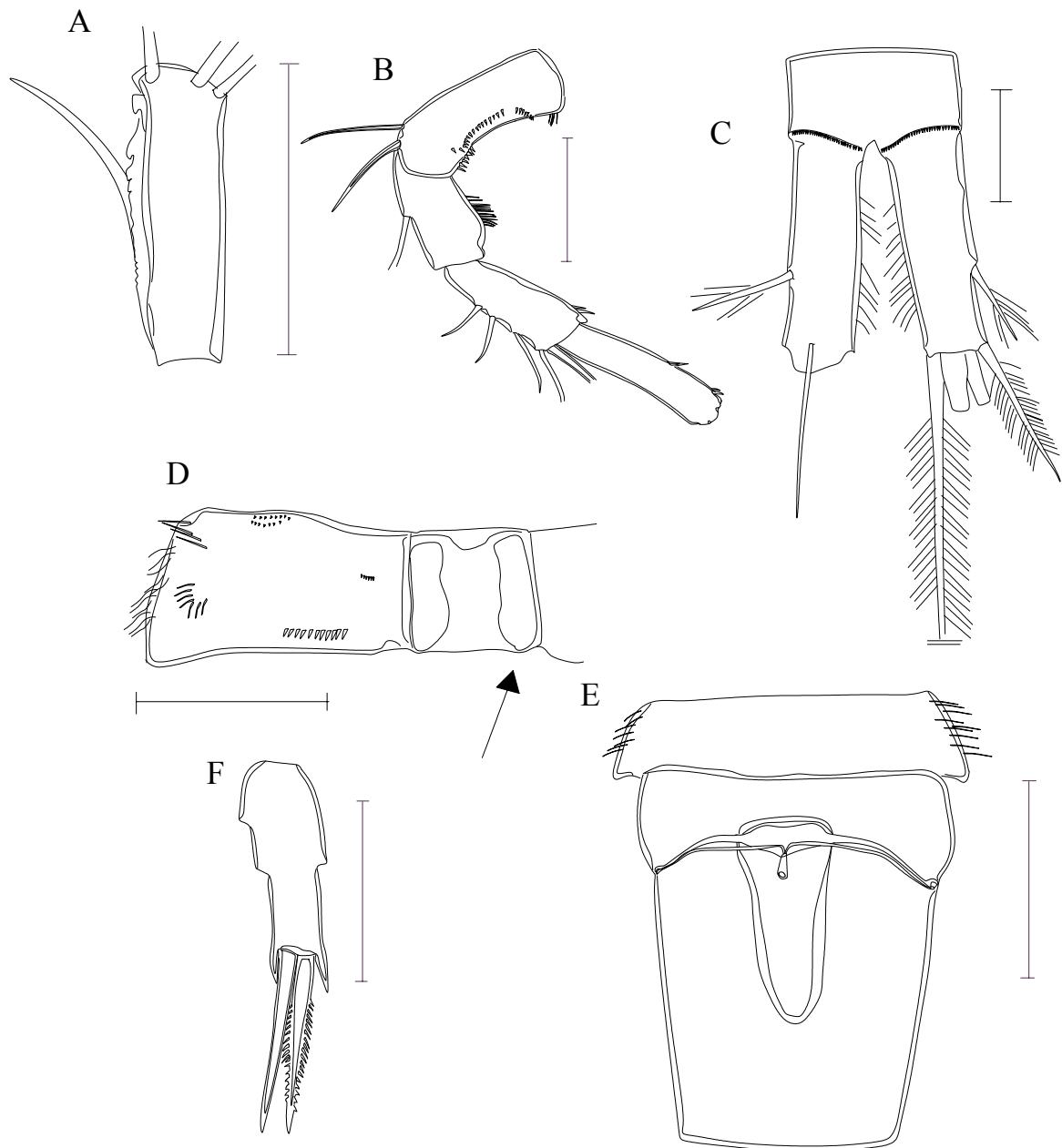


Figura 17. *Mesocyclops ellipticus*. A - Articulo terminal da antena 1.; B- antena 2.; C- Coxopodite e esclerito intercoxal do P4 (seta indica projeções do esclerito); D- Receptáculo seminal (seta indica a posição de inserção dos braços do receptáculo).; E - Ultimo articulo do endopodito do P4 (seta indica espinho apical interno); F - Ramos caudais.



Escala=100  $\mu$ m

Figura 18. *Mesocyclops meridianus*. A - Último artículo da antena 1.; B- Antena 2.; C- Ramos caudais; D - Esclerito intercoxal do P4 (seta indica a margem distal do esclerito intercoxal).; E - Receptáculo seminal; F - P4, último artículo do endópodo



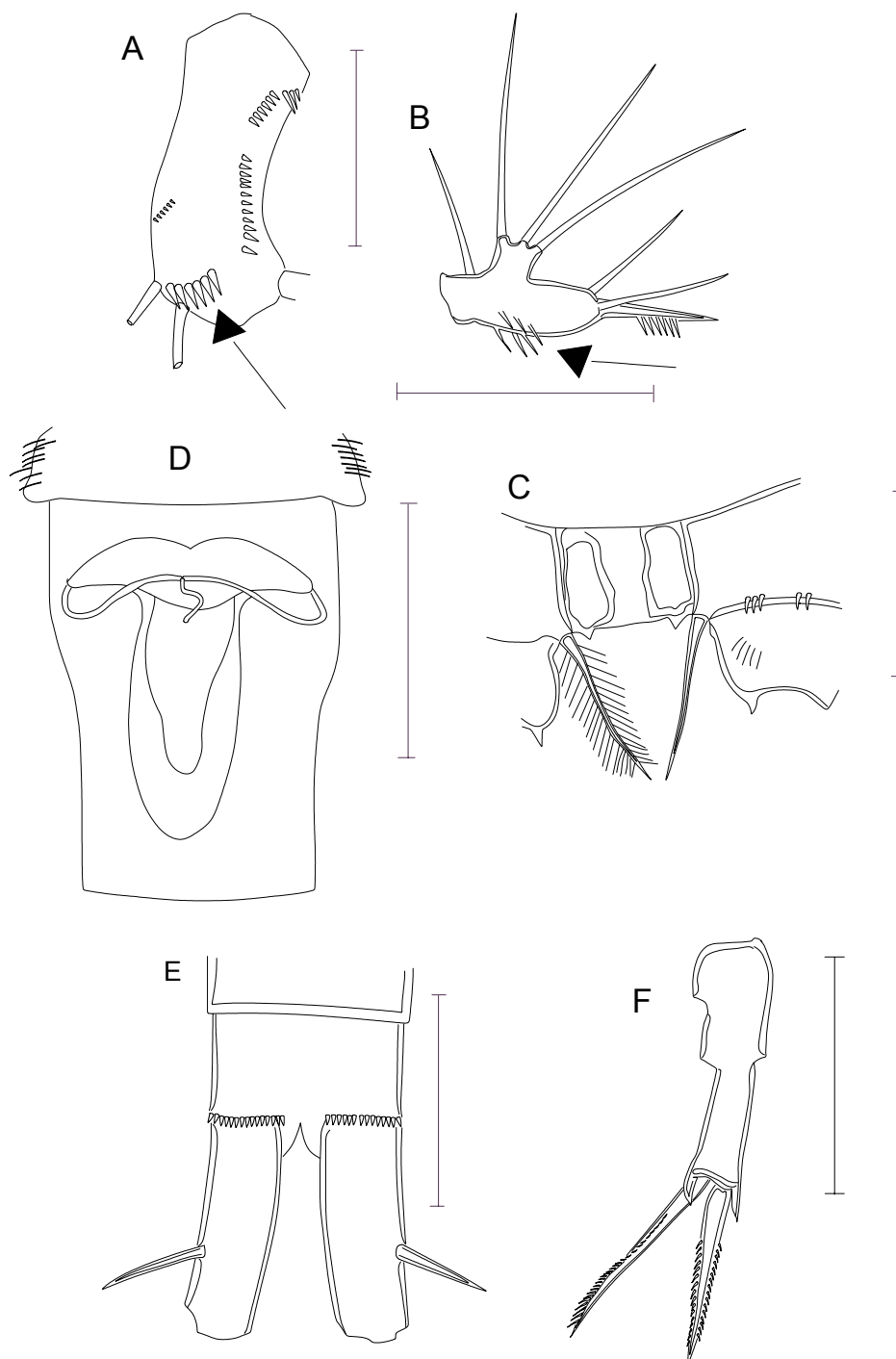


Figura 19. *Mesocyclops ogunnus*. A - Antena 2, basípodo face caudal seta indica espinhos transversais); B - Palpo da maxilula (seta indica espinhos ornamentais); C- Coxopodito e esclerito intercoxal do P4.; D - Receptáculo seminal.; E- Ramos da cauda.; F- ultimo artículo do endopodito do P4. Escala = 100 $\mu$ m.

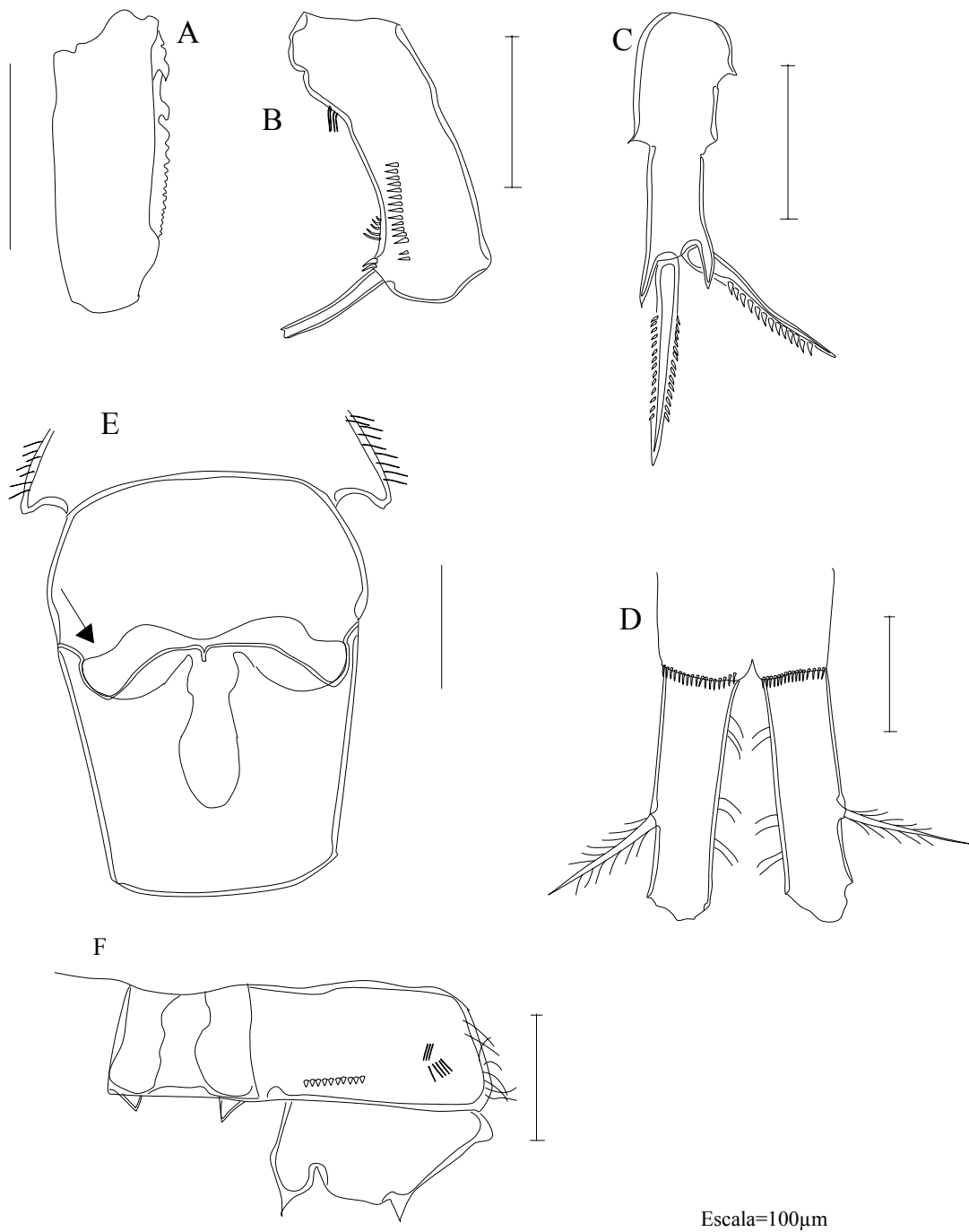


Figura 20. *Mesocyclops longisetus longisetus*. A - Último artículo da antena 1.; B- Antena 2, basípodo face frontal.; C - P4, último artículo do endópodo.; D - Ramos caudais.; E - Receptáculo seminal (seta indica braços do receptáculo seminal).; F - Esclerito intercoxal.

#### 4.3.6. Gênero *Metacyclops*

##### 4.3.6.1. *Metacyclops mendocinus* (fig. 21)

Tamanho da fêmea:  $1067 \pm 54\mu\text{m}$ . Espécie restrita às Américas Central e do Sul (Dussart & Dafaye, 1985). Espécie presente em reservatórios impactados, como billings (Sendacz & Kubo, 1982), Americana (Arcifa, 1984) e na represa de Barra Bonita (Tundisi & Matsumura-Tundisi, 1990).

#### **Diagnose diferencial**

**Apêndices torácicos de 1 a 4** com Endopodito e exopodito formados por dois artículos. **Esclerito intercoxal do P4** sem ornamentos, espinhos interno apical do endopodito 2 cerca de 3 vezes o externo (fig. 21B). **P5** formado por um artículo com dois pequenos espinhos terminais (Fig. 21C). **Receptáculo seminal** com projeções laterais relativamente curtas com parte proximal larga e distal afilada (Fig. 20D). **Ramos da cauda** com comprimento cerca de 5 vezes a largura (20A).

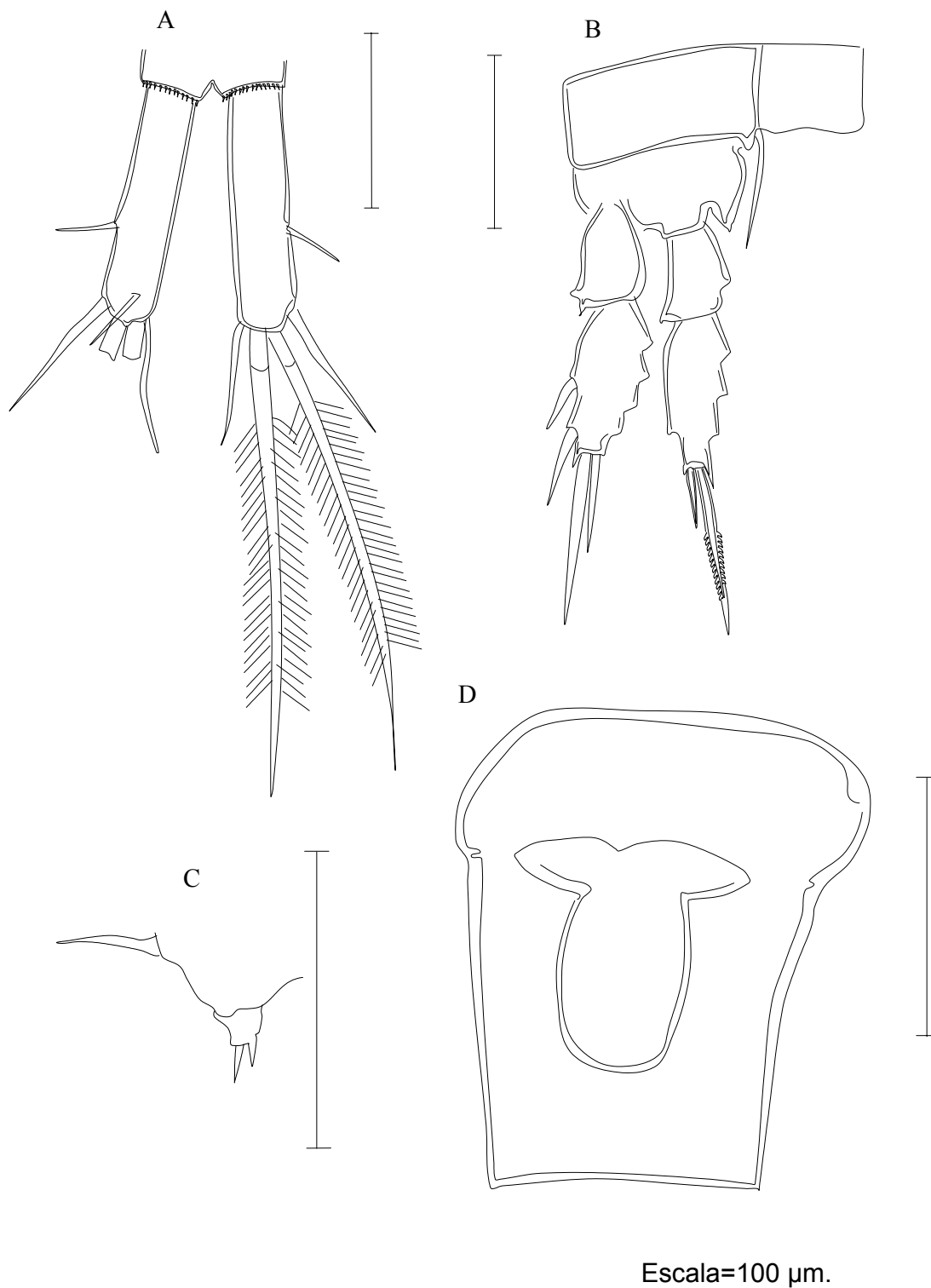


Figura 21. *Metacyclops mendocinus*. A - Ramos da cauda.; B-P4; C - P5; D - Segmento genital.

### 4.3.7. Gênero *Microcyclops*

#### 4.3.7.1. *Microcyclops anceps anceps* (fig. 22)

Tamanho da fêmea:  $824 \pm 57\mu\text{m}$ . Espécie restrita a América (Dussart & Dafaye, 1985). Espécie registrada em reservatórios de todas as grandes Bacias do estado de São Paulo (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999). Espécie se diferencia das demais espécie do grupo por apresentar o espinho apical junto a seta, além desta característica Rocha (1998) atribuiu outras microcaracterísticas a espécie auxiliando na identificação.

Diagnose diferencial

**Segundo Segmento torácico** com borda inferior com serrilhamento (Fig. 22C). **P5** com espinho terminal curto e forte, seta terminal longa (Fig. 22F). **Ramos caudais** cerca de 3,9 a 4,0 vezes que larga, sem ornamentação em torno do espinho lateral (Fig. 21B).

#### 4.3.7.2. *Microcyclops ceibaensis* (fig. 23)

Tamanho da fêmea:  $974 \pm 56\mu\text{m}$ . Espécie registrada em São Paulo na cidade de Ilha Comprida (Rocha, 1998). Reid (1986) em revisão a espécie separou definitivamente esta espécie de sua congênere *M. diversus*, que utilizando microcaracteres evidenciou as diferenças.

Diagnose diferencial

**Segmentos torácicos** sem ornamentações. **P5** com espinho lateral e seta terminal longa (fig. 23 D). **Ramos caudais** com ornamentações (série de espinhos) em torno do espinho lateral do ramo da cauda (↑ Fig. 23C). **Receptáculo seminal** com dois pares de projeções laterais desenvolvidos (fig. 23B).

#### 4.3.7.3. *Microcyclops finitimus* (fig. 24)

Tamanho da fêmea:  $911 \pm 31\mu\text{m}$ . Espécie descrita por Dussart (1984) na Venezuela e registrada na represa do Broa (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999). Espécie muito semelhante a *M. anceps* (Dussart, 1984) diferindo em poucos aspectos no P4. Rocha (1998) conseguiu separar estas espécies com base em microcaracteres apresentados nos segmentos torácicos.

Diagnose diferencial

**Segmentos torácicos** com ornamentações (pequenos espinhos) nas bordas inferiores do 4 e 5 segmentos (Fig. 24E). **P5** com espinho lateral e pequeno e seta terminal longa (fig. 24C). **Ramos caudais** cerca de 3,8 vezes mais longa que larga, sem ornamentação em torno do espinho lateral, setas terminais sem graduação nas cerdas (fig. 24B).

#### 4.3.7.4. *Microcyclops aliuis* (fig. 25)

Tamanho da fêmea:  $1157\mu\text{m}$ . Espécie registrada no Brasil por Reid (1993) no Planalto Central. Em São Paulo foi o primeiro registro para esta espécie.

Diagnose diferencial

**Segmentos torácicos** sem ornamentações. **P5** com espinho lateral diminuto e seta terminal longa (fig. 25D). **Ramos caudais** Cerca de 2,9 a 3 vezes mais longa que larga, sem ornamentação em torno do espinho lateral e ornamentações das cerdas terminais espiniformes próximo a inserção (↑Fig. 25A).

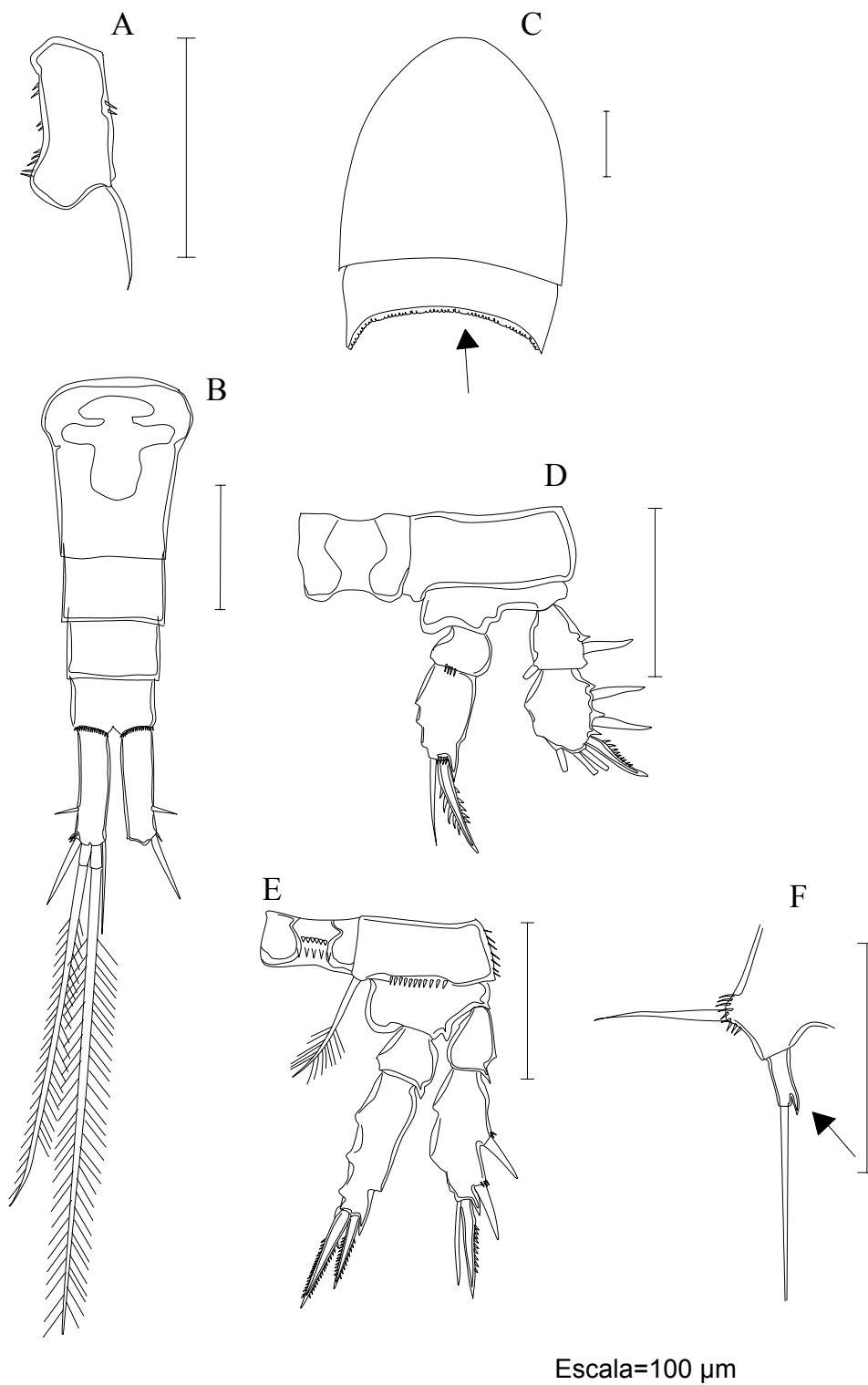


Figura 22. *Microcyclops anceps anceps*. A- Basípodo da A2; B- Segmentos abdominais.; C- Cefalotorax e 2<sup>o</sup>.segmento torácico(seta indica ornamentações); D- P1; E- P4; F- P5 (seta indica espinho lateral).

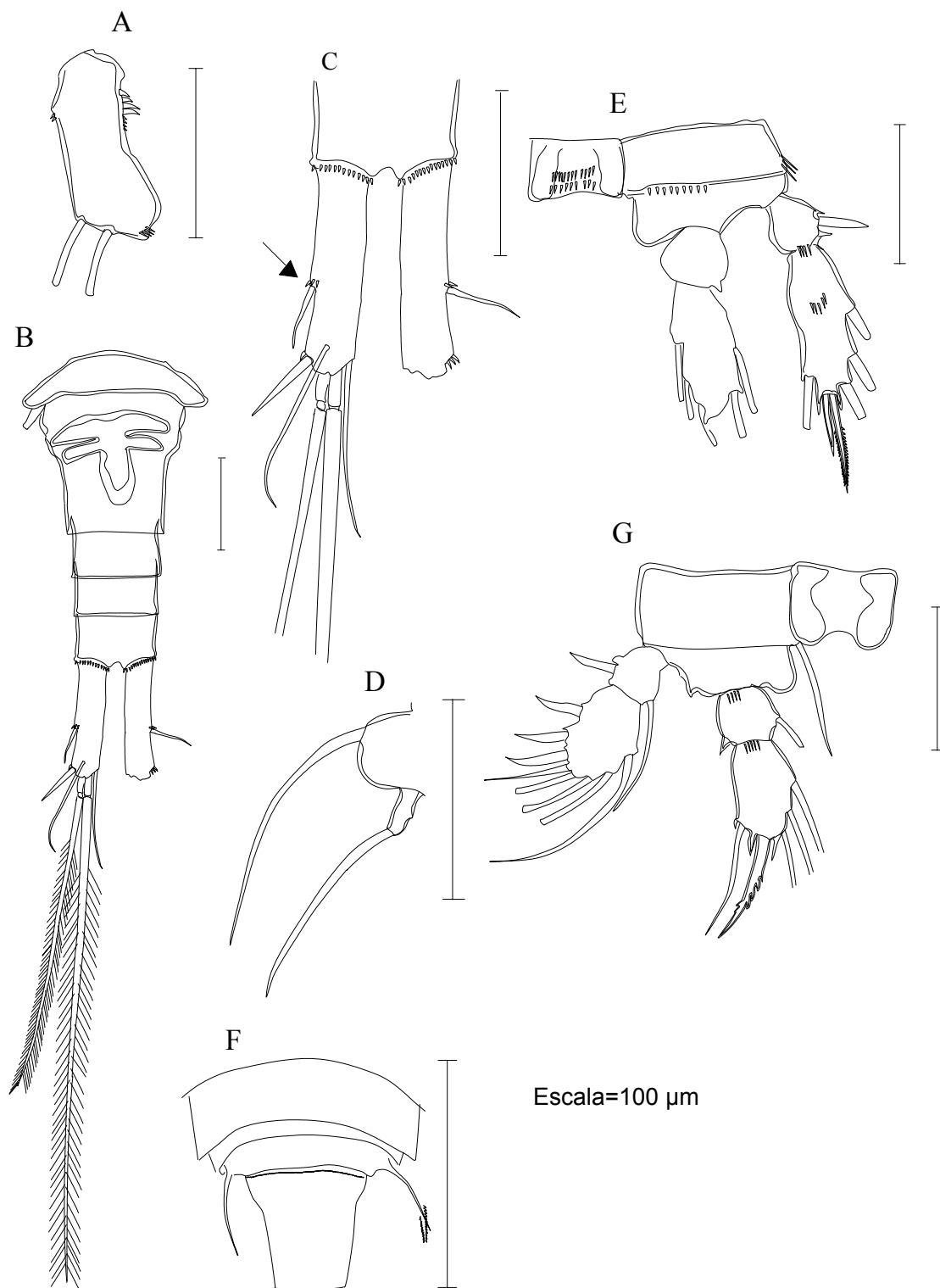
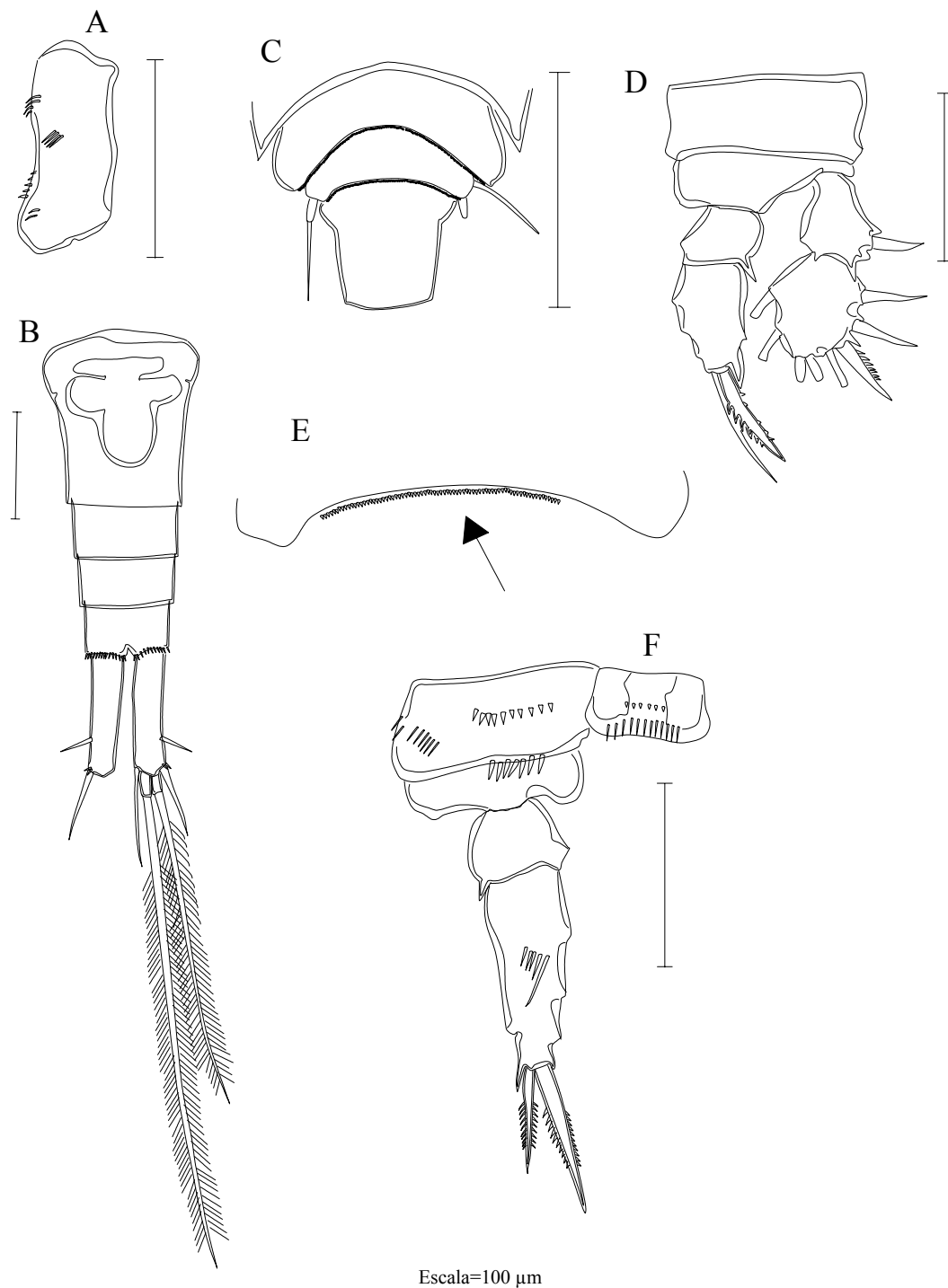


Figura 23. *Microcyclops ceibaensis*. A -Basípodo da antena 2; B- Segmentos abdominais e receptáculo seminal; C- Furca (seta indica ornamentos acima do espinho lateral); D- P5 torácico e segmento genita; E- P4 ; F- Segmentos torácicos 4 e 5 e seg. genita; G- 1º apêndice torácico (P1).





Escala=100 µm

Figura 24. *Microcyclops finitmus*. A - Basípedo da A2; B - Segmentos abdominais.; C-4º e 5º segmentos torácicos e segmento genital; D - P1; E - Detalhe do segmento torácico 4 (seta indica ornamentos); F- P4.

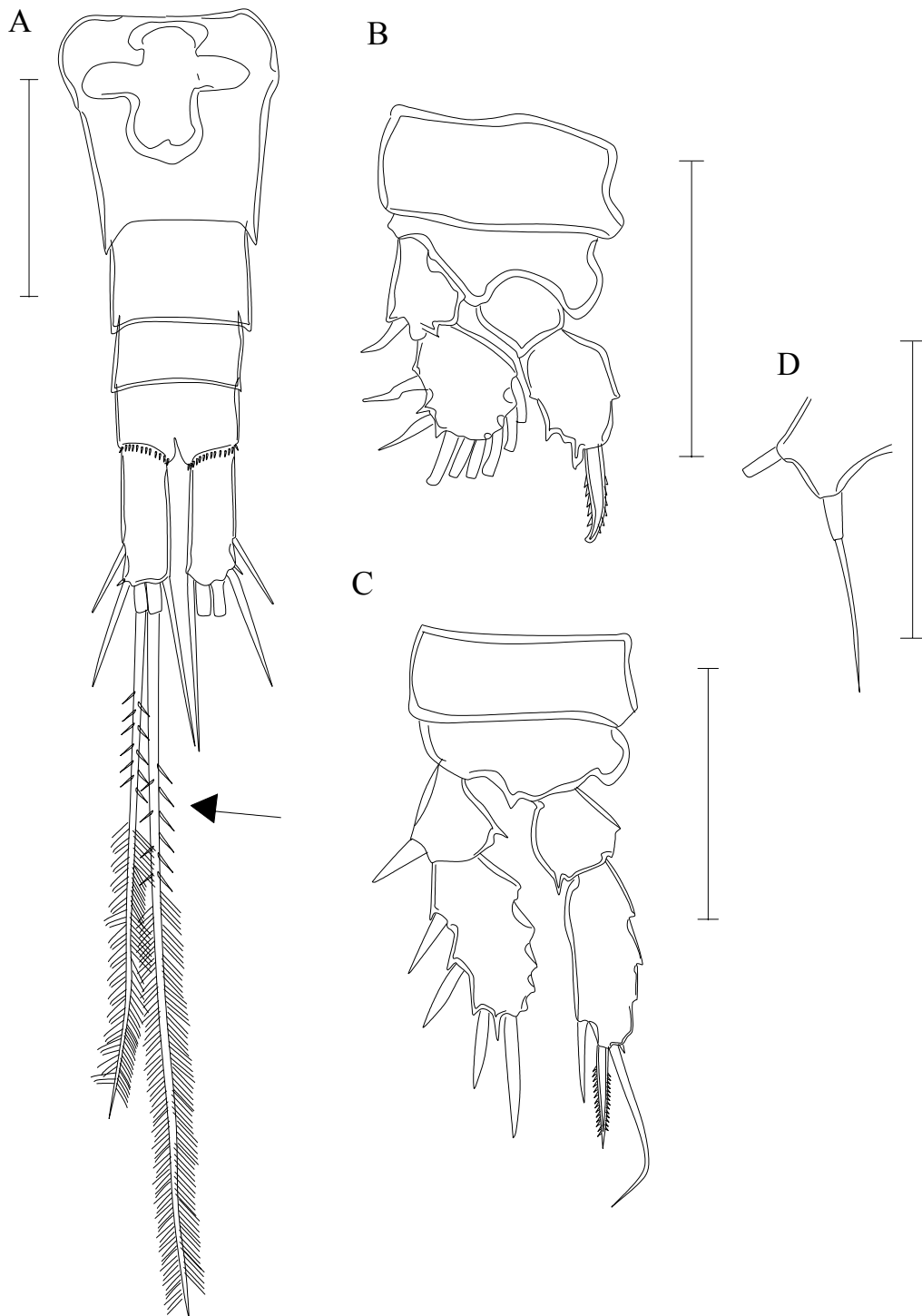


Figura 25. *Microcyclops alius*. A - Segmentos abdominais e ramos da cauda (seta indica espinhos ornamentais).; B-P1; C-P4; D- P5.

#### 4.3.8. Gênero *Paracyclops*

##### 4.3.8.1. *Paracyclops chiltoni* (fig. 26)

Tamanho da fêmea:  $739 \pm 29\mu\text{m}$ . Espécie do grupo denominado complexo *fimbriatus*, que engloba as espécies *P. fimbriatus*, *P. chiltoni* e *P. imminuta*, estas espécies são extremamente semelhantes. Karaytung & Boxshall (1998) realizaram a diagnose para as espécies do grupo, estabelecendo as diferenças para as espécies e sendo considerada a única espécie cosmopolita do complexo *fimbriatus*, esta espécie tem como sinonímia a espécie *P. finitimus*.

#### **Diagnose diferencial**

**P5** apresentando a seta externa cerca de 1,5 vezes o tamanho do espinho interno (Fig. 26C).

**Ramos da cauda** podem apresentar depressões cuticulares e cerca de 3,0 mais longo que largo (↑fig. 26A).

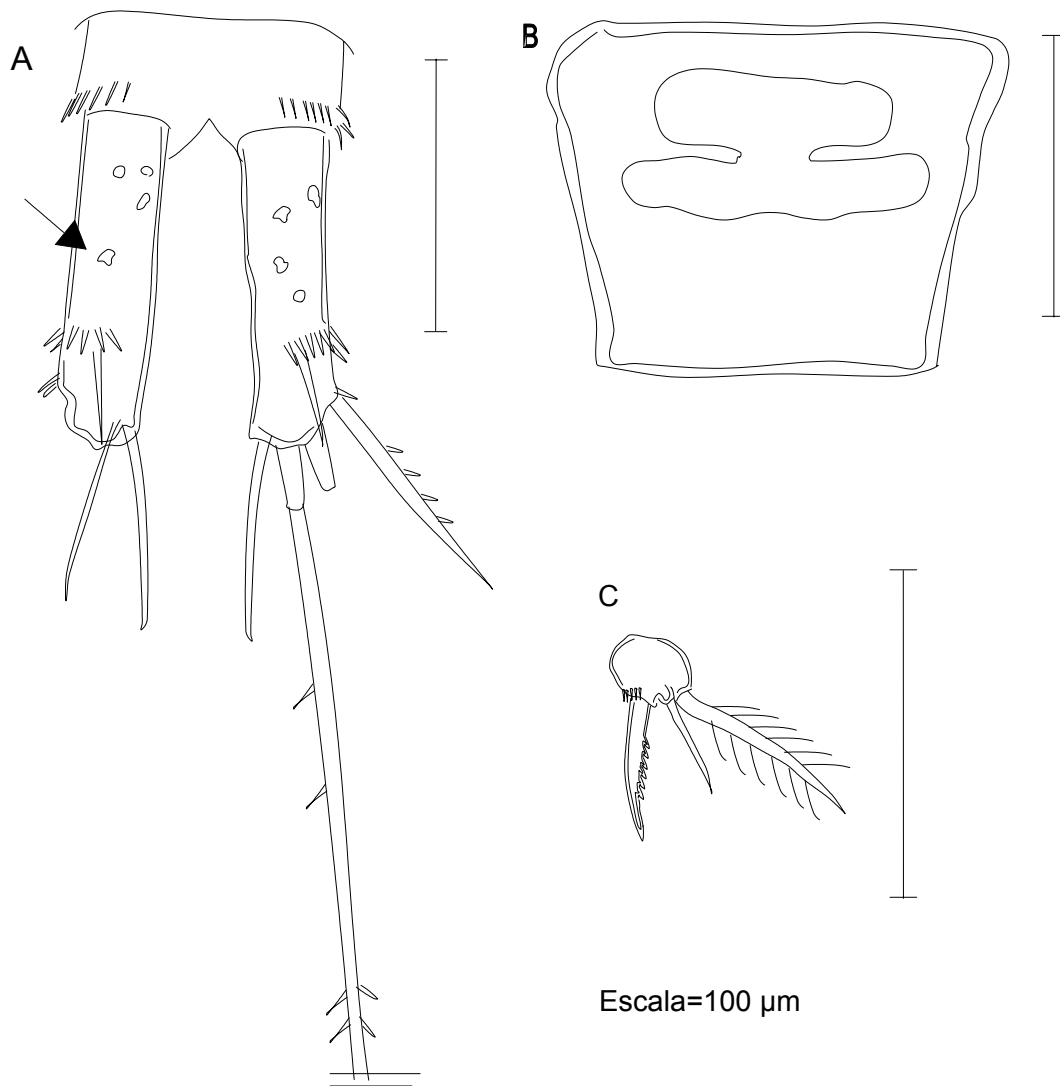


Figura 26. *Paracyclops chilotni* A - Segmento anal e ramos caudais (seta indica depressões cuticulares);  
B - Segmento genital; C- P5

### 4.3.9. Gênero *Thermocyclops*

#### 4.3.9.1. *Thermocyclops decipiens* (fig. 27)

Tamanho da fêmea:  $823 \pm 21\mu\text{m}$ . Espécie registrada nos continentes asiático, africano e americano (Dussart, 1985). Esta espécie foi registrada em todas as grandes bacias do Estado de São Paulo, sendo também a espécie mais freqüente do gênero (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999).

#### Diagnose diferencial

**Esclerito intercoxal do P4** com as projeções da margem distal com ornamentações (espinhos) (↑Fig. 27A). **Endopodito 3 do P4** com o espinho interno 2,4 o tamanho do externo. **Receptáculo seminal** com projeções laterais sem depressão na parte proximal e pequeno alargamento na parte distal (Fig. 27D). **Ramos caudais** cerca de 2,5 mais longo que largo, espinho lateral inserido no terço distal dos ramos, seta interna distal cerca de 3 vezes a externa distal (fig. 27E)

#### 4.3.9.2. *Thermocyclops minutus* (fig. 28)

Tamanho da fêmea:  $602 \pm 18\mu\text{m}$ . Segunda espécie mais frequente do gênero no Estado de São Paulo (Matsumura-Tundisi & Silva, 1999). Tem sido registrada em ambientes oligotróficos sem outros congêneres e em ambientes meso-eutróficos é comumente encontrada com o congêneres *T. decipiens* (Reid, 1986, Rocha et. al. 1995). Em São Paulo, esta espécie foi registrada em todas as grandes sub-bacias do Rio Paraná.

#### Diagnose diferencial

**Esclerito intercoxal do P4** sem ornamentações na margem distal (Fig. 28A), **endopodito 3 do P4** com espinho interno cerca de 5 vezes o externo (Fig. 28B). **Receptáculo seminal** com projeções laterais com depressão na parte proximal e com afilamento na parte distal (↑Fig. 28D). **Ramos caudais** cerca de 2,5 mais longos que largos, espinho lateral inserido na porção mediana do ramo, seta interna distal cerca de 2 vezes a externa (fig. 28E).

#### 4.3.9.3. *Thermocyclops inversus* (fig. 29)

Tamanho da fêmea:  $637 \pm 27\mu\text{m}$ . Esta espécie tinha sido registrada apenas no reservatório de Guarapiranga, SP (Rocha, 1998). Reid 1986 infere que esta espécie possa ter predileção por águas carbonadas. Esta espécie apresenta uma distribuição restrita aos trópicos não sendo registrada em locais de zona temperada.

#### Diagnose diferencial

**Esclerito intercoxal do P4** sem ornamentações na margem distal, **endopodito 3 do P4** com espinho interno maior que o externo, ambos longos (Fig. 29B). **Receptáculo seminal** com projeções laterais delgadas (fig. 29C). **Ramos caudais** cerca de 2,7 mais longo que largo, lateral inserido na porção mediana do ramo, seta interna distal cerca de 1,6 vezes a externa (fig. 29E).

#### 4.3.9.4. *Thermocyclops* n. sp. (fig. 5)

Tamanho da fêmea:  $735 \pm 21\mu\text{m}$ . Esta espécie descrita por Silva & Matsumura-Tundisi (2003), foi encontrada apenas nas Unidades Hidrográficas que pertencem a bacia litorânea. Esta espécie é semelhante ao *T. minutus* no aspecto do P4, entretanto diferindo em outras características, principalmente o receptáculo seminal. O primeiro registro para esta espécie foi feito por Sendacz & Kubo, (1982) como sendo *T. minutus*, nas mesmas localidades onde a espécie foi identificada.

#### Diagnose diferencial

**Esclerito intercoxal do P4** sem ornamentações na margem distal (fig.5L), **endopodito 3 do P4** com espinho interno 3,2 vezes maior que o externo. **Receptáculo seminal** com projeções laterais sem depressão na parte proximal e leve afilamento na parte distal (fig.5N). **Ramos caudais** cerca de 3,0 mais longo que largo, lateral inserido na porção mediana do ramo, seta interna distal cerca de 2,3 vezes a externa (fig. 5O).

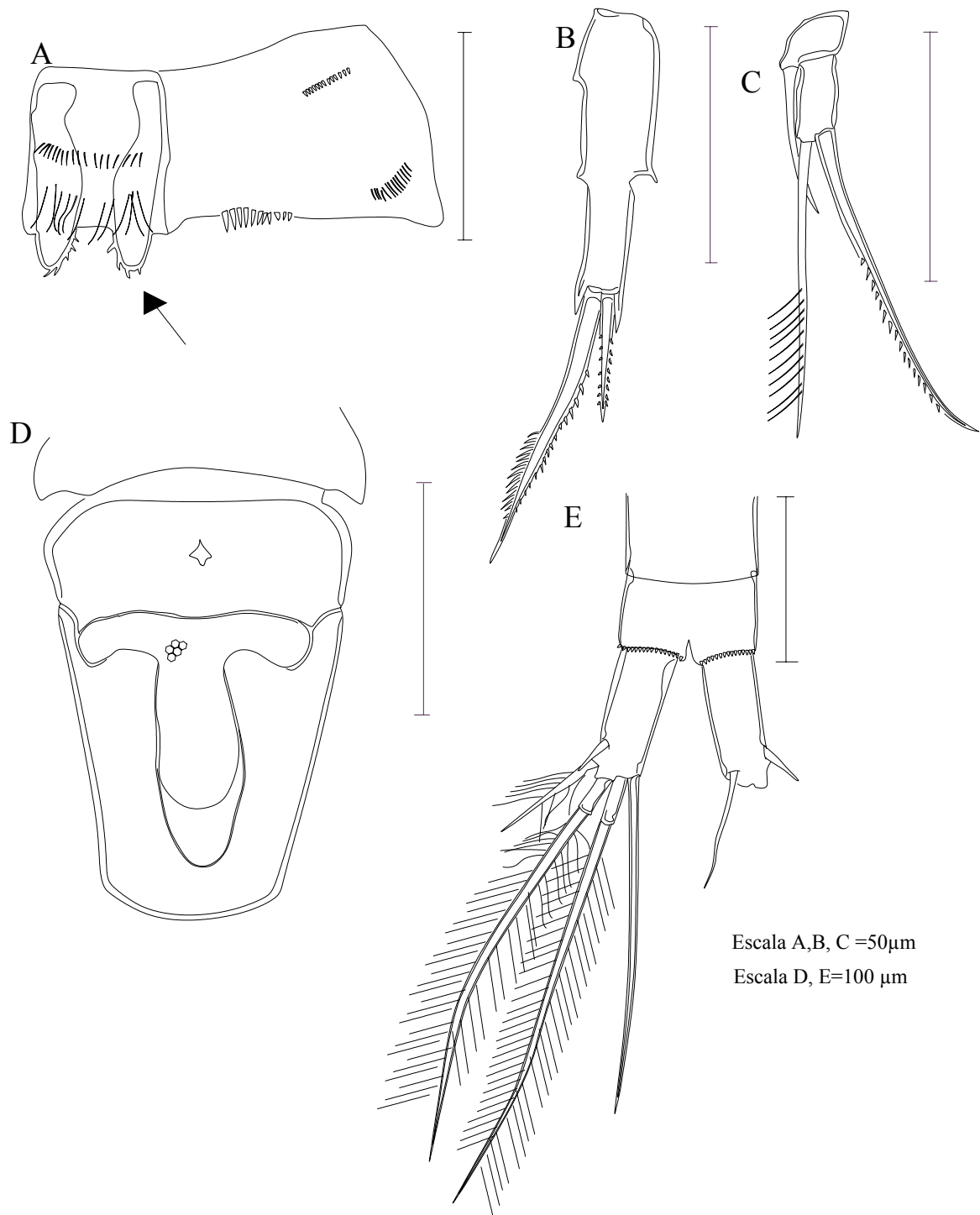


Figura 27. *Thermocyclops decipiens*. A - Coxopodito e esclerito intercoxal do P4 (seta indica ornamentos na margem distal); B - Último artículo do endopodo do P4; C-P5.; D - Receptáculo seminal.; E - Ramos da cauda

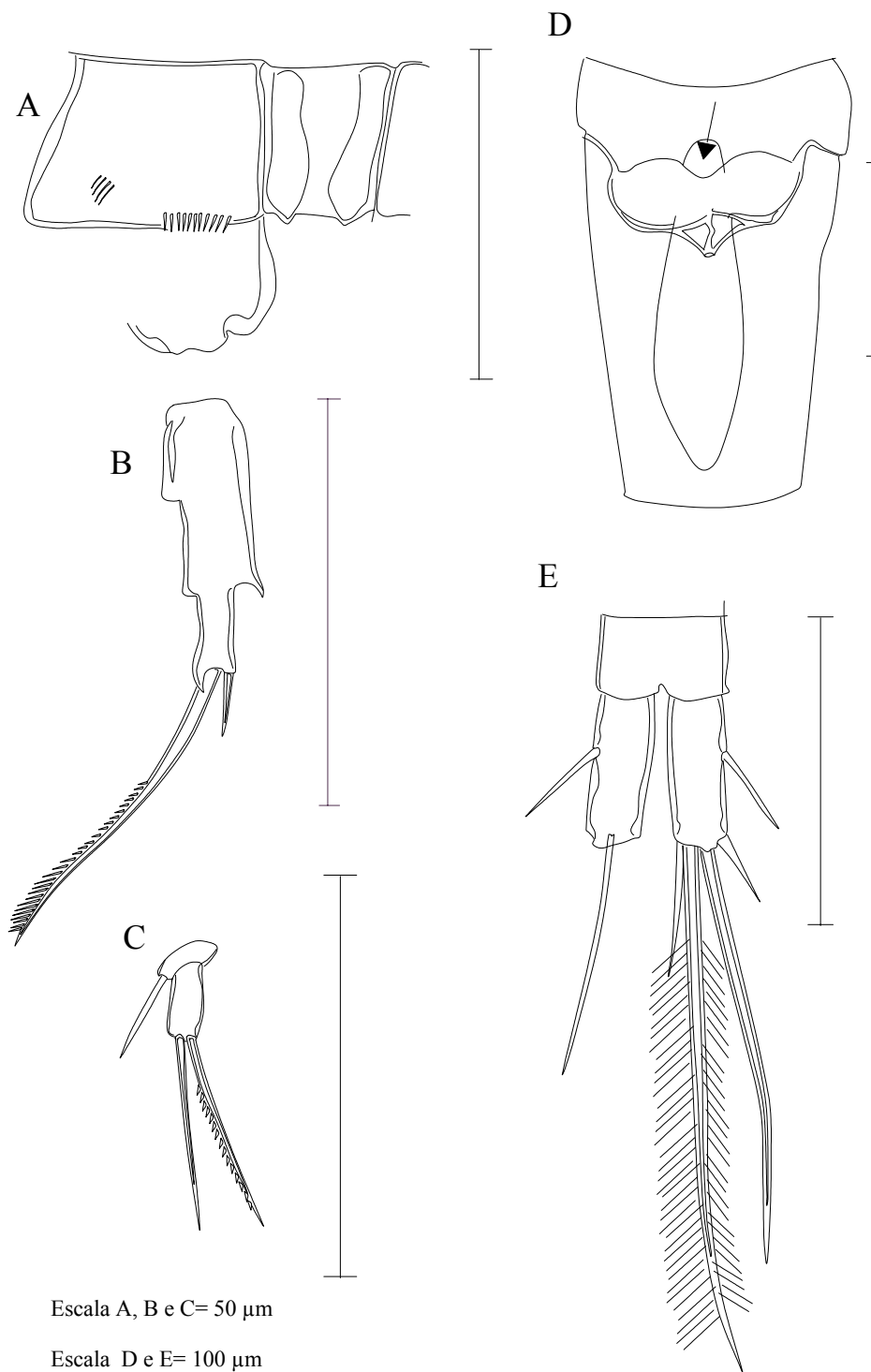


Figura 28. *Thermocyclops minutus*. A - Coxopodito e esclerito intercoxal do P4; B - Último artículo do endópodo do P4; C - P5; D- Receptáculo semina (seta indica depressão n aparte proximal do na margem anterior). E - Ramos caudais



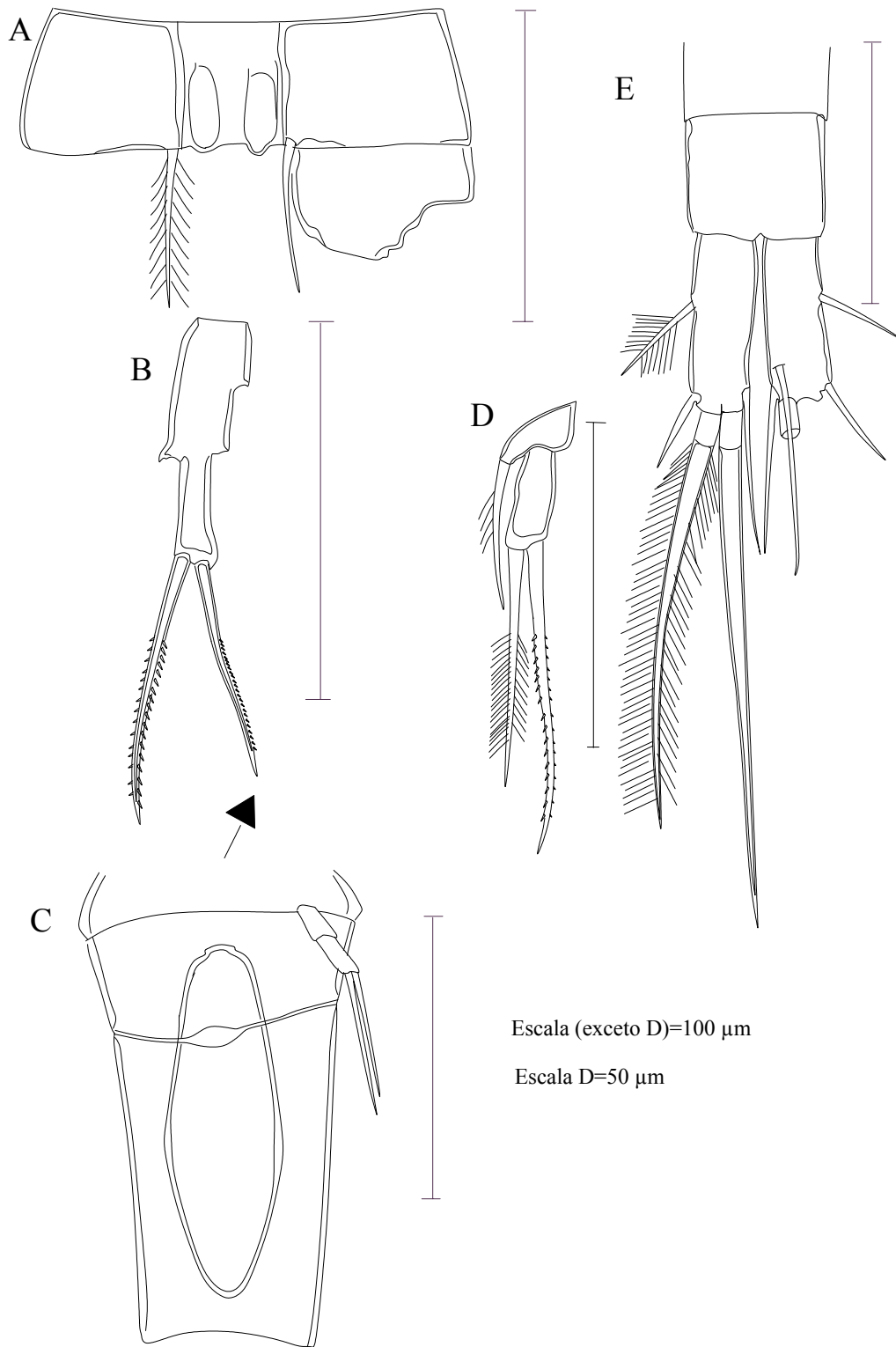


Figura 29. *Thermocyclops inversus*. A - Coxopodite e esclerito intercoxal do P4 (seta indica espinho apical interno); B- Último artículo do endópodo do P4.; Receptáculo seminal; D- P5; E- Ramos da cauda.

#### 4.3.10. Gênero *Tropocyclops*

##### 4.3.10.1. *Tropocyclops prasinus prasinus* (fig. 31)

Tamanho da fêmea:  $659 \pm 37 \mu\text{m}$  Espécie cosmopolita (Dussart & Dafaye, 1985), com registro em todos os continentes, com exceção da Antártica. Entretanto Reid (1991) considerou que as espécies sul americanas fossem todas provavelmente *T. prasinus meridionalis*. A espécie registrada tem características do *T. prasinus prasinus* no que se refere a disposição das setas e espinhos do P5 e no tamanho do ramos da cauda, entretanto difere na fórmula dos espinhos dos exópodo, onde é 3,4,3,3 e no *T. prasinus prasinus* é 3,4,4,3.

#### Diagnose diferencial

**Espinho interno endopodito 3 do P4** cerca de 1,6 vezes maior que o artículo (fig. 31C). **P5** com uma seta apical longa cerca de 4 vezes o comprimento do artículo do P5, e uma seta e espinhos subapicais menores (fig. 31B). **Ramos da cauda** cerca de 2,6 mais longo que largo, com espinho terminal externo de tamanho igual a seta terminal interna (fig. 31D).

##### 4.3.10.1. *Tropocyclops prasinus meridionalis* (fig. 30)

Tamanho da fêmea:  $666 \pm 60 \mu\text{m}$ . Segundo Reid (1991) é a espécie mais comum do complexo *prasinus* para América do sul. Difere da espécie tipo no tamanho dos ramos da cauda, mais curto.

#### Diagnose diferencial

**Espinho interno endopodito 3 do P4** cerca de 1,8 vezes maior que o artículo (fig. 30B). **P5** com uma seta apical longa cerca de 3,5 vezes o comprimento do artículo do P5, e uma seta e espinhos subapicais menores (fig. 30C). **Ramos da cauda** cerca de 1,8 mais longo que largo, com espinho terminal externo de tamanho igual a seta terminal interna (fig. 30D).

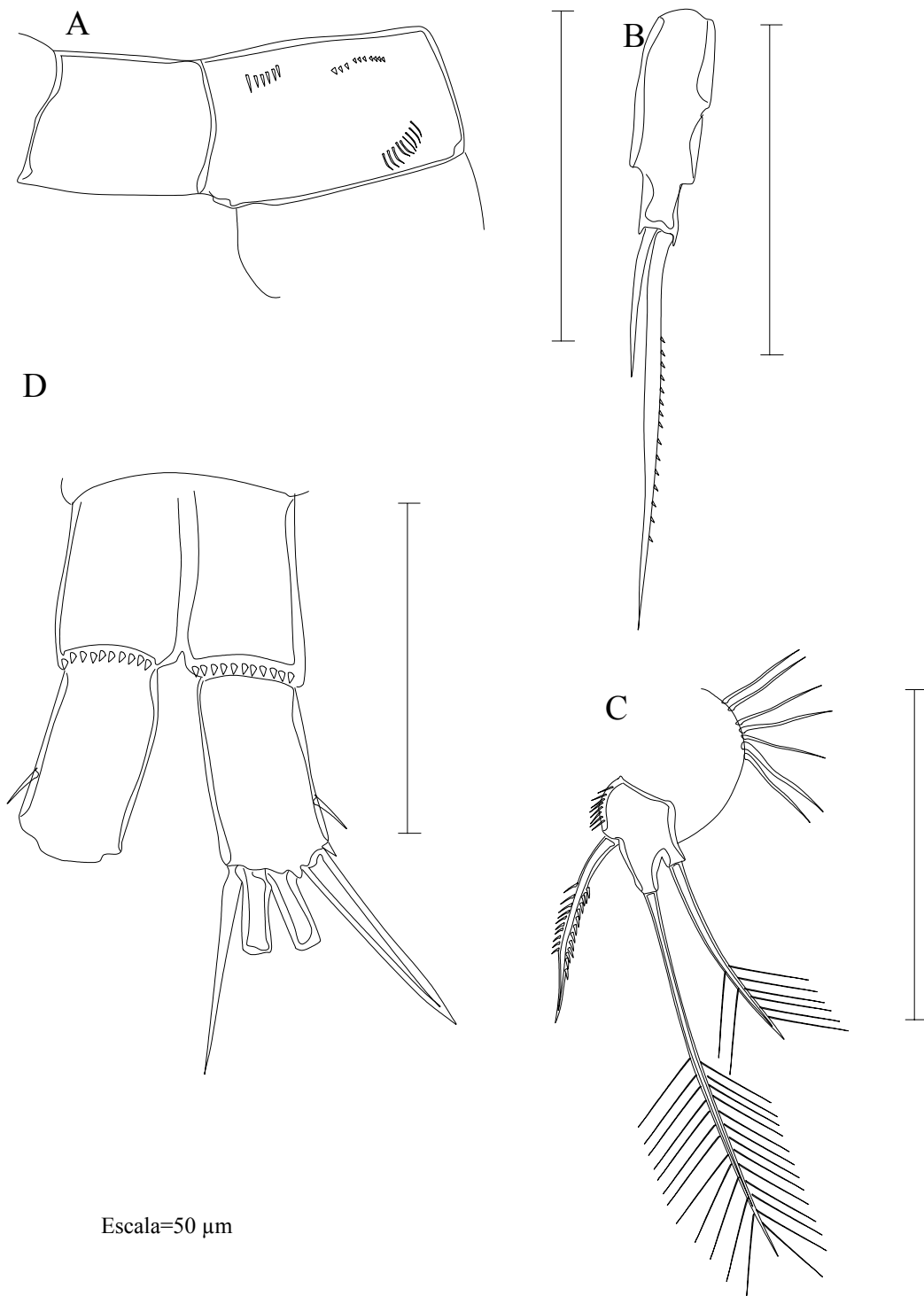


Figura 30. *Tropocyclops prasinus meridionalis*. A - Esclerito intercoxal e coxopodito do P4 .; B- Ultimo artículo do endopodito do P4.; C- P5.; D- Ramos caudais.

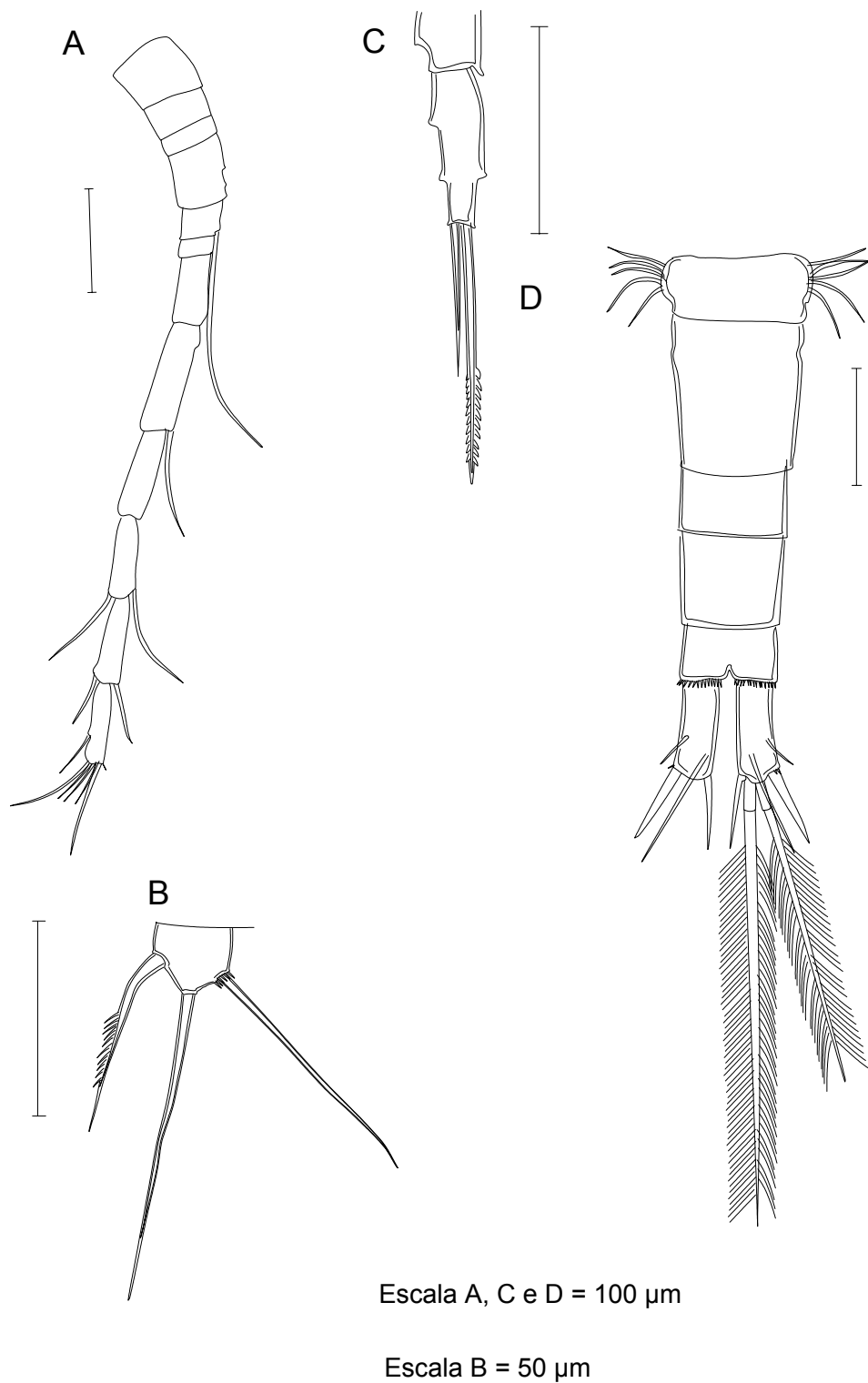


Figura 31. *Tropocyclops prasinus prasinus*. A- Antena 1.; B- P5.; C- 3<sup>o</sup> endopodito do P4.; D- segmento abdominalis e ramos caudais.

#### **4.4. Distribuição, abundância relativa e ocorrência das espécies de Cyclopoida nas UHGRHs do Estado de São Paulo.**

A tabela 3 mostra a ocorrência das espécies nas 22 unidades de estudo. A espécie mais freqüente, presente em 20 unidades foi a espécie *Thermocyclops decipiens*, seguida por *T. minutus* e pelas espécies de *Mesocyclops*, *M. longisetus longisetus*, *M. meridianus* e *M. ogunnus*, todas estas presentes em 15 unidades. *Tropocyclops prasinus meridionalis* foi registrada em 14 unidades hidrográficas.

As tabelas de 4 a 23 mostram os valores para abundância relativa e a freqüência de ocorrência das espécies encontradas nos corpos de água amostrados. Os (\*) indicam os corpos de água com zona limnética desenvolvida, nestas localidades há possibilidade de ser registrada espécies tanto de hábitos limnéticos quanto de hábitos litorâneos, quando estes possuírem também uma zona litorânea desenvolvida.

##### **4.4.1. Unidade Mantiqueira**

A tabela 4 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 3. Distribuição e frequência de ocorrência das espécies nas Unidades Hidrográficas de São Paulo.

<b>Espécies/Unidades</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>FQ</b>	
<i>Acanthocyclops robustus</i>		x				x				x			x											4
<i>Ectocyclops rubescens</i>		x				x			x	x			x		x			x		x				8
<i>Ectocyclops herbsti</i>									x				x											2
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>	x		x	x		x			x	x			x					x						9
<i>Eucyclops elegans</i>	x														x									2
<i>Eucyclops prinophorus</i>																			x					1
<i>Eucyclops subciliatus</i>																					x	x		2
<i>Eucyclops sp</i>													x											1
<i>Macrocyclops albidus</i>	x			x					x	x	x		x								x	x		8
<i>Mesocyclops aspericornis</i>													x											1
<i>Mesocyclops ellipticus</i>													x											1
<i>Mesocyclops meridianus</i>		x		x	x	x		x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	x			15
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	x	x		x	x	x			x		x	x	x	x	x	x			x	x	x			15
<i>Mesocyclops ogunnus</i>		x		x		x		x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	15
<i>Metacyclops mendocinus</i>				x	x				x				x							x	x			6
<i>Microcyclops anceps anceps</i>		x		x	x	x	x	x	x	x	x		x		x				x	x	x	x		15
<i>Microcyclops ceibaensis</i>		x	x			x			x				x											5
<i>Microcyclops alius</i>		x			x				x				x											4
<i>Microcyclops finitimus</i>	x		x	x			x			x	x	x	x		x	x			x	x	x	x		14
<i>Paracyclops chiltoni</i>	x		x	x	x								x									x		6
<i>Thermocyclops decipiens</i>		x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	20
<i>Thermocyclops inversus</i>		x		x					x		x	x		x										6
<i>Thermocyclops n.sp</i>		x									x													2
<i>Thermocyclops minutus</i>					x	x		x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	16
<i>Tropocyclops prasinus prasinus</i>			x																					1
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>	x	x	x	x	x	x	x		x		x		x		x	x					x	x		14
Nº espécie por unidade	7	12	7	12	9	11	4	5	15	7	9	6	20	6	11	7	3	8	9	12	10	3	26	

Tabela 4. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Mantiqueira. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	FQ
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>				12(46)							8(80)	10(91)	10(91)					1		5
<i>Eucyclops elegans</i>												1(9)								1
<i>Macrocyclus albidus</i>														3(19)						1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>				1(04)																1
<i>Microcyclops finitimus</i>	3(38)			8(31)	3(50)	2(40)								7(44)					1	6
<i>Paracyclops chiltoni</i>														1(6)						1
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>	5(62)	6	3	5(19)	3(50)	3(60)	3			2	2(20)	1(9)		5(31)						11

\* corpos de água com zona limnética.

- |                             |                                 |
|-----------------------------|---------------------------------|
| 1 Repr. do Fojo Est. I *    | 11 Riacho das Trutas            |
| 2 Fojo - Lagoa Marginal     | 12 Lago Tundra                  |
| 3 Lago Lambaris             | 13 Lago Lavrinhas 1             |
| 4 Lago Ninfóides            | 14 Lago V. inglesa (Macrofitas) |
| 5 H. Florestal -Lago 1      | 15 Itapeva *                    |
| 6 H. Florestal -Lago 2      | 16 Lavrinhas 2                  |
| 7 H. Florestal -Lago 3      | 17 Instituto de Pesca           |
| 8 H. Florestal -Lago 4      | 18 Hipica 1                     |
| 9 H. Florestal -Lago 5      | 19 Hipica 2                     |
| 10 Rep. Sta Isabel Est. I * |                                 |

Nesta unidade apesar de apresentar 3 localidades com zona limnética, as espécies do gênero *Thermocyclops* de hábitos limnéticos não foram registrados.

#### 4.4.2. Unidade Paraíba do Sul

A tabela 5 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Paraíba do Sul e suas respectivas abundâncias relativas.

Tabela 5. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Paraíba do Sul. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	FQ
<i>Acanthocyclops robustus</i>	1(0,5)								1
<i>Ectocyclops herbsti</i>				5					1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	1(0,5)			3					2
<i>Mesocyclops meridianus</i>	2(1)		3						2
<i>Mesocyclops ogunnus</i>	150(75)	60(90,5)			3	5(17)			4
<i>Metacyclops mendocinus</i>	35(17)	6(9,5)							2
<i>Microcyclops anceps anceps</i>					3				1
<i>Microcyclops ceibaensis</i>				4					1
<i>Microcyclops alius</i>			2						1
<i>Thermocyclops decipiens</i>	10(5)				2	8(25)	150(98)		4
<i>Thermocyclops iguapensis</i>						18(58)			
<i>Thermocyclops inversus</i>	5(3)								1
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>				6			3(2)		2

Locais com \* apresentam zona limnética.

- 1 Represa Paraibuna \*
- 2 Rep. Sta. Branca \*
- 3 Lagoa Olaria
- 4 Lagoa guratingueta
- 5 Rep. Hotel
- 6 Rep.Funil |\*
- 7 Lagoa Bocaina
- 8 Chac. Bocaina



Nesta unidade foi registrada a espécie *T. n.sp* espécie nova que ocorre nas Unidades da bacia litorânea (Paraíba do Sul e Ribeira do Iguape).

#### 4.4.3. Unidade Litoral Norte

A tabela 6 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Litoral Norte e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 6. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água da unidade Litoral norte. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	FQ
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>							1					1
<i>Microcyclops finitimus</i>						1						1
<i>Microcyclops ceibaensis</i>				1								1
<i>Paracyclops chiltoni</i>	8	1			1							3
<i>Thermocyclops decipiens</i>				2								1
<i>Tropocyclops prasinus prasinus</i>							2					1
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>				1	5	5						3

#### Locais

- 1 Macaco
- 2 Rio São Francisco
- 3 Rep. Rio Piaba
- 4 Rep. Cantinho do Céu
- 5 Rep. Guaxintuba
- 6 Rep. Agua Branca
- 7 Rep. Pombo
- 8 Rio Mococa
- 9 Rio Baixo
- 10 Rep. Rio Grande
- 11 Lagoa Poçao

Nesta Unidade os corpos de água analisados não apresentaram zona limnética e são todas represas (redutores de velocidade) utilizadas pela SABESP para abastecimento público.

#### 4.4.4. Unidade Pardo

A tabela 7 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 7. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Pardo. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	FQ
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>					4(21)	1
<i>Eucyclops subciliatus</i>		2(29)	3(02)			2
<i>Macrocyclus albidus</i>	3(19)	4(57)				2
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	3(19)		5(03)		3(16)	3
<i>Mesocyclops meridianus</i>			1(01)			1
<i>Mesocyclops ogunnus</i>			6(03)			1
<i>Metacyclops mendocinus</i>	1(06)		3(02)			2
<i>Microcyclus anceps</i>			3(02)		7(37)	2
<i>Microcyclus finitimus</i>	3(19)					1
<i>Paracyclops chiltoni</i>	2(13)			1		2
<i>Thermocyclops decipiens</i>	1(06)	1(14)	75(41)			3
<i>Thermocyclops inversus</i>	2(13)		86(47)			2
<i>Tropocyclops prasinus merionalis</i>	1(06)		2(01)		5(26)	3

Locais com \* apresentam zona limnética.

- 1 Represa Graminha \*
- 2 Represa Itaiquara \*
- 3 Fazenda Graminha \*
- 4 Represa Euclides da Cunha \*
- 5 Fazenda Santa Helena

Nesta unidade observa-se a co-ocorrência das espécies congêneres *Thermocyclops decipiens* e *T. inversus* em alta densidade na represa da fazenda Graminha.

#### 4.4.5. Unidade Piracicaba/Capivari/Jundiá

A tabela 8 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Piracicaba/Capivari/Jundiá e suas respectivas abundâncias relativas.

Tabela 8. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Piracicaba/Capivari/Jundiaí. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	7	Freq.
<i>Acanthocyclops robustus</i>						1	1
<i>Ectocyclops rubescens</i>			3(12,5)				1
<i>Eucyclops ensifer</i>					6(13)		1
<i>Macrocyclops albidus</i>	6(25)						1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	10(42)	2(29)	15(62,5)		12(26)		4
<i>Mesocyclops meridianus</i>					20(44)		1
<i>Mesocyclops ogunnus</i>						160(57)	1
<i>Metacyclops mendocinus</i>					3(07)	50(18)	2
<i>Microcyclops anceps</i>	5(21)						1
<i>Microcyclops finitimus</i>			1(04)				1
<i>Microcyclops alius</i>	3(12)		5(21)				2
<i>Paracyclops chilotni</i>					3(07)		1
<i>Thermocyclops decipiens</i>		5(71)		5(50)		69(25)	3
<i>Thermocyclops minutus</i>				5(50)			1
<i>Tropocyclops prasinus merionalis</i>					2(04)		1

- 1 Represa Igaratá \*
- 2 Represa Cachoeira \*
- 3 Represa de Piracaia \*
- 4 Represa Atibainha \*
- 5 Represa Atibaia \*
- 7 Represa Americana \*

Nesta unidade o *Mesocyclops longisetus*. *longisetus* teve a maior frequência, seguido por *Thermocyclops decipiens*. Observa-se que na represa de Americana duas espécies congênericas *Mesocyclops meridianus* e *M. ogunnus* ocorrem em grande número.

#### 4.4.6. Unidade Alto Tietê.

A tabela 9 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Alto Tietê e suas respectivas abundâncias relativas.

Na represa Billings foi registrada pela primeira vez a espécie *Acanthocyclops robustus* no estado de São Paulo, a espécie mais frequente foi *Tropocyclops prasinus meridionalis* espécie de pequeno porte.

Tabela 9. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Alto Tietê. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	FQ
<i>Acanthocyclops robustus</i>							12(11)								1		2
<i>Ectocyclops rubescens</i>						3(18)											1
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>								1(05)					5(50)				2
<i>Mesocyclops meridianus</i>						1(6)	4(04)			2(10)	1(7)				5(30)		5
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>							3(15)						1(10)	3(18)			3
<i>Mesocyclops ogunnus</i>							10 (09)									1(1)	2
<i>Microcyclops anceps anceps</i>												2(67)		3(18)			2
<i>Microcyclops ceibaensis</i>						2(12)											1
<i>Microcyclops finitimus</i>														2(12)			1
<i>Thermocyclops decipiens</i>			11(61)	7(54)	7(33)	14(67)	68 (67)	10(50)		12(60)	13(93)		2(20)		78 (76)		10
<i>Thermocyclops inversus</i>															26 (23)		1
<i>Thermocyclops minutus</i>				7(39)	4(31)	2(12)		5 (05)									4
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>	4(100)	2(100)		2(15)		11(64)	4(04)	6(30)		6(30)		1(33)	2(20)	3(12)			10

Locais com \* apresentam zona limnética

- |                                    |                      |
|------------------------------------|----------------------|
| 1 Repr. Pedro Beicht *             | 9 Rib. Pires *       |
| 2 Repr.Cach. das Graças *          | 10 Rep. Taiaçupeba * |
| 3 Repr.Paiva Castro *              | 11 Repr. Jundiá *    |
| 4 Repr. Águas Claras *             | 12 Rep. Rib. Campo * |
| 5 Parque Ecol.- Lago 1             | 13 Lago do Aterro *  |
| 6 Parque Ecol.- Lago 2             | 14 Repr.Ponte Nova * |
| 7 Repr. Billings *                 | 15 Guarapiranga *    |
| 8 Repr. Billings - Riacho Grande * | 16 Rep. Pirapora     |

#### 4.4.7. Unidade Baixada Santista.

A tabela 10 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Baixada Santista e suas respectivas abundâncias relativas.

Tabela 10. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Baixada Santista. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	FQ
<i>Macrocyclops albidus</i>							1	1
<i>Microcyclops finitimus</i>				1			1	2
<i>Microcyclops anceps anceps</i>	1				4		1	3
<i>Thermocyclops decipiens</i>				5		1		2
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>					3			1

Locais com \* possuem zona limnética.

- 1 Rep. Sub Alvea\*
- 2 Rep. Jurubatuba
- 3 Rep. Mambú
- 4 Rep. Aguapeú
- 5 Rep. Cabuçu
- 6 Rep. Rio das Pedras
- 7 Laguinho

Nesta unidade os corpos de água foram extremamente pobres, com exceção da Represa Rio das Pedras, todas as outras estavam em áreas protegidas.

#### 4.4.8. Unidade Sapucaí/Mirim/Grade.

A tabela 11 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Sapucaí/Mirim/Grade e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 11. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade amostra.Sapucai/Mirim/Grande. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	FQ
<i>Mesocyclops meridianus</i>		1(01)			1
<i>Mesocyclops ogunnus</i>		8(10)	2(04)		2
<i>Microcyclops anceps</i>				1	1
<i>Thermocyclops decipiens</i>		4(05)	1(02)		2
<i>Thermocyclops minutus</i>		69(84)	52(95)		2

Locais com \* possuem zona limnética

- 1 Represa Estreito \*
- 2 Represa Jaguará \*
- 3 Repr. Igarapava \*
- 4 Repr.Volta Grande \*

As represas desta unidade são extremamente pobres em nutrientes, são muito preservadas e não sofrem impacto urbano. As duas represas com maior número de espécies são próximas a centros urbanos e monocultura, entretanto sem grandes impactos nas águas. Nestas localidades o *Thermocyclops minutus* domina sobre as outras populações limnéticas.

#### 4.4.9. Unidade Mogi-Guaçu.

A tabela 12 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Mogi-guaçu e sua respectiva abundância relativa.

Nos corpos de água desta unidade a espécie *Thermocyclops decipiens* esteve presente em 50% destes , seguido por *Mesocyclops longisetus longisetus*.

Tabela 12. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Mogi-Guaçu. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	FQ
<i>Ectocyclops rubescens</i>						1(11)														2										2
<i>Ectocyclops herbsti</i>	1(7)			3(30)		1(11)	2(17)																			1(3)				5
<i>Eucyclops ensifer</i>																										3(9)				1
<i>Macrocyclus albidus</i>										2(22)																	3(9)			2
<i>Mesocyclops meridianus</i>					1(2)		6(50)						5(71)							1(2)						2(9)		1	6	
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	2(14)			2(20)	3(5)		2(17)									5(4)		2(25)		2(3)						10(31)	3	1	10	
<i>Mesocyclops ogunnus</i>																97(85)														1
<i>Metacyclops mendocinus</i>																											1(3)			1
<i>Microcyclus anceps anceps</i>	3(21)							3(12)																			4(13)			3
<i>Microcyclus ceibaensis</i>						1(11)																					6(19)			2
<i>Microcyclus alius</i>				3(20)		3(33)	2(17)			7(78)						2(2)		4(50)												6
<i>Thermocyclops decipiens</i>	2(14)				6(10)			22(88)						400	21	10(9)		2(25)		45(76)	2		12(92)		24	20(91)	4(13)	2	1	15
<i>Thermocyclops inversus</i>				2(20)																										2
<i>Thermocyclops minutus</i>	5(36)				52(84)																11(19)									3
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>						2(22)							2(29)											1(8)						4

Locais com \* possuem zona limnética

- |                                    |                                      |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 Repr. Elektro- C. de Emas *      | 17 Fazenda Sobrado II *              |
| 2 Repr. dos Biguás *               | 18 Lagoa Interlagos                  |
| 3 Lago Urbano *                    | 19 Lagoa da Praça Basílio Seschini   |
| 4 Repr. do David                   | 20 Lago da Churrascaria              |
| 5 Fazenda Aurora                   | 21 Repr. Irmãos Ribeiro              |
| 6 Lagoa do Diogo                   | 22 Lagoa Municipal Íria Mota e Silva |
| 7 Repr. Cristal                    | 23 Repr. Churrascaria Sto Antonio    |
| 8 Repr. Santa Margarida            | 24 Lago Ivo Carotini                 |
| 9 Lagoa do Barro Preto             | 25 Lago dos Macaquinhos              |
| 10 Lagoa das Cabras                | 26 Repr. Jovino Silveira             |
| 11 Lagoa do Peixe                  | 27 Repr. Mogi-Guaçu *                |
| 12 Lagoa Verde                     | 28 Lago Municipal                    |
| 13 Lago Urbano                     | 29 CEPTA *                           |
| 14 Repr. 2J (Usina Santa Adélia) * |                                      |
| 15 Lago do Paço Municipal          |                                      |
| 16 Repr. São Geraldo               |                                      |

#### 4.4.10. Unidade Sorocaba/Médio Tietê.

A tabela 13 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Sorocaba/Médio Tietê e sua respectiva abundância relativa.

Nesta Unidade a represa de Hedberg foi a mais rica, apresentado um maior número de espécies. As únicas espécie de região limnética foram *Acanthocyclops robustus* e *Thermocyclops minutus*. As demais são espécies de hábito litorâneo.

Tabela 13. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Sorocaba/Médio Tietê. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	FQ
<i>Acanthocyclops robustus</i>	35(100)			1
<i>Ectocyclops rubescens</i>			1(03)	
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>			6(21)	1
<i>Macrocyclus albidus</i>			8(28)	1
<i>Microcyclops anceps anceps</i>			6(21)	1
<i>Microcyclops finitimus</i>			3(10)	1
<i>Thermocyclops minutus</i>			1(03)	1
<i>Tropocyclops prasinus merionalis</i>			2(07)	1

Locais com \* possuem zona limnética

- 1 Represa Itupararanga \*
- 2 Represa Prainha \*
- 3 Represa Hedberg \*

#### 4.4.11. Unidade Ribeira do Iguape.

A tabela 14 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Ribeira do Iguape Tietê e sua respectiva abundância relativa.



Tabela 14. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Ribeira do Iguape. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	FQ
<i>Macrocyclus albidus</i>			2(8)									1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	2(<1)				8(50)		40(70)	1(4)	1(2)	1(<1)	3(15)	7
<i>Mesocyclops meridianus</i>	1(<1)											1
<i>Microcyclops anceps anceps</i>			3(14)									1
<i>Microcyclops finitimus</i>			2(8)									1
<i>Thermocyclops decipiens</i>	120(9)	400	15(62)	5(8)	6(40)	2(16)	2(5)	4(8)	1(2)	35(20)	8(25)	11
<i>Thermocyclops inversus</i>	1000(90)				2(10)				15(84)	135(77)	20(60)	5
<i>Thermocyclops n. sp</i>				30(92)		10(77)	15(25)	40(88)	1(2)	5(3)		6
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>			2(8)			1(7)						2

Locais \* Apresentam zona limnética

- 1 Rio Rib. Iguape
- 2 Lago Congregação
- 3 Rep. Juquiazinho\*
- 4 Rep. Porto Raso\*
- 5 Rep. Serraria\*
- 6 Rep. Alecrim\*
- 7 Rep. Cachoeira França\*
- 8 Rep. Fumaça\*
- 9 Rep. Barra\*
- 10 Rep. Iporanga\*
- 11 Rep. Jurupará\*

Nesta unidade foram registradas as maiores abundâncias para *Thermocyclops n. sp.* *Thermocyclops decipiens* foi a espécie mais freqüente sendo registrada em todos os corpos de água. Entretanto dominou apenas em duas localidades nas demais as espécies congênicas dominaram.

#### 4.4.12. Unidade Baixo Pardo/Grande.

A tabela 15 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Baixo Pardo/Grande e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 15. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Pardo/Grande. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	FQ
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>		1(2)				3		2
<i>Mesocyclops ogunnus</i>		4(6)					8(12)	2
<i>Microcyclops finitimus</i>						5		1
<i>Thermocyclops decipiens</i>		27(42)		86(68)	86		50(68)	4
<i>Thermocyclops minutus</i>		32(50)					15(20)	2
<i>Thermocyclops inversus</i>				40(32)				1

#### Locais

- 1 Cor. Turvo
- 2 Rep. Porto Colombia \*
- 3 Rio Pardo
- 4 Rep. Cetari \*
- 5 Lago Urbano
- 6 Rep. Soppa
- 7 Rep. Marimbondo \*

Nesta Unidade os corpos de água de maior tamanho apresentaram a maior riqueza de espécies, e também foi registrado a co-ocorrência das espécies congênicas *Thermocyclops decipiens* e *T. inversus*.

#### 4.4.13. Unidade Tietê/Jacaré.

A tabela 16 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Tietê/Jacaré e sua respectiva abundância relativa.

Esta foi a unidade que apresentou a maior riqueza de espécies, e a represa de Barra Bonita foi o corpo de água que apresentou o maior número de espécies, 13, para o Estado de São Paulo

Tabela 16. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Tietê-Jacaré. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	FQ	
<i>Acanthocyclops robustus</i>																		5(10)	10(13)	10(08)		3	
<i>Ectocyclops rubescens</i>														2		1							2
<i>Ectocyclops herbsti</i>																						1	1
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>								2(01)						2									3
<i>Eucyclops sp</i>																		3(06)					2
<i>Macrocyclus albidus</i>			2				3(12)			2	1	2	3										7
<i>Mesocyclops aspernicornis</i>																							1
<i>Mesocyclops ellipticus</i>																							1
<i>Mesocyclops meridianus</i>										3							14(40)						3
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>									2		1			2				2(04)	3(04)	3(02)			6
<i>Mesocyclops ogunnus</i>																		17(34)	25(31)	40(31)			3
<i>Metacyclops mendocinus</i>																				4(05)	5(04)		2
<i>Microcyclops anceps anceps</i>				2										1									2
<i>Microcyclops ceibaensis</i>				5																			1
<i>Microcyclops finitimus</i>							17(68)				1	1	1			2							5
<i>Microcyclops alius</i>													1										1
<i>Paracyclops chiltoni</i>			1																				1
<i>Thermocyclops decipiens</i>			1			2	5(20)	150(95)		4								20(40)	38(48)	35(27)			8
<i>Thermocyclops minutus</i>																		3(06)		12(09)			2
<i>Tropocyclops prasinus merionalis</i>						1		6(04)	2	2						2	21(60)				3(02)		7

Locais com \* apresentam zona limnética.

- |  |                              |
|--|------------------------------|
| 1 Repr. do Jardim Botânico             | 13 Sítio Boa Vista           |
| 2 Repr. do Zoológico                   | 14 Broa *                    |
| 3 Repr. do Rio Batalha                 | 15 Represa 29                |
| 4 Repr. da Secretaria da Agricultura * | 16 Represa do Chile *        |
| 5 Lago da Fazenda Primavera            | 17 Represa do Chube Náutico  |
| 6 Instituto Florestal *                | 18 Represa Ibitinga *        |
| 7 Lago da Areia que Canta              | 19 Represa de Bariri *       |
| 8 Fazenda Sonho Meu I                  | 20 Represa de Barra Bonita * |
| 9 Sítio Mariano Lopes                  | 21 Rep. Jacaré-Pepira *      |
| 10 Represa Marisa (Usina Tamoio) *     |                              |
| 11 Fazenda Méia - Ribeirão Itaquerê    |                              |
| 12 Fazenda Palmeiras                   |                              |

#### 4.4.14. Unidade Paranapanema (Alto, Médio e Pontal).

A tabela 17 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Paranapanema (Alto, Médio e Pontal) e suas respectivas abundâncias relativas.

Nesta unidade, apesar das represas não serem altamente impactadas a espécie *Thermocyclops decipiens* domina sobre a espécie congênica *T. minutus*.

Tabela 17. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Paranapanema (Alto, Médio e Pontal). Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

	1	2	3	4	5	6	7	Freq.
<i>Mesocyclops meridianus</i>			1(17)	1(25)			1(03)	3
<i>Mesocyclops ogunnus</i>	3(30)	5(15)			3(06)	4(25)	1(03)	5
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	2(20)	1(2,5)						2
<i>Thermocyclops decipiens</i>	3(30)	28(80)	3(49)	2(50)	46(94)	10(62,5)	25(86)	7
<i>Thermocyclops inversus</i>				1(25)				1
<i>Thermocyclops minutus</i>	2(20)	1(2,5)	2(34)			2(12,5)	2(08)	5

Locias

- 1 Jurumirim \* (Alto)
- 2 Chavantes \* (Alto)
- 3 Canoas I \* (Alto)
- 4 Repr.Salto Grande \* (Médio)
- 5 Capivara \* (Médio)
- 6 Taquaruçu \* (Pontal)
- 7 Rosana \* (Pontal)

#### 4.4.15. Unidade Turvo/Grande

A tabela 18 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Turvo/Grande e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 18. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Turvo-Grande. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	FQ	
<i>Ectocyclops rubescens</i>		1												1	
<i>Ectocyclops elegans</i>		3						2						2	
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>								1						1	
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>	3	8				3						5(3)		4	
<i>Mesocyclops meridianus</i>	5										9			2	
<i>Mesocyclops ogunnus</i>		6								5(7)		2(1)	5(13)	4	
<i>Microcyclops anceps anceps</i>		1												1	
<i>Microcyclops finitimus</i>	2	3		2	3				1	2(3)			1(4)	7	
<i>Thermocyclops decipiens</i>			2		5			18(85)	10(62)			54(68)	10(5)	30(83)	7
<i>Thermocyclops minutus</i>			6							18(22)			1	200(92)	4
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>			8					3(15)	3					3	

Locais com \* apresentam zona limnética.

- 1 Rep. Faz. Sucesso
- 2 Rep. Sitio Liberdade
- 3 Tabapuã
- 4 Rep. Usina S. Domingo\*
- 5 Rep. Santana\*
- 6 Rep. Faz. Brasil
- 7 Rep. Faz. Pomarco\*
- 8 Rep. Rio Preto
- 9 Rep. Ibiporanga
- 10 Rep. Agua Vermelha\*
- 11 Rep. Urania\*
- 12 Rep. Rio Grande-Paranaíba
- 13 Tanabi\*

Nesta unidade as espécies *Thermocyclops decipiens* e *Tropocyclops prasinus meridionalis*, com 7 registros cada.

#### 4.4.16. Unidade Tietê/Batalha

A tabela 19 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Tietê/Batalha e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 19. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Tietê/Batalha. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	Freq.
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>			3(14)						1
<i>Mesocyclops meridianus</i>	8(16)	2(15)	1(5)				3(1,5)	1	4
<i>Mesocyclops ogunnus</i>	2(4)				1(2)	1(5)	20(6)		4
<i>Microcyclops finitimus</i>			16(76)						1
<i>Thermocyclops decipiens</i>	32(66)	12(85)		18(96)	47(92)	2(12)	314(92)	1	7
<i>Thermocyclops minutus</i>	6(14)			1(4)	3(6)	15(83)	1(0,5)		5
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>			1(5)						1

Locais

- 1 Rep. Rio das Pedras \*
- 2 Juzante Ibitinga \*
- 3 Rep. Faz. Sta. Catarina
- 4 Rep. Borborema
- 5 Rio Tietê \*
- 6 Rep. Rio Formoso
- 7 Rep. Promissão \*
- 8 Rio Dourado

Nesta unidade destacam-se as co-ocorrências das espécies congênicas de *Thermocyclops* (*T. decipiens* e *T. minutus*) e as de *Mesocyclops* (*M. ogunnus* e *M. meridianus*).

#### 4.4.17. Unidade São José dos Dourados

A tabela 20 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade São José dos Dourados e de suas respectivas abundâncias relativas.

Nesta unidade a espécie *T. decipiens* foi a mais freqüente, entretanto a espécie congênera *T. minutus* dominou nas localidades onde houve co-ocorrência.

Tabela 20. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade São Jose dos dourados. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	FQ
<i>Ectocyclops rubescens</i>			1(<1)			1
<i>Eucyclops cf. ensifer</i>		1				1
<i>Mesocyclops meridianus</i>			1(<1)			1
<i>Mesocyclops ogunnus</i>	1(1)					0
<i>Microcyclops anceps anceps</i>	1(1)			1(<1)		1
<i>Microcyclops finitimus</i>	1(1)			1(<1)	1	2
<i>Thermocyclops decipiens</i>	5(6)		224(99)	1(<1)		2
<i>Thermocyclops minutus</i>	83(91)			227(99)		1

Locais com \* apresentam zona limnética

- 1 Ilha Solteira\*
- 2 Re São Pedro
- 3 Monte Aprazível \*
- 4 Semax \*
- 5 Lagoa 310

#### 4.4.18. Unidade Baixo Tietê

A tabela 21 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Baixo-Tietê e suas respectivas abundâncias relativas.

Nesta Unidade as espécies mais freqüentes foras as congêneres *Mesocyclops ogunnus* e *M. meridianus*, entretanto estas espécies não co-ocorreram.

Tabela 21. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Baixo Tietê. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	FQ
<i>Eucyclops prinophorus</i>			2(5)						1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>						10(27)	3		2
<i>Mesocyclops meridianus</i>					12(75)	25(67)	5		3
<i>Mesocyclops ogunnus</i>	1(1,5)		6(15)	16					2
<i>Metacyclops mendocinus</i>	1(1,5)								1
<i>Microcyclops anceps</i>			2(5)			2(6)		8	3
<i>Microcyclops finitimus</i>							1		1
<i>Thermocyclops decipiens</i>	5(7)				4(15)			8(30)	2
<i>Thermocyclops minutus</i>	63(92)		31(75)					20(70)	2

Locais com \* apresentam zona limnética

- 1 Nova Avanhandava\*
- 2 Lago Birigui
- 3 Rep. 3 Irmaos\*
- 4 Lago Km 463
- 5 Lago Araçatuba
- 6 Lago Km 580
- 7 Lago Km 628
- 8 Jupia\*

#### 4.4.19. Unidade Aguapeí

A tabela 22 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Aguapeí e suas respectivas abundâncias relativas.



Tabela 22. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Aguapeí. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	FQ
<i>Eucyclops subciliatus</i>						1			2(7)				2
<i>Ectocyclops rubescens</i>									2(7)				1
<i>Macrocyclops albidus</i>						1				1			2
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>						1				6	5(24)		3
<i>Mesocyclops meridianus</i>				1(4,5)	35(74)	1	1(6)		10(33)		8(27)		6
<i>Mesocyclops ogunnus</i>								6(27)					1
<i>Metacyclops mendocinus</i>									1(3)				1
<i>Microcyclops anceps</i>				1(4,5)	2(5)	1			15(50)	1			5
<i>Microcyclops finitimus</i>			4(21)								2(7)		2
<i>Thermocyclops decipiens</i>	14						2(11)	10(63)			15(50)		4
<i>Thermocyclops minutus</i>			15(79)	10(58)			15(83)					4	4
<i>Tropocyclops prasinus meridionalis</i>				5(29)	10(21)								2

Locais com \* apresetam zona limnética

- 1 Lago Urbano Garça
- 2 Lago Faz. Sta. Tereza
- 3 Rep. 7 setembro\*
- 4 Rep. Country Clube\*
- 5 Rio Aguapeí \*
- 6 Rio Paraná \*
- 7 Lago Ilhado 1
- 8 Lago Ilhado 2
- 9 Lago Pau da Onça
- 10 Lago Marreco
- 11 Foz aguapeí
- 12 Lago Marginala

Esta Unidade destaca-se pelos lagos marginais e lagoas formadas pelo enchimento do Rio Paraná devido ao enchimento da Represa de Sérgio Motta. A espécie mais frequente foi *Mesocyclops meridianus*.

#### 4.4.19. Unidade Peixe

A tabela 23 mostra a distribuição das espécies nos corpos de água da Unidade Peixe e sua respectiva abundância relativa.

Tabela 23. Distribuição e abundância relativa das espécies nos corpos de água unidade Peixe. Os números entre ( ) expressam a abundância porcentagem em 20 mL de amostra e os números que não possuem %, são os encontrados em toda a amostra

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	FQ
<i>Eucyclops subcilatus</i>	6					1		2
<i>Macrocyclus albidus</i>							10(55)	1
<i>Mesocyclops longisetus longisetus</i>		5			8			2
<i>Mesocyclops meridianus</i>	2	3						2
<i>Metacyclops anceps anceps</i>	2			1			2(11)	3
<i>Microcyclus finitimus</i>	3						2(11)	2
<i>Paracyclops chiltoni</i>						2		1
<i>Thermocyclops decipiens</i>	1		145 (100%)			6	3(16)	4
<i>Thermocyclops minutus</i>							1(5)	1
<i>Tropocyclops prasinus?</i>						1		1

Locais com \* apresentam zona limnética  
 1 Rep. Cascata \*  
 2 Rep. 3 rios  
 3 Rep. Faz. Jabuti  
 4 Lagoa dos Patos  
 5 Lagoa Marginal Peixe  
 6 Rep. Nascente Rio Claro \*  
 7 Foz rio do Peixe

Nesta Unidade a espécie mais freqüente foi *Thermocyclops decipiens* e a foz do rio do Peixe foi a localidade de maior riqueza.

#### 4.4.2 Mapa de distribuição geográfica das espécies de Cyclopoida do Estado de São Paulo durante o período de estudo (1999-2003).

As figuras 32 a 36 mostram a distribuição geográfica para as espécies de Cyclopoida encontradas no estado de São Paulo.



Figura 32. Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- *Acanthocyclops robustus*; B- *Ectocyclops herbsti*; C- *Ectocyclops rubescens*.

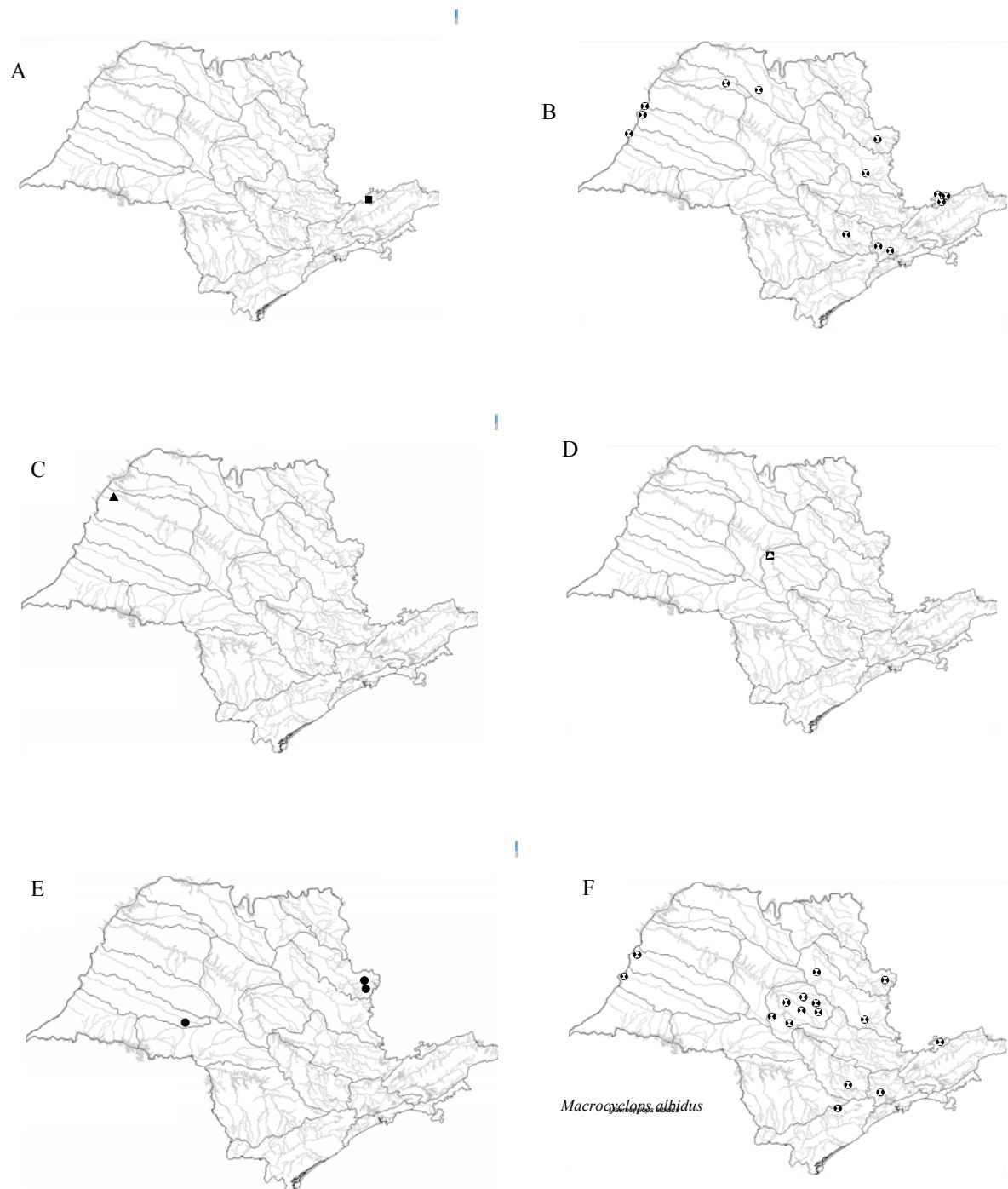


Figura 33. Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- *Eucyclops elegans*; B- *Eucyclops cf. ensifer*; C- *Eucyclops prinophorus*; D- *Eucyclops sp*; *Eucyclops subciliatus*; E- *Macrocylops albidus*.

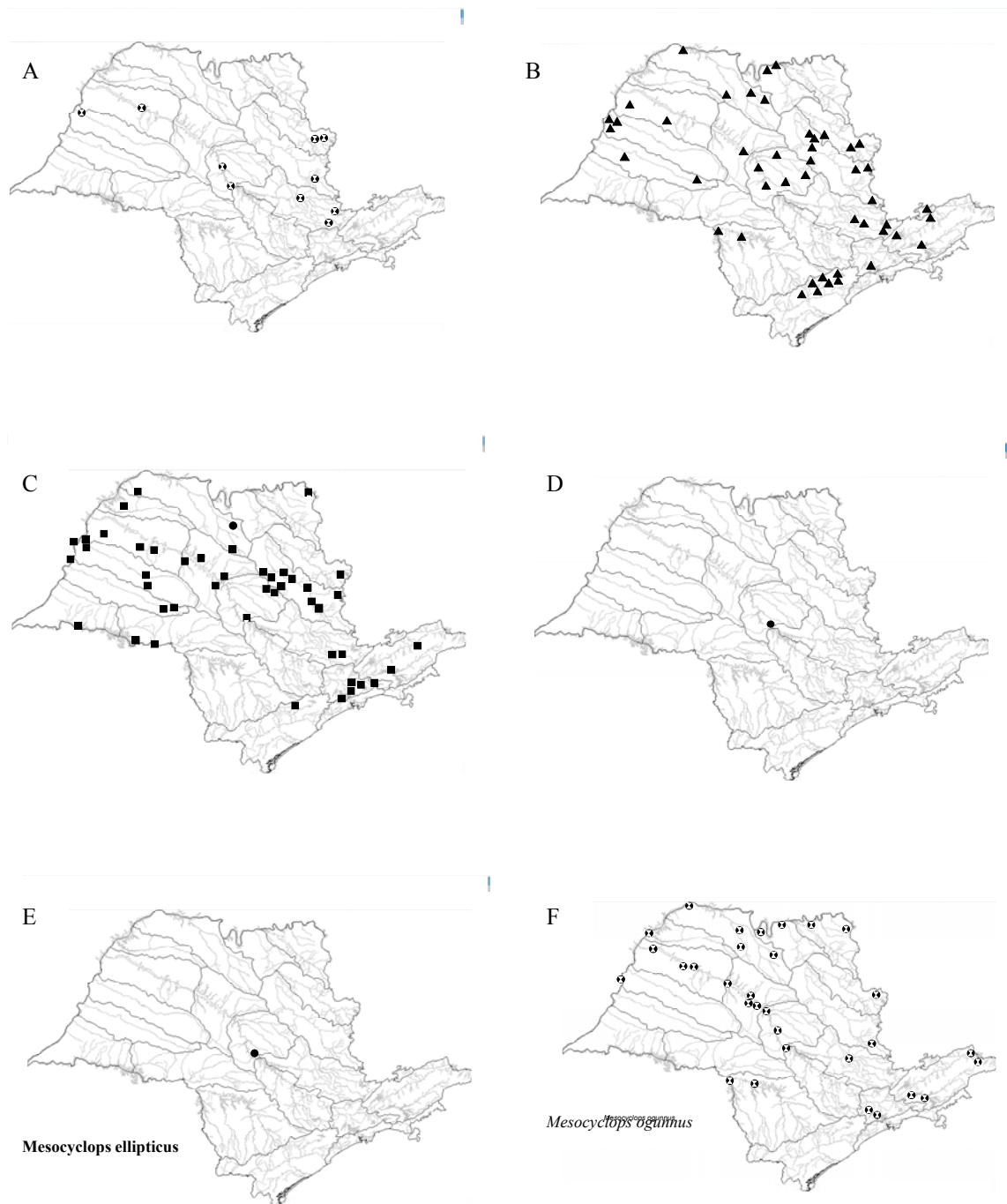


Figura 34. Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- *Metacyclops mendocinus*; B- *Mesocyclops longisetus longisetus*; C- *Mesocyclops meridianus*; D- *Mesocyclops aspericornis* ;E- *Mesocyclops ellipticus*; F- *Mesocyclops ogunnus*.

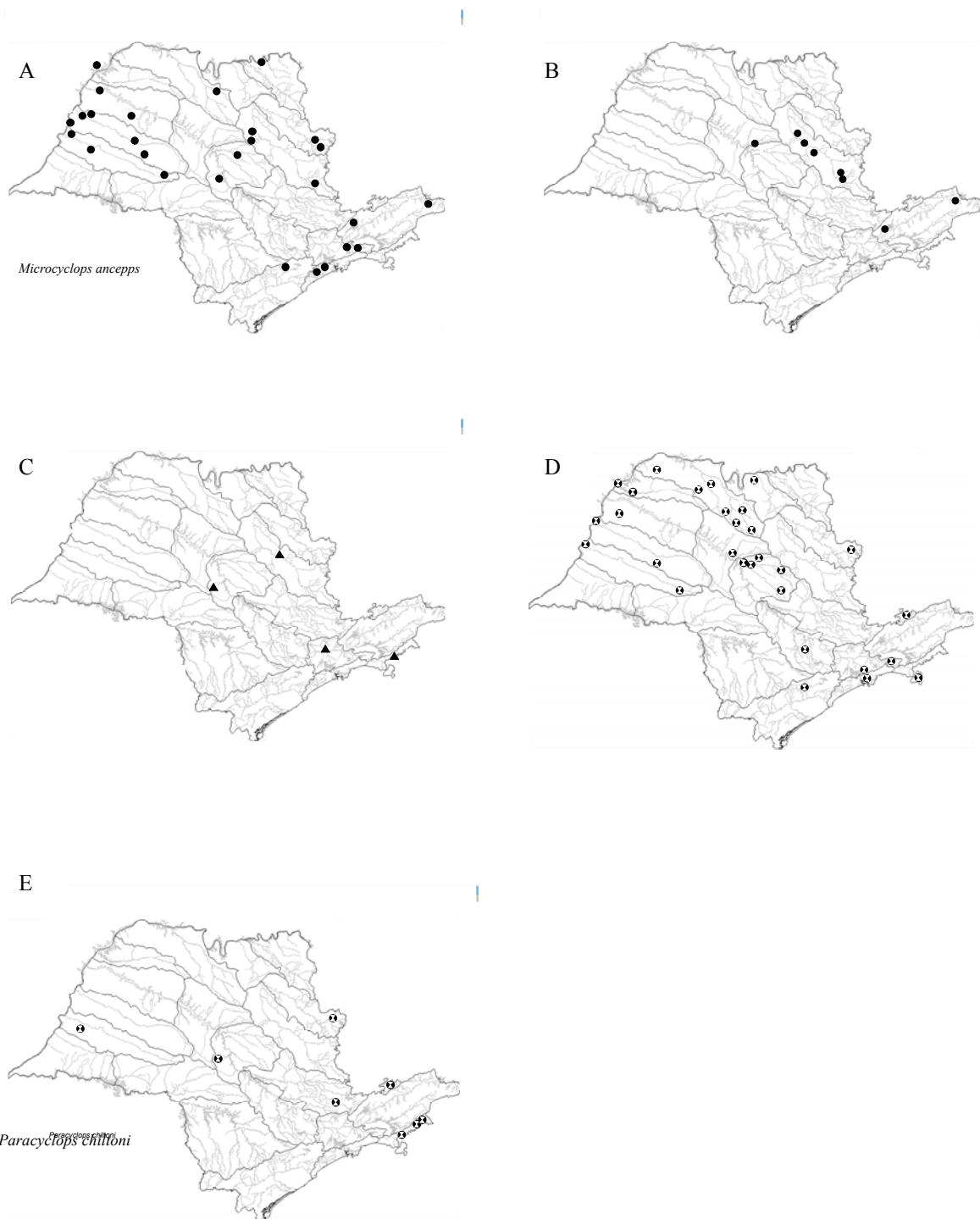


Figura 35. Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- *Microcyclops anceps*; B- *Microcyclops alius*; C- *Microcyclops ceibaensis*; D- *Microcyclops finitimus*; E- *Paracyclops chiltoni*.

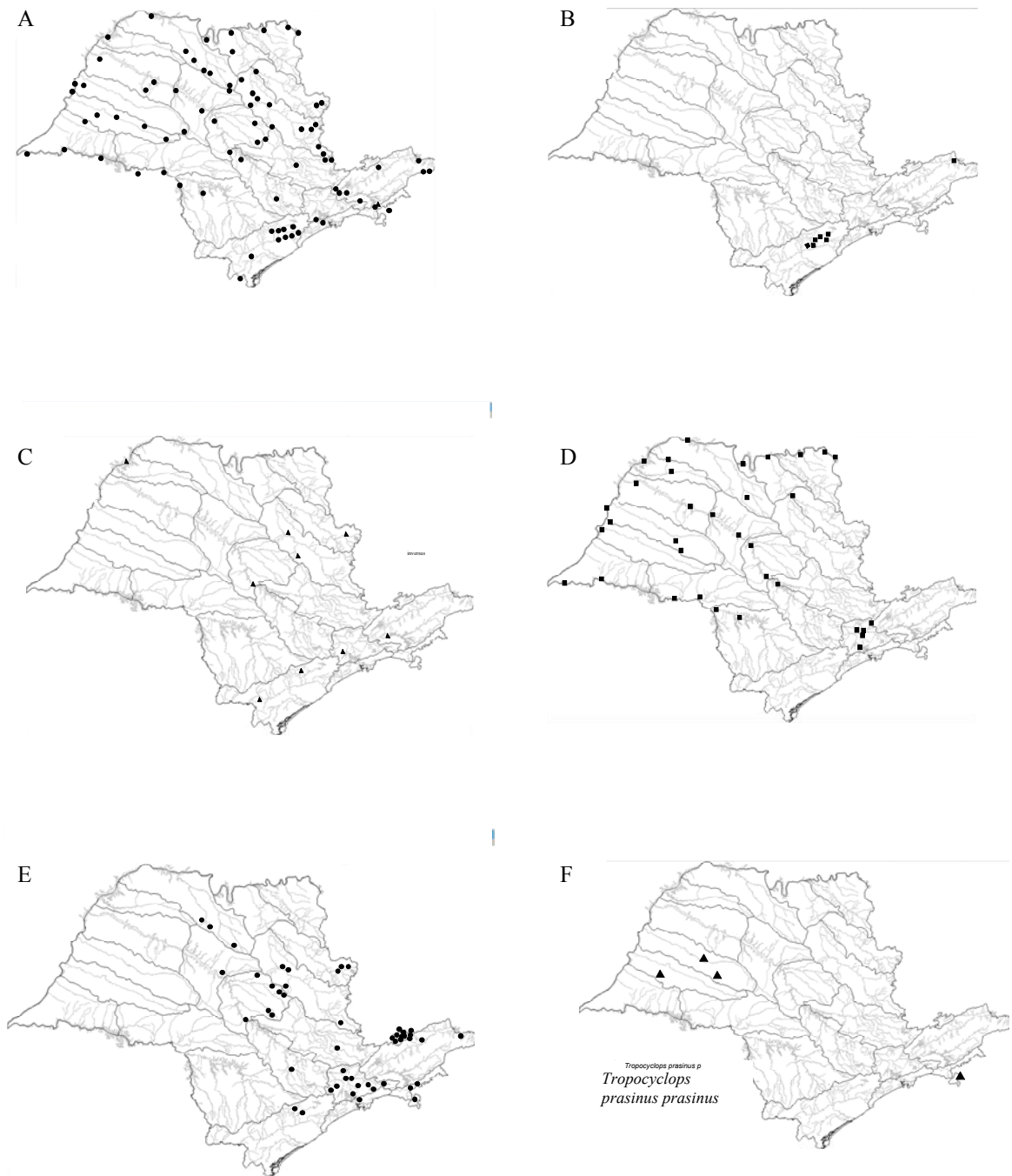


Figura 36. Distribuição geográfica no estado de São Paulo das espécies: A- *Thermocyclops decipiens*; B- *Thermocyclops n. sp*; C- *Thermocyclops inversus*; D- *Thermocyclops minutus*; E- *Tropocyclops prasinus meridionalis* ; F- *Tropocyclops prasinu prasinus*..

As espécies que apresentaram a distribuição mais ampla foram: *Thermocyclops decipiens*, *Mesocyclops longisetus longisetus*, *Mesocyclops meridianus*, *Mesocyclops ogunnus* e *Thermocyclops minutus*. Estas espécies são de hábitos limnéticos, podendo ser encontradas também em grande número em região litorânea como as espécies *Mesocyclops longisetus longisetus* e *M. meridianus*.

Dentre as espécies de hábito litorâneo, as espécies de *Microcyclops* foram as que apresentaram uma distribuição mais ampla, sendo a espécie *M. anceps* a de mais ampla distribuição seguida da espécie *M. finitimus*. Algumas espécies como *Macrocyclops albidus* e *Tropocyclops prasinus meridionalis* mostraram uma distribuição com certo agregamento. No caso de *M. albidus* foi registrado alta incidência desta espécie na unidade Tiete-Jacaré, e *T. p. meridionalis* teve alta incidência nas unidades Mantiqueira e Alto Tietê. As espécies do gênero *Ectocyclops* por serem espécies estritamente de fundo, foram registradas principalmente nas Unidades que onde os corpos de água apresentaram uma zona litorânea extremamente desenvolvida.

A espécie *Acanthocyclops robustus* teve sua distribuição restrita às unidades Paraíba do Sul, Alto-Tietê, Tietê-Sorocaba e Tietê-Jacaré. Esta espécie foi registrada no Estado de São Paulo pela primeira vez em 1999 na represa Billings, porém em 2000 a espécie foi encontrada na represa de Barra Bonita em grande densidade, esta espécie esta mostrando um grande poder de dispersão.

Entre as espécies do gênero *Eucyclops* a espécie *E. ensifer* foi a que apresentou a distribuição mais ampla, sendo as outras espécies do gênero restritas a poucos exemplares encontradas em uma ou duas unidades.

A espécie *Thermocyclops n. sp* espécie nova, apresentou uma distribuição restrita as unidades Ribeira do Iguape, onde apresentou as maiores densidades



populacionais e na unidade Paraíba do sul, estas duas unidades pertencentes a bacia costeira, isto é não correm para o Rio Paraná.

#### 4.5. Análise comparativa da diversidade de Cyclopoida em relação ao estado trófico de reservatórios das Unidades Alto Tietê, Médio Tietê, Ribeira do Iguape e Sapucaí Grande.

A figura 37 mostra o mapa do estado de São Paulo e a localização das 19 represas onde foram estudados o estado trófico e a biodiversidade e abundância dos Cyclopoida planctônicos.

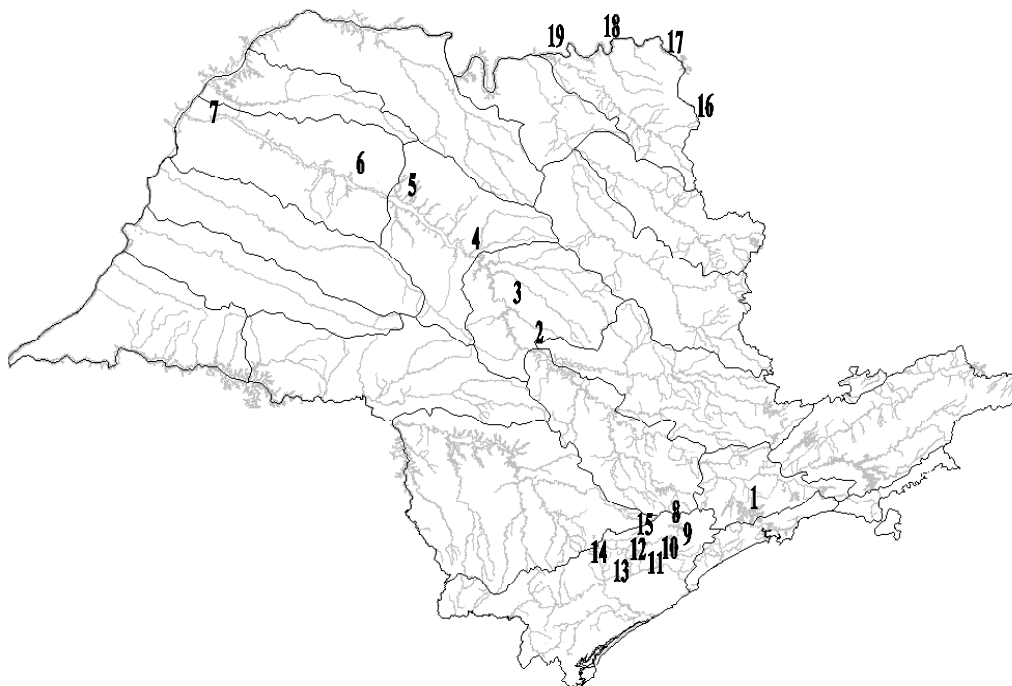


Figura 37. Localização das represas estudadas. 1- Billings; 2- Barra Bonita; 3-Bariri; 4- Ibitinga; 5-Promissão; 6- Nova Avandava; 7- Três Irmãos; 8-França; 9- Fumaça; 10- Barra; 11- Porto Raso; 12- Alecrim; 13- Serraria; 14-Iporanga; 15-Jurupará; 16- Estreito; 17- Jaguará, 18- Iguarapava; 19- Volta Grande.

A Tabela 24 mostra os valores para oxigênio dissolvido, pH, condutividade, nutrientes dissolvidos (nitrogênio e fósforo) e nutrientes totais (Nitrogênio total orgânico e fósforo total) para cada um dos 19 reservatórios. As represas da bacia do Tietê todas tiveram uma condutividade alta acima de 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . As demais represas pertencentes às outras bacias tiveram condutividade menor que 50

$\mu\text{S/cm}$ . Estes dados revelam que as represas da bacia do Tietê sofrem impactos diversos, que muitas vezes não podem ser verificados diretamente pela concentração de nutrientes. Os valores de oxigênio dissolvido, fósforo total e clorofila estiveram diretamente relacionados.

Tabela 24. Valores para Oxigênio dissolvido, pH, condutividade, fósforo total, nitrato, nitrogênio total orgânico e clorofila a.

	OD mg/L	pH	Cond $\mu\text{S/cm}$	Cl $\mu\text{g/L}$	$\text{NO}_3$ $\mu\text{g/L}$	$\text{NH}_4$ $\mu\text{g/L}$	P total $\mu\text{g/L}$	N total $\mu\text{g/L}$
1 Billings	9,6	6,6	270	3,2	541,1	50,9	34,2	342,8
2 Barra Bonita	17,2	9,2	352	43,0	2400,0	-	160,0	4337,0
3 Represa Ibitinga	12,7	8,9	190	30,9	833,5	1,0	140,0	4537,9
4 Represa de Bariri	13,3	8,8	270	63,1	2021,4	1,6	80,0	3643,9
5 Promissão	9,4	7,5	189	11,3	719,0	0,0	16,2	378,2
6 Nova Avanhandava	8,6	7,2	142	6,1	603,6	46,9	6,1	99,3
7 Três Irmãos	8,1	7,0	148	2,6	305,3	31,3	5,2	149,0
8 Cachoeira da França	9,0	6,7	33	5,3	202,1	3,4	16,6	678,0
9 Fumaça	11,6	6,2	35	2,6	115,5	0,1	15,4	193,0
10 Barra	8,9	6,8	34	2,2	190,0	0,8	4,7	330,0
11 Porto Raso	8,3	6,3	36	3,1	192,5	1,1	22,2	48,0
12 Alecrim	9,6	6,4	35	2,6	202,7	0,1	11,0	96,0
13 Represa da Serraria	9,6	7,0	36	1,9	202,1	0,1	10,8	145,0
14 Iporaga	13,1	9,4	47	43,0	1,7	0,4	32,0	790,0
15 Jurupará	8,1	7,3	31	7,8	43,7	0,0	13,8	140,0
16 Estreito	10,0	6,9	39	1,9	254,0	1,8	9,0	21,4
17 Jaguará	9,9	6,5	38	1,5	287,5	1,3	24,0	-
18 Igarapava	8,9	6,5	38	1,5	281,3	21,4	12,0	138,8
19 Volta Grande	9,0	6,3	38	2,7	-	-	9,0	89,0

A tabela 25 mostra os valores do índice de estado trófico obtido para as represas estudadas e o índice de estado trófico de Carlson. A figura 33 mostra os valores do IET para as 19 represas e sua classificação segundo o estado trófico de Carlson (1977). A aplicação do índice permitiu verificar que as represas do médio Tietê (Barra Bonita, Bariri e Ibitinga) são hipereutróficas, tanto para fósforo quanto para clorofila. O IET para clorofila foi sempre maior que para o IET de fósforo, com exceção da represa Billings que o IET de fósforo foi maior. Este fato pode ser resultado da intensa manipulação deste sistema como foi observado por Matsumura-Tundisi et al. (2002). Em linhas gerais não houve uma represa estritamente oligotrófica, sendo que, estas que apresentaram os menores valores para o IET ficaram no limite entre a oligotrofia e mesotrofia. Portanto, estas represas podem ser classificadas como oligo-mesotróficas.

Tabela 25. Índice de estado trófico das represas estudadas e o índice de estado trófico de Carlson.

Represas	IET(P)	IET(Cl)
1 Billings	55	48
2 Barra Bonita	77	74
3 Represa Ibitinga	75	70
4 Represa de Bariri	67	78
5 Promissão	44	60
6 Nova Avanhandava	30	54
7 Três Irmãos	28	46
8 Cachoeira da França	45	53
9 Fumaça	44	46
10 Barra	27	44
11 Porto Raso	49	47
12 Alecrim	39	45
13 Represa da Serraria	38	42
14 Iporaga	54	74
15 Jurupará	42	57
16 Estreito	36	42
17 Jaguará	50	40
18 Igarapava	40	40
19 Volta Grande	36	46

Tabela para IET- Carlson (1977)

IET	Estado trófico
<20	Ultra-oligotrófico
21-40	Oligotrófico
41-50	Mesotrófico
51-60	Eutrófico
>61	hipereutrófico

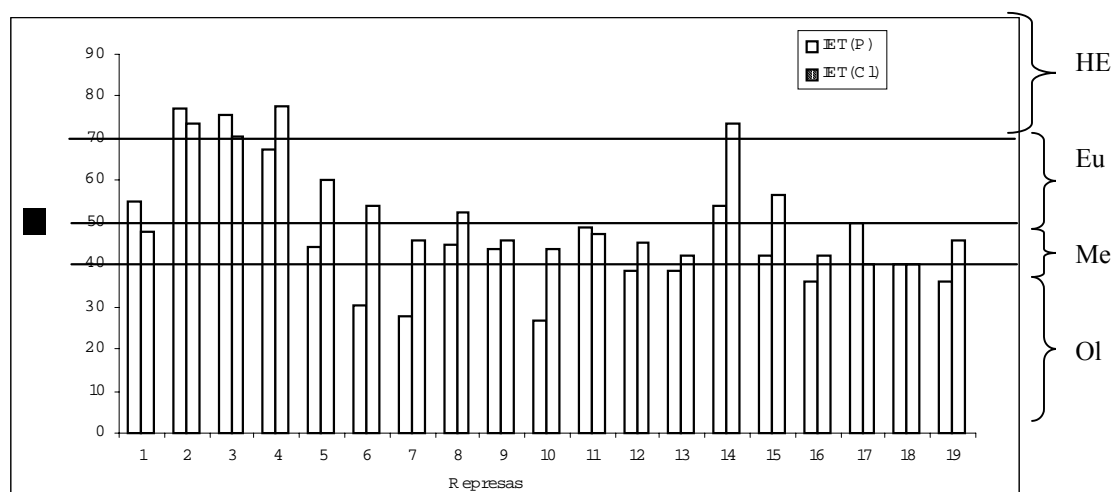


Figura 38. Valores obtidos pelo Índice de Carlson para fósforo e clorofila. HE= Hipereutrófico; Eu= Eutrófico; Me= Mesotrófico; Ol= Oligotrófico. 1- Billings; 2- Barra Bonita; 3- Bariri; 4- Ibitinga; 5- Promissão; 6- Nova Avandava; 7- Três Irmãos; 8- França; 9- Fumaça; 10- Barra; 11- Porto Raso; 12- Alecrim; 13- Serraria; 14- Iporanga; 15- Jurupará; 16- Estreito; 17- Jaguará, 18- Igarapava; 19- Volta Grande.

A tabela 26 mostra o número de espécies presentes nas represas estudadas. Observa-se que a maior riqueza foi da represa de Barra Bonita, a mais eutrofizada. As represas oligo-mesotróficas tiveram a menor diversidade, sendo que nas menos eutrofizadas (estreito e Volta Grande) não foi registrada nenhuma ocorrência para Cyclopoida.

Tabela 26. Número de espécies de Cyclopoida nas represas estudadas.

Represas	Número de espécies
1 Billings	7
2 Barra Bonita	10
3 Represa Ibitinga	5
4 Represa de Bariri	5
5 Promissão	4
6 Nova Avanhandava	4
7 Três Irmãos	3
8 Cachoeira da França	3
9 Fumaça	3
10 Barra	4
11 Porto Raso	2
12 Alecrim	3
13 Represa da Serraria	3
14 Iporaga	4
15 Jurupará	3
16 Estreito	0
17 Jaguará	4
18 Igarapava	3
19 Volta Grande	0

#### 4.4.2.1. Represas da bacia do Rio Tietê.

A figura 39 mostra a abundância para as espécies de Cyclopoida nas represas da bacia do rio Tietê. Nestas represas foi observado que as represas de Billings e Barra Bonita possuem o maior número de espécies com densidades significativas. Observou-se que nas represas eutróficas e hipereutróficas (Billings, Barra Bonita, Bariri, Ibitinga e Promissão) houve uma maior igualdade. E na represa mais eutrofizada, Barra bonita, a equitatividade foi maior assim como a diversidade. As associações entre as espécies e suas respectivas abundâncias também mostraram relação com o estado trófico. As espécies *Acanthocyclops robustus*, *Mesocyclops meridianus*, *Mesocyclops ogunnus* e *Thermocyclops decipiens* tiveram as maiores abundâncias nas represas eutróficas e hipereutróficas. A espécie *Mesocyclops ogunnus* dominou na represa de Barra Bonita e a espécie *T. decipiens* dominou nas demais represas eutróficas. Nas represas de menor trofia, Nova Avanhandava e Três Irmãos a equitatividade foi menor, sendo que a espécie *Thermocyclops minutus* dominou com mais de 60% sobre as outras espécies.

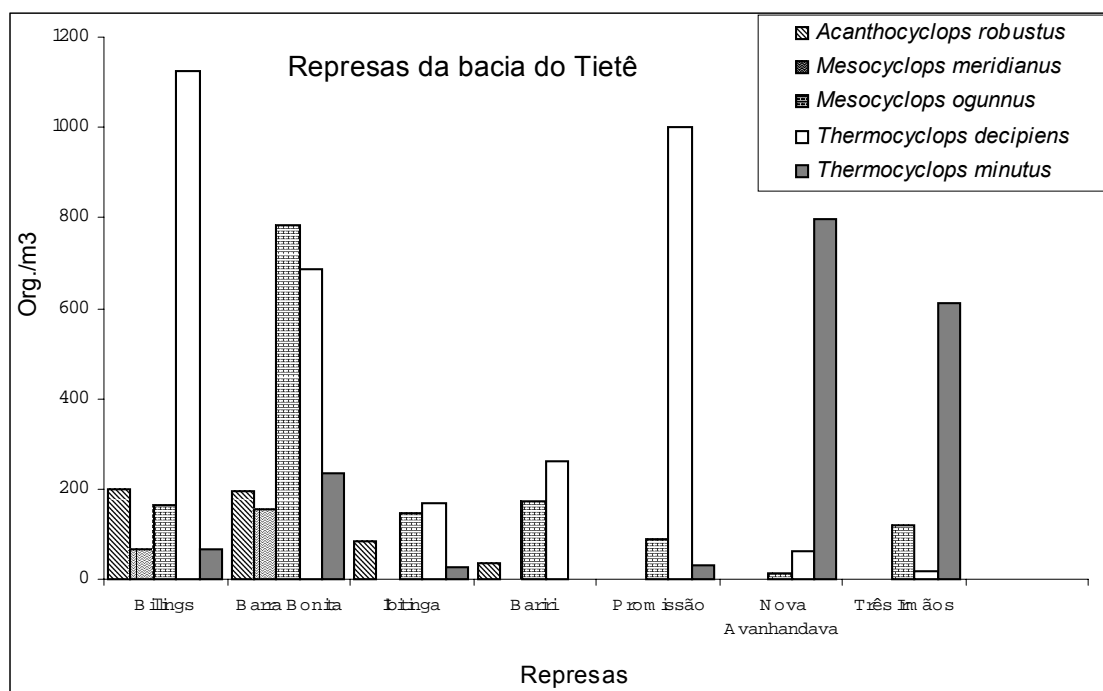


Figura 39. Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas da bacia do Rio Tietê.

#### 4.4.2.2. Represas da bacia do Ribeira do Iguape.

A figura 40 mostra as densidades para as espécies nas represas da bacia Ribeira do Iguape. Nas represas em cascata do rio Juquiá Guaçú (Cachoeira da França, Fumaça, Barra, Porto Raso, Alecrim e Serraria) a represa mais eutrofizada (França) apresentou as maiores abundâncias. As represas de Fumaça, Barra e Porto Raso tiveram alta diferenças entre as densidades e domínio da espécie *Thermocyclops* n. sp. As represas de Alecrim e Serraria, que mostraram um mesmo padrão para o IET de fósforo quanto de clorofila, e apresentaram as menores abundâncias e o domínio das espécies *Thermocyclops decipiens* e *Mesocyclops longisetus longisetus* respectivamente. As represas fora do rio Juquiá Guaçú, represas de Iporanga e Jurupará, tiveram como espécie dominante o *Thermocyclops inversus*. A represa de Iporanga, a mais eutrofizada, apresentou os maiores valores para abundancia. Portanto, nesta bacia a espécie *Thermocyclops inversus* apresentou forte correlação com sistemas eutrofizados e a espécie *Thermocyclops* n. sp. teve uma forte correlação com sistemas oligotróficos.

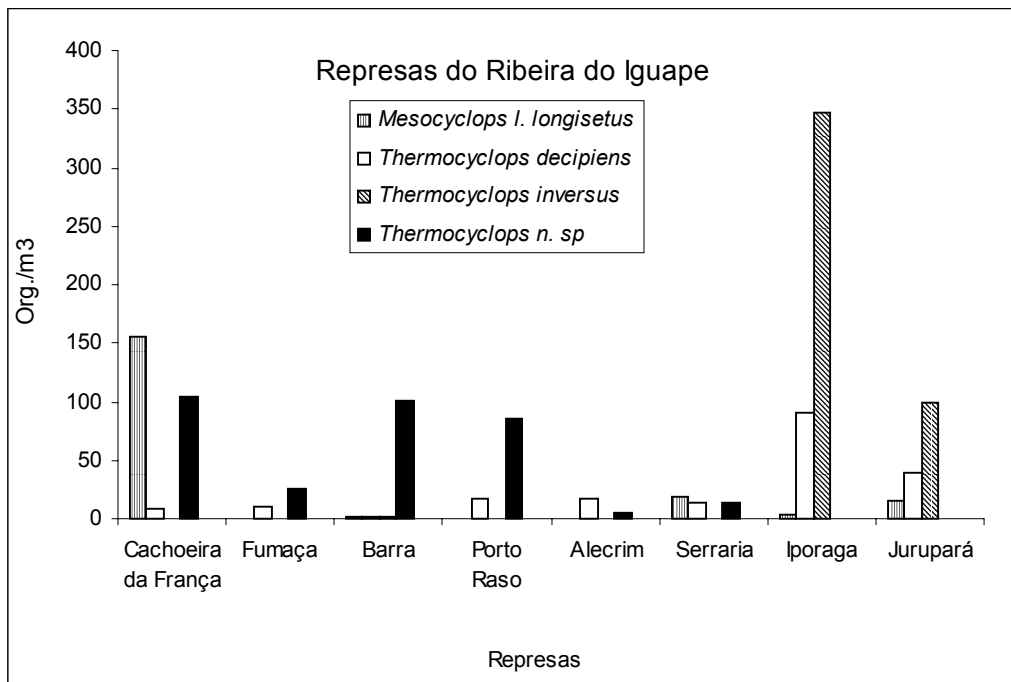


Figura 40. Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas da Unidade Ribeira do Iguape.

#### 4.4.2.3. Represas da bacia do Grande.

A figura 41 mostra as densidades para as espécies nas represas da bacia do Rio Grande. Nesta bacia apenas duas das quatro represas apresentaram populações de Cyclopoida, as represas de Jaguará e Iguarapava. Ambas apresentaram o mesmo padrão entre as populações de Cyclopoida onde o *Thermocyclops minutus* dominou seguido de *Mesocyclops ogunnus* e *T. decipiens*.

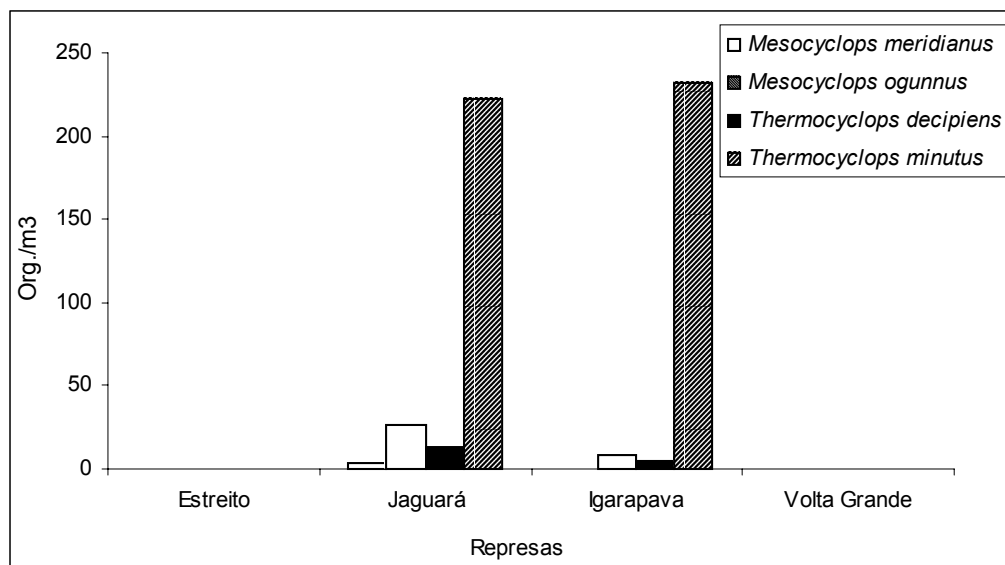


Figura 41. Densidades para as populações de Cyclopoida nas represas do Rio Grande.

#### 4.6. Citogenética

As figuras 42 e 43 mostram as fotos e esquemas dos cromossomos de *Mesocyclops longisetus longisetus*. O número de cromossomos para esta espécie foi de  $2n=14$ , a figura 42 mostra os cromossomos condensados em mitose incompleta e a figura 43 mostra os cromossomos condensados em mitose completa.

A figura de 44 mostra as diferentes fases no fenômeno de perda de cromatina para a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus*. A figura 43A mostra os cromossomos antes da 4ª clivagem, observa-se que os cromossomos são longos, na figura 43A a célula na 4ª clivagem, observa-se o fenômeno de perda de cromatina, os cromossomos tornam-se curtos e o produto da perda concentrou-se na região central das células em anáfase (fig.44B ↑), após a 4ª clivagem as células ficam menores e os cromossomos ficam curtos, após esta clivagem não ocorreu mais o fenômeno de perda de cromatina.



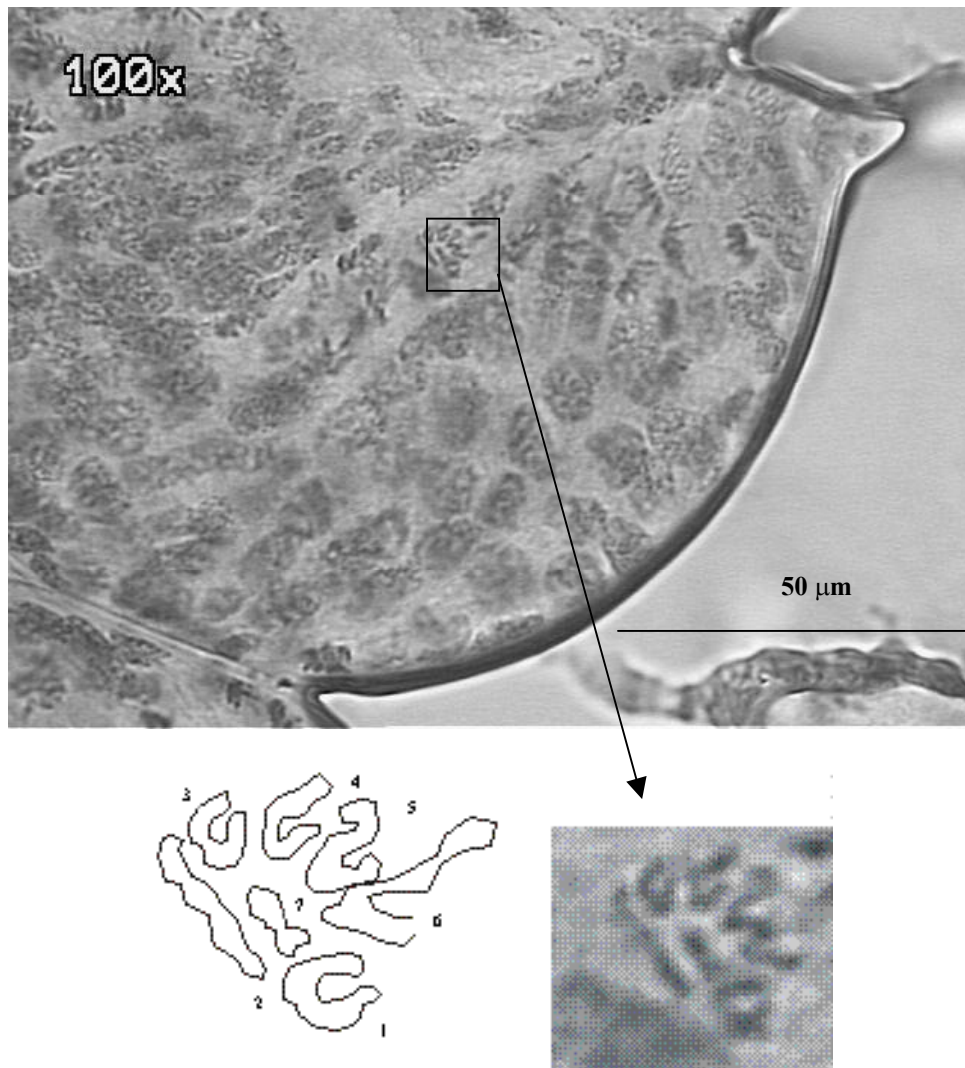


Figura 42. Ovo de *Mesocyclops longisetus longisetus* apresentando diversas células em divisão celular, e no detalhe 7 cromossomos em metáfase incompleta e o esquema ilustrando posição e forma dos cromossomos.

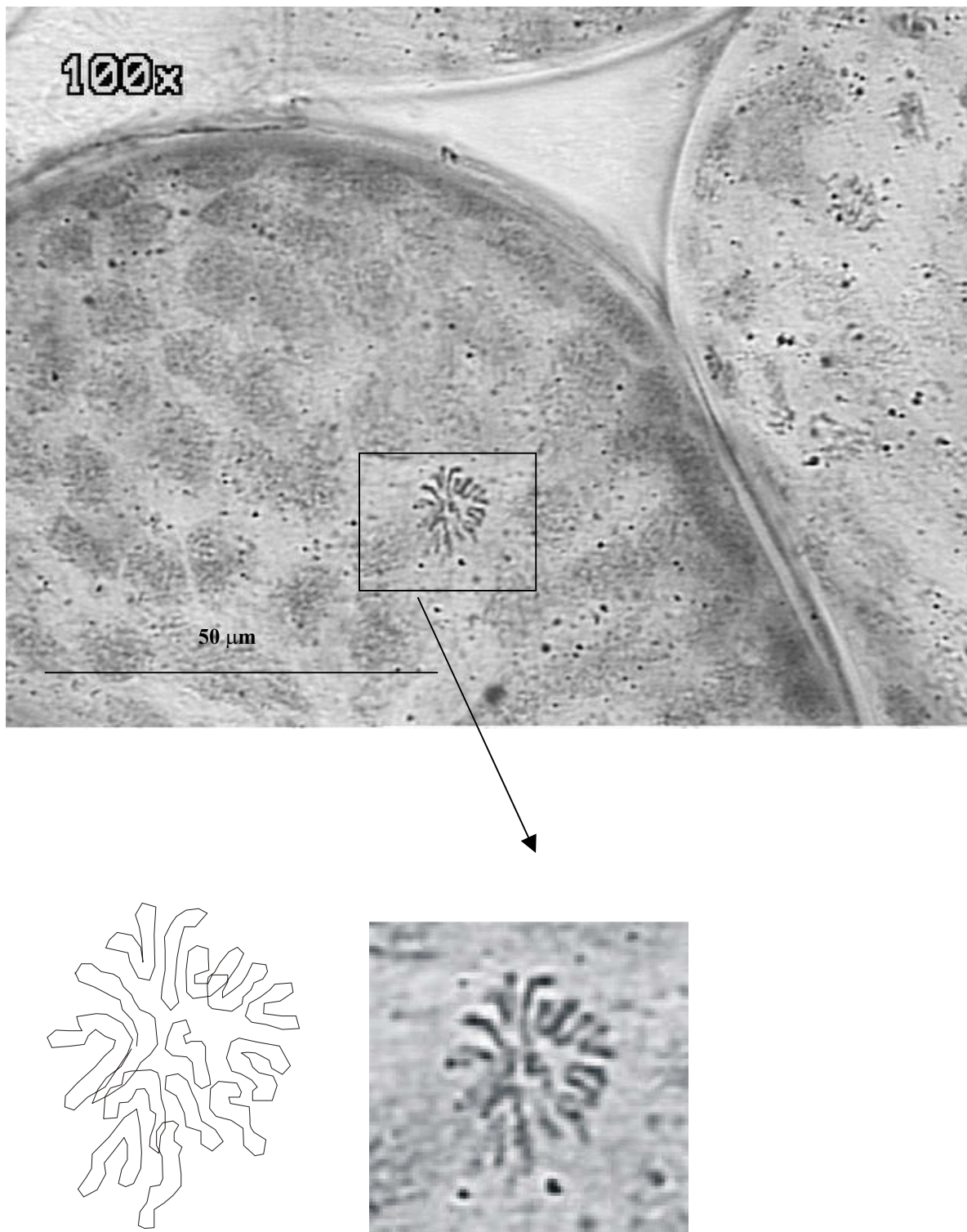


Figura 43. Ovo de *Mesocyclops longisetus longisetus* com célula em metáfase com os cromossomos duplicados,  $2n=14$  e o esquema ilustrando a posição e forma dos cromossomos.

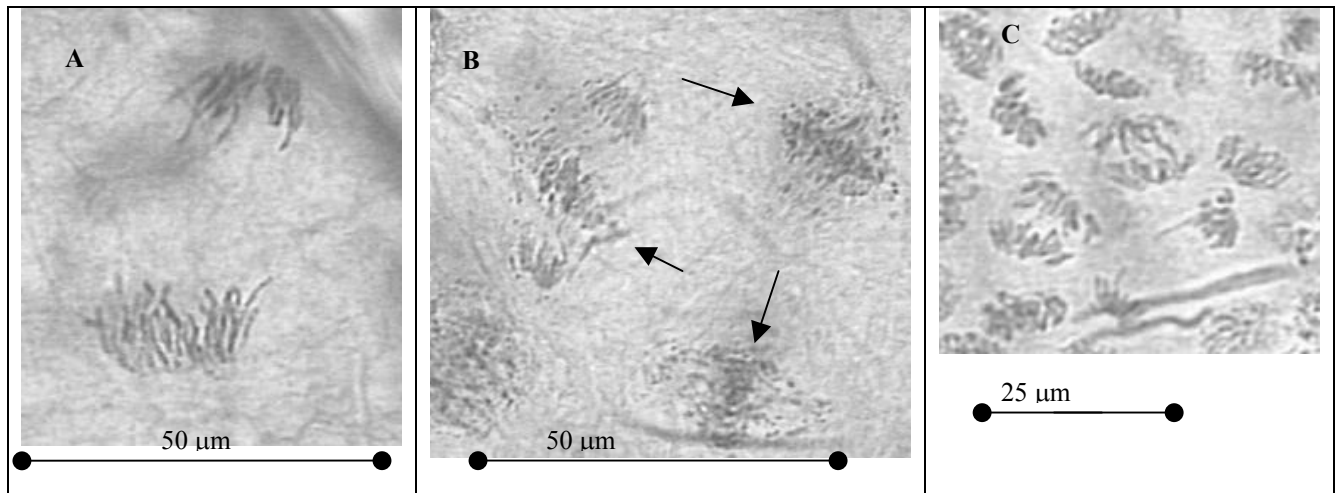


figura 44. A- Células de *Mesocyclops longisetus longisetus* em anáfase antes da 4<sup>a</sup> clivagem do ovo, sem perda de cromatina; B- Célula na 4<sup>a</sup> (anáfase) clivagem com cromatina excluída ↑; C- Células após 4<sup>a</sup> clivagem com cromossomos sem parte da cromatina.

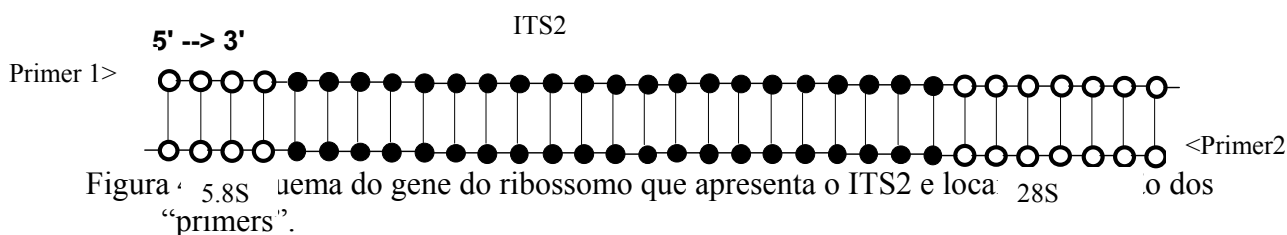
## 4.7. Biologia molecular

### 4.7.1. Extração do DNA

A extração foi realizada com sucesso nos laboratórios de biologia molecular da Universidade Federal de São Carlos, a técnica foi testada para extrair DNA de Copepoda Cyclopoida, Copepoda Calanoida e Cladocera, em todos os casos houve a extração do DNA. A extração funcionou tanto para os organismos frescos como para os organismos fixados em álcool, entretanto a técnica não teve bons resultados para animais fixados em formol 4%.

### 4.7.2. Amplificação do gene do ITS2.

A fig. 45 mostra o esquema de parte do gene do ribossomo e a localização da seqüência do ITS2 e a posição de atuação dos “primers”. Os “primers” ITS10 e ITS4 desenhados por Gerken (dados não publicados) funcionaram para todos os organismos que tiveram o DNA extraído. Para o sequenciamento do produto amplificado, o ITS2, foram testados três caminhos: 1- uso direto do produto sem correr em gel de agarose, 2- correndo o produto em gel de agarose e utilizando o produto recuperado do gel e 3- re-amplificando o produto recuperado do gel. O melhor resultado foi obtido com o método 3 com re-amplificação do produto, este passo foi acrescentado a técnica proposta por Wyngaard & Gerken (dados não publicados). A amplificação deu resultados com todos os microcrustáceos testados.



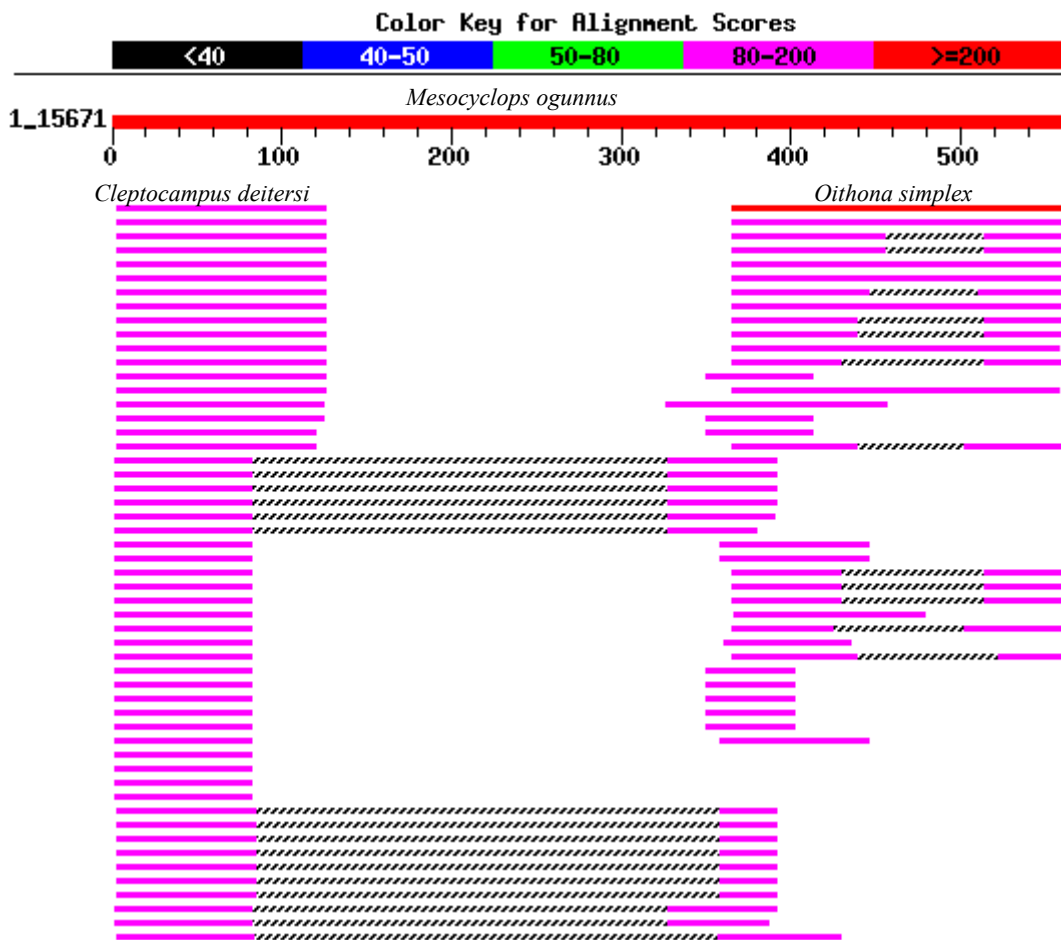
### 4.7.3. Sequenciamento

As seqüências obtidas pela clonagem para os Cyclopoida estão em anexo. A realização da clonagem de várias espécies ao mesmo tempo resultou em confusão nos resultados, onde as seqüências se repetiram em espécies diferentes ficando impossível

dar certeza a qual seqüência pertencia determinada espécie. A confusão foi desfeita com a obtenção dos resultados das seqüências realizadas nos EUA. Comparando-se as seqüências foi possível identificar as espécies *Thermocyclops decipiens*, *Mesocyclops ogunnus* e *Mesocyclops longisetus*. As demais espécies que tiveram o DNA amplificado apenas no Brasil não foi possível estabelecer as seqüências. As seqüências obtidas diretamente do gel e re-amplificadas mostraram uma seqüência de qualidade muito inferior a clonada, possivelmente pelo baixo nível de recuperação do gel que trabalhava com o volume mínimo recomendado.

#### **4.7.4. Obtenção da seqüência de ITS2**

A fig. 46 mostra os resultados obtidos do banco mundial de genes para a seqüência submetida da espécie *Mesocyclops ogunnus*. A seqüência enviada foi alinhada perfeitamente com a porção 5.8S da espécie *Cleptocampus deitersi* e com a porção 28S da espécie *Oithona simplex* ambas as espécies pertencentes ao grupo dos Copepoda. Com os resultados dos alinhamentos, foi possível estabelecer o início e o fim da seqüência do ITS2 para os microcrustáceos estudados, o início é na base 128 e término na base 335, sendo um total de 207 bases.



[gi|14486642|gb|AF315029.1|AF315029](http://gi|14486642|gb|AF315029.1|AF315029) Cletocamptus deitersi isolate  
 Q525-1 18S ribosomal RNA gene,  
 partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S  
 ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2,  
 complete sequence  
 Length = 683

Score = 163 bits (82), Expect = 4e-37  
 Identities = 113/124 (91%)  
 Strand = Plus / Plus

Query:4-63

tcgatnaanaacgcagcaaactgcgcgctcggaatgtgaactgcaggacatatgatcatcg  
 ||||| || ||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

Sbjct:334 tcgatgaagaacgcagccaactgcgcgctcggaatgtgaactgcaggacacatgaacatcg  
 393

Query:64-123actttgaacgcacattgcgggcactggctcgtccactgcccattgtctggctcagggtc  
 ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||

Sbjct:394 acactttgaacgcacattgcggactgtggcttgtccacagtccattgtctggctcagggtc  
 453

Query: 124 ggtt 127

||||

Sbjct: 454 ggtt 457

[gi|14537998|gb|AF385458.1|AF385458](#) Oithona simplex 28S ribosomal RNA  
gene, partial sequence  
Length = 715

Score = 240 bits (121), Expect = 2e-60  
Identities = 181/200 (90%), Gaps = 2/200 (1%)  
Strand = Plus / Plus

```
Query:366-gcatattaataagcggaggaaaagaaaacaaccgtgatgcccttagtaatggcgaatgaa
425      ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| ||||||| |||||||
Sbjct: 1  gcatatcaataagcggaggaaaagaaaacaaccgtgatgcccttagtaatggcgaatgaa
60
```

```
Query: 426 acgggcagagcccagcaccgaaccgccggcc--ttggtcgcgctggaatgtggtgttcgg
483      ||||||| ||||||| ||||||| || || ||||| ||||||| ||||| |
Sbjct: 61  cgggcagagcccagcaccgaaccgccggccgtatttgcgcgcggaatgtggtgtttag
120
```

```
Query:484 gggagtctcctcgcagcgagacggccggtccaagtccaccttgactggggccacggccccg
543      | ||||||| |||| || | ||||||| ||||||| ||||||| ||||| |||
Sbjct: 121gagagtctcatcgctgcttgtcggccggtccaagtacaccttgactgggaccacgagccg
180
```

```
Query: 544 tagagggatgataggccccgta 563
          ||||||| |||||||
Sbjct: 181 tagagggatgataggccccgta 200
```

Figura 46. Resultados obtidos pela comparação da sequência de *M. ogunnus* e seqüências do banco de genes, com as seqüências entre *M. ogunnus* (Sbjct) , *Cleptocampus deitersi* (Query) e *Oithona simplex*(query).

#### 4.7.5. Comparação entre as seqüências obtidas nos EUA e no Brasil

As figs 47 e 48 mostram as seqüências obtidas nos EUA E no Brasil para as espécies *Mescocyclops ogunnus* e *T. decipiens* , observou-se a alto índice de correlação entre as seqüências, isto é, a técnica aplicada no Brasil foi realizada com sucesso. A espécie *M. ogunnus* o erro foi de 4 % e para a espécie *T. decipiens* a seqüência foi 100% correta.



Figura 47. alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie *M. ogunnus* extraído no EUA (MO\_EUA) e extraído no Brasil (MO-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2.



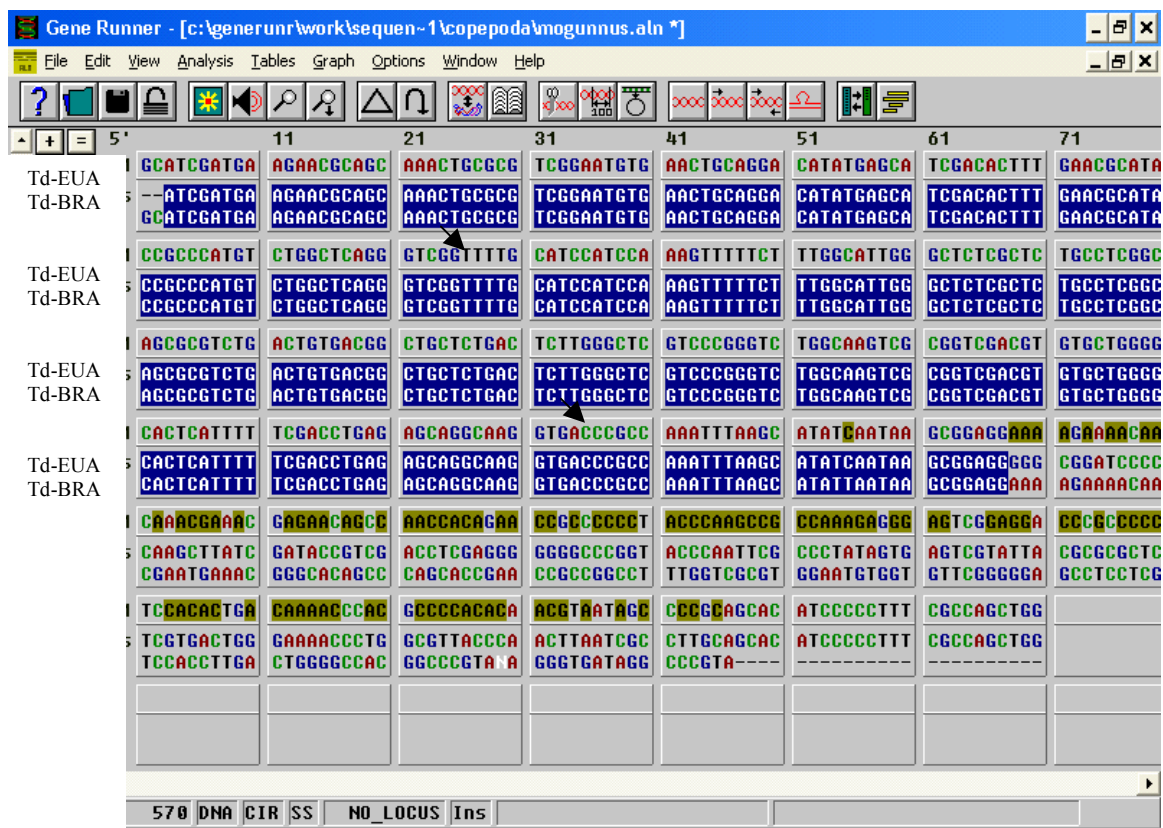


Figura 48. alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie *T. decipiens* extraído no EUA (Td\_EUA) e extraído no Brasil (Td-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2

A fig. 49 mostra o alinhamento obtido para as espécies de *Mesocyclops longisetus* coletado na Califórnia, EUA e *M. longisetus longisetus* coletado na reserva do Ripado na Universidade Federal de São Carlos. O erro entre as duas seqüências foi de 10%, mostrando que são espécies extremamente próximas, mas com pequenos desvios para a seqüência de ITS2.

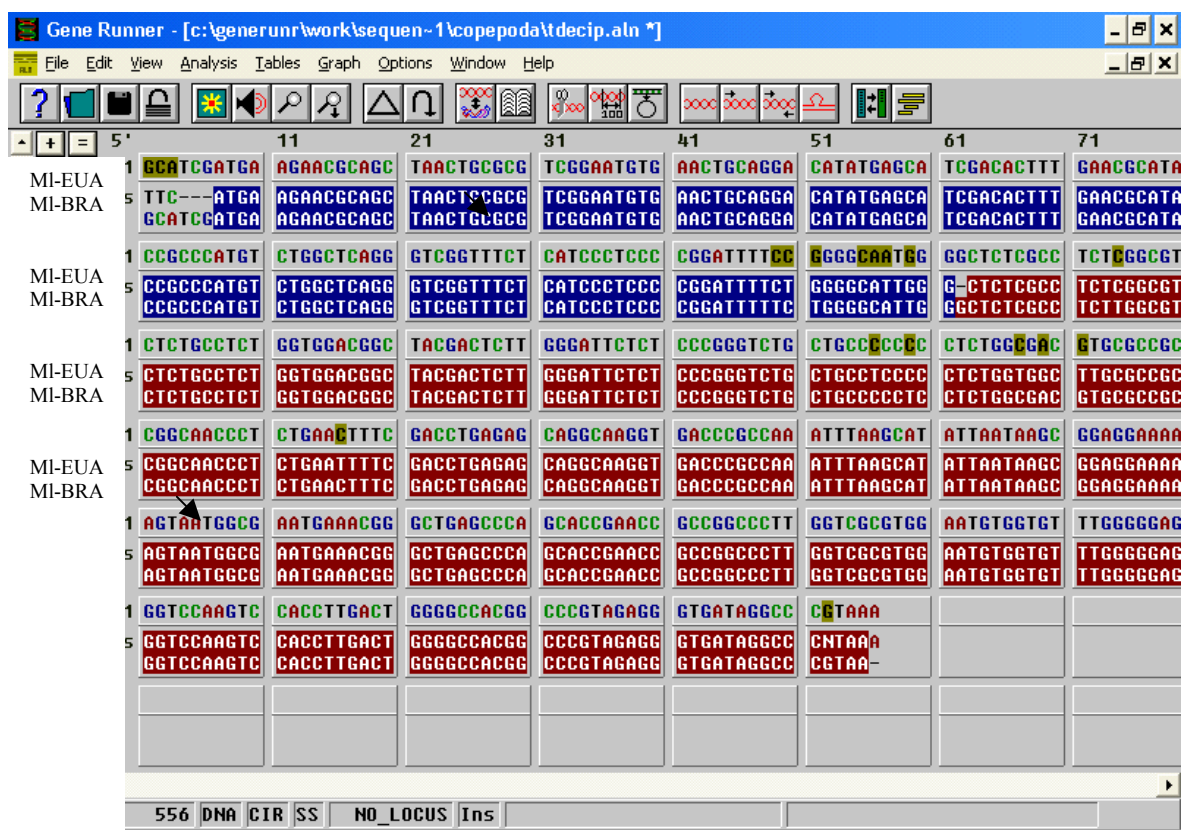


Figura 49. alinhamento das seqüências de ITS2 da espécie *Mesocyclops longisetus* coletado nos EUA (MI\_EUA) e coletado no Brasil (MI-BRA), as setas indicam início e fim da seqüência do ITS2

As seqüências completas para todas as espécies que tiveram o DNA extraído e seqüenciado estão no apêndice.

#### 4.7.6. Comparação entre espécies de mesmo gênero.

As figs 50 e 51 mostram os alinhamentos entre as espécies *Mesocyclops ogunnus* e *M. longisetus longisetus*, e entre as espécies *Thermocyclops decipiens* e *Thermocyclops inversus*. A variação foi de 41% entre as espécies de *Mesocyclops* e 45% entre as espécies de *Thermocyclops*, estas variações mostram uma considerável

diferença entre as espécies, validando assim o propósito da técnica para auxiliar na taxonomia.

		11	21	31	41	51	61	71	
MO	1	GCATCGATGA	AGAACGCAGC	AAACTGCGCG	TCGGAATGTG	AACTGCAGGA	CATATGAGCA	TCGACACTTT	GAACGCAG
ML		GCATCGATNA	ANAACGCAGC	AAACTGCGCG	TCGGAATGTG	AACTGCAGGA	CATATGATCA	TCGACACTTT	GAACGCAG
		GCATCGATGA	AGAACGCAGC	TAACTGCGCG	TCGGAATGTG	AACTGCAGGA	CATATGAGCA	TCGACACTTT	GAACGCAT
MO	1	CGGCCATGT	CTGGCTCAGG	GTGGTTTGG	CATCCCTCCC	AGAGGGCTCG	TCGGCCAGGG	CAGTGGGCTC	TCGGCTCG
ML		CTGCCCATGT	CTGGCTCAGG	GTGGTTTGG	CATCCCTCCC	AGAGGGCTCG	TCTTCTGGGG	CAGTGGGCTC	TCGGCTCT
		CGGCCATGT	CTGGCTCAGG	GTGGTTTCT	CATCCCTCCC	CGGATTTTTG	TGGGGCATTG	GGCT-----	----CTCG
MO	1	AGGGGCGAGT	CCGTCCAGCT	GGTGGACGGC	CACCACTCTT	GGGATTCTCT	CCGGGGTCA	CTCCCCAAAC	AGCGGGCG
ML		AGTTTCAGT	CCGTCCAGCT	GGTGGGGCGC	CACCACTCTT	GGGATTCTCT	CCGGGGTCA	CTCCCCAAAT	AGTGTTCG
		CTGGGGCGGT	CTGTCCCTCT	GGTGGACGGC	TACCACTCTT	GGGATTCTCT	CCGGGGTCTG	CTGGCCCTC	CTGTGGCG
MO	1	CGGACGCCAG	CGGCAACCCCT	GTGAACTTTC	GACTGAGAG	CAGGCAAGGT	GACCCGCCAA	ATTTAAGCAT	ATTAATAA
ML		TTGACCGCTG	CGG-ACCCCT	TTTGCCTTTC	GACTGAGAG	CAGGCAAGGT	GACCCGCCAA	ATTTAAGCAT	ATTAATAA
		GCTTGGCTAG	CGGCAACCCCT	CTGAACTTTC	GACTGAGAG	CAGGCAAGGT	GACCCGCCAA	ATTTAAGCAT	ATTAATAA
MO	1	TGATGCCCTT	AGTAATGGCG	AATGAAACGG	GCAGACCCCA	GCACCGAACC	CCCGGCCCTT	GGTCGCGTGG	AATGTGGT
ML		TGATGCCCTT	AGTAATGGCG	AATGAAACGG	GCAGACCCCA	GCACCGAACC	CCCGGCCCTT	GGTCGCGTGG	AATGTGGT
		TGATGCCCTT	AGTAATGGCG	AATGAAACGG	GCTGAGCCCA	GCACCGAACC	CCCGGCCCTT	GGTCGCGTGG	AATGTGGT
MO	1	CGAGACGGCC	GGTCCAAGTC	CACCTTGACT	GGGGCCACGG	CCCCTAGAGG	GTGATAGGCC	CGTAA	
ML		CGAGACGGCC	GGTCCAAGTC	CACCTTGACT	GGGGCCACGG	CCCCTAGAGG	GTGATAGGCC	CGTA-	
		CGCGTTGGCC	GGTCCAAGTC	CACCTTGACT	GGGGCCACGG	CCCCTAGAGG	GTGATAGGCC	CGTAA	

Figura 50. Alinhamento das seqüências das espécies *Mesocyclops ogunnus* e *M. longisetus longisetus*.

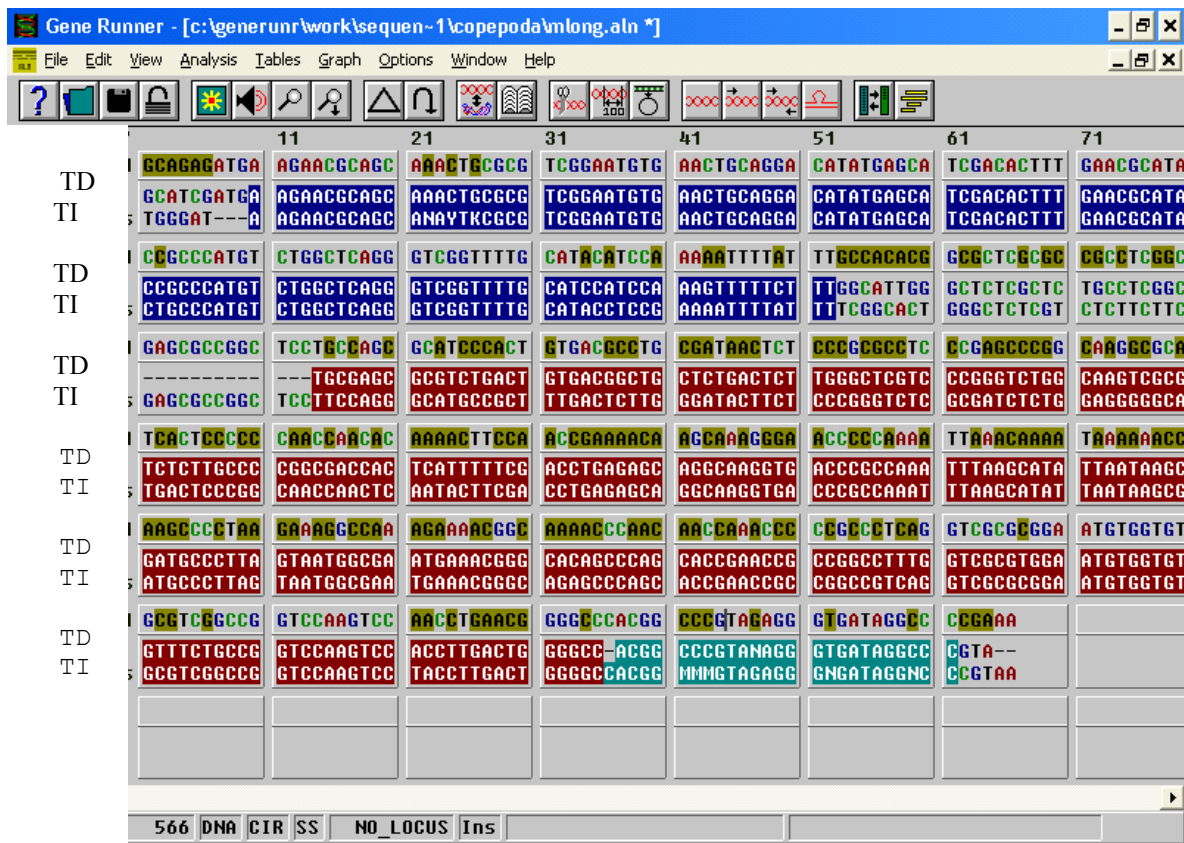


Figura 51. Alinhamento das seqüências das espécies *Thermocyclops decipiens* (TD) e *T. inversus* (TI).

A diferença entre espécies do mesmo gênero foi similar entre espécies de gêneros diferentes, onde *Mesocyclops ogunnus* e *Thermocyclops decipiens* a diferença foi de 47% e entre as espécies *Mesocyclops ogunnus* e *Thermocyclops inversus* foi de 43%, este resultado aponta para uma dificuldade para avaliar a filogenia, sendo portando uma técnica sensível para diferenciação entre espécies e não entre gêneros.

A figura 51 mostra a árvore filogenética baseado nas diferenças encontradas entre as seqüências de ITS 2. Observa-se que a diferença entre as espécies congênicas ficam em torno de 42 e 45% e entre gêneros ficam entre 47 a 44%.

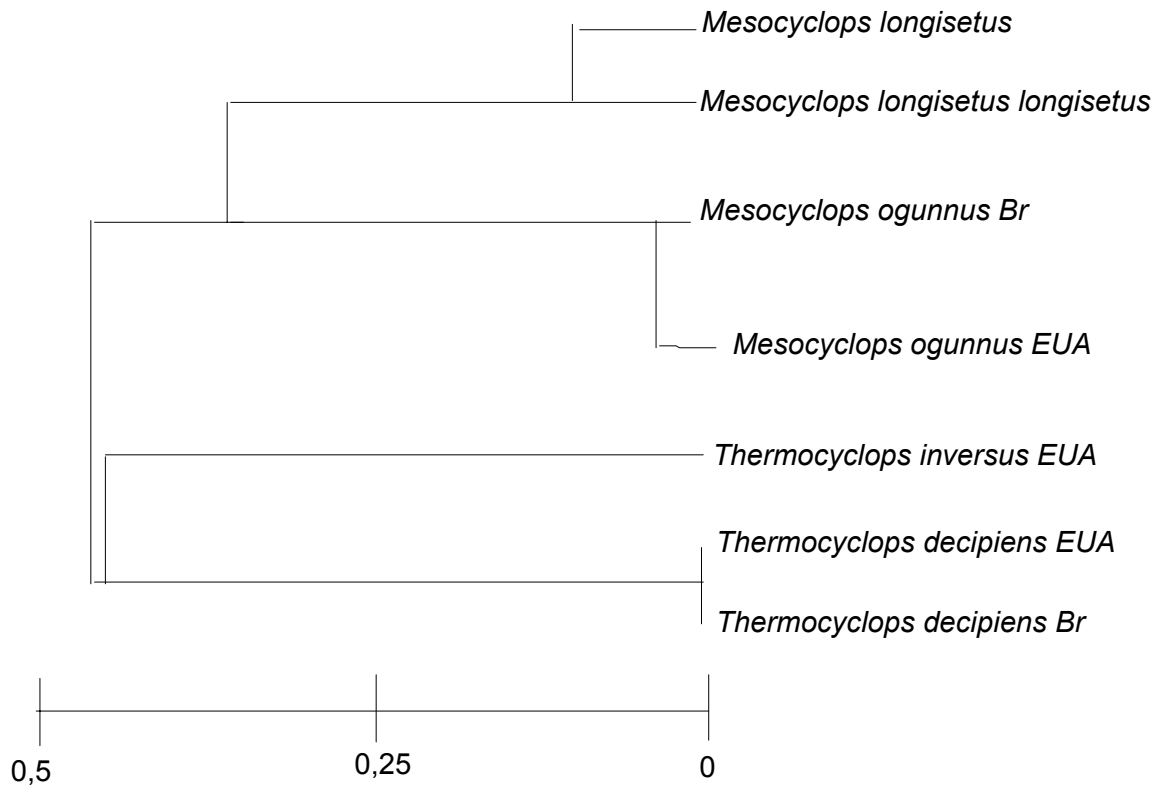


Figura 51. Similaridade baseada nas diferenças das seqüências de ITS2. As espécies com “Br” tiveram as seqüências feitas no Brasil e as “EUA” tiveram as seqüências feitas nos Estados Unidos. A espécie *Mesocyclops longisetus longisetus* é a espécie brasileira e *M. longisetus* é a espécie norte americana.

#### 4.7.7 Modelos Markovianos ocultos aplicado à genética

A figura 53 mostra os resultados da análise das sequências utilizando os modelos Markovianos para as espécies *Mesocyclops ogunnus*, *M. l. longisetus* e *Thermocyclops decipiens*. Observou-se que cada espécie apresentou um padrão diferente apesar de compartilharem sequências iguais nas porções 28S e 5.8 S posicionadas entre 1 a 128 e entre 129 a 335 respectivamente, sendo o segmento de interesse (ITS2) posicionado entre 129 a 334. Apesar dos padrões diferenciados observou-se uma mudança nos padrões nas bases que compõe o ITS2, mostrando que pode ser um modelo oculto entre as porções 28S e 5.8S.

As espécies do gênero *Mesocyclops* apresentaram um padrão mais caótico que a espécie *Thermocyclops*, estas diferenças podem indicar padrões filogenéticos para diferentes os grupos.

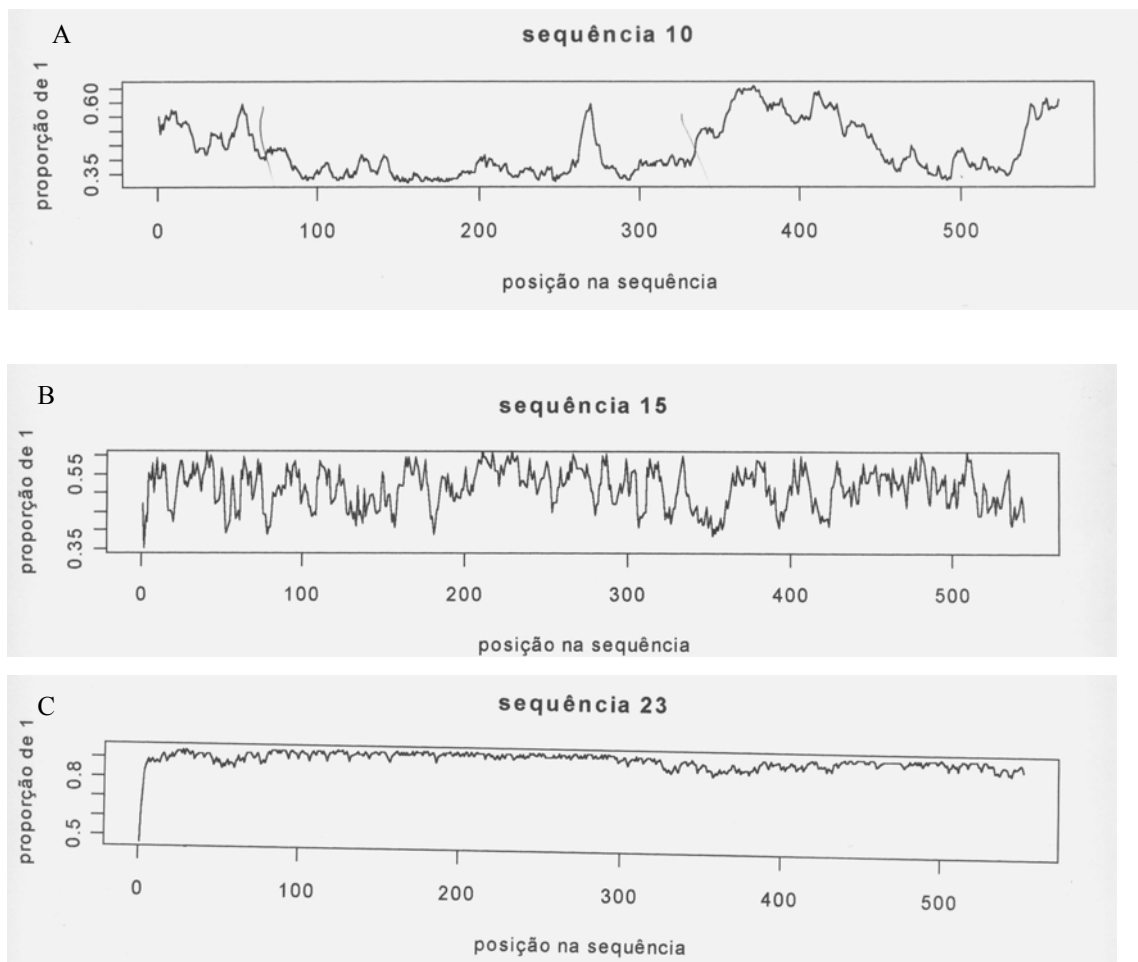


Figura 53. Análise de modelo Markoviano para as espécies de Cyclopoida. A- *Thermocyclops decipens*; B- *Mesocyclops ogunnus* C- *Mesocyclops longisetus longisetus*.

## 5- Discussão

O conhecimento da diversidade dos Cyclopoida de água doce requer um estudo cuidadoso de identificação dos organismos ao nível de espécies pois são estas entidades que a nível de populações definem as características ambientais.

### *Problemas de taxonomia dos Cyclopoida*

Os Copepoda Cyclopoida do plâncton constituem um grupo de organismos cujo hábito alimentar é raptorial ou capturador sendo que os seus apêndices bucais apresentam adaptações para capturar presas. Os primeiros estudos taxonômicos deste grupo no Brasil foram feitos por Richard (1897) e Sars (1901) com os materiais coletados nos corpos de água da Bacia do Prata. Posteriormente Kiefer, (1925, 1929, 1933,1935) identificou e descreveu uma série de espécies do Brasil, adotando a classificação introduzida pelo mesmo autor em 1927. Nesta nova classificação o autor propôs uma nova classificação para os subgêneros *Thermocyclops* e *Tropocyclops* dos gêneros *Mesocyclops* e *Eucyclops* respectivamente, considerando-os como gêneros do grupo dos Cyclopoida. Atualmente os gêneros estão bem caracterizados não havendo dúvidas para o uso das chaves de identificação das espécies.

Entretanto em nível de espécies, foi constatado no presente estudo que parte das espécies mais comuns do Estado de São Paulo foram identificadas erroneamente. Estes erros são reflexos da falta de especialistas para o grupo de Copepoda Cyclopoida. Notadamente duas espécies de *Mesocyclops* (*M. ogunnus* e *M. meridianus*) uma de *Thermocyclops* (*Thermocyclops* n. sp.) apresentaram erros de identificação. A espécie *Mesocyclops ogunnus* da represas de Barra Bonita e de Jurumirim foi identificada como *Mesocyclops kieferi* sendo citada por Matsumura-Tundisi et al. (1990), Tundisi & Matsumura-Tundisi (1994) e Nogueira (2001). A diferença entre estas duas espécies foi detectada quando se comparou as estrutura da espécie do Estado de São Paulo (*Mesocyclops ogunnus*) com a descrição da espécie *Mesocyclops kieferi* feita por Van de Velde (1984). A espécie foi confirmada sendo *Mesocyclops ogunnus* após a comparação das seguintes estruturas anatômicas: basípodo a antena 2, palpo da maxila, receptáculo seminal e ramos da cauda.

A espécie *Mesocyclops meridianus* também muito freqüente no Estado de São Paulo, apresentou erro de identificação, sendo registrada como *Mesocyclops brasilianus* por Matsumura-Tundisi et al (1990) e Nogueira (2001). A espécie *Mesocyclops brasilianus* já foi considerada sinonímia da espécie *Mesocyclops meridianus* por Dussart (1987). Esta confusão taxonômica foi fruto de uma publicação feita por Kiefer (1936) que descreveu o *Mesocyclops brasilianus* na região amazônica. Posteriormente o mesmo autor (Kiefer, 1956) efetuou o registro dessa mesma espécie, também na região amazônica, porém com a característica do receptáculo seminal similar ao da espécie *Mesocyclops meridianus* descrita por Kiefer (1926). As características da espécie *Mesocyclops meridianus* foi confirmada por outros autores, Dussart & Frutos (1985), Dussart (1984) e Gutierrez-Aguirre (2001). A espécie *Mesocyclops brasilianus* descrita por Kiefer (1936) não tem sido encontrada após a descrição do autor.

A terceira espécie de *Mesocyclops* que apresentou um problema taxonômico foi a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus*. Apesar de haver a diferenciação entre subgêneros existem um grande número de identificações desconsiderando as diferenças. A sub-especiação foi proposta por Dussart (1987) ao verificar diferenças no receptáculo seminal e na membrana hialina do último artigo da antena 1. O autor propôs as sub-espécies *longisetus* e *curvatus*. Esta especiação foi validada por Reid (1994) ao estudar a dispersão da espécie *Mesocyclops longisetus* na América do Norte. A sub-espécie de *Mesocyclops longisetus* registrada no presente trabalho refere-se a *M. longisetus longisetus*.

A espécie *Thermocyclops n. sp* n.sp. foi registrada anteriormente por Sendacz & Kubo (1982) como *Thermocyclops minutus*. Estas espécies são semelhantes quanto ao apêndice 4, entretanto diferenças morfológicas no receptáculo seminal mostrou que se tratava de uma espécie diferente da espécie *Thermocyclops minutus*. A revisão da literatura sobre as características apresentadas pela espécie permitiu concluir que se tratava de uma espécie nova.

Outro problema de identificação detectado foi em relação a espécie *Paracyclops fimbriatus* registrada na represa do Broa por Matsumura-Tundisi & Rocha (1983). Trata-se da espécie *Paracyclops chiltoni* confirmada nos desenhos dos autores principalmente do apêndice 5 que concorda com as características apresentada por Karaytung & Boxshall (1999).

*Eucyclops* foi o gênero que apresentou maior dificuldade na identificação das espécies. Por se tratar de um grupo que apresenta grande endemismo e formado por



muitas espécies, a maioria tem sido registrada apenas no local onde a espécie foi (Dussart & Dafaye, 1985). No estado de São Paulo a espécie *Eucyclops* cf. *ensifer* registrada por Matsumura-Tundisi & Rocha (1983) e a espécie *Eucyclops* cf. *prinophorus* registrada pela primeira vez no estado, não tiveram as características totalmente concordantes com as espécies das descrições originais. Estas espécies devem passar por um diagnóstico mais rigoroso para serem confirmadas.

Do gênero *Acanthocyclops*, apenas a espécie *A. robustus* foi registrada no estado de São Paulo. Essa espécie é considerada como sendo do complexo *robustus-vernalis* (Kiefer, 1976) por apresentar grande semelhança com a espécie *A. vernalis*, além das variações que ambas as espécies possuem de acordo com as condições ambientais. Dodson (1994) estudando variações do complexo encontrou diversas formas para a mesma espécie, as quais o autor atribuiu a diversos fatores ambientais, tais como o habitat, litorâneo ou limnético, a estação do ano, inverno ou verão. A espécie de *Acanthocyclops* encontrada no estado de São Paulo apresentou as mesmas características do *A. robustus* forma “warm water” descrita por Dodson, 1994.

#### *Ecologia: Distribuição geográfica das espécies:*

Em virtude da metodologia padronizada de amostragem adotada em estudo do Programa BIOTA/FAPESP em determinar as coordenadas geográficas através do GPS, foi possível mapear a distribuição geográfica das espécies de Copepoda Cyclopoida encontradas nos corpos de água do Estado de São Paulo.

As espécies mais amplamente distribuídas em todas as UHGRHs foram *Thermocyclops decipiens* presente em 20 das 22 unidades de gerenciamento seguida de *Mesocyclops longisetus longisetus* presente em 16 e *Thermocyclops minutus*, *Mesocyclops ogunnus*, *Mesocyclops meridianus*, registradas em 15 unidades.

A espécie nova descrita no presente trabalho, *Thermocyclops n. sp.*, apresentou uma distribuição restrita aos corpos de água das Unidades Ribeira do Iguape e Paraíba do Sul. Segundo Reid (1989) as espécies do gênero *Thermocyclops* presentes nas Américas são na sua maioria endêmicas. Das nove espécies registradas no continente americano cinco são endêmicas, tais como *Thermocyclops brehmi* endêmica do noroeste da Argentina, *Thermocyclops tenuis longifurcatus* presente apenas nas ilhas de Boinare, *Thermocyclops hastatus antillensis* endêmica da ilha de Guadalupe, *Thermocyclops crassus* presente apenas na Costa Rica e *Thermocyclops parvus* endêmica da Flórida.

*Acantocyclops robustus* foi uma espécie pouco freqüente e que até 1999 não havia sido registrada na literatura para o Estado de São Paulo. A espécie foi encontrada em grande quantidade em 1999 na represa de Rio Grande-Billings (Estação de abastecimento da SABESP) por Matsumura-Tundisi & Tundisi (2002), porém sua presença na represa foi por curto período de tempo. Na represa de Barra Bonita a sua ocorrência foi registrada em novembro de 2000 não permanecendo também por muito tempo nessa represa, constatou-se que a sua ocorrência é cíclica, pois seu reaparecimento foi observado novamente em setembro de 2002 (Silva & Matsumura-Tundisi, dados não publ.).

Quanto ao gênero *Mesocyclops* das cinco espécies registradas, três (*M. ogunnus*, *M. meridianus* e *M. longisetus longisetus*) mostraram uma ampla distribuição enquanto que *M. aspericornis* e *M. ellipticus* foram registradas apenas na represa de Barra Bonita no Rio Tietê. Das espécies de ampla distribuição *Mesocyclops ogunnus* é uma espécie de região limnética ocorrendo em grande abundância nas represas eutrofizadas da Bacia do Rio Tietê e nas represas do Rio Grande e Paraná. Segundo Reid & Pinto-Coelho (1994) esta espécie foi trazida da África no final da década de 1980 para o Brasil juntamente com a piscicultura na represa de Furnas, MG (Rio Grande). Entretanto, a espécie já havia sido identificada como *Mesocyclops kieferi* por Matsumura-Tundisi em 1985 (Matsumura-Tundisi & Silva, 2002).

A distribuição atual da espécie *Mesocyclops ogunnus* mostra que a mesma teve um sucesso na colonização dos diversos corpos de água devido a grande adaptação à variação dos fatores ambientais, desenvolvendo um nicho específico apesar da similaridade com a espécie congênica *M. meridianus*. Segundo os autores Dumont (1977) e Wetzel (2001), uma espécie só se estabelece se encontrar condições para se estabelecer e desenvolver um nicho apropriado e que estas condições provavelmente não deverão estar relacionadas somente com a competição de alimentos.

#### *Biodiversidade e abundância de Cyclopoida em sistemas com diferentes graus de trofia*

A abundância maior de Copepoda Cyclopoida foi verificada em ambientes mais eutrofizados (mesotróficos e eutróficos), segundo Wetzel (2001) a maior disponibilidade de fitoplâncton reflete na maior taxa de produção do zooplâncton.

Represas com alto grau de trofia, principalmente apresentando altos valores de fósforo e clorofila ( sistemas eutrofizados ), possuíram uma maior riqueza de espécie e uma maior equitatividade de distribuição das espécies de Cyclopoida. Segundo Margalef (1983) em sistemas lênticos naturais o número de espécies e relações tróficas é inversamente proporcional a trofia do meio, isto é, quanto mais eutrofizado for o sistema menor o número de espécies e de relações tróficas. Entretanto o mesmo autor destaca que reservatórios são sistemas particulares.

Straskraba & Tundisi (1994) mostraram as principais diferenças entre os sistemas artificiais e naturais, destacando que as funções de força para ambos são diferentes. O sistema artificial está sujeito a maiores perturbações do que o sistema natural. Diferentes níveis de perturbações em sistemas aquáticos relacionados com aumento da diversidade fitoplâncton foi verificado por Padisak & Dokulil (1994). Tundisi & Matsumura-Tundisi (1994) constataram que sistemas naturais tropicais possuíam uma diversidade menor para o plâncton quando comparados com sistemas tropicais artificiais.

A maior disponibilidade de nutrientes, principalmente de fósforo, reflete numa maior quantidade de clorofila e na redução da competição entre algas, uma vez que o nutriente torna-se não limitante. Este reflexo só não ocorre em sistemas onde há uma eliminação de florescimento de algas por processos químicos ou mecânicos como verificado por Matsumura-Tundisi & Tundisi (2002) para a represa Billings. Em sistemas produtivos a competição entre os Cyclopoida diminui, refletindo numa maior igualdade entre as densidades. Nos sistemas menos produtivos, tais como as represas de Nova Avanhadava, Três Irmãos, Volta Grande e Jaraguá, aumentou a diferença entre as densidades e os organismos mais adaptados a estas condições têm abundâncias muito maiores. Esta diferença de abundância entre sistemas com diferentes graus de trofia também foi observada por Silva & Matsumura-Tundisi (2002) para as represas do Médio Tietê. Dumont (1977) argumenta que uma espécie só ocupa um nicho se este estiver o ambiente oferecer condições, portanto a eutrofização funcionaria como um provedor de novos nichos para os Cyclopoida.

As bacias hidrográficas do Rio Tietê, Rio Paranapanema e Rio Grande apresentaram uma composição específica semelhante de Cyclopoida, isto sugere que as condições ecológicas (incluindo fatores históricos de ocupação e uso) destes sistemas aquáticos sejam semelhantes. Krebs (1994) relata que é comum em uma mesma região geográfica que dispõe de condições ecológicas semelhantes possuir as mesmas

comunidades e ser dominada pelas mesmas espécies. Os resultados obtidos, em relação ao *Thermocyclops decipiens* e *Mesocyclops ogunnus* que dominaram em ambientes mais eutrofizados e a espécie *Thermocyclops minutus* em ambientes menos eutrofizados, atendem a teoria de Krebs.

Constituiu uma barreira para a distribuição das espécies *Thermocyclops n. sp* e *T. decipiens* a Bacia Litorânea que é separada da Bacia do Paraná pela serra do mar. Esta barreira promoveu o isolamento das espécies e provavelmente deve ter impedido a entrada da espécie *Mesocyclops ogunnus* nas represas da Unidade Ribeira do Iguape, unidade preservada. Nas represas da Unidade Paraíba do Sul pertencente a Bacia do Litoral onde não há isolamento pode ser verificado a presença de *Mesocyclops ogunnus*.

Nesta unidade (Ribeira do Iguape) foi observada as diferentes associações entre as espécies de *Thermocyclops* quanto a dominância em relação ao grau de trofia dos reservatórios. Houve duas associações bem nítidas, uma formada por *Thermocyclops igauensis* e *Thermocyclops decipiens* nos reservatórios em cascata do Rio Juquiá-Guaçú e outra associação formada pelas espécies *Thermocyclops inversus* e *Thermocyclops decipiens* nas represas fora do Rio Juquiá-Guaçú. Na associação presente nas represas do Rio Juquiá-Guaçú, o domínio dos ambientes menos eutrofizados foi da espécie *Thermocyclops n. sp* sobre a espécie congênica *T. decipiens* e vice-versa nos ambientes mais eutrofizados. Na associação de espécies fora do Rio Juquiá-Guaçú onde os sistemas eram altamente eutrofizados a espécie *Thermocyclops inversus* teve abundância muito maior que a espécie congênica *T. decipiens*.

Segundo Reid (1989) e Rocha et al. (1995) a coexistência de espécies de *Thermocyclops* é comum em ambientes onde o sistema esta mudando de estado trófico, passando de mesotrófico para eutrófico. Segundo estes mesmos autores a associação mais comum é entre as espécies *Thermocyclops decipiens* e *T. minutus* e que a coexistência destas duas espécies é possível quando o sistema esta em transição de estado trófico, passando de mesotrófico para eutrófico. A dominância de uma espécie sobre a outra depende da trofia do sistema onde *Thermocyclops decipiens* domina em sistemas mais eutrofizados e *Thermocyclops minutus* domina em ambientes menos eutrofizados. Esta relação foi confirmada por Silva & Matsumura-Tundisi (2002) ao estudarem as represas do Médio Tietê, onde nas represas mais eutrofizadas tais como Barra Bonita, Bariri e Ibitinga o domínio foi de *T. decipiens* enquanto nas represas menos eutrofizadas, tais como Três Irmãos e Nova Avanhandava, foram dominadas por *T. minutus*. No presente trabalho esta relação também foi observada.

As associações entre as espécies de *Thermocyclops* na Unidade Ribeira do Iguape mostrou que a espécie *Thermocyclops n. sp* é mais adaptada a ambientes menos eutrofizados, tendo um papel similar a espécie *T. minutus* nas outras Bacias hidrográficas. A espécie *Thermocyclops inversus* mostrou explorar com mais eficiência ambientes mais eutrofizados que a espécie congênica *T. decipiens*, que em outras Bacias hidrográficas domina estes ambientes.

A única barreira observada para a distribuição das espécies foi a divisão entre as bacias do Paraná e a bacia Litorânea. Esta barreira possibilitou um isolamento da espécie *Thermocyclops n. sp* da congênere *T. minutus*. Este isolamento também pode ter impedido a espécie *Mesocyclops ogunnus* de ocupar as represas do Ribeira do Iguape. O menor isolamento e maior ação antrópica da unidade Paraíba do Sul pertencente a bacia do litoral pode ser verificado com a presença da espécie *M. ogunnus* em represas da unidade.

A ação antrópica e conseqüente modificação de habitats refletem na extinção de espécies (Krebs, 1994). A construção de barragens pode ter influenciado positivamente no aumento de condições para o estabelecimento de nichos para as espécies de cyclopoida planctônicos no estado de São Paulo, pois o estado não possui lagos naturais permanentes. Entretanto, a grande troca de informações entre os sistemas e a uniformidade das atividades antrópicas tais como, a monocultura e agropecuária podem ter homogeneizado a composição específica da comunidade de Cyclopoida. Este tipo de homogeneização com a intensa troca de informações entre os sistemas podem refletir na extinção de determinadas espécies. O isolamento da unidade Ribeira do Iguape pode ter preservado as associações entre as espécies de Cyclopoida perdidas nas outras unidades.

#### *Citogenética e Biologia Molecular*

Apesar dos resultados dos estudos em citogenética serem preliminares, as técnicas para visualização dos cromossomos nos ovos de Copepoda Cyclopoida foi introduzida com sucesso para o estudo do grupo. Foi possível fazer a contagem dos cromossomos, registrando para a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus* o número de  $2n=14$ . Chinnappa & Vitor (1979) realizaram estudos citogenéticos para espécies de Cyclopoida do lago Ontário (Canadá) e ao compararem seus resultados com as espécies européias, verificaram que as espécies *Acanthocyclops vernalis* e *Mesocyclops leuckarti* da América do norte tinham menos cromossomos que estas mesmas espécies da Europa.

Estes resultados mostraram que a taxonomia pode ser auxiliada pela citogenética corroborando ou não com o status de espécie nova ou apenas variação morfológica.

Segundo Wyngaard & Chinnappa (1982), apenas os caracteres morfológicos podem ser enganosos para delinear uma espécie ou distingui-las. Pois, têm sido encontradas espécies morfológicamente “idênticas” mas que possuem complementos cromossômicos divergentes e que o contrário também pode ocorrer. Assim como todas as ciências, a taxonomia está passando de determinística para estocástica, onde uma espécie é dada por um maior número de diferentes características, desde ecológicas, fisiológicas, citogenéticas e genéticas (Margulis & Sagan, 2001).

Além do número de cromossomos, a citogenética permite observar também o fenômeno conhecido como perda de cromatina, que ocorre em algumas espécies de Cyclopoida. Este fenômeno consiste na eliminação de parte da heterocromatina de parte ou de todos os cromossomos (Doward & Wyngaard, 1997). As conseqüências evolutivas ou vantagens ecológicas para este fenômeno ainda não são totalmente explicadas, mas influenciam no tempo de maturação do ovo e tem conseqüências no tamanho corporal dos organismos (Wyngaard & Gregory, 2001). Apesar do total conhecimento do funcionamento ou da função deste fenômeno em algumas espécies de Cyclopoida não ser conhecido, foi observado que as espécies que possuem esta perda o fazem com um determinado padrão. Beermann (1977) foi o primeiro a estudar sistematicamente os padrões para o fenômeno em Copepoda Cyclopoida, foram observados três diferentes padrões para três diferentes espécies européias, *Cyclops divulsus*, *C. furcifer* e *C. strennus*, onde diferiam no tempo e na posição da perda além da quantidade de cromatina perdida.

Estes padrões têm sido utilizados para auxiliar na sistemática de Copepoda Cyclopoida. Grishanin & Akif'ev (2000) após estudarem a citogenética e os padrões de perda de cromatina entre espécies de *Cyclops strennus* de duas populações diferentes, uma da Rússia e outra da Alemanha, concluíram que apesar de serem semelhantes morfológicamente deveriam ser consideradas espécies diferentes, pois, possuíam tempos de eliminação diferentes e eliminavam quantidades diferentes de cromatina. Além de possuírem números de cromossomos diferentes, fato que complicaria um intercruzamento entre as espécies.

Doward & Wyngaard, (1997) verificaram os padrões de perda de cromatina para diversas espécies incluindo uma espécie de *Mesocyclops longisetus* cultivada em Louisiana, EUA. Foi verificado que esta espécie tinha  $2n=14$  cromossomos e a perda se

dava entre a 4<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> clivagem do ovo. Característica similar foi observada para a espécie de *Mesocyclops longistus longisetus* (Brasil), indicando que estas espécies poderiam ser a mesma. Entretanto, maiores informações sobre a espécie registrada em São Paulo precisariam ser coletadas tais como a forma dos cromossomos. Contudo a técnica introduzida já ofereceu os primeiros resultados permitindo uma nova abordagem para a taxonomia tradicional.

Quanto à *biologia molecular*, estudos filogenéticos baseados na seqüência de do gene do ITS2 tem sido realizada com sucesso para alguns grupos de Arthropoda, como Acari (Cruickshank, 2002; McLain et. al, 1995), Hymenoptera (Alvarez & Hoy, 2002) e Isopoda (Grutter et al, 2000) possibilitando fazer a distinção entre espécies e grupos isolados.

As seqüências obtidas para os Cyclopoida que tiveram o DNA extraído e o ITS2 seqüenciado mostraram que a técnica pode ser aplicada a este grupo. Entretanto ainda faltam estudos para colocar parâmetros e limites à técnica. Muir & Schlotterer (1999) pontuaram os limites do uso das seqüências de ITS2 para certas populações de árvores e observou que este gene para a população estudada era poligênico, isto é, o mesmo gene com seqüências diferentes o que impossibilitaria o uso para espécies próximas. Para o grupo do Cyclopoida nestes primeiros estudos não foi possível registrar todas as diferenças das seqüências, foi observado que para *Mesocyclops ogunnus* houve uma diferença de 4% entre as espécies que tiveram as seqüências obtidas nos EUA e as seqüências obtidas no Brasil. Entretanto, estas diferenças podem não ser significativas, segundo Arnheim et al. (1980) divergências entre as seqüências de DNA ribossômico podem ocorrer em um mesmo indivíduo, porém, com pequenas e limitadas variações. Para a espécie *Thermocyclops decipiens* o alinhamento entre os espécimes que tiveram as seqüências feitas nos EUA e no Brazil tiveram um acerto de 100%, isto indica que a técnica de extração e amplificação foi bem sucedida.

Os resultados obtidos para os alinhamentos entre espécies de gêneros diferentes e de mesmo gênero tiveram valores semelhantes entre 42 a 47%, indicando que talvez a o uso destas seqüências de DNA ribossômico para filogenia entre estes grupos pode ser limitada. Entretanto, alguns autores discordaram de Kiefer (1927) por achar a separação entre os gêneros *Mesocyclops* e *Thermocyclops* extremamente artificial e que estes dois gêneros seriam um só, neste primeiro estudo quanto a seqüência do ITS2 aponta para esta mesma direção de ser um único gênero. A diferenciação entre as espécies e a

manutenção das seqüências entre as mesmas indicam que esta é uma ferramenta útil em taxonomia.

O alinhamento realizado entre as espécies *Mesocyclops longisetus longisetus* (Brasil) e *Mesocyclops longisetus* (EUA) mostrou uma grande proximidade entre as espécies. Sendo que a diferença de 10% foi maior que a de 4% para *Mesocyclops ogunnus* mas bem menor que as diferenças entre as espécies do mesmo gênero, acima de 40%. O valor intermediário pode indicar uma especiação tardia, entretanto estudos mais detalhados deverão ser realizados para verificar se este erro é informativo ou não. Alvarez & Hoy (2002) afirmam que padrões filogenéticos podem ocorrer e ser muito informativos, mesmo que as variações intra-individuais sejam relativamente grandes em comparação as diferenças interespecíficas.

Uma tentativa de buscar os padrões presentes foi a utilização inédita dos modelos estatísticos Markovianos aplicada à genética. A essência deste modelo é procurar por padrões ocultos, logo seria uma ferramenta que atenderia a questão. Os resultados mostraram que os padrões foram específicos para cada espécie estudada, logo sendo uma ferramenta útil a taxonomia. Algumas questões ficaram em aberto, tais como: será que pequenas modificações alteram o padrão? O padrão é próprio para toda a seqüência ou apenas para a parte estudada? Seria possível estabelecer a filogenia com base na modelagem? Estas questões devem ser respondidas com um maior número de análises a serem realizadas com outras espécies e com uma maior variação nas seqüências.

Concluindo, as técnicas de citogenética e biologia molecular vêm a oferecer uma nova e poderosa ferramenta a taxonomia de Copepoda Cyclopoida. Abre-se aqui um novo leque para estudos evolutivos e ecológicos para microcrustáceos de água doce no estado de São Paulo.



## 6 – Conclusões

- 1- O projeto do programa BIOTA/FAPESP contribui com o registro de mais 6 espécies de Cyclopoida não registradas anteriormente, incluindo uma espécie nova (*Thermocyclops* n. sp.) e o registro de um novo gênero (*Acanthocyclops*) totalizando 10 gêneros e 26 espécies para os ambientes lóticos e lênticos do Estado de São Paulo.
- 2- A espécie registrada anteriormente na Unidade Ribeira do Iguape e Paraíba do Sul como *Thermocyclops minutus* (Sendacz & Kubo, 1982) é a espécie nova *Thermocyclops* n. sp..
- 3- As espécies *Mesocyclops ogunnus* e *Mesocyclops meridianus* são respectivamente as espécies *Mesocyclops kieferi* e *M. brasilianus* identificadas anteriormente por outros autores para o Estado de São Paulo.
- 4- Do gênero *Paracyclops* a espécie *P. chiltoni* encontrada no Estado de São Paulo é a mesma encontrada na represa do Broa indentificada como *Paracyclops fimbriatus*.
- 5- A espécie *Mesocyclops longisetus* encontrada no Estado de São Paulo pertence a sub-espécie *Mesocyclops longisetus longisetus*.
- 6- Constituíram novos registros para o estado de São Paulo as espécies: *Acanthocyclops robustus*, *Eucyclops elegans*, *Eucyclops* cf. *prinophorus*, *Microcyclops alius* e *Mesocyclops aspericornis*.
- 7- As espécies mais amplamente distribuídas nas 22 UHGRH foram: *Thermocyclops decipiens* encontrada em 21 unidades, *Mesocyclops longisetus longisetus* presente em 16 unidades e *Thermocyclops minutus*, *M. meridianus* e *M. ogunnus* encontradas em 15 unidades e *Microcyclops anceps* e *Tropocyclops prasinus meridionalis* encontradas em 14 unidades.
- 8- As represas mais eutrofizadas apresentaram uma maior riqueza e maior equitabilidade de distribuição das espécies de Cyclopoida que as represas menos eutrofizadas.
- 9- *Acanthocyclops robustus*, *Thermocyclops decipiens*, *Mesocyclops ogunnus* *Thermocyclops inversus* foram as mais abundantes em sistemas eutrofizados. Enquanto que as espécies *Thermocyclops minutus* e *Thermocyclops* n. sp. apresentaram maior abundância em sistemas oligotróficos e mesotróficos.

- 10- A espécie *Thermocyclops n. sp* é uma espécie restrita às Unidades Ribeira do Iguape e Paraíba do Sul (Bacia do Litoral).
- 11- *Mesocyclops ogunnus* foi abundante e freqüente nos reservatórios sujeitos a maior atividade antrópica estando ausente da Unidade Ribeira do Iguape onde o sistema é mais preservado.
- 12- Análises seqüenciais do DNA do ITS 2 que foram feitas nas espécies: *Thermocyclops decipiens*, *Thermocyclops minutus*, *Mesocyclops ogunnus* e *Mesocyclops longisetus longisetus* mostrou grande variação entre as espécies diferentes e baixa ou nenhuma variação para as mesmas espécies.
- 13- Os modelos Markovianos mostraram padrões diferentes para espécies diferentes apresentando boa capacidade de discriminação.
- 14- A análise citogenética feita para a espécie *Mesocyclops longisetus longisetus* mostrou que a espécie possui  $2n=14$  cromossomos e apresenta perda de cromatina a partir da 4ª clivagem do ovo.
- 15- A espécie *Mesocyclops longisetus longisetus* registrada no Estado São Paulo é extremamente similar a espécie *M. longisetus* registrada nos EUA tanto em aspectos citogenéticos como na seqüência do DNA do ITS2, mostrando que podem ser apenas uma variação e não uma sub-especiação.

## 7.0. Referencias Bibliográficas

- Alvarez, J. M. & Hoy, M. A. (2002), Evaluation of the ribosomal ITS2 DNA sequences in separating closely related populations of the parasitoid *Ageniapis* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95: 250-256
- American Public Health Association (APHA) (1985) Standard Methods for the examination of water and waste water. 16<sup>th</sup> ed. Washington, USA.
- Arnheim, N., Kristal, M. Schmickel, R., Wilson, G. Ryder, O., Zimer, E. (1980) Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes non-homologous chromosomes in man and apes. *Proceeding of the national Academy sciences of the USA.* 77 (12): 7323-7327.
- Arcifa, M. S.(1984). Zooplankton composition of ten reservoirs in southern Brazil. *Hydrobiologia* 113, 137-145.
- Barnes, R. D. (1984) *Zoologia dos invertebrados*. Ed. Roca, São Paulo. 4<sup>a</sup> edição. 1179p.
- Beerman, S. (1959). Chromatin-Diminution bei Copepoden. *Chromosoma.* 10. 504-514.
- Beerman, S.(1966). A quantitative study of chromatin diminution in embryonic mitosis of *Cyclops furcifer*. *Genetics* 54, 567-576.
- Beerman, S. (1977). The Diminution of Heterochromatic Chromosomal Segments in *Cyclops* (Crustacea, Copepoda). *Chromosoma* 60, 297-344.
- Blaxter, M. (2001). Sum of the arthropod parts. *Nature.* Vol. 413, 121-122.
- Braun, H. (1909) Die spezifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung *Cyclops*. *Arch. Zellforsch.* 3: 449-482.
- Carlson, R. E. (1977) A trophic State Index for Lakes. *Limnology and Oceanography*, 22 (2); 361-369.
- Carvalho, M. A. (1982)
- Chambers, R. (1912). Egg maturation, Chromosomes, and spermatogenesis in *Cyclops*. Univ. Toronto Studies, *Biol. Ser.* No. 14: 5-37.
- Chinnapa C.C.& Victor, R. (1979). Cytotaxonomic studies on some cyclopoid copepods (Copepoda, Crustacea) from Ontario, Canada. *Can. J. Zool.* 57: 1597-1604.
- Claus, C. (1893) Neue Beobachtungen über die Organisation und Entwicklung von *Cyclops* Ein Beitrag zur Systematik der Cyclopiden. *Arb. Inst. Wien,* 10: 238-356.
- Cruickshank, R. H. (2002). Molecular Markers for Phylogenetic of mites and ticks. *Systematic & applied acarology* 7, 3-14.

- Dodson, S. (1984) Morphological Analysis of Wisconsin (USA) species of the *Acanthocyclops vernalis* group (Copepoda : Cyclopoida). *Journal of Crustaceans Biology*. 14 (1): 113-131.
- Dorward H. M. & Wyngaard, G. A. (1997) Variability and pattern of chromatin diminution in the freshwater Cyclopidae (Crustacea:Copepoda). *Arch. Hydrobiol./ Suppl.* 107 (4) 447-465.
- Douwe, C (1912). Zur Kenntnis der süßwassercopepoden von Brasilien. *Arch. Hydrobiol*, 7:309-321.
- Dover, G. (1982) Molecular drive: a cohesive mode of speciation. *Nature* Sep 9;299(5879):111-117.
- Dussart B.H. & Defaye,D. (1985). *Reportoire Mondial des Copépodes Cyclopoïdes*. Editions du C.N.R.S. Paris, 236 pp.
- Dussart, B.H. & Fernando, C.H. (1984) The *Mesocyclops* species problem today. *Syllogeus* 58: 288-293.
- Dussart, B.H. (1984). Some Crustacea Copepoda from Venezuela. *Hydrobiologia* 113:25-67.
- Dussart, B.H. (1987). Sur quelques *Mesocyclops* (Crustacea, Copepoda) d'Amérique du Sud. *Amazoniana* 10(2): 149-161.
- Giribet, G., Edgecombe, D. & Wheeler, W.C. (2001). Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. *Nature*. 413, 157-161.
- Grishanin, A. K. & Akif'ev, A. P. (1999) Interpopulation differentiation within *C. kolensis* and *C. strennus* (Crustacea: Copepoda): evidence from cytogenetic methods. *Hydrobiologia*. 417: 37-42.
- Grutter, A. S., Morgan, J. A. T. & Adlard, R. D. (2000), Characterising parasitic gnathiid isopod species and matching life stages with ribosomal DNA ITS2 sequences. *Marine Biology*, 136: 201-205.
- Gutierrez-Aguirre, M. & Suarez-Morales, E. (2001) Distributions and Taxonomy of the tropical American *Mesocyclops* G.O. Sar, 1914. *Crustaceana*, 74: 477-487.
- Hoelzel, A. R. & Dover, G. A. (1991) *Molecular genetic ecology*. (In focus). Oxford University press. New York.
- Huys, R. & Boxshall G. A. (1991) Copepod evolution. *The Ray Society* London 468 pp.
- Holinska, M. (2000). Is the spinules pattern on leg 4 coxopodite a tactile signal in the specific mate recognition system of *Mesocyclops* (Copepoda, Cyclopoidae). *Hydrobiologia*.
- Hudson, P. L.; Reid, J.; Lesko, L. T. & Selgeby, J. H. (1998). Cyclopoid and Harpacticoid Copepods of the Laurentian Great Lakes. *Ohio Biological Survey Bulletin* NS 12 (2) 50pp.

- Karaytug, S (1999). Copepoda: Cyclopoida. Genera *Paracyclops* and key to the Eucyclopinae. *Guides to the identification of the Microinvertebrates of the continental Waters of the World*. Dumont, J.H. (ed.).
- Karaytug, S. & Boxshall, G.A. (1998) The *Paracyclops fimbriatus*-Complex (Copepoda, Cyclopoida): a revision. *Zoosystema*.
- Kiefer, F. (1936) Brasilianische Ruderfusskrebse (Crustacea Copepoda) gesammelt von Herrn Dr. Otto Schubart. *Zool. Anz.*, 116, 1/2, : 31-35.
- Kiefer, F. (1956) Freilebende Ruderfusskrebse (Crustacea Copepoda). I . Calanoida und Cyclopoida. *Ergebn. Deutsch. Limnol. Venezuela-Exped.* 1, 232-268.
- Kiefer, F (1927). Versuch eines System der Cyclopiden. *Zool. Anz.*, 72, 9/10: 400-420
- Kiefer, F. ( 1929). Crustacea Copepoda. Gnathosoma . *Tierreich.* 53 1-102.
- Kiefer, F. ( 1933 ). Susswassercopepoden aus Brasilien. *Zoologischer Anzeiger* 105: 38-43.
- Kiefer, F. (1925) Eine neuer Süsswasser-copepod aus Sud-Amerika. *Zool. Anz.* 63.
- Kiefer, F. (1931) Die Untergattung *Tropocyclops* der Gattung *Eucyclops* (Copepoda, Cyclopoida). *Z. Wiss. Zool.* , 138,3: 487-514.
- Kiefer, F. (1976) . Revision der *Robustus vernalis*- Grupe der gattung *Acanthocyclops* Kiefer (Crustacea, Copepoda) (Mit eingehender Beurteilung des "*Cyclops americanus*" Marsh 1975). *Bietr. Naturk. Forsch. Sudwestdeutsch.* 35, 95-110.
- Kiefer, F. (1981). Beitrag zur Kenntnis von morphologie, Taxonomie und geographischer verbreitung von *Mesocyclops leukarti* autorum. *Arch. Hydrobiolo.*, Suppl. 62, 1: 148-190.
- Krebs, C. J. (1994). *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*. 4<sup>th</sup> ed. Harper-Collins editors. 801 pp.
- Linnaeus, C. (1758). *Systema Nature per regne tria nature, secundum classes, ordines, genera, especies cum characteribus, differenties, synonymis, locis*. 10a. ed. (reformada). Tomo I. Holmiae.vol.I. Estocolmo. Laurentii Salvii. 8+5-824 pp.
- Lowndes, A. G. (1934). Reports of an Expeditions to Brazil and Paraguay in 1926-7 supported by the Trustees of the Percy Sladen Memorial Fund and the executive Committee of the Carnegie Trust of Scotland . *Journal of the Linnean Society of London Zoology.* 39: 83-131.
- Makino, S. (1951) *Chromosomes number in Animals*. Ames: Iowa State Colege Press, 290 pp.
- Margalef, R. (1983) *Limnologia* . Barcelona. Ediciones Omega S.A. 1010 pp.
- Margalef, R (1994) Diversity and Biodiversity – Their possible meaning in relation with the wish for sustainable development. *An. Acad. bras. Ci.* 66 (supl.1).

- Margulis L. & Sagan D. (2002) *O que é vida*. Rio de Janeiro, 2002, Jorge Zahar Editor. 316 pp.
- Matsumura-Tundisi (1997). Composition and vertical distribution of zooplankton in Lake Don Helvécio. In. *Limnological studies on the Rio Doce Valley Lakes*. Tundisi, J.G. & Saijo, Y.(eds.).265-274.
- Matsumura-Tundisi, T. & Rocha, O. (1983) Occurrence of Copepod (Calanoid, Cyclopoid and Harpacticoid) from “Broa” Reservoir. *Revista Brasileira de Biologia*. Vol. 43 (1). 1-18.
- Matsumura-Tundisi, T. & Silva, W. M. (1999). Crustáceos Copépodos planctônicos. In. Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil. Joly, C.A. & Bicudo, C.E.M. (org.) 4. Invertebrados de Água Doce. Ed. Ismael, D., Valenti, W., Matsumura-Tundisi, T. Rocha, O.
- Matsumura-Tundisi, T. & Silva, W. M. (2002). Ocorrência de *Mesocyclops ogunnus* Onabamiro, 1957 (Copepoda Cyclopoida) in water bodies of Sao Paulo State, identified as *Mesocyclops kieferi* Van de Velde, 1984. *Braz. J. Biol.*, 62(4A): 615-620.
- Matsumura-Tundisi, T & Rocha, O. (1983) Occurrence of Copepods (Calanoida, Cyclopoida and Harpacticoida) from Broa Reservoir (Sao Carlos, Sao Paulo, Brazil). *Rev. Bras. Biol.*, 13 (1) 1-17.
- Matsumura-Tundisi, T., Rietzler, A. C. , Espíndola, E.L.G. (1990). Predation on *Ceriodaphnia cornuta* and *Brachionus calyciflorus* by two *Mesocyclops* species coexisting in Barra Bonita Reservoir. *Hydrobiologia*, 198:141-151.
- Matsumura-Tundisi, T., Tundisi, J.G., Oliveira-Neto, A. , Espíndola, E.L.G. (1991). Limnology of Samuel Reservoir (, Brazil, Rondônia) in filling phase. *Verh. Internat. Verein. Thero. Ang. Limnol.* 24: 1482-1488.
- Matsumura-Tundisi, T., Hino, K. & Claro, S. M. (1981) Limnological studies at 23 reservoir in Southern Brasil. *Verh. Inter. Ver. Limnol.* 21: 1040-1047.
- Matsumura-Tundisi, T & Tundisi, J. G. (2002). Zooplankton diversity in eutrophic systems and its relations with occurrence Cyanophyta blooms. *Ver. Int. ver. Limnol.* 28 671-674.
- McLain, D. K., Wesson D. M., Collins, F.H. & Oliver Jr, J. H. (1995) Evolution of the rDNA spacer, ITS2, in the ticks *Ixodes scapularis* and *I. Pacificus* (Acari: Ixodidae). *Heredity* 75: 303-319.
- Muir, G. & Scholotterer, C. (1999) Limitations to the phylogenetic use of ITS2 sequences in closely related species and populations-a case study in *Quercus petraea* (matt.) Liebl. In: *Which DNA marker for which purpose*. Gillet, E. M. (ed.). URL: <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.html>

- Muller, O.F. (1785) Entomostraca seu insecta testacez, quae in Aquis Danaia et Norvagiae indigenarum characteres, Normia et Synonymia imoprimis popularium. *Havnie*, 8.
- Neubar, R. (1913). Eber Bezeihungen zwischen *Cyclops fuscus* (Jurine), *Cyclops albidus* (Jurine) und das angenommenem Batard *Cyclops distinctus* Richard. *Zool. Jahrb. , Syst.*, 34:117-186
- Nogueira. M. G. Zooplankton composition, dominance and abundance as a indicator of environmental compartmentalization in Jurumirim Reservoir (Paranapanema River) São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia*, 455 (1):1-18.
- Nush, E. A. (1980) Comparison of different methods for chloropyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, v 14, p. 14-36.
- Okano, Y. M. (1994) Análise da estrutura e dinâmica populacional da comunidade zooplanctônica de um reservatório artificial (represa do Monjolinho São Carlos, SP) São Carlos, 128 pp. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos.
- Padisak, J. & Dokulil, M. (1994). Meroplankton dynamics in a saline, turbulent, turbid shallow lake ( Neusiedlersee, Australia and Hungary). *Hydrobiologia*: 289, 23-42.
- Perry, J.J. & Staley, T.J. (1997) *Microbiology: Dynamics and Diversity*. Saunders College Publishing. Harcourt Brace College Publishers.
- Rasch, E.M. & Wyngaard, G. (2001). Evidence of endoreplication: Germ cell DNA levels prior to Chromatin Diminution in *Mesocyclops edax*. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1-4.
- Regier, C.J. & Shultz, J.W. (2001). Elogation Factor-2: A useful gene for Arthropod phylogenetics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Vol. 20 N. 1 136-148.
- Rehberg, H.(1880). Beitrag zur Kenntnis der freilebiden SüßwasserCopepoden. *Abh. Natur. Ver. Bermen*. 6: 533-554.
- Reid (1989) The distribution of species of the genus *Thermocyclops* (Copepoda Cyclopoida) in the Western hemisphere, with description of *T. parvus*, new species. *Hydrobyologia*, 175: 149-174.
- Reid, J. & Pinto-Coelho, R. (1993 ) Na afro continental Copepod, *Mesocyclops ogunnus* found in Brazil; with a new key to the species of *Mesocyclops* in South America and a review of intercontinental introductions of copepods. *Limnologia* 24 (4) 359-368.
- Reid, J. & Pinto-Coelho, R. (1994). Planktonic Copepoda of Furnas reservoir: Initial survey of species (1993) and review of literature. In; Pinto-Coelho, R, M. , Giane, A., & Sperling E Von. (eds). *Ecology and Human Imapct an Lakes and Reservoir in Minas Gerais with*

*Special reference to Future Development and Management Strategies. SEGRAC, Belo Horizonte (MG). 93-114.*

- Reid, J.(1985). Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustácea Copepoda). *Boletim de Zoologia*, São Paulo 9: 17-143.
- Reid, J. (1988). *Thermocyclops decipiens* (Copepoda Cyclopoida): Exemplo de confusão taxonômica. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 2:249-499.
- Reid, J. (1991). Some species of *Tropocyclops* (Crustacea, Copepoda) from Brazil with a key to the American species. *Bijdragen tot de Dierkunde* 61 (1):3-15.
- Reid, J., Pinto-Coelho, R. , Giane, A. (1988), Uma apreciação da fauna de copépodes (Crustácea) da Região de Belo Horizonte, com comentários sobre espécies de Minas Gerais. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 2: 247-257.
- Richard, J. (1897). Entomostraces de l'Amérique du Sud, recullis par MM. Deiters, H. Von *An. Mus. Nac. Buenos Aires*, 97, 5: 321-331.
- Rietzler A.C., Matsumura-Tundisi, T., Espíndola, E.L.G.. (1996). Dinâmica das populações de *Thermocyclops decipiens* e *Mesocyclops kieferi* no reservatório de Barra Bonita em diferentes escalas de tempo. IN. *VIII Seminário Regional de Ecologia, Abstracts*, São Carlos, 238.
- Robertson, B.A. & Hardy, E.R. (1984). Zooplankton of Amazonian Lakes and Rivers:337-352. IN. Sioli, H. (ed). *The Amazon, Limnology and Landscape. Ecology of a mighty Tropical rivers and its Basin*. Dr. W. Junk Publishers. The Hague.
- Rocha, C.E.F & Botelho, M.J.C (1998) Maxillopoda-Copepoda. Cyclopoida. In. YOUNG, P.S. (ed). *Catalogue of Crustacea of Brazil*. Rio de Janeiro: Museu Nacional. 129-166 (Série Livros N.6).
- Rocha, O .; Sendacz, S. ; Matsumura-Tundisi, T. (1995). Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil. *Limnology in Brazil*, Rio de Janeiro, ABC/SBL, p. 151-166.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463-5467
- Sars (1901) Contributions to the knowledge of the freshwater Entomostraca of South America, 2: Copepoda, Ostracoda. *Archiv. Math. Naturvidensk*, 24 (1): 1-52.
- Sendacz, S. & Kubo, E. (1982). Copepoda (Calanoida e Cyclopoida) de reservatórios do Estado de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca* 9 (único) 51-189.



- Sendacz, S. (1993) Distribuição geográfica de alguns organismos zooplanctônicos na América do Sul. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 6: 31-41.
- Silva & Matsumura-Tundisi (2002). Distribution and abundance of Cyclopoida populations in a cascade of reservoir of the Tietê River (São Paulo State, Brazil). *Ver. Int. ver. Limnol.* 28: 667-670.
- Silva E.N. dos S. , Robertson, B. A., Reid, J., Hardy, E.R. (1989). Atlas de Copépodes planctônicos, Calanoida e Cyclopoida (Crustácea) da Amazônia Brasileira. I. Represa de Curua-Una, Pará. *Revista Brasileira de zoologia*. 6(4): 725-758.
- Straskraba, M.; Tundisi, J.G. & Duncan, A. (1993) State of Art of the reservoir limnology and water quality management. *Comparative reservoir limnology and water quality management*. Milan Straskraba & J.G. Tundisi (eds). 213-288.
- Suarez-Morales, E., reid, J., Iliffe, T.M. & Fiers, F. (1996). *Catalogo de los Copepodos (Crustacea) continentales de la península de Yucatán*. México. ECOSUR/CONABIO. México, 296 pp.
- Tundisi, J.G. & Matsumura-Tundisi, T. (1994). Plankton diversity in a warm monomictic lake (Dom Helvécio, Minas Gerais) and a polymictic Reservoir (Barra Bonita): A comparative analysis of the Intermediate Disturbance Hypothesis. *An. Acad. Bras. Ci.* N. 66, (supl. 1), p. 15 -28.
- Tundisi, J.G. (2003). *Água no século XXI: Enfrentando a escassez*. São Carlos, SP: RiMa, IIE. 248p.
- Van de Velde, I. (1984). Revision of the African species of the genus *Mesocyclops* Sars, 1914 (Copepoda:Cyclopidae). *Hydrobiologia*. 109: 3-66.
- Wetzel, R. G. (2001). *Limnology : Lake and River Ecosystems*. Academic Press. 1006 pp.
- Wyngaard G.A., MacLaren, I. A. , White, M.M., Sevigny, J.M. (1995). Unusually high number of ribosomal RNA genes in copepods (Arthropoda: Crustacea) and their relationship to genome size. *Genome*, 38: 97-104.
- Wyngaard, G. A. & Chinnapa, C.C. (1982) General biology and Cytology of cyclopoids. In developmental biology of freshwater invertebrates. *Edited by R.W. Harrison and R.C. Cowden*. Alan R. Liss, New York. Pp. 485-533.
- Wyngaard, G. A. & Gregory, R. (2001) Temporal Control of DNA Replication the adaptive value of chromatin diminution in Copepods. *Journal of experimental zoology (MOL DEV EVOL)* 291: 291-310
- Wyngaard, G. A. & Rasch, E. (2000) Patterns of Genome Size in the Copepoda. *Hydrobiologia*. 417: 43-56.

## Anexos

## **Protocolo 1.**

### **Citogenética**

Protocolo realizado por Grashinin & Wyngaard (não publicado), com modificações na preparação dos ovos propostos por William M. Silva. As Modificações se referem aos passos anteriores a fixação com a solução 3:1:

Material utilizado:

- 1- Álcool etílico absoluto com baixas percentagem de metanol (Merck)
- 2- Ácido acético
- 3- Ácido láctico
- 4- Orceína
- 5- Colchicina 0,025%
- 6- Água destilada

Soluções utilizadas:

- 1- Álcool: ácido acético (3:1)
- 2- Etanol 70%
- 3- Etanol 45%
- 4- Ácido láctico: ácido acético.

Preparação da solução de orceína:

1. Dissolver 1mg de orceina em pó em uma mistura de 50ml de ácido acético e 50ml de ácido láctico (extra puro, deve ser estocado em geladeira).
2. Filtrar em papel filtro, deixar descansar por 24 horas.
3. Filtrar novamente ao usar.

#### Preparação dos ovos:

1. Retirar os ovos até a 5<sup>a</sup> clivagem (com 64 células), recomendável.
2. Colocar em solução de água destilada com colchicina na proporção 5:1 por 30 min.
3. Retirar os ovos da solução de colchicina e lavar os ovos em solução 3:1 (Álcool: Ac. Acético) por duas vezes e deixar na solução por 15 minutos (Esta solução deve ser sempre fresca, isto é, preparada na hora).
4. Após o tempo substitua a solução por uma nova, leve à geladeira por 1 hora, depois substitua a solução por álcool etílico 70% e deixe no congelador até sua utilização, caso for utilizar imediatamente não há necessidade de preservar em álcool.
5. Ao utilizar os ovos preservados em álcool 70%, deve-se substituir o álcool por solução 3:1 e deixar por 15 minutos.

#### Coloração:

1. Após deixar os ovos por 15 minutos em solução 3:1, retirar a solução e colocar a orceína através de filtro de papel, colocar o suficiente para cobrir os ovos, deixar por 1 hora.
2. Após o tempo, dissolver a solução colocando ácido acético 45%, retirar o excesso de corante, retira-se os ovos e deposita-se em lamina para microscópio.
3. colocar a lamínula suavemente sobre os ovos e aplicar uma leve pressão.

Levar ao microscópio.

## Protocolo 2.

### Extração de DNA em microcrustáceos

Extração de DNA para Copepodos (metodologia de Gerken, S & Wyngaard, G. não publicado )

Para extração utiliza-se o Kit PROMEGA SV RNA Isolation.

- 1- Etiquetar 3 microtubos de 1,5 ml por espécie.
- 2- Fazer 175 $\mu$ L de Lysis Buffer +3.5 $\mu$ L de Beta-Mercapto-Etanol (BME) para cada espécie.
- 3- **Espécies conservadas em Álcool:** Remover o espécime do recipiente com álcool utilizando uma pinça, secar em papel absorvente por 1 minuto e colocar no tubo com Lysis Buffer + BME.  
**Espécies congeladas (-80 C):** Remover do freezer e transferir o espécime para o tubo com Lysis Buffer + BME.
- 4- Esmagar o espécime com um pistilo, mínimo 10 batidas.
- 5- Adicionar 350 $\mu$ L de Buufer para diluição, misturar invertendo o tubo varias vezes.
- 6- Incubar em Banho Maria por 3 min a 70 ° C (Maximo 3 min.)
- 7- Centrifugar a 14000 rpm por 10 min.
- 8- Transferir a solução para tubo novo.
- 9- Adicionar 200 $\mu$ L de Etanol 95%, misturar com a pipeta
- 10- Transferir mistura para tubos de spin, spin de 1 min.
- 11- Adicionar 600 $\mu$ L dr RNA wash solution, centrifugar por 1min, descartar a solução.
- 12- Adicionar 600 $\mu$ L dr RNA wash solution, centrifugar por 1min, descartar a solução.
- 13- Adicionar 250  $\mu$ L dr RNA wash solution, centrifugar por 2 min, descartar a solução.
- 14- Transferir do tubo de spin para tubo de 1.5 mL.
- 15- Adicionar 100 $\mu$ L de nuclease “free water” , dar spin de 1min, estocar em freezer – 80°. C.

### **Protocolo 3.**

#### **Amplificação e recuperação do DNA no gel.**

#### **Metodologia para PCR proposta por Wyngaard, G.**

- 1- Usar 10nM de dNTP, 10 pm de primer 2 e buffer, manipular os reagentes em capela.
- 2- Seguir a ordem para usar o master-mix (eppendorff) o volume total = 50 $\mu$ L:
  - a- Água (completar para 50 $\mu$ L)
  - b- Buffer-5 $\mu$ L
  - c- DNTP-1 $\mu$ L
  - d- Primer 1- 1 $\mu$ L
  - e- Primer 2-1 $\mu$ L
  - f- Enzima do Maser Mix-0.25 $\mu$ L
- 3- Centrifugar (spin)
- 4- Retirar a solução Máster Mix com pipeta, o volume a ser retirado dever ser o volume total subtraído do volume do DNA.
- 5- Adicionar 5 $\mu$ L do DNA, e misturar com a pipeta.
- 6- Levar ao termociclador.

#### **Ciclos para o termociclador**

- 1- 95°. C por 45 s
- 2- 95°. por 30 s
- 3- 50°. - 55°. C por 30s
- 4- 72°.C por 50s
- 5- Retornar ao passo 2, com ciclo de 40 vezes
- 6- 72°. C por 7 min
- 7- 4°. C ate o uso.

Depois de amplificado correr o DNA em agarose e recortar as bandas de tamanho aproximando de 500 bp. O produto recortado é limpo utilizando kit para recuperação de DNA em gel, utilizou-se o Clean-up da eppendorff.

Recuperado o DNA deve ser reamplificado utilizando DNA 1/30, este passo foi introduzido na técnica original para melhorar o produto recuperado do gel.

### **Seqüências dos Primers para ITS2:**

Primers desenhados por Sarah Gerken

5' > 3'

ITS 3:GCATCGATGAAGAACGCAGC (20 BP)

ITS10:TACGGGCCTATCACCTCTACG (22 BP)

Seqüências das bases dos genes do DNA de 5.8 S (incompleta) ITS2 (completa) e 28S (incompleta).

**Espécies que tiveram o DNA extraído e seqüenciado em James Madison University, VA, EUA.**

Espécie: *Mesocyclops ogunnus* 5' para 3'.

TCGATGAAGAACGCAGCAAACCTGCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGACATA  
 TGATCATCGACACTTTGAACGCACATTGCGGGCACTGACTTGTCCACTGCCC  
 ATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTTGCATCCCTCCTGAGAGGTTGATCTGCCTC  
 TTGGGCACTGGGCTCTCACCCCTCCTCTGGGGTGGCGTGGCCTCAAGTTTCG  
 AGTGCCTCCAGCTGGTGGGCGGCCACGACTCTTGGGATTCTCTCCCGGGTCA  
 GGTCCCCCAATAGTGTTGGTTCGTGCGCCTGGCTGTCTGACTTTGACGGCTGG  
 CGACCCCTTTTGCTTTTCGACCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTT  
 AAGCATATCAATAAGCGGAGGGGGCTAGAGGGCCGCCACCGCGGTGGAGC  
 TCCAGCTTTTGTTCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCGCGCTTGGCGTAATCAT  
 GGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAA  
 CATAAGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAG  
 CTAACCTCAC

Espécie *Mesocyclops longisetus* (florida) 5' para 3'.

TTCATGAAGAACGCAGCTAACTGCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGACATA  
 TGAGCATCGACACTTTGAACGCATATTGCGGGCGCTGGCATGTCCACCGCCC  
 ATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTCTCATCCCTCCCCGGATTTTCTGGGGCATT  
 GGGCTCTCGCCTCTCGGCGTGGCTTCAAGTTCTGGGCTTGTCTCTGCCTCTG  
 GTGGACGGCTACGACTCTTGGGATTCTCTCCCGGGTCTGCTGCCTCCCCCTC  
 TGGTGGCTTGCGCCGCTACCCTCCTTCTCCTGGGTGGCGGCAACCCTCTGAA  
 TTTTCGACCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTTAAGCATATTAAT  
 AAGCGGAGGAAAAGAAAACAACCGTGATGCCCTTAGTAATGGCGAATGAA  
 ACGGGCTGAGCCAGCACCGAACCGCCGGCCCTTGGTCGCGTGGAAATGTGG  
 TGTTTGGGGGAGCCTCCTCGCGACGCGTTGGCCGGTCCAAGTCCACCTTGAC  
 TGGGGCCACGGCCCGTAGAGGGTGATAGGCCNTAAA



Espécie *Thermocyclops decipiens* 5' para 3'.

ATCGATGAAGAACGCAGCAAACCTGCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGACAT  
 ATGAGCATCGACACTTTGAACGCATATTGCGGGCGCTGGCTCGTCCACCGCC  
 CATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTTGCATCCATCCAAAGTTTTTCTTTGGCATT  
 GGGCTCTCGCTCTGCCTCGGCATAGCGTGGCTTCAAGTTGCGAGCGCGTCTG  
 ACTGTGACGGCTGCTCTGACTCTTGGGCTCGTCCCGGGTCTGGCAAGTCGCG  
 GTCGACGTGTGCTGGGGCAAGTCTCTTGCCCCGGCGACCACTCATTTTTCGA  
 CCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTTAAGCATATCAATAAGCGGA  
 GGGGGCGGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACC  
 GTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTA  
 TTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCT  
 GCGGTTACCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGG

Espécie *Thermocyclops decipiens* 5' para 3'.

TGGGATAAGAACGCAGCANAYTKCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGACAT  
 ATGAGCATCGACACTTTGAACGCATATTGCGGGCACCGGCTCGTCCGCTGCC  
 CATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTTGCATACCTCCGAAAATTTTATTTTCGGC  
 ACTGGGCTCTCGTCTTCTTCCGAGGCGTGGCTTCAAGTTTCGAGCGCCGG  
 CTCCTTCCAGGGCATGCCGCTTTGACTCTTGGGATACTTCTCCCGGGTCTCG  
 CGATCTCTGGAGGGGGCAGGCCGCCGGGGGTCGGTCTCCTGACTCCCGGCA  
 ACCAACTCAATACTTCGACCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTTA  
 AGCATATTAATAAGCGGAGGAAAAGAAAACAACCGTGATGCCCTTAGTAAT  
 GGCGAATGAAACGGGCAGAGCCCAGCACCGAACC GCCCGCCGTCAGGTCG  
 CGCGGAATGTGGTGTTCGGGGGAGCCTTCTCGCGACGCGTCGGCCGGTCCA  
 AGTCCTACCTTGACTGGGGCCACGMMMGTAGAGGGNGATAGGNCCCCTA  
 A

**Espécies que tiveram o DNA extraído e seqüenciado na Universidade federal de São Carlos, SP, Brasil.**

Espécie *Mesocyclops ogunnus* 5' para 3'.

CATCGATNAANAACGCAGCAAACCTGCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGACA  
 TATGATCATCGACACTTTGAACGCACATTGCGGGCACTGGCTCGTCCACTGC  
 CCATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTTGCATCCCTCCCAAGAGGCTCGTCTTCT  
 CGGGCACTGGGCTCTCGCCTCTCCTCTGGGGTGGCGTGGCCTCAAGTTTCGA  
 GTGCGTCCAGCTGGTGGGCGGCCACGACTCTTGGGATTCTCTCCCGGGTCCAG  
 GTCCCCCAATAGTGTGGTGTGCGCCTGGCTGTCTGACTTTGACGGCTGGC  
 GACCCCTTTTGCTTTTCGACCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTTA  
 AGCATATTAATAAGCGGAGGAAAAGAAAACAACCGTGATGCCCTTAGTAAT  
 GGCGAATGAAACGGGCAGAGCCCAGCACCGAACC GCCCGCCGTCAGGTCGCG  
 TGGAATGTGGTGTTCGGGGGAGTCTCCTCGCAGCGAGACGGCCGGTCCAAG  
 TCCACCTTGACTGGGGCCACGGCCCGTAGAGGGTGATAGGCCCGTA

Espèce *Mesocyclops longisetus longisetus* 5' para 3'

GCATCGATGAAGAACGCAGCTAACTGCGCGTCGGAATGTGAACTGCAGGAC  
 ATATGAGCATCGACACTTTGAACGCATATTGCGGGCGCTGGCTCGTCCACCG  
 CCCATGTCTGGCTCAGGGTCGGTTTCTCATCCCTCCCCGGATTTTTCTGGGGC  
 ATTGGGCTCTCGCCTCTTGGCGTGGCTTCAAGTTCTGGGCGCGTCTCTGCCT  
 CTGGTGGACGGCTACGACTCTTGGGATTCTCTCCCGGGTCTGCTGCCCCCTC  
 CTCTGGCGACGTGCGCCGCTGGCCGCCTCTGCTTGGCTAGCGGCAACCCTCT  
 GAACTTTCGACCTGAGAGCAGGCAAGGTGACCCGCCAAATTTAAGCATATT  
 AATAAGCGGAGGAAAAGAAAACAACCGTGATGCCCTTAGTAATGGCGAAT  
 GAAACGGGCTGAGCCCAGCACCGAACCGCCGGCCCTTGGTCGCGTGGAATG  
 TGGTGTGTTGGGGGAGCCTCCTCGCGACGCGTTGGCCGGTCCAAGTCCACCTT  
 GACTGGGGCCACGGCCCGTAGAGGGTGATAGGCCCGTAA

Espèce *Thermocyclops decipiens* 5' para 3'

CATCGATGAAGAACGCAGCTAACTCCGCGACGCAATGTGAACTGCAGNACA  
 CATGAACATCGACATTTTGAACGCATATTGCGGACATGTGCTTGTGTCATGT  
 CCATGTTTGGGTCAGGGTCGGTTGAACATCCATCAGCAACGTGCTTGCCACG  
 CTGTCTGCAATGGGCTGTCCCATCTCCCCTTGCGGGGAAACGGGTAGCCTCA  
 AGTTGACTTGTGCAGTGCTCTGCCGAATGACTCTTGGGTTCGTA AAAAGCCTG  
 GGTCTCAGCAGCCAAGCCTTCACAGGGACTCGGTTCGTCCTTTTCCAAGGCGC  
 CCGTGACAATTTTCTCTTTCGACCTGACATCAAGCAAGACTACCCGCCGAAT  
 TTAAGCATATTAATAAGCGGAGGAAAAGAAAACA ACTGTGATTCCCTTAGT  
 AATGGCGAATGAAACGGGAAGAGCCCATCGTCGAATCGCAAGTCGTTCTGG  
 CTTTGCGAAATGTGACGTTTGGGAGGGTCTTCCACGGCTCGGACGATCAGTC  
 AAAGTCCA ACTTGACAGTGGCCACAGTCCGTAGAGGGTGATAGGCCCGTA