

CAROLINA GASCH MOREIRA

**AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E BIOMASSA DE FUNGOS ASSOCIADOS A
FOLHAS EM DECOMPOSIÇÃO DE *TIBOUCHINA PULCHRA* COGN. SUBMERSAS EM
RESERVATÓRIOS DO PARQUE ESTADUAL DAS FONTES DO IPIRANGA (PEFI), SÃO
PAULO, SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Mestre em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Área de concentração Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

São Paulo
2006

CAROLINA GASCH MOREIRA

AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E BIOMASSA DE FUNGOS ASSOCIADOS A FOLHAS EM DECOMPOSIÇÃO DE *TIBOUCHINA PULCHRA* COGN. SUBMERSAS EM RESERVATÓRIOS DO PARQUE ESTADUAL DAS FONTES DO IPIRANGA (PEFI), SÃO PAULO, SP

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Mestre em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Área de concentração Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

Orientadora: Dra. Iracema Helena Schoenlein-Crusius

São Paulo
2006

Dedico este trabalho aos meus pais Walesca Teresinha Gasch e João Américo Fraga Moreira, meus grandes e eternos amigos, incentivadores deste meu caminhar através da profissão e da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que torceram por mim durante este processo de aprendizagem e em especial,

À minha orientadora, Dra. Iracema Helena Schoenlein-Crusius, Pesquisadora Científica da Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica, pela orientação, paciência, incentivo, ensinamentos, amizade e principalmente pela confiança e oportunidade de desenvolver tal estudo.

A todos os pesquisadores da Seção de Micologia e Liquenologia, em especial, a Dra. Rosely Piccolo Grandi pelos ensinamentos quanto às identificações dos fungos anamórfos e a Dra. Carmen Lúcia Amorim Pires-Zottarelli pela enorme ajuda nas identificações dos fungos zoospóricos e incentivo ao meu trabalho.

Ao Dr. Adauto Ivo Milanez, por manter aberta sua sala, disponibilizando suas revistas e livros.

À Dra. Denise de Campos Bicudo, pela oportunidade a mim concebida para acompanhamento das atividades de laboratório da equipe de Ecologia Aquática na Seção de Ecologia e grande ajuda e enorme incentivo dado para a conclusão deste trabalho.

A CAPES e ao CNPq, pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização deste estudo.

Ao Dr. Marcos Tiné, Pesquisador da Seção de Fisiologia e Bioquímica pelas ajudas nas liofilizações dos materiais para análise.

Ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Jr. e a Dra. Marcela Cunha-Santino pela disponibilização dos equipamentos e de seus preciosos tempos durante análises referentes a este trabalho.

Aos Pesquisadores Científicos Msc. José Ivanildo de Souza e Dra. Vera Vitalli pela amizade e incentivo.

À técnica, hoje aposentada, Maria Dorotéria Ferreira Trude, pela enorme ajuda no laboratório, sem elas o cumprimento deste trabalho seria muito mais difícil.

Em especial ao MSc. Ricardo Ribeiro da Silva, pós-graduando do Instituto de Botânica e ao Dr. Dácio Roberto Matheus, pesquisados do Instituto de Botânica, pela ajuda quanto a metodologia utilizada para realização de grande parte deste trabalho.

Ao Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo (IAG) pelos dados climáticos cedidos ao trabalho.

Aos estagiários e pós-graduandos, meus queridos amigos, da Seção de Micologia e Liquenologia, Alexandra, Luiza, Carla, Luciana Jandelli, Luciana Canês, Cristiane, Patrícia, Iane, Priscila, Maria Luiza, Tatiane, Cássia, Nara, Glauciane, Marina, Ricardo, Serginho, Felipe, Adriano, Milton.

À Zelinda Raimunda Barbosa Santana pelas ajudas na limpeza dos materiais e os cafés do meio da tarde e à funcionária Rosemeire pelo apoio administrativo à pesquisa.

Aos funcionários da pós-graduação, em especial a Márcia Regina Ângelo, pela paciência e ajuda nestes dois anos e meio.

Aos funcionários da Biblioteca do Instituto de Botânica, Jéferson Aparecido de Souza, Suely Paiva de Calda e Maria Helena S. C. F. Gallo.

À Ilka Vercellino e Luciane Crossetti, pós-graduandas da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica pela ajuda com os dados abióticos dos lagos.

Aos meus amigos e colegas do alojamento, dos quais sinto muitas saudades, pelas risadas e pela companhia durante minha estadia.

À Diretoria do Instituto de Botânica, pela autorização das dependências do Instituto, bem com sua infra-estrutura.

À Irene Francisca Lucatto, funcionária da Secretaria da Agricultura, pelas inúmeras cópias de xérox realizadas durante este período, inclusive esta cópia, que finaliza mais uma etapa.

Aos meus colegas da Unisa – Universidade de Santo Amaro, Prof. Paulo Affonso, Prof. Marco Aurélio, Prof. Carl, Prof. Reinaldo, Prof.^a Eliana, Prof.^a Claudia Liba, Prof. Paulo Marinho, Marcos, Isabela e em especial a Prof.^a Tereza Marinho e ao Prof. André Cordeiro dos Santos pela confiança e oportunidade neste meu início de carreira.

À Dra. Milene Tino de Franco e a Prof.^a Gláucia Inglez pela oportunidade que me concederam durante minha passagem pelo Museu de Microbiologia do Instituto Butantan

Aos meus alunos e em especial a Alyne, Juliana, Allan e Cátia pela força neste final de trabalho, obrigada pela torcida, pensamento positivo, amizade, confiança e pela compreensão.

A todos os meus amigos, em especial a Renato (Tatu), Elvira, Gilberto, Luana, Priscila, Luiz (PC).

À minha família, não só grande de tamanho, mas também grande de coração e amor.

Aos meus primos queridos, Eduardo, Diego, Gabriel, Elaine, Douglas, hoje um pouco distantes, mas eternamente guardados em meu coração.

Ao meu namorado, Fabio Fonseca Pereira, muito obrigada pela paciência, carinho, companheirismo, amor e confiança e principalmente ajuda no final deste trabalho.

Aos meus pais, por sempre estarem do meu lado, mesmo quando em discordância às minhas atitudes, proporcionando suporte à minha vida.

E a todos aqueles não nomeados nestas folhas, mas que me auxiliaram no meu caminhar durante esta curta, mas árdua etapa de minha vida.

E a Deus, pela minha vida e pelas possibilidades que muitas vezes coloca em meu caminho, demonstrando como pai que é, e pelo eterno cuidado e amor.

ÍNDICE

Resumo	vii
Abstract	ix
1. Introdução	1
1.1. Importância dos fungos nos ambientes aquáticos	1
1.2. Sucessão fúngica durante a decomposição de folha em ambientes aquáticos	8
1.3 Decomposição em ambientes aquáticos	12
1.4. Ergosterol como medida de biomassa fúngica	16
1.5. Área de Estudo.....	20
1.6. Trabalhos sobre fungos realizados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga	23
2. Objetivos	27
3. Material e Métodos	27
3.1. Descrição das áreas de estudo	27
3.2. Preparos dos experimentos de campo e coletas	31
3.3. Isolamento e identificação dos fungos associados ao substrato em decomposição	32
3.4. Determinação da velocidade de decomposição das folhas de <i>T. pulchra</i> Cogn.	34
3.5. Quantificação do ergosterol contido nas folhas	35
3.6. Forma de tratamento dos resultados	38
4. Resultados e Discussão	40
4.1. Variáveis climáticas	40
4.2. Dados abióticos das águas dos lagos	41
4.3. Sucessão fúngica durante a decomposição das folhas de <i>Tibouchina pulchra</i>	45
4.4. Determinação da velocidade de decomposição das folhas	64
4.5. Análise de ergosterol das folhas em decomposição	74
4.6. Análise integrada dos dados abióticos e bióticos	85
5. Conclusões.....	89

6. Referências Bibliográficas 91

RESUMO

O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) constitui uma das últimas reservas de mata atlântica de planalto na cidade de São Paulo, ocupando área de cerca de 526,38 ha na parte sudeste do município em limite com o município de Diadema. Por se situar em área urbana o Parque sofre grandes perturbações. Entre os muitos reservatórios que possui, o Lago das Garças e o Lago das Ninféias, os quais são considerados respectivamente hipereutrófico e mesotrófico, foram escolhidos para o desenvolvimento do presente trabalho. O objetivo principal deste estudo foi o de comparar a sucessão fúngica, concentração de ergosterol e a velocidade de decomposição, em folhas submersas nos dois lagos mencionados. Para isto, sacos de tela de náilon com malha de 1 mm contendo folhas secas de *Tibouchina pulchra* Cogn foram submersas concomitantemente a 40 cm de profundidade às margens dos dois lagos, e coletados regularmente de quinze em quinze dias durante 77 dias. Durante as coletas algumas variáveis abióticas das águas, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, e condutividade foram mensuradas utilizando-se a multissonda U10 Horiba. Os fungos foram isolados através da técnica de lavagens sucessivas de fragmentos de folhas, seguidas de inoculação em meio batata-dextrose-ágar e incubação em câmaras úmidas. Alíquotas das folhas lavadas foram também incubadas em água destilada estéril com adição de substratos celulósicos, queratinosos e quitinosos. A velocidade de decomposição das folhas foi estimada através do coeficiente k de Olson e através da determinação da matéria orgânica remanescente das folhas. A determinação do teor de ergosterol baseou-se em extração alcoólica e a análise através de leitura em cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O maior número de táxons de fungos (79) foi observado nas folhas submersas no lago mesotrófico, incluindo duas novas citações para o Estado de São Paulo *Hyphochytrium catenoides* Karling e *Septochytrium macrosporum* Karling. A sucessão fúngica seguiu um padrão mais lento no lago mesotrófico. No Lago das Garças 63 táxons de fungos foram obtidos. As folhas submersas no lago hipereutrófico apresentaram rápida taxa de decomposição bem como maiores concentrações de ergosterol que o lago mesotrófico. A Análise de Componentes Principais (ACP) demonstrou que as amostras de folhas coletadas foram separadas de

acordo com o nível trófico dos reservatórios e também pelo espaço temporal, tempo de decaimento da material orgânica. As amostras coletadas no Lago das Garças foram relacionadas com os maiores teores de ergosterol contidos nas folhas, maiores valores de pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade da água, menor número de táxons de fungos e menores valores de matéria orgânica remanescente. As amostras coletadas no Lago das Ninféias, de maneira contrária, foram relacionadas com os menores teores de ergosterol das folhas, menores valores de pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade da água, maior número de táxons e maiores valores de matéria orgânica remanescente. Pode-se concluir que o estado trófico dos lagos influenciou não apenas quantitativamente, mas também qualitativamente os padrões de distribuição da sucessão fúngica, concentração de ergosterol e taxa de decomposição das folhas submersas.

Palavras-chave: sucessão fúngica, ergosterol, velocidade de decomposição, fatores abióticos, “Reservatório urbano”.

ABSTRACT

The “Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI)” is one of the last Atlantic rainforests in the plateau of the city of São Paulo, occupying around 526,38 ha at the southeast part of the municipality. Because of its urban localization the área has been submitted to several disturbances. Among several lakes, the “Lago das Garças” and the “Lago das Ninféias”, which are considered respectively hypereutrophic and mesotrophic, were chosen for the present work. The aims were the comparison of the fungal succession, ergosterol content and decomposition rate of leaves submerged in the two mentioned lakes. Nylon litter bags with 1mm mesh, containing air dried leaves of *Tibouchina pulchra* Cogn were submerged at the same time at 40 cm depth at the margins of the two lakes, and sampled regularly, from 15 to 15 days during 77 days. During the collections some abiotic factors of the water, such as pH, temperature, dissolved oxygen and conductivity were measured using an U10 Horiba equipment. Fungi were isolated by the leaf disks washing technique followed by plating in potato-dextrose-agar media and moist chambers. Aliquots of the washed leaves were also incubated in sterile distilled water added with cellulosic, queratinous and chitinous substrates. The decomposition rate was estimated by the Olson’s k coefficient and the determination of the remaining organic matter of the leaves. The determination of the ergosterol content was based on the alcoholic extraction phase followed by HPLC analysis. Higher number of fungal taxa (79) was observed in the leaves submerged in the mesotrophic lake, including two new records for the State of São Paulo: *Hyphochytrium catenoides* Karling and *Septochytrium macrosporum* Karling. The fungal succession followed a more slowly pattern in the mesotrophic lake. In the “Lago das Garças” 63 fungal taxa were obtained. The leaves submerged in the hypereutrophic lake presented higher decomposition rates, higher ergosterol contents than the mesotrophic lake. The Principal Component Analysis revealed that the leaf samples were separated according to the trophic level of the lakes and also the decaying time. The samples collected from the “Lago das Garças” were related with higher ergosterol contents, pH values, dissolved oxygen, temperature and conductivity of the water, and also with lower number of fungal taxa and remaining organic matter of the leaves.

The samples of the “Lago das Ninféias” were related with lower ergosterol content, pH values, dissolved oxygen, temperature and conductivity, and with higher number of fungal taxa and remaining organic matter. It may be concluded that the trophic level of the lakes possibly influenced not only quantitatively, but also the distribution pattern of the fungal succession, ergosterol content and decomposition rate of the submerged leaves.

Key words: fungal succession, ergosterol, decomposition rate, abiotic factors, “urban reservoir”.

1. Introdução

1.1. Importância dos fungos nos ambientes aquáticos

A importância dos fungos para o ecossistema é amplamente conhecida e aceita, já que estes são decompositores de matéria orgânica, possuem grande capacidade de degradação de resíduos compostos por carbono e nitrogênio, como açúcares simples, celulose, hemicelulose, lignina, pectinas, proteínas (quitina e queratina), além de xilano, ácidos húmicos, entre outras substâncias (Kjøller & Struwe 1992, Moore-Landecher 1996).

Christensen (1989) descreveu algumas funções principais destes microrganismos no meio ambiente, dentre elas de decompositores de matéria orgânica, sendo algumas espécies capazes de sintetizar substâncias húmicas, característica que os faz participantes ativos na ciclagem de nutrientes, estando envolvidos diretamente na mineralização de materiais orgânicos, além de participantes da cadeia trófica promovendo a entrada de íons no sistema biótico. São considerados os microrganismos com maior atividade sapróbia em ambientes terrestres e aquáticos, fundamentais na ciclagem de elementos essenciais, mineralização, acumulação de materiais tóxicos e desintoxicação de ambientes terrestres e aquáticos (Barlocher & Kendrick 1974, Christensen 1989).

A distribuição dos fungos sapróbios em diferentes ambientes depende de suas habilidades como decompositores, ou habilidades saprofíticas, e de adaptação aos variados ambientes. Podem ser cosmopolitas desenvolvendo-se em qualquer substrato e muitas vezes em qualquer ambiente, ou podem ser restritos a ambientes e substratos determinados, outros podem decompor apenas certas substâncias, estando presente somente em alguns períodos da decomposição de substratos. Muitos fungos parasitas de plantas e outros parasitas de humanos e de animais podem agir como sapróbios, muitas vezes demonstrando crescimento dimórfico (Kjøller & Struwe 1992, Dix & Webster 1995, Alexopoulos *et al.* 1996).

A ação dos fungos como decompositores não se restringe apenas ao ambiente terrestre, nos ecossistemas aquáticos podem ser encontrados em grande diversidade, atuantes na decomposição e responsáveis por parte da ciclagem de nutrientes nestes ecossistemas, junto aos detritívoros e

bactérias (Dix & Webster 1995, Bärlocher *et al.* 1992, Alexopoulos *et al.* 1996, Schoenlein-Crusius *et al.* 2004). Assim, os fungos participam da produção de biomassa do ambiente, atuando como mediadores do fluxo de energia e de nutrientes, decompondo a matéria orgânica nos seus componentes originais, dinamizando a ciclagem de nutrientes (Gessner & Chauvet 1993).

A maioria dos ambientes aquáticos continentais apresenta-se circundada por vegetação e em contato direto com o ambiente terrestre pela região litorânea, recebendo periodicamente elevada quantidade de material alóctone, constituída por matéria orgânica particulada e dissolvida, provindas dos solos marginais e vegetação adjacente, levadas a estes ambientes por escoamento superficial, ventos, chuvas e entrada de solo, responsável por assorear estes ambientes (Gessner 1999).

Um dos maiores constituintes do material alóctone é o material vegetal terrestre sendo maior parte deste composta por folhas (Meguro *et al.* 1979) que para muitos ambientes aquáticos, constitui na principal fonte de nutrientes (Bärlocher & Kendrick 1974, Bärlocher 1992, Esteves 1998). No caso de lagos ou reservatórios, podem estar presentes macrófitas aquáticas em elevada densidade, neste caso pode-se dizer que o material autóctone supera a importância de entrada de material alóctone na ciclagem de nutrientes do sistema aquático (Wetzel 1993, Esteves 1998).

Da matéria orgânica particulada total que entra nos ambientes aquáticos apenas uma pequena parte é prontamente utilizada pelos detritívoros, sendo necessária prévia colonização destas por microrganismos, principalmente fungos, que as incrementam com compostos nitrogenados, tornando-as mais palatáveis aos detritívoros e iniciando transformações de grande quantidade de estoque de energia em formas mais prontamente aceitas por esses organismos (Witkamp & Van Der Drift 1961, Kaushik & Hynes 1968, Bärlocher & Kendrick 1973, 1974, Bärlocher 1992).

Segundo Bärlocher & Kendrick (1974), os fungos têm sido reconhecidos como importantes decompositores de matéria orgânica submersa, mostrando-se, nos primeiros estágios de decomposição, muitas vezes mais ativos que as bactérias. Em trabalho realizado por Kaushik & Hynes (1968) foram verificados acréscimos de proteínas acima de 11% em folhas colonizadas por

fungos, não sendo visualizado o mesmo acréscimo quando estas eram colonizadas apenas por bactérias, sendo ainda verificada diminuição das concentrações de proteínas em folhas que receberam concentrações de antifúngicos.

Dentre os fungos responsáveis pela decomposição de matéria orgânica em ambientes aquáticos continentais, estão os fungos zoospóricos, fungos anamórfos ou anamórficos (fungos imperfeitos, antigos Deuteromycetes), Ascomycetes, leveduras e alguns Zygomycetes e Basidiomycetes (Dix & Webster 1995). Estes fungos foram, então, denominados por Park (1972) quanto a sua origem e adaptações a estes ambientes, sendo diferenciados os fungos verdadeiramente aquáticos daqueles que habitam os ambientes aquáticos.

Os fungos “verdadeiramente” aquáticos são dependentes da água para reprodução e possuem adaptações morfológicas especiais, desta forma, foram denominados indígenas ou nativos. Fazem parte deste grupo os fungos zoospóricos, os Hyphomycetes aquáticos e as leveduras aquáticas (Dix & Webster 1995).

Os fungos nativos ou indígenas possuem papel importante na decomposição de matéria orgânica alóctone e autóctone em ambientes aquáticos (Bärlocher & Kendrick 1973). Estudos sobre a decomposição de folhas submersas em riachos, situados em região de clima temperado, demonstraram que os Hyphomycetes aquáticos são observados esporulando, situação que sugere a importância destes como os principais agentes da primeira etapa da decomposição de matéria orgânica alóctone (Bärlocher & Kendrick 1974).

Os hifomicetos aquáticos são fungos anamórfos, apresentam reprodução assexuada, com formação de conídios com estruturas diferenciadas, semelhantes às estruturas somáticas, denominadas conidióforos, estes livres no micélio (Alexopoulos *et al.* 1996). Os conídios apresentam formas hidrodinâmicas, sigmóides ou tetrarradiadas, leves, o que permite flutuação e rápida fixação em novos substratos. As condições hidrológicas, como teor de oxigênio, temperatura e turbulência, têm grande influência sobre o desenvolvimento e conseqüentemente na distribuição das espécies (Ingold 1975).

Os hifomicetos aquáticos foram classificados segundo Ingold (1975) em dois grupos, os "Ingoldian fungi" ou fungos Ingoldianos e os aeroaquáticos. Os fungos ingoldianos crescem em substratos submersos em águas bem oxigenadas, muitas vezes quando livres podem ser encontrados na superfície em espumas formadas por águas turbulentas, havendo uma grande diversidade de espécies aquáticas que produzem conídios similares. Os fungos aeroaquáticos conseguem sobreviver em baixas quantidades de oxigênio, desenvolvem-se em águas mais estagnadas, lamas e, ocasionalmente, em águas marinhas (Alexopoulos *et al.* 1996).

Dentro ainda do grupo dos fungos verdadeiramente aquáticos estão os fungos zoospóricos, os quais possuem importante papel na decomposição da matéria orgânica alóctone, ocorrem em elevada quantidade e apresentam grande diversidade, são cosmopolitas (Alexopoulos *et al.* 1996) e possuem uma exigência nutricional menos complexa que os hifomicetos aquáticos (Schoenlein-Crusius *et al.* 1998a, Pires-Zottarelli 1999).

Os microrganismos pertencentes ao grupo dos fungos zoospóricos estão localizados em três Reinos: Protista, Straminipila e Fungi. De origem polifilética, ou seja, originados de diferentes ancestrais que não possuíam proximidades de relação uns com os outros, são denominados "fungos zoospóricos" por tradição histórica sem caráter taxonômico, e são estudados, juntos aos fungos verdadeiros pelos micologistas (Alexopoulos *et al.* 1996, Moore-Landecker 1996).

Os fungos zoospóricos podem ser caracterizados como organismos microscópicos de origem aquática, providos de células de reprodução flageladas denominadas zoósporos, quando assexuadas, e planogametas quando sexuadas. São dependentes da água em pelo menos algum momento do ciclo de vida, já que muitos necessitam viver inteiramente em corpos d'água e outros podem habitar ambientes terrestre, como solos úmidos ou na falta de umidade podem ocorrer sob a forma de resistência (Moore-Landecker 1996, Pires-Zottarelli 1999). Em diversos trabalhos realizados sobre diversidade e ecologia de fungos zoospóricos, foram isolados elevados números de táxons, pertencentes a este grupo, de solos marginais a corpos d'água (Pires-Zottarelli 1999, Gomes 2006)

Além de células de reprodução assexuadas e sexuadas dotadas de flagelos para locomoção

em busca de substratos, possuem elevada resistência às condições hidrológicas adversas, como amplas variações de pH, temperatura, saturação de oxigênio e eutrofização. Apresentam ampla distribuição geográfica, geralmente colonizam substratos celulósicos, quitinosos e queratinosos, e algumas espécies podem ser parasitas de plantas, animais, algas, peixes, crustáceos ou de outros fungos (Dick 1976, Schoenlein-Crusius & Milanez 1996, Pires-Zottarelli 1999).

As leveduras aquáticas, também caracterizadas como fungos nativos do ambiente aquático, têm crescimento rápido por brotamento, elevada produção de enzimas capazes de degradar variados tipos de substratos. Alguns representantes deste grupo são sensíveis às variações ambientais, como presença de poluentes; outros são mais resistentes, assemelhando-se aos fungos cosmopolitas terrestres (Schoenlein-Crusius & Milanez 1996). São classificadas de acordo com o ciclo de reprodução e através de certas características morfológicas e fisiológicas para a separação taxonômica, como, ausência de produção de esporos formados por reprodução sexuada, método de brotamento do esporo, produção de urease, morfologia química e ultraestrutural da parede celular, assimilação de carboidratos e fermentação (Alexopoulos *et al.* 1996).

Os fungos de origem terrestre, denominados geofungos e incorporados aos ecossistemas aquáticos por materiais alóctones, ventos, chuvas, escoamentos de águas superficiais e assoreamento dos ecossistemas aquáticos pelo solo marginal, foram denominados como fungos imigrantes, entre estes, os que podem alternar periodicamente diferentes fases do ciclo de vida entre os ambientes aquáticos e terrestres são denominados migrantes. Os chamados versáteis são geofungos que conseguem sobreviver nestes ambientes e que utilizam a água como meio de transporte para dispersão, podendo fixar-se e decompor substratos orgânicos submersos. Os geofungos não adaptados ao ambiente aquático e que passam a diminuir sua atividade metabólica após submersão são chamados transientes (Park 1972; Dick 1976, Dix & Webster 1995).

Segundo Park (1972), os geofungos têm grande importância como participantes na decomposição de substratos orgânicos submersos mesmo que lentamente. E na maioria das vezes vegetativamente, esses organismos são capazes de colonizar substratos desenvolvendo-se nestes

ambientes.

Em estudo comparativo entre folhas submersas e de serrapilheira realizado por Wellbaum (1999) foi verificado um número maior de táxons e de ocorrências de geofungos em folhas submersas do que em folhas locadas em ambiente terrestre. Trabalhos subsequentes demonstraram que os geofungos de maior ocorrência, em ambientes aquáticos, são os fungos anamórfos, seguidos pelos ascomicetos, basidiomicetos e zigomicetos, estes dois últimos geralmente em número menor (Schoenlein-Crusius & Milanez 1998b,d, Wellbaum 2001, Moreira 2002).

Trabalhos sobre sucessão fúngica em folhas submersas, realizados em diferentes ambientes aquáticos, demonstraram grande quantidade de geofungos até os estágios finais de decomposição, muitas vezes ocorrendo em grandes quantidades, sobrepondo os fungos nativos, confirmando a hipótese de que os geofungos apresentam grande resistência à submersão de folhas recém-caídas. (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d; Moreira, 2002).

Wellbaum (2001) comparou a diversidade da micota associada a folhas em decomposição, dispostas na superfície das margens e submersas na Represa do Guarapiranga, obtendo mais de 70 táxons, entre os quais houve predomínio de fungos de origem terrestre (geofungos), sendo a diversidade influenciada pelas secas e chuvosas, já que o número de táxons foi maior no verão do que no inverno.

Segundo Schoenlein-Crusius & Milanez (1996) a dinâmica de convivência existente entre os fungos nativos e imigrantes ainda não está totalmente compreendida e pouco se sabe sobre as interações que sustentam a competição desses organismos por nutrientes no meio em que vivem.

Apesar de recentes, os estudos brasileiros têm contribuído expressivamente para o conhecimento da micota aquática da América do Sul, sendo que mais que 60% das espécies conhecidas provêm de estudos conduzidos no país (Schoenlein-Crusius & Grandi 2003).

A influência do grau de trofia dos sistemas aquáticos sobre a diversidade dos fungos é bastante complexa. Com base nos resultados citados na literatura, Bärlocher (1992) considera que a

adição de poluição orgânica pode modificar a abundância de espécies fúngicas individuais, retardando a decomposição de folhas e outros substratos. O autor afirma ainda, que para avaliar a extensão dos efeitos antrópicos, que podem acarretar uma expressiva redução da quantidade de espécies, a situação ideal é que se conheça a diversidade da micota nativa antes da ocorrência do impacto, podendo-se prever com maior precisão quais as conseqüências para o ecossistema e quais as alternativas para recuperá-lo.

Muitos trabalhos foram realizados quanto ao efeito da poluição sobre a distribuição de fungos nos ambientes aquáticos. Cooke (1976) verificou alteração na composição da micota habitante do ambiente aquático, havendo dominância de espécies de geofungos, principalmente pertencentes ao grupo dos fungos anamórfos. Tan & Lin (1984) avaliaram a micota presente em diferentes pontos do rio Singapore, com diferentes níveis de poluição e verificaram menor presença de fungos no ponto mais poluído. Por outro lado trabalhos mais recentes demonstram que os fungos podem desenvolver-se bem em águas com moderada poluição orgânica, sendo, na verdade, influenciados por fatores abióticos da água como concentração de oxigênio dissolvido, temperatura, pH e alcalinidade (Czeczuga *et al.* 1990 a, b, Czeczuga 1991a,b, Czeczuga 1994).

Em trabalhos realizados no Brasil sobre a influência da poluição industrial (Pires – Zottarelli 1999) e orgânica (Rocha 2004) sobre a distribuição dos fungos zoospóricos, os resultados obtidos demonstraram que estes microrganismos podem responder de maneira diversa as diferentes fontes poluidoras.

De acordo com Pires – Zottarelli (1999) estes microrganismos não demonstraram bom potencial bioindicador para poluição industrial, já que foi verificada moderada diversidade e ocorrência destes na região industrial de Cubatão, comprovando a tolerância e adaptabilidade dos fungos zoospóricos frente à contaminação. De maneira contrária, em trabalho realizado por Rocha (2004) com o objetivo de avaliar a micota zoospórica em lagos com diferentes trofias, foi verificado maior número de táxons de fungos zoospóricos em locais de coleta não impactados por poluição orgânica e menor número de táxons ou mesmo ausência destes nos pontos de coleta altamente

contaminados, dado que levou a autora a apontá-los como possíveis bioindicadores de poluição orgânica.

Quando comparada a ocorrência de fungos em diferentes profundidades da coluna d'água, (distribuição vertical), bem como em diferentes compartimentos dos ambientes aquáticos, como região limnética e litorânea, são verificadas maior diversidade e ocorrências na superfície da coluna d'água e na região litorânea, fato este explicado pelo maior contato dos corpos d'água com os solos marginais e ambiente aéreo, tendo como uma das conseqüências a maior disponibilidade de oxigênio (Czeczuga 1995, Rancovic 1998).

Até o momento não há informações sobre como o grau de trofia das águas pode atuar sobre a diversidade de fungos que se sucedem durante o processo da decomposição das folhas submersas e os reflexos dessa influência sobre a biomassa fúngica contida nos substratos, sendo este aspecto do presente estudo contribuição inédita, justificando sua abordagem.

1.2. Sucessão fúngica durante a decomposição de folhas em ambientes aquáticos

A sucessão fúngica pode ser conceituada como o desenvolvimento da comunidade fúngica em um substrato, mediante ocupação seqüencial de um mesmo local pelo micélio, sendo influenciado pelo tipo de material a ser colonizado, da microbiota e da qualidade do ambiente (Garrett 1963, Dix & Webster 1995, Frankland 1992, Hyde & Jones 2002). Pelo fato de muitas variáveis poderem atuar sobre a seqüência de colonização, cada sucessão pode apresentar características únicas (Garrett 1963, Frankland 1992).

Segundo Dix & Webster (1995), estudos sobre a estrutura de comunidades fúngicas em diversos substratos demonstram que esta tende a mudar tanto quantitativa quanto qualitativamente durante a decomposição, sendo observada grande diversidade fúngica nos primeiros estágios de colonização sem dominância óbvia, seguida de um estágio de estabilidade já com aparecimento de espécies dominantes, e, então, finalizada com um estágio de maior declínio da diversidade.

A sucessão fúngica e conseqüente degradação de um dado substrato dependem de sua

composição química, física e morfológica. Segundo Frankland (1998), diferenças nas sucessões fúngicas e nas degradações ocorridas em diferentes tipos de materiais vegetais podem ser explicadas pelas diferentes composições químicas apresentadas e conseqüentes disponibilidades de nutrientes para a comunidade fúngica, somado a isto podem ainda estar presentes diferentes fontes e concentrações de substâncias inibidoras, como tanino, que podem dificultar a colonização.

Assim pode-se dizer que o sucesso das substituições das espécies de fungos ou sucessão, durante a decomposição de folhas, ocorre de acordo com a habilidade saprofítica competitiva das espécies que é expressa pelo rápido crescimento, eficiência na produção de enzimas, tolerância a antibióticos, potencial de inoculo, eficiência das unidades reprodutivas e mecanismos de dispersão no ambiente (Garrett 1963, Frankland 1992, Dix & Webster 1995, Schoenlein-Crusius 1998d).

O estabelecimento de determinadas espécies caracterizadas pela rápida germinação e crescimento é conhecido como efeito pioneiro da colonização. No caso da decomposição de folhas, esta é realizada pela comunidade pioneira, por espécies parasitas, endofíticas, habitantes do filoplano e pelas primeiras espécies colonizadoras, pertencentes ao ambiente onde se localizam as folhas em decomposição. No caso do ambiente aquático, espécies de hifomicetos aquáticos, fungos zoospóricos, leveduras aquáticas e geofungos preexistentes e resistentes à submersão podem ser considerados espécies pioneiras (Frankland 1992, Dix & Webster 1995, Schoenlein-Crusius *et al.*1990).

Após o estabelecimento das espécies pioneiras, ocorre diminuição da diversidade, ficando estabelecidas apenas as espécies mais adaptadas à competição denominada comunidade competidora. A diminuição da diversidade das espécies pioneiras pode ser explicada pela baixa tolerância a metabólitos utilizados por outras espécies, como inibidores de crescimento, toxinas e antibióticos, além disto, as espécies mais tolerantes também são citadas como sendo parasitas de outros fungos, característica que as auxiliam durante a competição. Em períodos mais avançados da sucessão podem, ainda, surgir as denominadas espécies de estresse, caracterizadas pela adaptação a situações de estresse, como competição e diminuição de nutrientes, geralmente são possuidoras de

complexos enzimáticos capazes de decompor substâncias de difícil degradação, como lignina (Frankland 1992).

Segundo Dix & Webster (1995), muitos autores consideravam a diminuição da diversidade de espécies e as substituições destas decorrentes da composição química das folhas nos diferentes estádios da decomposição, já que muitas espécies são incapazes de produzir enzimas responsáveis por decompor substâncias características, como celulose e lignina. Sendo assim, a comunidade primária foi classificada como dependente de fontes orgânicas simples, desaparecendo quando estas se acabavam. As espécies sobreviventes geralmente tornam-se dominantes junto com outras espécies adaptadas a decompor substâncias mais complexas do substrato.

A teoria da hipótese nutricional se tornou insatisfatória, já que muitas vezes não se pode correlacionar a sucessão fúngica com a fisiologia nutricional dos fungos. Muitos fungos identificados em trabalhos de sucessão fúngica, como constituintes da comunidade pioneira, são capazes de decompor hemicelulose, celulose e outras substâncias complexas, o que os possibilitaria continuar dentro da sucessão (Dix & Webster 1995).

Trabalhos realizados sobre a relação existente entre a sucessão fúngica e as mudanças nutricionais decorrentes da decomposição de substratos foliares tem sido realizados por Osono (2005). Segundo o mesmo autor, de maneira geral, os componentes solúveis de folhas e os carboidratos são decompostos nos estágios iniciais, seguidos pela holocelulose e posteriormente pela lignina, estando nitidamente ligados à sucessão fúngica ocorrida.

Dentre os fungos participantes da sucessão fúngica em ambiente aquático, os terrestres denominados geofungos, constituem um grupo de grande importância, já que foram encontrados decompondo folhas por longos períodos de tempo, demonstrando grande capacidade de adaptação à submersão (Kaushik & Hynes 1968, Park, 1972, Bärlocher & Kendrick 1974, Schoenlein -Crusius & Milanez 1989, Schoenlein -Crusius *et al.* 1990, Schoenlein -Crusius & Milanez 1998b,d, Moreira 2002). Segundo os mesmos autores, os hifomicetos, fungos nativos, tendem a ocorrer no final da etapa inicial da decomposição, enquanto os zoospóricos devem ocorrer em maior número na fase

intermediária, assim como as espécies de Zygomycetes que tendem a colonizar as folhas nas etapas iniciais e finais.

A maioria dos estudos sobre sucessão fúngica em folhas submersas foi realizada em regiões de clima temperado, destacando-se os trabalhos realizados por Newton (1971) *apud* Schoenlein-Crusius (1993), Willoughby (1974), Newell (1976), Suberkropp & Klug (1976) Suberkropp & Klug (1980), Davis & Winterbourn (1977), Puppi (1983), Osono (2005).

No Brasil os estudos sobre sucessão de fungos durante a decomposição de folhas em ambientes aquáticos são, ainda, escassos. O primeiro trabalho foi realizado no Lago das Garças situado dentro do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), na cidade de São Paulo, tendo como foco a avaliação da sucessão fúngica, com a participação conjunta de fungos zoospóricos, geofungos e hifomicetos aquáticos, em folhas de *Ficus microcarpa* L. f. (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989). Posteriormente foi estudada a sucessão fúngica em folhas de *Quercus robur* L. em lago situado no município de Itapecerica da Serra, SP (Schoenlein-Crusius *et al.*, 1990). Estes foram complementados por estudos comparativos entre a decomposição de folhas de *Quercus robur* L., *Ficus microcarpa* L. f. e *Alchornea triplinervia* (Spreng.) M. Arg., submersas em um riacho na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, SP, no qual foram verificadas a predominância quantitativa de fungos zoospóricos e hifomicetos aquáticos na decomposição (Schoenlein-Crusius *et al.* 1992), justificando a importância de se considerar estes grupos taxonômicos nos estudos sobre sucessão fúngica subsequentes. Na mesma Reserva, Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d) estudaram a sucessão fúngica ocorrida durante a decomposição de folhas de *Alchornea triplinervia* (Spreng.) M. Arg. submersas em ambiente aquático e Moreira (2002) verificou a sucessão de hifomicetos aquáticos e terrestres durante a decomposição de folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas em riacho.

1.3. Decomposição em ambientes aquáticos

A decomposição pode ser definida como a degradação gradual da matéria orgânica morta, causada por fatores físicos, químicos e biológicos, resultando em gás carbônico, água e nutrientes inorgânicos, liberados durante mineralização (Odum 1983). Assim a decomposição do material foliar tanto em ambiente terrestre como em ambiente aquático é determinada e influenciada por diversos fatores como características físicas, estruturais e químicas do substrato, fatores abióticos ambientais, comunidades de decompositores e detritívoros (Witkamp 1963, Meguro *et al.* 1980, Gessner 1999).

A degradação ou decomposição da matéria orgânica pode ser considerada um processo longo e complexo, responsável por controlar várias funções nos mais diversos ecossistemas, através da reciclagem de nutrientes pela mineralização de matéria orgânica morta, além de recuperar nutrientes, modificar materiais inertes da superfície terrestre (produção de solo) e auxiliar na manutenção da atmosfera terrestre (Odum 1983).

A decomposição pode ser dividida em três etapas principais, perda de componentes solúveis ou lixiviação, condicionamento microbiano e fragmentação por atividade mecânica. A primeira etapa ocorre nas primeiras 24 horas, quando são perdidos lipídeos e substâncias solúveis em água, como carboidratos, polifenóis, nitrogênio, fósforo e potássio, fato que resulta em perda de peso do substrato, sendo que espécies vegetais podem apresentar diferentes taxas de lixiviação (Nykvist 1959, Witkamp 1963, 1966, Petersen & Cummins 1974, *apud* Cummins 1974, Suberkropp *et al.* 1976b, Gessner 1991a, Magalhães 2002, Moulton & Magalhães 2003).

A segunda etapa é marcada pela colonização e crescimento microbiano, responsável por modificações químicas e físicas nos substratos. Nesta fase a perda de peso ocorre em menor velocidade do que na lixiviação, ocorrendo o enriquecimento do substrato com nitrogênio, por conta da colonização fúngica (Kaushik & Hynes 1968, Bärlocher & Kendrick 1973, Gessner & Chauvet 1994).

A terceira fase é caracterizada pela fragmentação mecânica por conta da atividade de

invertebrados, auxiliada pela prévia colonização microbiana, e pela ação abrasiva do meio sobre os substratos, acelerando significativamente a decomposição (Petersen & Cummins 1974 *apud* Cummins 1974). Trabalhos sobre decomposição, realizados com exclusão de detritívoros através da utilização de sacos de tela de náilon, demonstraram menor velocidade de decomposição de substratos foliares, assim como a exclusão de fungos e bactérias (Kaushik & Hynes 1968, Bell & Gilmore 1978).

Em ambientes aquáticos lóticos, grande parte do material orgânico (50% - 99%) utilizado e incorporado na ciclagem de nutrientes é composta por matéria orgânica alóctone (predominantemente composta por folhas), sendo sua decomposição de fundamental importância para a sobrevivência desses ecossistemas (Kaushik & Hynes 1968, Cummins 1974). Embora estes ecossistemas possuam produção primária, esta se mostra baixa, sendo assim os recursos vindos do ambiente terrestre representam grande parte do suporte de energia das cadeias alimentares (Kaushik & Hynes 1968, Kaushik & Hynes 1971, Fischer & Likens 1973, Bärlocher & Kendrick 1974, Barbosa & Coutinho 1987, Gessner & Chauvet 1994).

Em ambientes aquáticos lênticos, ocorre o mesmo, excetuando-se os lagos ou reservatórios com grande área coberta por macrófitas aquáticas e que apresentam elevada quantidade de matéria orgânica autóctone. Neste caso, o início da decomposição das plantas realiza-se ainda na interface ar água na região litoral ou no meio do lago, quando em áreas alagadas, já que a abscisão e o deslocamento das folhas para o sedimento não ocorre logo após a morte da planta (Kuehn *et al.* 1999). A parte do material não decomposto sedimenta-se e a decomposição completa-se no sedimento auxiliando a formação de grande quantidade de detritos orgânicos que para muitos lagos e reservatórios é a principal fonte de matéria orgânica (Esteves *et al.* 1998).

Gessner *et al.* (1996) estudaram o fluxo parcial de carbono na zona litoral do lago Belau na Alemanha, comparando a decomposição e liberação deste nutriente pelas macrófitas emergentes, que colonizam grande parte do lago, e pelas folhas de *Alnus glutinosa* responsável por compor abundantemente a vegetação marginal. Os autores verificaram que a zona litoral contribui com

grande quantidade de produção primária para o lago, sendo que a soma da contribuição de carbono feita pelas macrófitas e pelo material alóctone particulado pode chegar a um quarto do carbono encontrado no lago, demonstrando a importância das macrófitas como principais produtoras primárias da zona litoral do lago.

Komínková *et al.* (2000) avaliaram a biomassa, respiração e crescimento microbiano durante a decomposição da macrófita emergente *Phragmites australis* na zona litoral de um lago oligotrófico localizado na Suíça e verificaram rápida decomposição das folhas, havendo diferenças significativas quanto ao tamanho da malha utilizada na composição dos sacos de tela de náilon que acomodaram as folhas durante o experimento. Foi também verificada grande diferença na velocidade de decomposição das folhas e dos caules da planta, sendo as folhas mais rapidamente decompostas.

A maioria dos trabalhos sobre a decomposição de folhas em ambientes aquáticos foi realizada em ambientes temperados, enfocando a importância dos materiais alóctones para estes ecossistemas, com ênfase na dinâmica de nutrientes. Também é usualmente abordada a relação existente entre velocidade de decomposição do material, a taxa de nutrientes encontrada e a comunidade de microrganismos envolvida, demonstrando que o enriquecimento nutricional das folhas, decorrente da colonização fúngica, aumenta a palatabilidade das mesmas e conseqüentemente a ação de detritívoros. (Bärlocher & Kendrick 1973, Bärlocher & Kendrick 1974, Park 1976, Bell & Gilmore 1986, Butler & Suberkropp 1986, Thompson & Bärlocher 1989, Sridhar & Bärlocher 2000, Gessner & Chauvet 1994, Gessner & Chauvet 1995, Baldy *et al.* 1995).

A velocidade de decomposição dos materiais orgânicos submersos pode variar sendo dependente de fatores abióticos e bióticos, como temperatura da água e velocidade de fluxo, composição da comunidade decompositora (composição nutricional da água, águas ricas em nitrogênio podem facilitar o condicionamento microbiano), qualidade de ambiente, tipo de substrato, disponibilidade de oxigênio, entre outros fatores (Cummins 1974, Gessner 1999).

Schoenlein-Crusius (1993) comparou a decomposição de folhas de *Alchornea triplinervia*

(Spreng.) M. Arg. em ambiente aquático e terrestre da mata atlântica e verificou maior velocidade de decomposição das folhas submersas, resultado atribuído aos processos de lavagem, lixiviação e fragmentação das folhas, estes último devido à abrasão causada pela correnteza do riacho. No mesmo trabalho a autora verificou maiores quedas de peso do substrato foliar durante os meses quentes do ano, épocas em que também foram maiores as ocorrências de fungos decompositores.

Posteriormente, Moulton & Magalhães (2003) compararam a decomposição de folhas de *Myrcia rostrata* Decandoli e *Piper divaricatum* G.Mey., submersas em rios impactados e não impactados por esgoto doméstico e verificaram decomposição mais lenta das folhas nos rios impactados.

Fellerhoff *et al.* (2003) estudaram a decomposição de folhas de diferentes espécies de macrófitas em uma grande área alagada sazonal no Pantanal mato-grossense e verificaram rápida degradação das plantas, que após 10 dias de submersão apresentaram grande perda de peso, sendo quase completa após três semanas.

Em manguezal, Moura (1997) comparou a velocidade de decomposição de folhas de espécies de plantas comuns à região e verificou, nestes ambientes, rápida degradação do material foliar durante o verão.

Aprile *et al.* (1999 a, b) realizaram estudo sobre a cinética de decomposição de laminados de madeira em ambientes terrestre e aquático em uma reserva localizada dentro da Universidade de São Paulo (USP) e verificaram que os processos de decomposição tendem a ser favorecidos em ambientes aquáticos, fato atribuído aos processos de lixiviação e oxidação, tidos como secundários, e as rotas catabolíticas dos organismos decompositores como principais.

Dentre estes estudos citados apenas dois (Schoenlein-Crusius 1993, Moreira 2003) relacionaram a velocidade de decomposição com ocorrência de fungos, ambos realizados na mata atlântica em ambientes lóticos, nos quais foram verificadas altas correlações da comunidade fúngica com o processo de decomposição.

Nestes estudos há necessidade de se compatibilizar os procedimentos para obtenção dos

fungos com a estimativa de decomposição dos substratos. A análise e avaliação da velocidade de decomposição de matéria orgânica é normalmente realizada através do modelo matemático exponencial para estimar a perda de peso através do tempo, que define o coeficiente de decomposição, chamado de k , obtido através da regressão linear do logaritmo natural da matéria orgânica remanescente pelo tempo em que o material sofreu decomposição (Olson 1963). Embora sofra muitas críticas, este modelo matemático tem sido largamente utilizado em diversos trabalhos desenvolvidos em regiões de clima temperado e tropical, incluindo os estudos com abordagem em micologia (StruffaLdi- de- Vuono 1989, Moura 1997, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Magalhães 2002, Moreira 2002). Outro tipo de análise é realizada a partir da perda de peso do material foliar através do tempo, sendo expressa em porcentagem de matéria orgânica remanescente e rapidez de decomposição de metade do material, como descrito por Petersen & Cummins (1974).

1.4. Ergosterol como medida de biomassa fúngica

Os fungos são organismos de difícil quantificação por conta do tipo de associação existente entre a biomassa fúngica e os substratos, no qual o micélio fúngico encontra-se imerso dificultando a separação e quantificação (Newell 1992). Segundo o mesmo autor, para se entender a cadeia de detritos e a decomposição de serrapilheira, tanto em ambientes aquáticos como terrestres, torna-se necessário conhecer a máquina decompositora e como esta trabalha, demonstrando as interações que resultam na ciclagem de nutriente. Assim conhecimentos sobre a biomassa fúngica podem adicionar informações quanto a importância destes microrganismos no processamento da matéria orgânica e na dinâmica trófica dos diferentes ecossistemas (Gessner & Schwoerbel 1991, Gessner & Chauvet 1997, Malosso 1999). Segundo Frankland (1992), a inadequação de técnicas e de métodos para mensurar biomassa fúngica sempre foi o maior problema dentro dos estudos sobre ecologia microbiana.

Muitas técnicas foram desenvolvidas para quantificação da biomassa fúngica, dentre elas utilizou-se a quantificação do biovolume fúngico através de microscopia direta para medição das

hifas. Apesar de largamente utilizada pode subestimar ou superestimar a análise, já que, avalia o biovolume fúngico através da fragmentação do substrato e exposição do micélio por diferentes métodos, como centrifugação, que pode liberar apenas partes do micélio e não este de forma completa, ou pode liberá-lo e arrebatá-lo, ou ainda pode liberar pedaços de hifas já mortas que, ao serem visualizadas em microscópio, podem ser medidas e quantificadas junto ao volume total de micélio vivo (Newell 1992).

Pelo problema da inacessibilidade do micélio fúngico embebido nos substratos muitas vezes opacos e escuros, foram desenvolvidas técnicas responsáveis por extrair e quantificar moléculas ou componentes celulares destes microrganismos, não encontrados nos substratos colonizados, tais como, a glicosamina, ATP e o ergosterol (Newell 1992).

Em trabalho realizado para comparação de ATP e ergosterol como indicadores de biomassa fúngica, os resultados demonstraram que ambos são correlacionados e podem indicar o metabolismo fúngico em substratos em decomposição. Entretanto, pela molécula de ATP não ser específica aos fungos, pode superestimar valores demonstrando resultados metabólicos de toda a comunidade associada ao substrato. Desta forma, em trabalhos de campo, esta deve ser utilizada apenas como parâmetro, sempre associada à quantificação de ergosterol (Suberkropp *et al.* 1993).

A glicosamina é um monômero de quitina, polímero constituinte da parede celular dos fungos, com exceção de algumas leveduras e da maioria dos Oomycetes. Pode ser mensurada colorimetricamente depois de hidrólise sofrida por aplicação de ácidos e bases fortes ou digestão através de quitinase, por eletroforese ou cromatografia (Newell 1992).

Segundo Newell (1992), os pontos negativos encontrados na análise da glicosamina para quantificação da biomassa fúngica levam, da mesma maneira que a quantificação do biovolume fúngico, à subestimação e superestimação, pois a glicosamina não é específica aos fungos, podendo ser encontrada em bactérias, algas verdes, diatomáceas, protozoários, além de macroinvertebrados. Somado a isto, mesmo as hifas já não ativas metabolicamente ou até mesmo mortas podem apresentar altas taxas de glicosamina não decomposta, já que esta pode resistir à degradação e

acumular-se como polímero recalcitrante. Assim, a utilização desta molécula para quantificação da biomassa fúngica durante a decomposição de substratos submersos deve ser utilizada com cautela, já que nestes ambientes os substratos são amplamente colonizados por micro e macroinvertebrados além da possível deposição de algas e diatomáceas que pode ocorrer se o substrato estiver em local iluminado.

A técnica de quantificação da molécula de ergosterol como método de determinação da biomassa fúngica foi desenvolvida para avaliação da contaminação de grãos armazenados (Seitz *et al.* 1979), posteriormente foi aplicada em solos, folhedos e lodo ativado (Newell 1988, Gessner & Schworbel 1991, Gessner *et al.* 1991). O ergosterol é um lipídio da classe dos esteróis e constituinte da membrana celular de fungos verdadeiro, podendo também ser encontrada no citoplasma de alguns protozoários e microalgas (Peeler *et al.* 1989; Newell 1992, Disch *et al.* 1998). É largamente utilizado para quantificação da biomassa fúngica viva e ativa na decomposição de substratos submersos (Gessner & Chauvet 1993), estando relacionado à fluidez da membrana e conseqüentemente ao crescimento fúngico (Behalová *et al.* 1994).

Segundo Newell (1992), alguns microrganismos estudados pelos micologistas não produzem ergosterol, fazem parte deste grupo as quitrídias, Oomycetes, Hyphochytriomycetes, fungos causadores de ferrugens e algumas leveduras, porém, trabalhos recentes vêm demonstrando que espécies pertencentes ao grupo dos Oomycetes, como *Phytophthora drechsleri* e *Zoophagus insidians*, podem apresentar, mesmo que em menor concentração, ergosterol como constituinte celular (Warner & Domnas 1982, Trigos *et al.* 2005).

Segundo Suberkropp (1992), em riachos e rios localizados em regiões temperadas, os hifomicetos aquáticos são os fungos de maior ocorrência e dominância durante a decomposição de substratos foliares submersos. São adaptados a esporular mesmo em baixas temperaturas, produzem grandes quantidades de exoenzimas necessárias à degradação de polímeros estruturais foliares e com isso auxiliam, na fragmentação destes substratos (Suberkropp 1992). De acordo com Suberkropp (1991, 1992) foi verificada correlação entre o crescimento e esporulação fúngica de

espécies de hifomicetos aquáticos, sendo, estas mudanças nas taxas de crescimento e esporulações também correlacionadas às mudanças na biomassa microbiana associada às folhas (Suberkropp *et al.* 1993).

Em ambientes aquáticos de regiões de clima temperado, muitos estudos foram desenvolvidos quanto à biomassa e diversidade de hifomicetos aquáticos envolvidos na decomposição de folhas, a fim de investigar a intensidade de colonização. A técnica mais largamente utilizada é a de quantificação do teor de ergosterol contida nos substratos (Gessner *et al.* 1991; Bärlocher 1992, Gessner & Chauvet 1993, Suberkropp *et al.* 1993; Kominková *et al.* 2000; Gessner & Newell 2002, Gessner *et al.* 2003).

Gessner & Chauver (1993) estabeleceram um fator empírico para a conversão do teor de ergosterol em biomassa fúngica, através da avaliação da diversidade de hifomicetos aquáticos e isolamento das espécies dominantes e quantificação do ergosterol nas culturas puras em condições artificiais e semelhantes às naturais, chegando a um fator de correção de 182 ou 5,5 mg de ergosterol por grama de micélio seco ($5,5 \text{ mg g}^{-1}$). Fator utilizado largamente em regiões de clima temperado (Suberkropp 1997, Komínková *et al.* 2000; Suberkropp 2001, Gessner & Newell 2002, Gessner *et al.* 2003).

Malosso (1995) conduziu o levantamento sobre a diversidade de hifomicetos aquáticos no Rio de Monjolinho no município de São Carlos. Posteriormente ampliou o levantamento deste grupo de fungos, abrangendo a coleta de amostras em diversos locais do Sistema Monjolinho - Rio Jacaré e da Represa do Guarapiranga, na cidade de São Paulo, comparando a diversidade da micota de folhedos submersos nos dois locais (Malosso 1999). A biomassa fúngica foi estimada através da determinação dos teores de ergosterol, verificando-se que nem sempre amostras de folhedo intensivamente colonizadas por hifomicetos aquáticos possuem teores correspondentes de biomassa. Em trabalho realizado na mata atlântica Schoenlein-Crusius *et al.* (dados não publicados) verificaram resultados semelhantes, com maiores teores de ergosterol sendo observados em situação

de pouca diversidade destes fungos nas folhas, demonstrando relação inversa dos dois parâmetros, dados que contradizem experimentos realizados em regiões de clima temperado.

Embora os dados acima citados demonstrem possível correlação entre a colonização fúngica e os teores de ergosterol em folheto submerso, Silva (2004), em trabalho realizado com o objetivo de avaliar a produção de biomassa e crescimento fúngico de espécies de basidiomicetos demonstrou que a produção de ergosterol pode estar relacionada às características específicas das espécies de fungos, sendo assim, a quantidade de ergosterol pode variar de espécie para espécie durante as diferentes fases de crescimento, o que impossibilita afirmar a existência de tal correlação.

No Brasil os trabalhos realizados para avaliação de teores de ergosterol enfocam associações micorrízicas, contaminação de grãos e solo (Galli 1996, Perez 1996, Silva 2004) sendo apenas dois trabalhos de cunho limnológico (Malosso *et al.* 1999, Schoenlein-Crusius *et al.*, comunicação pessoal), justificando a abordagem do presente tema a fim de contribuir para os conhecimentos sobre a dinâmica de decomposição em ambientes aquáticos.

1.5. Área de Estudo

O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) constitui um dos mais significativos remanescentes de Mata Atlântica em uma área urbana, ocupando cerca de 526,38 ha, na parte sudeste do município de São Paulo, e limite com o município de Diadema, entre os paralelos 23°38'08''S e 23°40'18''S e os meridianos 46°36'48''W e 46°38'00''W (Figura 1) (Fernandes *et al.* 2002) com altitudes entre 770 e 825m (Barbosa *et al.* 2002).

O PEFI foi criado em 1893 com a finalidade de proteger os recursos hídricos da bacia do Riacho do Ipiranga, e suplementar o abastecimento de água na capital (Barbosa *et al.* 2002). São conhecidas na área 24 nascentes, responsáveis por alimentar partes das drenagens que cortam a região (Pereira *et al.* 2002).

Segundo Fernandes *et al.* (2002) a reserva inclui 10 sub-bacias hidrográficas que foram agrupadas conforme as redes de drenagem que alimentam os Lagos do Parque. A sub-bacia

denominada Sub-bacia das Garças, está contida em uma área de 140,60 ha, é abastecida por 14 nascentes, responsáveis por alimentar os lagos do Zoológico e o Lago das Garças, este último situado no Instituto de Botânica. A Sub-bacia das Ninféias está situada no Jardim Botânico, ocupa uma área de 56,57 ha, é abastecida por algumas nascentes sendo cinco visitadas em trabalho de campo. A terceira Sub-bacia é denominada Imigrantes, está inserida em uma área de 169,66 ha, e é limitada pela Rodovia dos Imigrantes. Na jusante suas águas canalizadas atravessam e seguem paralelamente à Rodovia dos Imigrantes, até emergirem entre duas importantes avenidas e juntarem-se mais tarde ao rio Tamanduateí.



Figura 1. Imagem de Satélite do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) em meio a área urbana de São Paulo (Foto: <http://earth.google.com/>). Legenda: n° 1 – Lago das Garças, n° 2 – Lago das Ninféias.

De acordo com Pereira *et al.* (2002) as sub-bacias citadas acima são abastecidas por dois aquíferos situados sob o parque, o Aquífero Cristalino e o Aquífero Sedimentar. O primeiro é representado pelas rochas do Embasamento Cristalino que se encontram bastante alteradas,

ocorrendo em praticamente toda a área do parque, com exceção da parte noroeste onde a unidade se encontra recoberta pelos sedimentos do Aquífero Sedimentar. Segundo o mesmo autor, os dois aquíferos apresentam comportamento de aquífero livre, recarregados através da filtração da água de precipitação, que infiltra pelo solo atingindo o lençol freático, o que mostra a importância da manutenção das áreas de drenagens do parque.

A diminuição na taxa de recarga dos aquíferos pode influenciar as vazões das nascentes e poços do parque, sendo que um dos fatores que afeta esta taxa é o tipo de cobertura do solo, alterada pela destruição da vegetação de cobertura e impermeabilização através de construções e pavimentações, fato que torna a preservação do remanescente florestal do parque fundamental (Pereira *et al.* 2002).

O PEFI apresenta vegetação do grupo das florestas semidecíduas de planalto, pertencente ao grupo das florestas pluviais tropicais do Domínio da Mata Atlântica (Pivello & Peccinini 2002). A grande diversidade de formação vegetal da área é decorrente das variações longitudinal, altitudinal e geomorfológica, que acabam proporcionando a criação de diferentes habitats abrigando grande biodiversidade de organismos adaptados e imensa diversidade de espécies (Pivello & Peccinini 2002). Segundo Barros *et al.* (2002) o parque possui uma flora fanerogâmica composta de 129 famílias, 543 gêneros e 1.159 espécies, sendo 10 espécies cosmopolitas e quatro introduzidas, e possui características tanto de floresta mesófila como ombrófila, sendo a última mais predominante.

Segundo Pivello & Peccinini (2002), por conta da grande ocupação dessas áreas de planalto pela população, boa parte da vegetação encontra-se destruída, substituída por áreas urbanas e de atividades agropecuárias. Mesmo que fragmentadas, as florestas de planalto têm grande importância ecológica na conservação da biodiversidade, aquíferos e mananciais.

Por se situar em área urbana e possuir além de áreas florestais, institutos de pesquisa, lazer e instituições de serviços, o parque sofre grandes perturbações, podendo ser encontradas florestas secundárias tanto em degeneração quanto em regeneração. Dentre estas estão florestas com dossel heterogêneo, homogêneo e descontínuo (degradada), de porte alto e baixo, esparsas e densas, além

de locais com estratos arbustivos, herbáceos e locais reflorestados, sendo apenas as primeiras citadas acima, nativas (Pivello & Peccinini 2002).

Como citado anteriormente, as nascentes encontradas no PEFI dão origem a uma grande quantidade de drenagens, que abastecem nove reservatórios encontrados dentro do parque (Pereira *et al.*, 2002). Segundo Bicudo *et al.* (2002b) dos nove reservatórios, três estão sendo estudados, são eles: Lago das Garças, Lago das Ninféias e Lago do IAG. São considerados ecossistemas artificiais, intermediários entre rios e lagos, de pequeno porte por possuírem volumes menores que 100.000 m³. Segundo o monitoramento realizado apresentam diferentes estados tróficos sendo, o Lago das Garças classificado como hipereutrófico, o Lago das Ninféias mesotrófico e Lago do IAG como oligotrófico (Bicudo *et al.* 2002b).

1.6. Trabalhos sobre fungos realizados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga

De acordo com Lopes & Bicudo (2002), há praticamente 75 anos são publicados trabalhos sobre as espécies vegetais que ocorrem no PEFI, em número superior a 383 artigos publicados e elevados números de monografias, dissertações e teses. A maioria dos trabalhos está relacionada com a flora fanerogâmica sendo a flora criptogâmica abordada somente em 183 trabalhos, dos quais 15% tratam de fungos. Dentre estes trabalhos a maioria é de cunho taxonômico, estando os trabalhos ecológicos representados em número bem menor, já que foram iniciados tardiamente nos anos 80, com a diagnose da paisagem do Jardim Botânico contendo descrições quantitativas da vegetação, levantamentos das condições químicas e físicas de sistemas aquáticos e problemas de degradação da vegetação pela poluição industrial decorrente da urbanização ao redor. Todos os trabalhos citados logo a baixo constam em Bicudo *et al.* (2002a).

Entre diversos estudos sobre fungos, destacam-se os levantamentos de fungos basidiomicetos conduzidos por Fidalgo *et al.* (1960), Fidalgo (1963), Fidalgo & Fidalgo (1962, 1970), Singer & Fidalgo (1965), Teixeira & Fidalgo (1983) e Grandi *et al.* (1984). Os fungos macroscópicos depositados no Herbário foram estudados por Bononi *et al.* (1981), bem como os

fungos basidiomicetos associados a formigueiro (Bononi *et al.* 1981), fungos corticóides do Brasil (Hjortstam & Bononi 1986 a e 1986 b), fungos agaricóides (Pegler 1997), fungos da Ordem Boletales (Singer 1964), fungos da Ordem Aphyllophorales (Soares & Gugliotta 1998), fungos da Ordem Tremellales (Wells 1969).

Descrições taxonômicas detalhadas de diversas espécies de fungos micorrízicos observados no solo do PEFI podem ser consultadas em Bononi *et al.* (1990), Trufem *et al.* (1990) e Grandi & Trufem (1991).

Entre os estudos sobre Mucorales (Zygomycota), destaca-se o levantamento geral realizado por Trufem (1978) e os específicos referentes a espécies coprófilas (Trufem & Viriato 1985), as do grupo Pilobolaceae (Viriato & Trufem 1985a) e as espécies merosporangiadas (Viriato & Trufem 1985b).

Ainda no ambiente terrestre, destacam-se os levantamentos de Hyphomycetes associados às raízes em decomposição de *Calathea stramata* (Grandi 1990), *Maranta bicolor* Ker. (Grandi 1991a), *Ctenanthe oppenheimiana* Sond. (Grandi 1991b) e *Stramanthe sanguinea* Sond. (Grandi 1992b). Também foram estudadas duas espécies de Ascomycetes associadas às raízes (Grandi 1992a).

Estudos taxonômicos e sobre bioindicadores com relação aos fungos liquenizados encontrados no parque foram realizados por Nagaoka & Marcelli (1989), Silva-Filho *et al.* (1989) e Marcelli (1998).

O desequilíbrio ecológico causado pelo aumento exagerado da população de garças e biguás no entorno do Lago das Garças justificou o estudo dos efeitos da presença de excrementos de aves sobre a micota do solo (Ninomiya *et al.* 1993), com ênfase especial para espécies de Mucorales, verificando-se que a diversidade da micota terrestre se manteve apesar do impacto ambiental (Schoenlein-Crusius *et al.* 1996).

No ambiente aquático, os fungos zoospóricos em amostras de água, solo e substratos orgânicos foram estudados por Beneke & Rogers (1962), Rogers & Beneke (1962), Furtado (1965)

Rogers *et al.* (1970), Lyra & Milanez (1974) Milanez (1965a, b, 1984a, b) e Milanez & Val (1969). Pelizon & Milanez (1979) estudaram os fungos zoospóricos parasitas de algas. Também foram estudados os fungos zoospóricos associados a frutos submersos (Milanez & Trufem 1981, 1984).

Levantamentos de diversos grupos de fungos zoospóricos, com coletas mais extensivas foram conduzidos na década de 90, iniciado pelo trabalho de planejamento realizado sobre criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (Milanez *et al.* 1990) seguido por diversos artigos que contém descrições, ilustrações e chaves de identificação (Milanez *et al.* 1994, 1995, 1996, Pires-Zottarelli *et al.* 1995, 1996 a, 1996 b) e em 2004 foi concluído o estudo dos fungos zoospóricos em reservatórios do PEFI, no qual foram comparadas as ocorrências destes microrganismos em ambientes aquáticos com diferentes graus de estado trófico com o objetivo de verificar a influência das condições destes reservatórios sobre a diversidade dos fungos (Rocha 2004).

No final da década de 80 Schoenlein-Crusius & Milanez. (1989) realizaram o primeiro estudo no Brasil sobre a ecologia sucessional da micota decompositora de substratos submersos no PEFI.

Apenas dois trabalhos sobre hifomicetos aquáticos foram desenvolvidos no parque: Schoenlein-Crusius & Milanez (1990), no qual foi realizado o levantamento desses fungos em seis diferentes locais do Estado de São Paulo, dentre eles no PEFI, mais precisamente no Lago das Garças, e Schoenlein-Crusius & Moreira (comunicação pessoal) no qual foram escolhidos dez diferentes locais de coletas, dentro do PEFI, mesclando áreas pouco e altamente antropizadas, além de ambientes lóticos e lênticos.

Foram ainda realizados levantamentos de fungos terrestres em solo afetado por pássaros (Ninimiya *et al.* 1993, Schoenlein-Crusius *et al.* 1996), estudos sobre os aspectos ecológicos de Mucorales em solo e em fezes de herbívoros (Viriato 1996), estudo sobre a interação de briófitas e fungos (Vital *et al.* 2000) e levantamentos e avaliações de elementos traços em líquens (Saiki *et al.* 1997, 2000, Coccaro *et al.* 1999, 2000 a, b).

Assim, com base na apresentação de dados procedentes de diversos projetos de pesquisa científicos interinstitucionais concluiu-se que o PEFI dispõe de diversos ambientes aquáticos e terrestres, abrangendo desde riachos, córregos, nascentes e lagos com diferentes graus de eutrofização, constituindo assim um “laboratório natural” para estudos de biodiversidade e conservação dos ecossistemas (Barbosa 2002), o que justifica a escolha do PEFI para a realização do presente estudo.

2. Objetivos

- Avaliar a diversidade da micota (geofungos, hifomicetos aquáticos e fungos zoospóricos) associada a folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn submersas, verificando a ocorrência de sucessão de fungos ao longo do processo de decomposição das mesmas em reservatórios localizados no PEFI;
- Avaliar a utilização do ergosterol como metodologia para a mensuração da biomassa fúngica e sua relação com a velocidade de decomposição de folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn.;
- Avaliar a influência do estado trófico dos reservatórios (eutrófico e mesotrófico) sobre a velocidade de decomposição das folhas submersas, biomassa (ergosterol) e diversidade de fungos (sucessão fúngica).

3. Materiais e Métodos

3.1. Descrição das áreas de estudo

Para o desenvolvimento dos experimentos foram selecionados dois reservatórios localizados dentro do PEFI, o Lago das Garças, ambiente hipereutrófico e o Lago das Ninféias, ambiente mesotrófico (Figura 1), ambos apresentam comportamento térmico influenciados pelos eventos sazonais climáticos e classificados como polimíticos quentes descontínuos, com total desestratificação no inverno e parcial no final do outono e início da primavera (Bicudo *et al.* 2002). São considerados ecossistemas artificiais intermediários entre rios e lagos, já que possuem tempo de residência baixo (Esteves 1998, Bicudo *et al.* 2002).

O Lago das Garças foi escolhido por ser eutrofizado, com períodos de ocorrências de blooms de cianobactérias por conta do elevado aporte de nitrogênio e fósforo, sendo receptor de esgotos vindos: da Fundação Zoológico; da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Localiza-se em área de jurisdição do Instituto de Botânica, possui ao seu redor área urbanizada com grande movimento de veículos e área ocupada por vegetação do estrato herbáceo e floresta com dossel homogêneo esparsa (Carmo *et al.* 2002, Pivello & Peccinini 2002).

O Lago das Garças apresenta área de 88.156 m², volume de 188.785 m³, profundidade máxima de 4,7 m e tempo médio de residência de 45,4 dias (Bicudo *et al.* 2002b).

O Lago das Ninféias localiza-se em área de visitação pública, dentro do Jardim Botânico. É um reservatório raso com profundidade máxima de 3,6 m, colonizado por densa população de macrófitas enraizadas, apresentando área de 5.433 m² e volume de 7.170 m³ com tempo de residência média de 7,2 dias (Bicudo *et al.* 2002b). Segundo Carmo *et al.* (2002), o lago apresenta uma tendência ao aumento da carga de nitrogênio e estabilidade na carga de fósforo, sendo que o principal tributário apresenta um brejo no local de entrada de água, o que auxilia a diminuição do aporte de nutrientes.



Figura 2. Vista parcial do Lago das Ninféias. (Foto: Carolina Gasch Moreira)



Figura 3. Margem direita do Lago das Ninféias. (Foto: Carolina Gasch Moreira)



Figura 4. Vista parcial do Lago das Garças (Foto: Carolina Gasch Moreira)



Figura 5. Margem esquerda do Lago das Garças, próximo à jusante, local onde foram presas as amostras (Foto: Carolina Gasch Moreira)

3.2. Preparo dos experimentos de campo e coletas

Foram escolhidas três árvores da espécie *Tibouchina pulchra* Cogn, situadas dentro do parque, das quais foram coletadas quatro sacos de 100 L de folhas. Esta espécie, segundo a flora fanerogâmica do PEFI, constitui espécie representativa da região, é caracterizada como arbórea, perenifólia, heliófita e pioneira, popularmente conhecida como manacá-da-serra. É uma espécie característica da Serra do Mar nos Estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e em lugares de mata secundária, chegando a ser dominante nestas regiões (Barros *et al.* 2002, Chiea 1990).

No laboratório, os sacos, contendo as folhas ainda verdes, foram deixados abertos e em lugar ventilado para a secagem das mesmas. Após uma semana, as folhas foram selecionadas e divididas em amostras com aproximadamente 10g, colocadas em sacos de papel (aproximadamente 200 unidades) e secas na estufa (60°C) durante uma semana para ajuste e obtenção do peso seco inicial (Chapman 1976).

Após a obtenção do peso seco inicial, as folhas foram transferidas para sacos confeccionados em tela de náilon, com malha de 1 mm de diâmetro. Em janeiro de 2004, cem unidades foram atadas umas as outras com fio de náilon (tipo pesca – 30 kg) e submersas em uma das margens de cada reservatório, em profundidade aproximada de 40 cm da superfície. Vinte amostras de cada reservatório foram coletadas quinzenalmente durante 2,5 meses, sempre no período da manhã.

Durante as coletas foram feitas medições da temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade da água dos reservatórios, com auxílio do equipamento U – 10 Horiba.

Os dados climáticos (temperatura média do ar, umidade relativa, precipitação e insolação) foram fornecidos pelo Instituto Astronômico e Geofísico - Departamento de Ciências Atmosféricas, situado dentro do Parque do Estadual das Fontes do Ipiranga, próximo aos locais de coleta.

3.3. Isolamento e identificação dos fungos associados ao substrato em decomposição

Dos vinte sacos de tela de náilon coletados quinzenalmente de cada reservatório, cinco unidades foram destinadas para o isolamento dos fungos. O procedimento descrito a seguir refere-se ao que foi conduzido para cada um dos reservatórios.

As folhas coletadas foram trazidas ao laboratório, retiradas dos sacos de tela de náilon e lavadas com água destilada esterilizada para eliminar detritos aderidos à superfície. Posteriormente foram cortados discos de aproximadamente 5 mm de diâmetro, com auxílio de um vazador previamente esterilizado. Foram cortados aproximadamente 400 discos, do maior número de folhas possível. Estes foram lavados 15 vezes sucessivamente, trocando-se a água destilada esterilizada (50mL) a cada lavagem e agitação por um minuto, de acordo com procedimentos descritos em Pugh *et al.* (1972). Posteriormente os discos foram submetidos a três técnicas de isolamento, descritas a seguir:

a) Colocação em meio de cultura e câmara úmida: foram preparadas 20 placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (Difco Manual 1972) e 10 placas contendo papel de filtro esterilizado (Harley & Waid 1955), totalizando 30 placas para as folhas coletadas em cada reservatório. Cada placa de Petri contendo meio de cultura recebeu cinco discos lavados enquanto que as placas contendo papel filtro receberam dez. Os fragmentos foliares foram colocados de forma equidistante, perfazendo a incubação de 400 discos na temperatura de 20 a 25° C durante uma semana para as culturas e 15 dias para as câmaras úmidas.

Posteriormente, para as placas contendo meio de cultura, as colônias desenvolvidas ao redor dos fragmentos foliares foram transferidas para novas placas com meios de cultura BDA ou meios específicos como, SMA – synthetic Mucor agar (Hesseltine 1954) MEA (extrato de malte), CYA (Czapek-extrato de levedura-ágar) (Pitt 2000) para purificação e identificação.

Para identificação os fungos mitospóricos, representantes de Mucorales e Ascomycota pertencentes ao ambiente terrestre, colocados em meio de cultura, foram observadas as características macroscópicas das colônias (exemplo: tipo e velocidade de crescimento, cor do

micélio, etc.) as características microscópicas (estruturas somáticas, reprodutivas, crescimento do micélio, estruturas de resistência, entre outras), as quais foram registradas para utilização em chaves de identificação específicas para cada grupo (Barron 1668, Barnett & Hunter 1999, Bisset 1983, Domsch *et al.* 1980, Ellis 1971, Gams 1971, Rifai 1969, Nelsson *et al.* 1988 Samson 1974, Sutton 1980 Peerally 1991, Pitt 2000). As placas contendo papel filtro foram observadas em lupa, para isolamento.

As câmaras úmidas foram observadas diretamente em lupas para visualização de estruturas de reprodução formadas diretamente no substrato. Apesar de largamente utilizada, esta metodologia mostrou-se insatisfatória para o presente estudo, não possibilitando a visualização de fungos por conta da elevada quantidade de bactérias, leveduras que se desenvolveram no substrato, impossibilitando a visualização e isolamento dos fungos.

b) Incubação em água destilada esterilizada: foram preparadas 10 placas de Petri contendo água destilada esterilizada. Cada placa recebeu 10 discos de folhas lavados, perfazendo o total de 100 discos incubados na temperatura de aproximadamente 15° C durante 3 – 5 dias. Posteriormente os discos foram transferidos para lâminas contendo uma gota de solução 2% de glicerina, cobertos com lamínula esterilizada e observados ao microscópio à procura de estruturas reprodutivas de hifomicetos aquáticos. Após a observação, a lamínula foi removida e, com auxílio de pipeta Pasteur esterilizada, conídios e/ou conidióforos foram transferidos para meio de extrato de malte (2%) para promover o crescimento de colônias. As identificações foram realizadas segundo Ingold (1975).

c) Colocação em contato com “iscas”: foram preparadas 10 placas de Petri contendo água destilada esterilizada acrescidas de iscas à base de quitina, celulose e queratina, tais como celofane, ecdise de camarão, pele de cobra, pólen, cabelo de criança loira, metades de sementes de sorgo e palha de milho (Milanez, 1989) e 10 discos de folhas lavados, perfazendo o total de 100 discos incubados na temperatura de 20 a 25° C durante 3-5 dias. Posteriormente os discos foram transferidos para lâminas contendo uma gota de solução 2% de glicerina, cobertos com lamínula e observados ao microscópio à procura de estruturas reprodutivas de fungos zoospóricos. Durante a

observação das iscas colonizadas por fungos zoospóricos, as características taxonomicamente relevantes foram imediatamente registradas e, quando possível, ilustradas com auxílio de câmara clara. Novas iscas foram acrescentadas às placas contendo as amostras para promover a purificação e manutenção da viabilidade dos fungos que se desenvolvem com dificuldade nos meios de cultura usuais (principalmente representantes de Chytridiomycota). Após o desenvolvimento das colônias nas metades das sementes de sorgo, uma pequena porção da colônia foi inoculada, com auxílio de uma pinça, em meios de cultura específicos, tais como maltose-peptona-ágar (MP5) (Beneke & Rogers, 1962), “corn-meal-ágar” DIFCO, acrescido de penicilina, primaricina e estreptomicina (CMA + p.p.e.) (Carvalho & Milanez 1989), batata-dextrose-ágar (BDA) e batata-cenoura-ágar (BCA) (Plaats-Niterink 1981). Após este procedimento pequenas alíquotas das colônias foram novamente incubadas em água destilada esterilizada com metades de sementes de sorgo, para promover o desenvolvimento de estruturas que somente se desenvolvem em condições submersas sem contaminações por outros microrganismos.

A identificação dos fungos foi realizada segundo trabalhos específicos (Karling 1977, Plaats-Niterink 1981).

Os fungos identificados e passíveis de conservação foram preservados pela técnica de Castellani serão incorporadas à Coleção de Culturas da Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica.

3.4. Determinação da velocidade de decomposição das folhas de *Tibouchina pulchra*

A velocidade de decomposição das folhas foi determinada através do estabelecimento do coeficiente k de Olson (1963) e da equação que expressa a perda de matéria orgânica durante os períodos nos quais as amostras permaneceram no campo (Schoenlein-Crusius 1989, Moreira 2002). Para isso, dos vinte sacos de náilon coletados quinzenalmente de cada reservatório, dez foram separados, aleatoriamente, e lavados vigorosamente para a retirada de detritos, não pertencentes ao substrato em estudo.

As folhas foram retiradas dos sacos de náilon e recolocadas nos sacos de papel com numeração correspondente, os quais foram, então, colocados e mantidos em estufa em temperatura de 60° C até obtenção do peso constante (g) ou peso seco final (P. S. F.). Após obtenção do peso seco final, fracionou-se um grama das folhas contidas em cada saco de papel para obtenção da quantidade de matéria inorgânica remanescente da decomposição (cinzas), através da incineração em mufla a 550° C durante três horas. As cinzas restantes da combustão foram pesadas e os valores obtidos dos teores de cinzas (T. C.) foram utilizados para cálculo e determinação da matéria orgânica remanescente (M.O.R.) da decomposição (Chapman 1976), através da extrapolação da diferença entre peso seco final e teor de cinzas, expressos pela regressão matemática que expressa as perdas de matéria orgânica no período de tempo de estudo dos dois reservatórios.

O coeficiente k (Olson 1963) é calculado com base na seguinte fórmula:

$$k = (\ln X_0 - \ln X)/t$$

Onde: X_0 - valor do peso seco inicial (P. S. I.);

X - valor do peso final (P. S. F.);

t - tempo medido em dias;

k - taxa de decomposição ou perda de peso.

3.5. Quantificação do ergosterol contido nas folhas

A metodologia para a determinação de ergosterol nas amostras foi baseada nos protocolos descritos em Gessner & Chauvet (1993), Miler *et al.* (1998), Montgomery (2000) consorciados e aperfeiçoados por Silva (2004).

As cinco amostras remanescentes coletadas quinzenalmente foram utilizadas para a determinação do teor de ergosterol contido no folheto. As folhas foram retiradas dos sacos de tela de náilon, lavadas vigorosamente para retirada de material aderido, pesadas (5 g) junto a fracos escuros com tampa, de pesos já conhecidos, para obtenção do peso úmido e congeladas para

posterior liofilização em aparelho cedido pela Seção de Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. Após liofilização, os frascos foram acondicionados em dessecador para estabilização em temperatura ambiente e pesados em balança semi-analítica para determinação do peso seco e obtenção do teor de umidade do folheto.

Após os procedimentos citados acima as amostras de folheto, em triplicatas, foram submetidas a três etapas básicas para extração do ergosterol, descritas a seguir:

a) Saponificação: a cada amostra foram acrescentados 26mL de solução extratora, composta por 20mL de metanol p.a., 5mL de etanol p.a. e 2g de KOH p.a. As amostras foram agitadas em mesa agitadoras durante 5 minutos, colocadas em Banho-Maria por 40 minutos, na temperatura de 70 °C e esfriadas na temperatura ambiente. Em seguida as amostras foram centrifugadas (10 minutos, 10.000 rpm, 25 a 26 °C) em centrífuga Eppendorf, com o acréscimo de 5mL de água destilada esterilizada para cada amostra. O máximo volume da fase líquida foi transferido com uma pipeta automática para um tubo de ensaio com rosca.

b) Separação de fases: esta etapa foi realizada com o auxílio de seis balões de separação (capacidade de 150-200mL), com torneira de teflon e tampa esmerilhada, sobre suportes de metal, dentro da capela de exaustão. Às amostras foram acrescentadas alíquotas de hexano p.a. para obtenção de uma solução 1:1, que foi agitada durante 2 minutos, havendo depois a espera de 10 minutos para que ocorresse a separação de uma fase transparente na parte de cima e outra, colorida (amarela ou esverdeada) na parte de baixo. A fase transparente foi vertida em uma proveta graduada, na qual o volume foi medido e anotado para cada amostra. Em seguida o conteúdo da proveta foi transferido para tubo de ensaio vidro pirex com rosca (capacidade de 50mL).

c) Evaporação e ressuspensão das amostras: a evaporação do hexano presente na amostra foi realizada em sistema de rotoevaporador dentro da capela de exaustão à 40°C. Posteriormente foi conduzida a ressuspensão do precipitado acrescentando 2mL de metanol para HPLC a cada amostra, que foi agitada 30 segundos para solubilização completa do precipitado. O volume

ressuspenso foi transferido com pipetador automático para um tubo Eppendorf (capacidade de 2mL).

As amostras obtidas da forma descrita acima foram mantidas no freezer para posterior leitura do ergosterol no aparelho HPLC da Seção de Micologia e Liquenologia Aplicada do Instituto de Botânica. Anteriormente à leitura, as amostras foram filtradas em unidades filtrantes (MILIPORE – 0,45 µm com membrana durapore) para posterior análise.

Para leitura das amostras foram utilizadas alíquotas de 20 µL do extrato, injetadas manualmente em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Varian – Pro Star 325), equipado com coluna C18 (micerosorb-mv em 5 – 250/ 4. mm). A fase móvel foi realizada com metanol MEKC – HPLC com taxa de fluxo de 2 mL min⁻¹ e para detecção do ergosterol utilizou-se luz UV em comprimento de onda de 282 nm, em sala refrigerada a 21 °C.

A quantidade de ergosterol dos extratos foi calculada pela curva padrão estabelecida a partir de seis pontos de diluição da solução estoque obtida através de diluições padronizadas de 10,2 mg de ergosterol cristalizado (SIGMA E – 6510), diluído em metanol MEKC – HPLC para o volume de 100 mL (Silva 2004). Foram realizadas três vezes a leituras de cada diluição para determinar os pontos da curva-padrão (Tabela 1).

Tabela 1. Diluições da solução de ergosterol para a determinação da curva-padrão.

Padrões	Quantidade de		Massa de	
	% de Diluição	Solução Estoque (µL)	Quantidade de Metanol (µL)	Ergosterol mL ⁻¹ (µg)
1	97	30	970	2,295
2	88	120	880	9,18
3	75	250	750	19,125
4	50	500	500	38,25
5	0	1000	-	76,5

Para o cálculo da biomassa fúngica no folheto foram utilizadas as concentrações de ergosterol obtidas a partir da leitura em HPLC, convertida em $\mu\text{g/g}$. Para comparação com dados bibliográficos existentes, os valores encontrados foram multiplicados pelo fator de conversão de 182, determinado por Gessner & Chauvet (1993).

3.6. Forma de tratamento dos resultados

Os táxons de fungos foram registrados em tabelas contendo cada local e coletas, proporcionando assim a comparação das ocorrências das espécies e diferenças na composição das micotas dos diferentes reservatórios.

Foi aplicado o índice de similaridade de Sørensen (Müller-Dombois & Ellenberg 1974) para comparar resultados dois a dois, a fim de calcular a similaridade entre as micotas das folhas de cada coleta e de cada ponto.

Cálculo do índice de similaridade: $\text{Similaridade \%} = [2 \times C / (A + B)] \times 100$

Onde:

A: Número de táxons de uma das coletas a ser comparada;

B: Número de táxons da outra coleta a ser comparada;

C: Número de táxons em comum nas duas coletas comparadas (A e B).

Os dados sobre a velocidade de decomposição bem como sobre o teor de ergosterol contido no folheto nos dois reservatórios foram expressos em gráficos demonstrando, quando possível, a linha de tendência e valores de r^2 .

Para análise das variáveis abióticas mensuradas durante as coletas nos dois reservatórios, bem como a correlação existente entre estas e os valores de matéria orgânica remanescente, os teores de ergosterol e diversidade fúngica, foi aplicada a análise de componentes principais (ACP) através da

transformação dos dados originais por “ranging” utilizando o programa FITOPAC aplicados ao programa PC-ORD, versão 4.0, para Windows.

4. Resultados e Discussão

4.1. Variáveis climáticas

As médias mensais ($n = 30$) dos dados climáticos, fornecidos pela estação meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico (IAG), mensurados nos meses de coletas realizadas durante o estudo estão apresentados na Tabela 2.

A temperatura média do ar variou entre o valor mínimo de $20,3^{\circ}\text{C}$, no mês de março e valor máximo de $20,8^{\circ}\text{C}$, no mês de fevereiro. A umidade relativa do ar apresentou porcentagens semelhantes, com mínimo de 82% no mês de março e máximo de 84% no mês de janeiro. A precipitação apresentou as maiores variações, com mínimo de 158,6 mm no mês de março e máximo de 209,7 mm no mês de janeiro. A insolação na região sofreu variações entre os meses de janeiro e fevereiro, sendo que o primeiro mês apresentou o menor valor 102,7 h e o mês de abril o maior de 172,5.

As médias da temperatura do ar no período em estudo atreladas aos altos índices de precipitação, possivelmente responsáveis pela elevada umidade relativa do ar, demonstram clima quente e úmido, o que corrobora com a tendência apresentada por Santos & Funari (2002).

Segundo Conti & Furlan (2003) as áreas de planalto, região onde se localiza o PEFI, e as serras do sudeste que abrangem sul de Minas Gerais, Espírito Santo, partes do Estado de São Paulo e Rio de Janeiro, possuem condições especiais de clima denominado tropical de altitude, caracterizado: a) altitude por volta de 800m a partir do trópico de Capricórnio; b) amplitude térmica ou médias mensais máximas e mínimas não ultrapassam $6 - 8^{\circ}\text{C}$; c) média mensal de precipitação em dois meses do ano não ultrapassam 60 mm. Embora caracteristicamente úmido, o clima a que está sujeito o PEFI, possui alternância de estação seca e chuvosa (Conti & Furlan 2003), confirmando as quedas sofridas pelas médias de precipitação dos primeiros meses para os últimos meses de coleta no presente estudo, conforme se aproximou a época seca.

4.2. Dados abióticos das águas dos lagos

Os dados abióticos das águas do Lago das Ninféias e do Lago das Garças estão apresentados na Tabela 3.

Para o Lago das Ninféias foram mensurados valores mínimos de 20°C, na quarta coleta e máximos de 24°C, na terceira coleta (Tabela 3). Os dados obtidos para o Lago das Ninféias assemelham-se aos dados encontrados por Biesemeyer (2005) que no período chuvoso verificou valores médios 20,1°C e máximos de 25,9°C de temperatura da água, este último mensurado para a superfície do sistema. O Lago das Garças apresentou valores mínimos de 21°C, na primeira coleta, e máximos de 26°C, na segunda coleta (Tabela 3), dados que corroboram com os valores encontrados para o monitoramento realizado nos lagos do PEFI que apresentaram valor mínimo de 15,9°C e máximo de 25,8°C durante o período de estudo (Bicudo *et al.* 2002b) e com os dados apresentados por Fonseca (2005) que demonstram valor mínimo de 16,6°C e máximo de 23,3°C durante o ano de estudo (n = 12).

A temperatura da água foi medida na região litorânea superficial, próxima ao local onde foram fixadas as amostras e apresentou pouca variação nas duas áreas, não se mostrando limitante para o experimento, já que de acordo com Dix & Webster (1995) a maioria dos fungos é mesofílico e cresce a temperatura de 5 – 35°C e apresentam temperatura ótima de 20 a 25 °C.

Segundo Sparrow (1968), a temperatura é reconhecida por afetar todas as atividades vitais dos fungos, age diretamente em processos ligados à germinação e à reprodução, além de causar alterações em estruturas morfológicas, como o aparecimento de papilas em oogônios de *Achlya colorata* quando em temperaturas de 15°C - 20°C. De acordo com o mesmo autor, trabalhos realizados sobre a influência da temperatura em espécies de fungos zoospóricos demonstram grande variedade de preferência entre os membros deste grupo. Segundo Dick (1976), as espécies pertencentes a este grupo de fungo podem apresentar temperatura ótima para germinação a 25 °C.

Tabela 2. Médias mensais dos elementos meteorológicos registrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, durante os meses de janeiro a abril de 2004, fornecidos pelo Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, localizado próximo aos locais de desenvolvimento do trabalho.

Meses	Temperatura Média do Ar	Umidade Relativa	Precipitação	Insolação
2004	(°C)	(%)	(mm)	(horas)
Jan.	20,7	84	209,7	102,7
Fev.	20,8	83	269,8	150,3
Mar.	20,3	82	158,6	170,8
Abr.	20,6	83	191,9	172,5

Tabela 3. Valores das variáveis abióticas mensuradas nos dias das coletas quinzenais realizadas no lago das Garças (G) e no Lago das Ninféias (N), durante o experimento de sucessão fúngica e decomposição foliar, nos meses de janeiro a abril de 2004.

Coletas	1ª Coleta		2ª Coleta		3ª Coleta		4ª Coleta		5ª Coleta	
	Fevereiro		Fevereiro		Março		Março		Abril	
Variáveis	N	G								
Temperatura										
(C°)	20,5	20,5	20,5	21,6	24,4	25,8	20,3	22,4	20,4	22,0
Condutividade										
(µS. cm⁻¹)	54,2	190,7	53,4	192,7	54,3	179,0	51,5	161,0	51,3	131,5
O₂ Dissolvido										
(mg. L⁻¹)	2,9	12,1	2,7	8,5	7,6	14,3	2,0	10,3	2,5	8,3
pH	6,6	9,4	5,7	6,9	6,6	9,6	6,0	7,0	5,3	6,6

Segundo Schoenlein-Crusius *et al.* (2004), os hifomicetos aquáticos mostram-se sensíveis a variações bruscas de temperatura. A temperatura ótima para o desenvolvimento destes fungos pode variar de acordo com a região de distribuição da espécie ou do grupo e experimentos de laboratório demonstraram como ideal para crescimento vegetativo entre 15°C – 25°C e para esporulação, temperaturas mais baixas (Bärlocher 1992). Em estudo realizado com objetivo de comparar a esporulação destes fungos durante colonização de folhas submersas em mesocosmos sob temperatura de 15, 20 e 25°C foram verificadas diferentes taxas de esporulação entre algumas espécies, quando induzidas a diferentes temperaturas (Chauvet & Suberkropp 1998).

No caso dos geofungos a temperatura age de forma semelhante, sendo as espécies adaptadas a certa variação, já que em ambiente natural temperatura tende a flutuar constantemente (Park 1968). Segundo Dix & Webster (1995), estudos demonstram que para algumas espécies de fungos, uma pequena variação na temperatura é suficiente para estimular o crescimento, demonstrando sua importância na composição e estrutura da comunidade.

O oxigênio dissolvido mensurado durante as coletas mostrou-se variável, principalmente no Lago das Ninféias com valor mínimo de 2,0 mg.L⁻¹ na quarta coleta e máximo de 7,6 mg.L⁻¹ na terceira coleta. O Lago das Garças apresentou maiores valores, mínimo de 8,3 mg.L⁻¹ na primeira coleta e máximo de 14,3 mg.L⁻¹ na terceira coleta.

As diferenças nas concentrações de oxigênio dissolvido, entre os dois lagos e entre os dias de coletas (Tabela 3), são provavelmente decorrentes da elevada quantidade de algas e cianobactérias encontradas na zona eufótica do Lago das Garças. Segundo Bicudo *et al.* (2002), quando se analisa a camada superficial deste lago durante o pico de desenvolvimento das algas, verifica-se a interferência causada por estas na dinâmica dos gases CO₂ e O₂, resultando na diminuição da concentração do CO₂ e aumento da concentração de oxigênio dissolvido, o que indica alta atividade fotossintética. Portanto, apesar do maior aporte de matéria orgânica, o Lago das Garças apresentou maior teor de oxigênio a camada superficial, onde foram submersas as amostras.

Os valores encontrados para pH variaram (Tabela 3) entre os locais de estudo. O Lago das Ninféias apresentou valores menores, com mínimo de 5,3 na quinta coleta e máximo de 6,6 na primeira e terceira coletas (Tabela 3), enquanto que o Lago das Garças apresentou valores mínimo de 6,6 e máximo de 9,4 (Tabela 3). Os maiores valores de pH encontrados no Lago das Garças podem ser explicados pela elevada atividade fotossintética existente na zona eufótica, decorrente da atividade fitoplanctônica, responsável pela diminuição do CO₂ livre e conseqüente aumento do pH (Bicudo *et al.* 2002).

A condutividade no Lago das Ninféias apresentou valores mínimos de 51,3 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e máximos de 53,4 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, diferentes do Lago das Garças que apresentou valores mínimos de 131,5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e máximos de 192,7 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Tabela 3). Estas diferenças entre a condutividade dos dois lagos podem ser explicadas pelo estado hipereutrófico do Lago das Garças, já que esta é mensurada pela atividade iônica encontrada em solução.

Os dados apresentados possuem valores semelhantes e confirmam as características dos sistemas, apresentadas pelo monitoramento realizado mensalmente nos reservatórios do parque desde 1997. Segundo Bicudo *et al.* (2002) a avaliação do monitoramento demonstra diferentes estados tróficos.

4.3. Sucessão fúngica durante a decomposição das folhas de *T. pulchra*

Nas Tabelas 4 e 5 referentes ao Lago das Ninféias e ao Lago das Garças estão apresentados os fungos observados nas folhas de *Tibouchina pulchra* durante decomposição e organizados conforme a sucessão fúngica ocorrida nos substratos.

Somados os dois reservatórios, foram observados o total 108 táxons e 245 ocorrências de fungos. As folhas coletadas no Lago das Ninféias totalizaram 79 táxons, destes 62 anamórfos terrestres, dois hifomicetos aquáticos, 13 fungos zoospóricos, um ascomiceto e um zigomiceto (Tabela 4 e Figura 6). As folhas coletadas no Lago das Garças totalizaram 63 táxons, incluindo 42 fungos anamórfos terrestres, quatro hifomicetos aquáticos, 14 fungos zoospóricos, um ascomiceto, um basidiomiceto e um zigomiceto (Tabela 5 e Figura 6).

Foram identificados no total para os dois lagos, 84 táxons de geofungos e 24 de fungos aquáticos. Entre os geofungos, 79 táxons são fungos anamórfos, sendo 65 hifomicetos e 14 celomicetos, sendo o restante composto por dois ascomicetos, dois zigomicetos (Mucorales) e um basidiomiceto. Entre os fungos aquáticos foram observados e identificados 19 táxons de fungos zoospóricos e cinco hifomicetos aquáticos. O maior número de ocorrências de fungos foi registrado na quinta coleta, com 37 táxons no Lago das Ninféias e 28 no Lago das Garças, e o menor na quarta coleta, com 19 e 16, respectivamente.

Em ambos os pontos as espécies e gêneros pertencentes ao grupo dos geofungos, ou fungos de origem terrestre, ocorreram em maior número do que os fungos nativos do ambiente aquático, sendo que dentre os geofungos, o grupo dos fungos anamórfos (antigos Deuteromycetes) é o mais representativo, apresentando maior diversidade que os demais grupos, estando de acordo com os resultados apresentados nos trabalhos sobre sucessão fúngica em folhas submersas de *Ficus microcarpa* (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989), *Quercus robur* (Schoenlein-Crusius *et al.* 1992), *Alchornea triplinervia* (Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d) e *Tibouchina pulchra* (Moreira 2002).

Para as folhas verdes antes da submersão foram identificados dez fungos: *Cladosporium*

cladosporioides, *Cladosporium chlorocephalum*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Coniella australiensis*, *Epicoccum purpurascens*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma viride*, *Pestalotiopsis*, *Phoma* sp. 1 e sp. 2

No Lago das Ninféias, dentre os fungos observados nas folhas verdes voltaram a ocorrer *C. chlorocephalum* na primeira e quinta coletas, *T. viride* na primeira e quarta coletas, *C. cladosporioides* na segunda, quarta e quinta coletas e o gênero *Pestalotiopsis* na segunda e quinta coletas. No Lago das Garças foram observadas as espécies *T. viride*, em todas as coletas, exceto na quinta, *C. cladosporioides* na terceira coleta, *C. chlorocephalum* na terceira e na quinta coletas e o gênero *Pestalotiopsis* na quarta e quinta coletas. A permanência dos fungos, originalmente isolados das folhas verdes, em etapas posteriores de decomposição pode demonstrar uma possível resistência dos fungos de origem terrestre à submersão e as mudanças drásticas de ambientes, fato amplamente conferido na literatura (Bärlocher & Kendrick 1974, Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d).

Bärlocher & Kendrick (1974) realizaram estudo sobre a dinâmica das populações fúngicas em folhas submersas em rios do Canadá e estudaram previamente a comunidade fúngica das folhas verdes coletadas diretamente das árvores, das quais foram isolados oito gêneros de fungos anamórfos. Segundo os autores, alguns desses gêneros ainda foram isolados no decorrer do estudo colonizando as folhas mesmo após meses de submersão, muitos destes isolados no final do experimento.

Schoenlein-Crusius & Milanez (1989) isolaram das folhas secas de *Ficus microcarpa* L.f. antes da submersão, oito espécies e um gênero pertencentes ao grupo dos fungos anamórfos, sendo que as espécies *Aspergillus clavatus* Desm., *Cylindrocladium scoparium* Morgan, *Cylindrocladium parvum* Anderson, *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *Trichoderma viride* Hughes e *Mucor hiemalis* Wehmer e o gênero *Alternaria* sp., foram isolados continuamente durante o experimento de sucessão fúngica mesmo após meses de submersão, fato que demonstra a grande resistência desses fungos às mudanças drásticas de ambiente. Resultado semelhante foi registrado em trabalho

subseqüente sobre sucessão fúngica em folhas de *Quercus robur* L. submersas em lago situado no município de Itapecerica da Serra (Schoenlein-Crusius *et al.* 1990) de onde foram isolados das folhas verdes antes da submersão, as seguintes espécies: *Epicoccum nigrum*, *Fusarium semitectum*, *Trichoderma viride*, *Penicillium frequentans*, *Mucor hiemalis*, *Aspergillus flavus* e *Alternaria alternata*. Dentre estas, as quatro primeiras ocorreram durante vários meses de decomposição das folhas e as três últimas mostraram-se de ocorrência esporádica.

Posteriormente Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d) em trabalho sobre sucessão fúngica em folhas de *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg. submersas em riacho na mata atlântica da Reserva Biológica de Paranapiacaba isolaram *Trichoderma viride*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*, *Penicillium hirsutum*, *Alternaria alternata*, *Mucor hiemalis*, *Epicoccum purpurescens* e *Aspergillus clavatus*, destes apenas a espécie *F. graminearum* não ocorreu até a fase intermediária da decomposição.

A micota autóctone encontrada nas folhas secas antes destas serem submersas pode ser considerada específica de cada tipo de folha (Frankland 1992), isto ocorre em função das características químicas e físicas de cada substrato (Petersen & Cummins 1974 *apud* Cummins 1974), sendo que a resistência apresentada por estes fungos à submersão e mudanças drásticas de ambiente são freqüentemente verificadas (Hudson 1968, Park 1972).

No Lago das Ninféias, na primeira etapa da sucessão fúngica decorrida nos primeiros 15 dias de submersão (primeira coleta), foram registrados 36 táxons, destes, 32 anamórfos terrestres e quatro zoospóricos. Dentre os fungos identificados como primeira ocorrência na sucessão estão as espécies *Acremonium charticola*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus japonicus*, *Cylindrocladium camelliae*, *Cylindrocladium novae-zelandiae*, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium moniliform*, *Fusarium nivale*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gonapodya prolifera*, *Paecilomyces carneus*, *Paecilomyces varioti*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium fellutanum*, *Penicillium islandicum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium spinulosum*, *Penicillium variabile*, *Phoma glomerata*, *Phoma*

pomorum, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma citrinoviride*, *Trichoderma crassum*, *Trichoderma koningii*, e os gêneros *Citosporina* sp., *Dictyuchus* sp., *Pythiogeton* sp., *Pythium* sp. 1 (esférico) e celomiceto sp. 2.

Para a mesma etapa do experimento, porém no Lago das Garças, foram 12 fungos anamórfos terrestres, seis zoospóricos, um basidiomiceto e um zigomiceto, totalizando 20 táxons número menor que do Lago das Ninféias. As espécies de primeira ocorrência na sucessão foram: *Aspergillus terreus*, *Catenophlyctis variabilis*, *Geotrichum candidum*, *Gonapodya prolifera*, *Mucor racemosus* f. *shaerosporus*, *Paecilomyces ghanensis*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium decumbens*, *Phoma pomorum*, *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma crassum*, *Trichoderma reesei* e os gêneros *Dictyuchus* sp., *Pythium* sp.1 (esférico), *Pythium* sp. 2 (esférico com proliferação interna), *Pythiogeton* sp. e os fungos não identificados celomiceto sp. 1 e basidiomiceto sp.1.

Desta forma, na etapa inicial da sucessão que correspondente aos primeiros 15 dias do experimento (primeira coleta) no Lago das Ninféias foi verificado grande aumento no número de fungos, sendo a comunidade composta, na maioria, por fungos anamórfos terrestres, havendo ao mesmo tempo o início da entrada dos fungos zoospóricos nativos do ambiente aquático. Esta mesma etapa, no Lago das Garças, foi marcada pelo menor número de ocorrências, sendo a comunidade também composta pela maioria de geofungos, mas já apresentando maior número de espécies de fungos zoospóricos. Dentre os geofungos, os fungos anamórfos foram novamente dominantes, porém neste lago foram registrados uma espécie de zigomiceto e um táxon pertencente ao grupo dos basidiomicetos.

De acordo com Frankland (1992), a etapa inicial da sucessão pode ser caracterizada pelo estabelecimento de determinadas espécies através da rápida germinação e crescimento realizado pela comunidade pioneira, geralmente já estabelecida nas folhas, ou por espécies habitantes do ambiente em que a decomposição ocorre. Este estágio é denominado de “efeito pioneiro da colonização”, sendo os geofungos considerados participantes ativos desta fase (Bärlocher &

Kendrick 1974, Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Dix & Webster 1995, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d). Segundo Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d), as espécies isoladas nas folhas secas antes da submersão e continuamente isoladas durante a sucessão podem ser consideradas como a micota pioneira, indicando o ponto inicial da sucessão fúngica durante a decomposição de folhas nos ambientes aquáticos.

Em trabalho realizado sobre a decomposição de folhas de *Tibouchina pulchra* submersas em riacho na mata atlântica, Moreira (2002) observou grande número de espécies de fungos anamórfos terrestres e a sua dominância durante todo o processo de decomposição, seguidos pelos hifomicetos aquáticos e pelos zigomicetos. Neste trabalho não foi feito o levantamento dos fungos zoospóricos presentes na sucessão.

Os táxons de fungos zoospóricos observados nas folhas de *T. pulchra* são conhecidos como decompositores ativos durante a degradação de substratos foliares submersos (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Pires-Zottarelli *et al.* 1993, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998c). Segundo Willoughby (1974), espécimes representantes dos fungos zoospóricos, como os gêneros *Pythium* sp., *Saprolegnia* sp., *Phytophthora* sp., *Achyra* sp. e *Dictyuchus* sp. podem frequentemente ser isolados de folhas em estágios iniciais de decomposição nos ambientes aquáticos como componentes da comunidade pioneira, dependendo da composição química de cada substrato.

No presente estudo, ocorreu a colonização pioneira dos fungos zoospóricos concomitantemente aos geofungos, resultado semelhante ao obtido por Schoenlein-Crusius & Milanez (1989) em trabalho sobre sucessão fúngica em folhas de *Ficus microcarpa*, sendo também observados em grande quantidade durante a sucessão fúngica em folhas de *Quercus robur* (Schoenlein-Crusius *et al.* 1990) e *Alchornea triplinervia* (Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d) na fase intermediária da sucessão, logo após estabelecimento das espécies de hifomicetos aquáticos.

Pires-Zottarelli *et al.* (1993) estimaram quantitativamente as populações de fungos zoospóricos (Chytridiomycetes) e hifomicetos aquáticos durante a decomposição de folhas

submersas e verificaram maior concentração de fungos zoospóricos nesta fase, demonstrando a ação ativa deste grupo de fungos nos processos de decomposição das folhas.

Na segunda coleta, 31º dia de decomposição, ocorreram mudanças nas comunidades fúngicas decompositoras das folhas nos dois lagos, fato verificado pela diminuição da diversidade de fungos e pela substituição de espécies. Nas folhas coletadas no Lago das Ninféias foram identificados 27 táxons, desses 22 anamórfos terrestres, quatro zoospóricos e um ascomiceto e, observados pela primeira vez na sucessão as espécies, *Aspergillus oryzae*, *Cladosporium oxysporum*, *Fusicoccum aesculi*, *Geotrichum candidum*, *Hemicolla fuscoatra*, *Hyphochytrium catenoides*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium olsonii*, *Phoma eupyrena*, *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma reeseii*, o gênero *Pythium* sp. 3 (filamentoso inflado) e os fungos não identificados Tuberculariaceae sp. 1, ascomiceto sp. 1 e celomiceto sp. 1.

Para as folhas coletadas no Lago das Garças, também com menor número de fungos, foram identificados 19 táxons, ocorrendo novamente em os anamórfos terrestres (total de 13), seguidos pelos zoospóricos com quatro representantes e pelos hifomicetos aquáticos com apenas um gênero, sendo citadas pela primeira vez na sucessão as espécies *Cladochytrium replicatum*, *Cylindrocladium camelliae*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma pseudokoningii* e os gêneros *Heliscus* sp., *Karlingia* sp. e *Pythium* sp. 3 (filamentoso inflado).

No 45º dia de submersão das folhas (terceira coleta) o número de táxons continuou a decair. No Lago das Ninféias foram identificados 22 táxons de fungos, com 16 fungos anamórfos terrestres, cinco fungos zoospóricos, um hifomiceto aquático e um zigomiceto. As espécies que ocorreram pela primeira vez foram *Cladochytrium replicatum*, *Cylindrocladium parvum*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium culmorum*, *Mucor hiemalis* f. *hiemalis*, *Paecilomyces lilacinus*, *Septochytrium macrosporum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma piluliferum* e os gêneros *Heliscus* sp. e *Nowakowskiella* sp. Junto a estes fungos voltaram a ser isoladas as espécies

Aspergillus terreus, *Cylindrocladium camelliae*, *Cylindrocladium novae-zelandiae*, *Fusarium solani* e *Trichoderma atroviride*, obtidos anteriormente na primeira coleta.

No Lago das Garças, nesta mesma etapa da decomposição, a diminuição no número de táxons foi menos acentuada, sendo identificados 20 táxons. Fizeram-se presentes 14 fungos anamórfos terrestres, cinco fungos zoospóricos e um hifomiceto aquático. As espécies observadas pela primeira vez foram *Catenochytridium kevorkianii*, *Chloridium viride*, *Cladosporium herbarum*, *Hyphochytrium catenoides*, *Penicillium variabile*, *Septochytrium macrosporum* e os gêneros *Anguillospora* sp., *Chaetophoma* sp. e *Tuberculariaceae* sp. 2. Voltaram a ser observados na sucessão as espécies *Aspergillus terreus*, *Penicillium purpurogenum* e o gênero *Pythium* sp.1 (esférico), já observados na primeira coleta.

As duas coletas descritas acima podem ser consideradas como etapas intermediárias da sucessão fúngica nas folhas, sendo verificada diminuição do número de táxons de fungos, principalmente dos pertencentes ao grupo dos geofungos e o aumento do número de táxons de fungos aquáticos. Nas etapas intermediárias da sucessão possivelmente ocorreu o estabelecimento de uma comunidade composta por espécies mais adaptadas à competição pelo substrato, sendo a diminuição do número de táxons decorrente da menor tolerância de algumas espécies a metabólitos secundários produzidos por espécies mais adaptadas (Frankland 1992) e da maior competição por nutrientes contidos nos substrato (Dix & Webster 1995).

Geralmente os hifomicetos aquáticos são observados a partir da etapa inicial da decomposição dos substratos submersos (Bärlocher & Kendrick 1974, Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Moreira 2002). De acordo com Willoughby (1974) os hifomicetos aquáticos, juntamente com os fungos zoospóricos, podem ser considerados decompositores pioneiros, sendo capazes de degradar compostos à base de celulose e de lignina. No presente estudo os hifomicetos aquáticos ocorreram nas etapas intermediárias da sucessão, tal como citado por Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d), que verificaram a ocorrência dos hifomicetos aquáticos em folhas de *Alchornea triplinervia* após dois meses de submersão.

No Lago das Ninféias a menor ocorrência de hifomicetos aquáticos pode estar relacionada às baixas concentrações de oxigênio da água, fato observado nas primeiras coletas. Na terceira coleta os teores de oxigênio aumentaram e nesta foi registrada a primeira espécie de hifomiceto aquático. Segundo Bärlocher (1992), os hifomicetos aquáticos parecem estar relacionados a águas correntes e bem aeradas, justificando possíveis ocorrências destes fungos em condições favoráveis de oxigênio dissolvido.

Na quarta coleta realizada no 60º dia de decomposição, as folhas dos dois lagos apresentaram menor número de táxons. As folhas coletadas no Lago das Ninféias apresentaram 19 táxons, com 17 fungos anamórfos terrestres e quatro táxons de fungos zoospóricos, sendo observadas pela primeira vez apenas as espécies *Dictyuchus pseudodictyon*, *Penicillium vulpinum*, *Penicillium waksmanii* e voltando a sucessão as espécies *Fusarium nivale*, *Gonapodya prolifera*, *Paecilomyces carneus*, *Penicillium janthinellum* e *Penicillium variable*, observadas na primeira coleta e as espécies *Penicillium minioluteum* e *Trichoderma reeseii* isolados na segunda coleta.

No Lago das Garças foram registrados 16 táxons compostos por 13 fungos anamórfos terrestres e três fungos zoospóricos, sendo observadas pela primeira vez as espécies *Aspergillus japonicus*, *Fusarium nivale*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium subglutinans*, *Nowakowskiella elegans*, *Trichoderma harzianum*, junto aos táxons que retornaram à sucessão, *Trichoderma reeseii* e *Dictyuchus sp.*, obtidos na primeira coleta e as espécies *Cylindrocladium camelliae*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* e *Trichoderma koningii*, registradas na segunda coleta.

Na quinta e última coleta, aos 77 dias de submersão, as folhas apresentaram maior número de táxons de fungos. No Lago das Ninféias foram identificados 37 táxons, incluindo 28 fungos anamórfos, oito fungos zoospóricos, um hifomiceto aquático e um ascomiceto. Foram observadas pela primeira vez as espécies *Anguillospora crassa*, *Aspergillus fumigatus*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Karlingia rosea*, *Myrothecium gramineum*, *Trichocladium opacum*, *Verticillium fungicola* e os gêneros *Dictyochaeta sp. 1*, *Pythium sp. 4* (filamentosos não inflado), *Pythium sp. 5* (lobulado) e o fungo desconhecido sp.1. Foram verificadas novamente na sucessão as espécies

Aspergillus japonicus e *Trichoderma citrinoviride* e o fungo celomiceto sp. 2, observados na primeira coleta, as espécies *Penicillium decumbens*, *Phoma eupyrena*, *Trichoderma koningii*, *Phoma pomorum*, os gêneros *Citosporina* sp., *Pythium* sp. 3 (filamentoso inflado) e os fungos ascomiceto sp.1 e celomiceto sp.1, observados na segunda coleta, além das espécies *Cladochytrium replicatum*, *Geotrichum candidum*, *Hyphochytrium catenoides*, *Paecilomyces lilacinus*, *Phoma glomerata* e *Trichoderma harzianum*, observadas na terceira coleta.

De maneira semelhante, houve acréscimo do número de táxons de fungos nas folhas coletadas no Lago das Garças, com 28 táxons registrados, sendo 18 fungos anamórfos terrestres, quatro fungos zoospóricos, um hifomiceto aquático, um basidiomiceto e um ascomiceto. As espécies citadas pela primeira vez foram *Camposporium pellucidum*, *Penicillium restrictum*, *Penicillium waksmanii*, *Phoma eupyrena*, *Trichoderma inhamatum*, *Verticillium fungicola*, *Verticillium lecanii*, e os gêneros *Aphanomyces* sp., *Citosporina* sp., *Eupenicillium* sp. e *Tripospermum* sp. As espécies novamente registradas na quinta coleta são *Penicillium minioluteum* e o fungo basidiomiceto sp. 1, citados na primeira coleta, os gêneros *Heliscus* sp. e *Pythium* sp. 3 (filamentoso inflado) citados na segunda coleta e as espécies *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma atroviride* e o gênero *Anguillospora* sp., observados na terceira coleta.

No Lago das Garças apesar do acréscimo ocorrido no número geral de táxons, foi verificado decréscimo no número fungos zoospóricos e hifomicetos aquáticos, o que possivelmente demonstra a substituição destes fungos por geofungos, dado que corrobora os resultados obtidos para folhas de *A. triplinervia* (Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d), nas quais geofungos diferentes dos pioneiros fizeram-se presentes nas etapas finais da sucessão.

Quando se estuda sucessão fúngica em substratos foliares de diferentes espécies, geralmente ocorrem modificações na composição da micota, pois diferentes substratos podem apresentar composições químicas e físicas distintas (Frankland 1992, 1998).

De acordo com as Tabelas 4 e 5 as sucessões de espécies de fungos durante a decomposição das folhas de *T. pulchra* ocorreram de maneira diferente nos dois reservatórios, possivelmente em decorrência dos diferentes estados tróficos.

Os reservatórios caracterizados como eutróficos ou hipereutróficos, como o Lago das Garças, geralmente possuem taxas mais rápidas de decomposição de matéria orgânica (Sridhar & Bärlocker 2000; Gulis & Suberkropp 2003) devido a maior intensidade do metabolismo dos organismos que compõem a comunidade aquática decompositora (Wetzel 1993, Esteves 1998, Gulis & Suberkropp 2004). De acordo com Sridhar & Bärlocher (2000) quanto maiores forem a temperatura e a entrada de nutrientes para o ecossistema, maior será a taxa de decomposição, estando as altas concentrações de nutrientes, particularmente as de nitrato, correlacionadas às elevadas taxas de decaimento de peso de matéria orgânica submersa. Em regiões de clima temperado, os nutrientes adicionados às águas geralmente elevam as taxas de esporulação das espécies de hifomicetos aquáticos, resultando mudanças estruturais e metabólicas na comunidade fúngica (Gulis & Suberkropp 2003, 2004).

Em trabalho realizado por Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d) os autores distinguiram três etapas na sucessão ocorrida durante a decomposição de folhas de *A. triplinervia*, sendo a etapa inicial marcada pela maior colonização das folhas por fungos tipicamente terrestres, a intermediária caracterizada pela elevação das espécies de fungos nativos do ambiente aquático (hifomicetos aquáticos e fungos zoospóricos) e a final novamente marcada pela entrada de geofungos, tendência semelhante à sucessão visualizada no Lago das Garças.

O índice de similaridade de Sørensen foi aplicado para comparar a semelhança entre as micotas aquáticas de cada coleta realizada nos lagos. No Lago das Ninféias foi encontrado valor de 9% de similaridade entre a micota observada nas folhas verdes e a micota observada nas folhas da primeira coleta, subindo para 31% entre a micota da primeira e da segunda coletas, diminuindo para 25% entre a micota da segunda e da terceira coletas, novamente subindo para 29% entre a micota da terceira e a micota da quarta e novamente caindo para 25% entre a micota da quarta e da quinta

coletas. Os índices de similaridade podem ser considerados baixos, indicando que as micotas apresentaram composições distintas de uma coleta para outra.

No Lago das Garças foi encontrado valor de 7% entre a micota encontrada nas folhas verdes e a micota encontrada nas folhas da primeira coleta, subindo para 51% entre a micota da primeira e da segunda coletas, novamente apresentando 51% entre a micota da segunda e terceira coletas, caindo para 17% entre a micota da terceira e quarta coletas e subindo para 41% entre a micota da quarta e quinta coletas, indicando modificações mais bruscas na composições das micotas na diferentes coletas.

A comparação entre as micotas dos dois lagos entre as mesmas coletas resultou na obtenção de baixos valores de similaridade: 32% entre as primeiras coletas, 26% entre as segundas, 29% entre as terceiras, 34% entre as quartas e 31% entre as quintas coletas. Demonstrando diferenças entre as micotas dos dois locais de coleta.

Segundo Christensen (1989), em estudos sobre fungos em ambientes tropicais são citados índices ao redor de 70% para similaridade entre as micotas. Assim os resultados de similaridade obtidos podem ser considerados baixos e supõe-se que as populações diferiram ao longo dos processos, caracterizando a sucessão de espécies de fungos durante a decomposição das folhas nos dois lagos, já que quanto menor a similaridade entre as micotas observadas em cada coleta, maiores são as substituições de táxons de fungos durante a decomposição, demonstrando ocupação seqüencial dos substratos.

Moreira (2002) encontrou valores semelhantes para a similaridade entre as micotas participantes da sucessão fúngica em folhas de *T. pulchra* submersas em riachos, correspondendo a 39% entre a primeira e segunda coletas, 50% entre a segunda e terceira, 54% entre a terceira e a quarta e 62% entre a quarta e a quinta coletas.

Os gêneros de maior ocorrência e com maior número de espécies identificadas como decompositoras das folhas coletadas no Lago das Ninféias foram: *Trichoderma* com 22 ocorrências e nove espécies, *Penicillium* com 21 ocorrências e 13 espécies e *Fusarium* com 13 ocorrências e

sete espécies, seguidos por *Phoma* com nove ocorrências e três espécies e *Pythium* sp. com nove ocorrências e cinco táxons, apresentando diferentes morfologias do zoosporângio. Os táxons que apresentaram maior número de ocorrências foram *Pythium* sp.1 (esférico) ocorrendo em todas as coletas, *Trichoderma atroviride* não verificado na segunda coleta, *Penicillium minioluteum* não observado na terceira coleta, *Phoma glomerata* não verificado na quarta coleta e *Fusarium oxysporum* não observado na quinta coleta.

Entre as espécies de menor ocorrência estão *Acremonium charticola*, *Acremonium strictum*, *Anguillospora crassa*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus oryzae*, *Cladosporium oxysporum*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Cylindrocladium parvum*, *Dictyuchus pseudodictyon*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium moniliforme*, *Fusicoccum aesculi*, *Humicola fuscoatra*, *Karlingia rósea*, *Mucor hiemalis* f. *hiemalis*, *Myrothecium gramineum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium islandicum*, *Penicillium olsonii*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium spinulosum*, *Penicillium vulpinum*, *Penicillium waksmanii*, *Septochytrium macrosporum*, *Trichocladium opacum*, *Trichoderma crassum*, *Trichoderma piluliferum*, *Verticillium fungicola*, *Acremonium* sp., *Dictyochoeta* sp., *Heliscus* sp., *Pythiogeton* sp., *Pythium* sp. 4, *Pythium* sp. 5, Tuberculariaceae sp. 1e um fungo desconhecido sp. 1.

No Lago das Garças os gêneros de maior ocorrência foram *Trichoderma* com 23 ocorrências e nove espécies, *Fusarium* com 12 ocorrências e sete espécies e *Penicillium* com 12 ocorrências e sete espécies. Neste local apenas a espécie *Trichoderma aureoviride* ocorreu em todas as coletas, a espécie *Trichoderma viride* ocorreu em todas as coletas, exceto na quinta. A distribuição dos demais táxons deu-se de forma irregular com algumas espécies ocorrendo em três coletas como *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma atroviride* e *Trichoderma reeseii*. As espécies *Aspergillus japonicus*, *Camposporium pellucidum*, *Catenochytridium kevorkianii*, *Catenophlyctis variabilis*, *Chloridium viride*, *Cladochytrium replicatum*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium nivale*, *Fusarium solani*, *Fusarium subglutinans*, *Geotrichum candidum*, *Hyphochytrium catenoides*,

Mucor racemosus f. shaerosporus, *Nowakowskiella elegans*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces ghanensis*, *Penicillium restrictum*, *Penicillium variabile*, *Penicillium waksmanii*, *Phoma eupyrena*, *Phoma pomorum*, *Septochytrium macrosporum*, *Trichoderma crassum*, *Trichoderma pseudokoningii*, *Trichoderma inhamatum*, *Verticillium fungicola*, *Verticillium lecanii*, os gêneros *Aphanomyces* sp., *Citosporina* sp., *Eupenicillium* sp., *Pythium* sp. 2 (esférico com proliferação interna), *Tripospermum* sp., *Chaetophoma* sp. e os fungos coelomiceto sp. 1, Tuberculariaceae sp. 2, ocorreram apenas uma vez em toda a decomposição.

Os geofungos foram os maiores colonizadores das folhas durante a decomposição, fato também observado durante a decomposição de folhas de *Q. robur*, nas quais os geofungos constituíam aproximadamente 50% da micota observada, isolados continuamente até o final do experimento (Schoenlein-Crusius *et al.*1990).

A contínua colonização das folhas por diferentes espécies de geofungos possivelmente ocorre através de esporos e propágulos presentes nos ambientes aquáticos (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989), já que a maioria dos geofungos isolados durante o processo de sucessão e decomposição ocorreu nas folhas após submersão. Cooke (1961) em trabalho realizado com objetivo de avaliar a micota presente em águas receptoras de esgoto doméstico, verificou a presença maciça de geofungos na coluna d'água e nos sedimentos de diferentes pontos do rio Lytle Creek (Carolina do Norte) e concluiu que estes fungos são extremamente adaptáveis, podendo sobreviver em ambientes diversos, eventualmente colonizando substratos submersos.

Bärlocher & Kendrick (1974) estudaram a decomposição de folhas em rio de região de clima temperado e estabeleceram a relação existente entre a dominância de grupos de fungos durante a decomposição e a da temperatura da água, havendo predomínio dos geofungos durante os períodos mais quentes e predomínio dos hifomicetos aquáticos durante os períodos mais frios do ano. De maneira semelhante, Au & Hodgkiss (1992) verificaram que os geofungos são dominantes em ambientes aquáticos poluídos, independentemente da sazonalidade. Ocorre, porém que os hifomicetos aquáticos apresentam tolerância elevada a condições de baixa temperatura, podendo

eventualmente sobrepor-se em diversidade e atividade aos geofungos, durante algumas estações do ano.

No presente estudo foram ainda observados dentre os geofungos representantes de zigomicetos, ascomicetos e basidiomicetos, que embora em número reduzido, resistiram à submersão e permaneceram ativos durante a decomposição, resultado semelhante aos dados encontrados em outros trabalhos sobre sucessão fúngica em substratos submersos (Schoenlein-Crusius & Milanez 1989, Schoenlein-Crusius *et al.* 1990, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998d, Moreira 2002).

Durante a observação das amostras de folhas e de iscas incubadas em água, foram verificados fungos de origem terrestre esporulando ativamente, mostrando a capacidade destes em decompor substratos submersos juntamente com os fungos aquáticos típicos. Dentre estes fungos estão os gêneros *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. além de muitos fungos dematiaceos.

Dos 108 fungos observados nas folhas, 19 táxons são pertencentes ao grupo dos fungos zoospóricos, mostrando a ativa ação destes microrganismos na decomposição de substratos foliares alóctones em reservatórios. Além de ocorrerem em maior quantidade de táxons, aparentemente estavam mais ativos na decomposição que os hifomicetos aquáticos, demonstrando grande quantidade de micélio vegetativo e estruturas de reprodução visíveis na superfície foliar. Muitos táxons foram identificados apenas em nível genérico devido a falta da ocorrência da fase sexuada, cuja observação é necessária para completar a identificação das espécies. *Hyphochytrium catenoides* e *Septochytrium macrosporum* constituem novas citações para o Estado de São Paulo.

O número de táxons e ocorrência de hifomicetos aquáticos não foram altas, já que foram identificadas apenas cinco táxons: *Anguillospora crassa*, *Camposporum pellucidum*, *Anguillospora* sp, *Helicus* sp e *Tripospermum* sp, com pouca esporulação visível. A metodologia para isolamento destes fungos não possibilitou a obtenção de culturas puras devido a contaminação.

As folhas submersas no Lago das Garças em relação ao Lago das Ninféias apresentaram

número geral menor de táxons de fungos e maior de táxons de hifomicetos aquáticos e de fungos zoospóricos. Apesar de ser mais poluído, o Lago das Garças pode ser um ambiente propício para o desenvolvimento dos fungos aquáticos, este fato foi também verificado anteriormente por Rocha (2004) no levantamento de fungos zoospóricos no PEFI.

O grupo dos fungos zoospórios mostrou-se predominante entre os fungos nativos do ambiente aquático, dados que corroboram com o trabalho realizado por Schoenlein-Crusius & Milanez (1998d), no qual os autores verificaram que os fungos zoospóricos, entre os fungos aquáticos, foram os de maior dominância durante a decomposição de folhas de *Alchornea triplinervia*.

No presente estudo os diferentes táxons identificados são pertencentes a dois diferentes Reinos, Fungi e Stramenopila, classificação baseada na filogenia (Alexopoulos 1996). Dentre eles o gênero *Pythium* foi dominante, ocorrendo em todas as coletas nos dois locais. Por não apresentarem reprodução sexuada, a identificação em nível de espécie não foi possível, separado-os conforme a classificação de Plaats-Niterink (1981), que leva em consideração a morfologia do zoosporângio (esféricos, esféricos com proliferação interna, filamentoso inflado, filamentoso não inflado e lobulado) para caracterizar as diferentes espécies.

Ranković (2005), em trabalho realizado em cinco grandes reservatórios com diferentes características hidrobiológicas e produtivas na Sérvia, mostrou através de análises quantitativas da comunidade fúngica em diferentes compartimentos dos reservatórios, que a menor diversidade de fungos ocorreu no reservatório oligotrófico e o maior na zona litoral do reservatório mesotrófico. O autor identificou 48 espécies, incluindo os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Phoma* e *Verticillium*, dominantes entre os fungos alóctones e as espécies *Achlya americana*, *A. diffusa*, *A. racemosa*, *Dictyuchus sterile*, *Isoachlya toruloides*, *Leptomitus lacteus*, *Pythium ultimum*, *Saprolegnia ferax*, *S. hypogyna* e *S. monica* dominantes entre os fungos nativos ou autóctones, concluindo que a micota aquática nativa é mais bem representada

em lagos com grau trófico elevado, resultado que corrobora com a tendência apresentada no presente estudo.

Em regiões de clima temperado as folhas provenientes da vegetação marginal que entram nos rios e lagos são colonizadas por fungos, bactérias e detritívoros (Baldy *et al.* 1995), assim como em lagos de regiões tropicais (Schoenlein-Crusius & Milanez 1996). Embora se encontre os mesmos grupos de microrganismos agindo na cadeia de detritos, existem grandes diferenças na composição da micota encontrada durante o processo de decomposição, fato que pode ser visualizado nos trabalhos de levantamento e diversidade realizados.

Pode-se concluir que a comunidade fúngica apresentou sucessão durante o processo de decomposição das folhas nos dois lagos, estando os dados corroborando as tendências apresentadas em outros trabalhos brasileiros sobre sucessão fúngica em folhas submersas, nos quais os fungos autóctones (geofungos) foram predominantemente isolados dos materiais submersos até estágios finais de decomposição, seguidos pelos fungos zoospóricos e hifomicetos aquáticos que apresentaram tendência à colonizar as folhas mais intensamente em estágios intermediários e finais da sucessão. (Schoenlein–Crusius & Milanez 1989, Schoenlein–Crusius *et al.* 1990, Schoenlein–Crusius & Milanez 1998d, Moreira 2002).

Tabela 4. Ocorrências de táxons de fungos em folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas no Lago das Ninféias.

Fungos Identificados - Lago das Ninféias	Folhas verdes	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	5ª coleta	Total
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.	+						1
<i>Coniella austaliensis</i> Petrak	+						1
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht	+						1
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	+						1
<i>Phoma</i> sp. 1	+						1
<i>Phoma</i> sp. 2	+						1
<i>Cladosporium chlorocephalum</i> (Fresen.) Mason & M. B. Ellis	+	+				+	3
<i>Trichoderma viride</i> Pers	+	+			+		3
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	+		+			+	3
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries	+		+		+	+	4
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon		+					1
<i>Paecilomyces varioti</i> Bainier		+					1
<i>Penicillium islandicum</i> Sopp		+					1
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams		+					1
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams		+					1
<i>Acremonium</i> sp.		+					1
<i>Fusarium decemcellulare</i> Brick		+					1
<i>Penicillium spinulosum</i> Thom		+					1
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll		+					1
<i>Trichoderma crassum</i> Bissett		+					1
<i>Pythiogeton</i> sp.		+					1
<i>Dictyuchus</i> sp.		+	+				2
<i>Penicillium citrinum</i> Thom		+	+				2
<i>Penicillium fellutanum</i> Biourge		+	+				2
<i>Phoma glomerata</i> (Corda) Wollenw. & Hochapfel		+	+	+		+	4
<i>Penicillium minioluteum</i> Dierckx		+	+		+	+	4
<i>Citosporina</i> sp.		+	+			+	3
<i>Phoma pomorum</i> Thüm		+	+			+	3
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. <i>emend.</i> Snyd. & Hans.		+	+	+	+		4
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.		+	+			+	3
<i>Aspergillus terreus</i> Thom		+		+			2
<i>Cylindrocladium camelliae</i> Venkatar. & Venkata		+		+			2
<i>Cylindrocladium novae-zelandiae</i> H. J. Boesewinkel		+		+			2
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw. <i>emend.</i> Snyd. & Hans.		+		+			2
<i>Trichoderma atroviride</i> P. Karsten		+		+	+	+	4
<i>Fusarium nivale</i> (Fr.) Ces.		+			+		2
<i>Gonapodya prolifera</i> (Cornu) Fischer		+			+		2
<i>Penicillium variabile</i> Sopp		+			+		2
<i>Paecilomyces carneus</i> (Duché & Heim) Brown & Smith		+			+		2
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge		+			+		2
<i>Aspergillus japonicus</i> Saito		+				+	2
Coelomycetes sp. 2		+				+	2
<i>Trichoderma citrinoviride</i> Bissett		+				+	2
<i>Pythium</i> sp 1 (esférico)		+	+	+	+	+	5
<i>Fusicoccum aesculi</i> Cda			+				2
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn			+				2
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk.& Curti.			+				1
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen			+				1
Tuberculariaceae sp. 1			+				1
<i>Penicillium olsonii</i> Bainier & Sartori			+				1
<i>Hyphochytrium catenoides</i> Karling			+	+		+	3
<i>Geotrichum candidum</i> Link ex Leman			+	+		+	3
<i>Trichoderma reeseii</i> E. G. Simmons			+		+	+	3
Ascomycota sp. 1			+			+	2
Coelomycetes sp. 1			+			+	2
<i>Phoma eupyrena</i> Sacc.			+			+	2
<i>Pythium</i> sp. 3 (filamentoso inflado)			+			+	2
<i>Penicillium decumbens</i> Thom			+			+	2
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai			+	+	+		3
<i>Cylindrocladium parvum</i> Anderson				+			1
<i>Heliscus</i> sp.				+			1
<i>Mucor hiemalis</i> f. <i>hiemalis</i> Wehmer				+			1
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Smith) Sacc.				+			1
<i>Septochytrium macrosporum</i> Karling				+			1
<i>Trichoderma piluliferum</i> Webster & Rifai				+			1
<i>Fusarium chlamyosporum</i> Wollenw. & Reinking				+	+		2
<i>Nowakowskiella</i> sp.				+	+	+	3
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson				+		+	2
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai				+		+	2
<i>Cladochytrium replicatum</i> Karling				+		+	2
<i>Penicillium vulpinum</i> (Cooke & Masee) Seifert & Samson					+		1
<i>Penicillium waksmanii</i> K. M. Zalessky					+		1
<i>Dictyuchus pseudodictyon</i> Coker & Braxton <i>ex</i> Couch					+		1
Dematiaceo tipo <i>Epicoccum</i> sp.					+	+	2
<i>Verticillium fungicola</i> (Preuss) Hassebr.						+	1
<i>Anguillospora crassa</i> Ingold						+	1
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.						+	1
<i>Colletotrichum gloesporioides</i> (Penz.) Sacc.						+	1
<i>Dictyochaeta</i> sp.						+	1
<i>Karlingia rósea</i> (de Bary & Woronin) Johnason						+	1
<i>Myrothecium gramineum</i> Libert						+	1
<i>Pythium</i> sp. 4 (filamentoso não inflado)						+	1
<i>Pythium</i> sp. 5 (lobulado)						+	1
<i>Trichocladium opacum</i> (Corda) Hughes						+	1
Fungo desconhecido sp. 1						+	1
Total de ocorrências: 79	10	36	27	22	19	37	

Tabela 5. Ocorrências de táxons de fungos em folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas no Lago das Garças.

Fungos Identificados – Lago das Garças	Folhas						Total
	verdes	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	5ª coleta	
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.	+						1
<i>Coniella australiensis</i>	+						1
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht	+						1
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	+						1
<i>Phoma</i> sp. 1	+						1
<i>Phoma</i> sp. 2	+						1
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries	+			+			1
<i>Cladosporium chlorocephalum</i> (Fresen.) Mason & M. B. Ellis	+			+		+	1
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	+	+	+	+	+		2
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	+				+	+	4
<i>Geotrichum candidum</i> Link ex Lemm		+					2
<i>Catenophlyctis variabilis</i> (Karling) Karling		+					1
Coelomycetes sp. 1		+					1
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>shaerosporus</i> (Hagem) Schipper		+					1
<i>Paecilomyces ghanensis</i> Samson & Evans		+					1
<i>Pythium</i> sp 2 (esférico com proliferação interna)		+					1
<i>Trichoderma crassum</i> Bissett		+					1
<i>Phoma pomorum</i> Thüm		+					1
<i>Gonapodya prolifera</i> (Cornu) Fischer		+	+				2
<i>Pythiogeton</i> sp.		+	+				2
<i>Penicillium decumbens</i> Thom		+	+	+			3
<i>Aspergillus terreus</i> Thom		+		+			2
<i>Pythium</i> sp.1 (esférico)		+		+	+	+	4
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll		+		+		+	3
<i>Dictyuchus</i> sp.		+			+	+	3
<i>Trichoderma reesei</i> E. G. Simmons		+			+	+	3
Basidiomycota (sp.1)		+				+	2
<i>Penicillium minioluteum</i> Dierckx		+				+	2
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai		+	+	+	+	+	5
<i>Cladochytrium replicatum</i> Karling			+				1
<i>Trichoderma pseudokoningii</i> Rifai			+				1
<i>Fusarium chlamydosporum</i> Wollenw. & Reinking			+				1
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyd. & Hans.			+				1
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson			+				1
<i>Karlingia</i> sp.			+	+			2
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier			+	+			2
<i>Trichoderma atroviride</i> P. Karsten			+	+		+	3
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.			+		+		2
<i>Cylindrocladium camelliae</i> Venkatar. & Venkata			+		+		2
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon			+		+	+	3
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend. Snyd. & Hans.			+		+	+	3
<i>Heliscus</i> sp.			+			+	2
<i>Pythium</i> sp. 3 (filamentoso inflado)			+			+	2
<i>Tuberculariaceae</i> sp. 2				+			1
<i>Catenochytridium kevorkianii</i> Sparrow				+			1
<i>Chaetophoma</i> sp.				+			1
<i>Chloridium viride</i> Link ex Link				+			1
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray				+			1
<i>Hyphochytrium catenoides</i> Karling				+			1
<i>Penicillium variabile</i> Sopp				+			1
<i>Septochytrium macrosporum</i> Karling				+			1
<i>Anguillospora</i> sp.				+		+	2
<i>Aspergillus japonicus</i> Saito					+		1
<i>Fusarium nivale</i> (Fr.) Ces.					+		1
<i>Fusarium subglutinans</i> (Wollenw. & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas					+		1
<i>Nowakowskiella elegans</i> (Nowak.) Schroeter					+		1
<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel					+	+	2
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai					+	+	2
<i>Aphanomyces</i> sp.						+	1
<i>Camposporium pellucidum</i> (Grove) Hughes						+	1
<i>Citosporina</i> sp.						+	1
<i>Eupenicillium</i> sp.						+	1
<i>Penicillium restrictum</i> J. C. Gilman & E. V. Abbott						+	1
<i>Penicillium waksmanii</i> K. M. Zalesky						+	1
<i>Phoma eupyrena</i> Sacc.						+	1
<i>Trichoderma inhamatum</i> Veerkamp & W. Gams						+	1
<i>Tripospermum</i> sp.						+	1
<i>Verticillium fungicola</i> (Preuss) Hassebr.						+	1
<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viégas						+	1
Total de ocorrências	10	20	19	20	16	28	

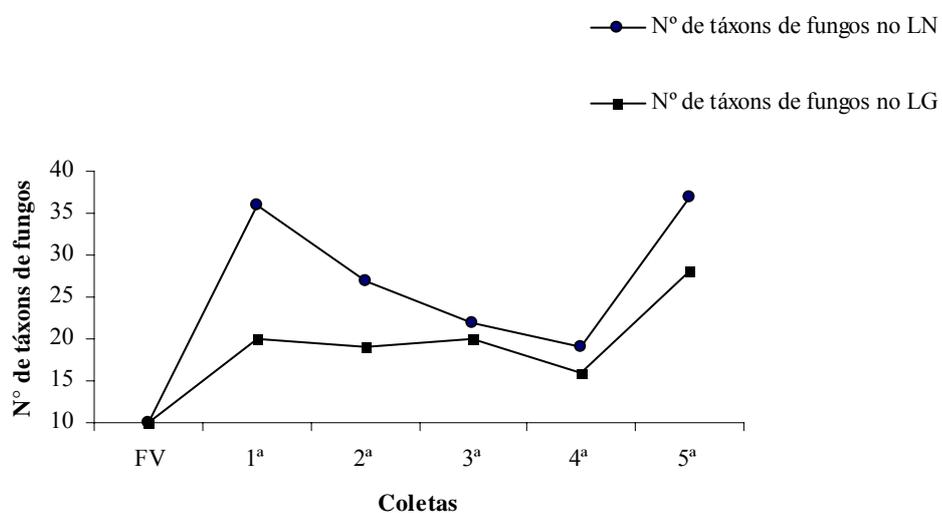


Figura 6. Número de táxons de fungos observados primeiramente nas folhas verdes (FV) e nas folhas de *T. pulchra* em decomposição no Lago das Ninféias - LN (●) e no Lago das Garças - LG (■), durante as coletas de fevereiro a abril de 2004.

4.4. Determinação da velocidade de decomposição das folhas

A velocidade de decomposição das folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn. foi determinada através do decaimento das médias da matéria orgânica remanescente (M. O. R.) em porcentagem (%) (Figuras 07 e 08) e pelo coeficiente de decomposição k de Olson (1963) (Figuras 09 e 10).

No Lago das Ninféias a média do peso seco inicial obtido para as folhas foi de 10,037g. Após submersão de 15 dias foi obtida média de matéria orgânica remanescente de 7,419g de folhas, equivalente a 74% da matéria orgânica inicial. Na segunda coleta, equivalente a 31 dias de submersão, foi encontrado valor de 6,517g ou 65% da matéria orgânica remanescente inicial, para a terceira coleta ou 45 dias de exposição a média encontrada foi de 5,995g de ou 60% do peso da seco inicial das folhas. Na quarta coleta a queda de peso diminuiu apresentando valor de 5,694g de folhas, ou 57% do peso seco inicial. Na quinta coleta houve aparente estabilização da decomposição, havendo aumento de peso das folhas, com valor de 5,728g também equivalente a 57% do peso seco inicial das folhas.

O experimento realizado no Lago das Garças apresentou maior e mais rápida perda de peso, a média do peso seco inicial das folhas foi de 10,032g, apresentado após 15 dias de submersão valor de 7,626g ou 76% de matéria orgânica remanescente. A perda de peso durante a segunda quinzena do experimento, equivalente a 31 dias de submersão, foi de 1,955g, com valor de 5,671g ou 57% de matéria orgânica remanescente. A terceira coleta ou 45 dias de experimento apresentou valor de 5,383g ou 54% de matéria orgânica remanescente com queda contínua para a quarta coleta que apresentou valor de 3,270g equivalente a 33% do peso seco inicial. A quinta coleta apresentou valor de 1,211g de matéria orgânica remanescente ou 12%, com muitos sacos de tela de náilon vazios, fato que demonstra a rápida decomposição dos substratos foliares neste lago.

Embora a decomposição no lago menos poluído (Lago das Ninféias) tenha aparentemente estabilizado, a curva de perda de peso ou de teor de matéria orgânica remanescente apresentou linha de tendência exponencial com valor de $r^2 = 0,8152$, mostrando-se elevada. A linha de tendência visualizada para o Lago das Garças apresentou valor semelhante $r^2 = 0,8701$, sendo significativa e

demonstrando que a equação determinada pela regressão pode expressar o modelo de decomposição do folheto no período de tempo estudado neste lago.

De acordo com diversos trabalhos realizados sobre a dinâmica de decomposição de matéria orgânica autóctone em ambientes lóticos (Kaushik & Hynes 1968, 1971, Petersen & Cummins 1974 *apud* Cummins 1974, Gessner 1999) esta pode ser dividida em três fases: lixiviação, condicionamento microbiano e fragmentação pelos detritívoros. Segundo Cummins (1974) a lixiviação inicia-se após 24 horas de submersão com rápida perda de peso das folhas, que pode chegar a 30% de peso seco inicial. O sucesso da lixiviação, ou a quantidade de perda de massa, depende da qualidade da folha, que varia de espécie para espécie, das condições do ambiente aquático e do clima a que este ambiente é exposto.

A segunda etapa da decomposição, caracterizada pelo condicionamento microbiano de bactérias, protozoários, hifomicetos aquáticos, fungos zoospóricos e geofungos é completada nas primeiras duas semanas de decomposição, sendo dependente da temperatura (Cummins 1974). Segundo o mesmo autor, o termo condicionamento deve ser utilizado para descrever o aumento da palatabilidade dos substratos para os detritívoros, tendo o significado de “preparação” do substrato (Gessner 1999), fato este ocasionado pelo acúmulo de biomassa microbiana com conseqüente elevação dos valores nutritivos das folhas (Cummins 1974).

Kaushik & Hynes (1968) realizaram experimento para avaliação do acréscimo de proteína às folhas durante a decomposição e verificaram que isto ocorria durante o crescimento de fungos, já que a inibição do crescimento bacteriano, por meio de antibióticos não causou diminuição no nível protéico foliar. Os mesmos autores concluíram que a composição das folhas, a qualidade e temperatura da água e o tipo de microrganismos envolvidos são alguns dos fatores responsáveis pela decomposição das folhas durante a época de outono em rios de regiões de clima temperado.

A terceira etapa da decomposição é caracterizada pela fragmentação mecânica do substrato causada através da ação de detritívoros, microrganismos e por ação da turbulência da água que causa abrasão do substrato às substâncias ou materiais particulados presentes na coluna d'água

(Cummins1974).

As folhas coletadas nos lagos foram colonizadas rapidamente pelos detritívoros, verificados durante a lavagem das folhas, após a retirada dos sacos de tela de náilon e nas placas contendo água destilada esterilizada e folhas incubadas. O lago (Lago das Garças) apresentou grande quantidade de macro e microinvertebrados fragmentando as folhas, enquanto que o Lago das Ninféias apresentou grande quantidade de microinvertebrados, com macroinvertebrados ocorrendo em menor quantidade.

De acordo com a classificação apresentada por Petersen & Cummins (1974) (Tabela 6), a velocidade de decomposição pode ser avaliada pelo índice k e através do tempo necessário para processamento de 50% do peso inicial do material submerso. No presente estudo, a decomposição da metade do material foliar no Lago das Garças ocorreu em cerca de 50 dias de submersão, caracterizando-se como rápida, embora mais lenta se comparada aos estudos que avaliaram a decomposição de *Myrcia rostrata* Decandoli, *Piper divaricatum* G.Mey (Moulton & Magalhães 2003) e *Tibouchina pulchra* Cogn (Moreira 2002) realizados em riachos na mata atlântica. Em ambos a decomposição da metade do material ocorreu em 30 dias ou menos, resultado possivelmente explicado pela maior abrasão a que foram induzidas às folhas em decorrência da maior turbulência e fluxo das águas nos riachos (Cummins, 1974).

Em trabalho realizado por Schoenlein-Crusius (1993) a decomposição de folhas de *Alchornea triplinervia* ocorreram de maneira mais lenta nas duas repetições do experimento realizados em 1988 a 1989 e 1989 a 1990 que, de acordo com a classificação, caracteriza-se como lenta, ocorrendo processamento da metade do material foliar em oito meses e seis meses, respectivamente.

No Lago das Ninféias, o menor valor obtido para quantidade de matéria orgânica remanescente ocorreu com 60 dias de experimentação (quarta coleta) e após este período houve acréscimo de peso, demonstrando, quando comparada aos valores acima citados, velocidade de decomposição lenta. Em rios e lagos pouco produtivos a entrada de material orgânico alóctone, tem

grande importância como fonte de matéria orgânica dinamizando a cadeia trófica (Witkamp & Van Der Drift 1961, Bärlocher & Kendrick 1974). Em lagos rasos colonizados por comunidades de plantas aquáticas, a maior entrada de nutrientes para a decomposição e consequente ciclagem é feita pelo material autóctone (Wetzel 1993, Esteves 1998). Uma das explicações para este resultado visualizado no experimento do Lago das Ninféias é a presença maciça destas plantas aquáticas, adicionada a grande entrada de material alóctone provindo dos solos e da vegetação marginal, resultando em enorme entrada de nutrientes e possíveis acúmulos de substâncias húmicas (Wetzel 1993, Esteves 1998), que podem causar alterações nas taxas de decomposição no lago.

Os valores do coeficiente k obtidos para os dois lagos são demonstrados nas Figuras 7 e 8. Para o Lago das Ninféias foram encontrados valores entre 0,0056 e 0,0132, sendo o maior valor referente à primeira coleta e o menor à quinta coleta. Os valores de k para o Lago das Garças estão entre 0,010 e 0,025, sendo pertencentes respectivamente à primeira e quinta coletas. De acordo com os valores apresentados o processamento caracteriza-se como médio para os dois lagos.

Nas folhas de *T. pulchra* submersas em riachos foram encontrados valores entre 0,0031 e 0,0138 (Moreira 2002), maiores foram os resultados do estudo realizado por Moulton & Magalhães (2003) sobre a decomposição de *Myrcia rostrata* Decandoli nas áreas não impactadas que apresentaram coeficientes de decomposição k de 0,042. Entretanto, os experimentos desenvolvidos nas áreas impactadas apresentaram valores semelhantes ao presente estudo, 0,019 e 0,017. Ambos os estudos citados enquadram-se dentro da variação de processamento médio, quando avaliados através do índice k , embora a avaliação pela perda de peso os classifique como processamentos rápidos.

Em trabalho realizado por Gessner & Chauvet (1994) com objetivo de avaliar a importância dos fungos na dinâmica de decomposição de folhas pertencentes a diferentes espécies de plantas, foram verificadas diferentes taxas de decaimento de peso com valores de coeficiente k entre 0,0042 d^{-1} e 0,0515 d^{-1} e velocidade de decaimento de matéria orgânica mais lenta com 50% de matéria orgânica remanescente após 14 semanas. Ainda em comparação aos trabalhos brasileiros, valores

ainda mais baixos para velocidade de decomposição de folhas foram encontrados durante experimento realizado por Maharning & Bärlocher (1996). Neste trabalho os coeficientes k obtidos variaram entre 0,00027 e 0,00466 e apresentaram perdas de 50% do peso das folhas após 15 semanas de submersão. Segundo os autores, a baixa velocidade de decomposição pode estar relacionada às baixas temperaturas das águas dos riachos.

A perda de peso ocorrida nas duas primeiras coletas possivelmente está relacionada às primeiras etapas da decomposição descritas anteriormente (lixiviação e condicionamento microbiano). Tanto as folhas submersas no Lago das Ninféias quanto no Lago das Garças apresentaram elevada taxa de decomposição no primeiro período do experimento (primeira quinzena), apresentando aproximadamente 75% de matéria orgânica remanescente.

A maioria dos trabalhos sobre velocidade de decomposição de folhas em ambientes aquáticos e a relação existente entre a decomposição e a ocorrência de fungos foram realizados em regiões de clima temperado, enfocando na maioria sistemas lóticos (Petersen & Cummins 1974 *apud* Cummins 1974, Kaushik & Hynes 1968, Bärlocher & Kendrick 1974, Gessner 1991, Baldy *et al.* 1995, Sridhar & Bälöcher 2000, Dangles & Chauvet 2003, Gulis & Suberkropp 2003, Spänhoff & Gessner 2004).

Além dos trabalhos já citados, no Brasil, Esteves & Barbieri (1983) avaliaram a decomposição de *Nymphaea indica* (L.) e *Polygonum ferrugineum* Wedd. em estudo realizado na Represa do Lobo e verificaram maiores perdas de peso das folhas e pecíolos de *N. indica*. Ainda com macrófitas, Fellerhoff *et al.* (2003) avaliaram a decomposição de folhas de diferentes espécies no Pantanal matogrossense, as quais apresentaram rápida degradação, com 20 (*Paspalum repens* Berg.) a 80% (*Nymphaea amazonum* Mart. & Zucc) de perda de peso após 10 dias de submersão e 60% a 90% após três semanas.

Segundo Olson (1963) os valores de k que deveriam ser obtidos em florestas tropicais seriam entre 0,3 e 4,0. Estes resultados são contraditórios. Segundo Strufaldi-de-Vuono *et al.* (1989), as comparações entre os coeficientes k em diversos trabalhos devem ser feitas com cautela,

pois diferenças metodológicas de campo e ou a abordagem matemática dos dados podem causar diferenças nos resultados deste coeficiente.

A classificação de Petersen & Cummins (1974) foi desenvolvida para regiões de clima temperado que possuem taxas de decomposição bem diferentes quando comparadas às regiões de clima tropical, por conta principalmente da biodiversidade geral e comunidade decompositora. Segundo Strufaldi-de-Vuono *et al.* (1989), este tipo de análise demonstra a importância da caracterização da velocidade de decomposição pela perda de matéria orgânica ou pelo teor de matéria orgânica remanescente ocorrida durante a decomposição, como forma de evitar erros metodológicos na análise de resultados.

As diferenças existentes entre as taxas de decomposição das folhas nos dois lagos eram esperadas, visto que estes apresentam diferentes graus tróficos (Bicudo *et al.* 2002, Fonseca 2005). O Lago das Garças apresenta-se eutrofizado (Bicudo *et al.* 2002) e em consequência disto apresenta maiores taxa de produção e decomposição (Esteves 1998). Aliada à adição de nutrientes está a temperatura, fator diretamente ligado às atividades metabólicas dos organismos, que quando elevada acelera estes processos (Bianchini Jr. 1999).

A decomposição verificada no Lago das Ninféias apresentou-se lenta, aproximando-se à taxas de decomposição decorrentes de regiões de clima temperado (Gulis & Suberkropp 2003). Por ser caracterizado como mesotrófico era de se esperar taxa de decomposição mais acelerada do que a demonstrada. A explicação para tal acontecimento pode estar no acúmulo de matéria orgânica de origem autóctone, por conta da colonização de macrófitas aquáticas, que de acordo com Bianchini (1999) são constituídas por diversas formas de açúcares (carboidratos, hemicelulose e celulose), proteínas, lipídios, taninos e em grande parte por lignina (10 a 30%), material de difícil degradação que necessita ser decomposto por via aeróbia.

No presente estudo foram verificadas baixas concentrações de oxigênio dissolvido na maioria das coletas realizadas no Lago das Ninféias, fato também observado por Biesemeyer (2005) nas diferentes profundidades deste lago. Esta característica possivelmente resulta nas baixas taxas

de decomposição e no acúmulo de matéria orgânica.

Os experimentos de velocidade de decomposição das folhas submersas nos dois lagos foram acompanhados simultaneamente e desenvolvidos com a utilização de mesmo tipo de substrato, folhas de *T. pulchra*. Pode-se concluir que as diferenças nas taxas de degradação do material são decorrentes da qualidade do ambiente a que foram expostos, ou da qualidade da água de cada reservatório.

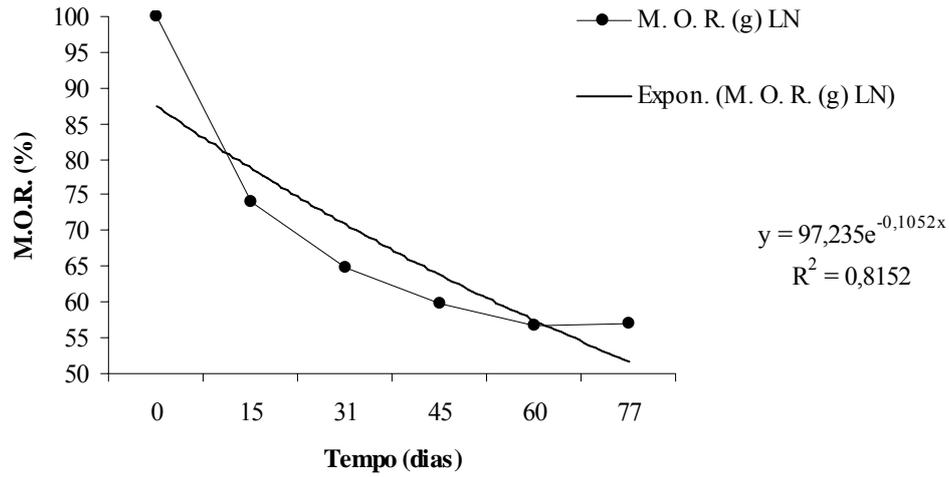


Figura 7. Velocidade de decomposição expressa pela porcentagem da matéria orgânica (M.O.R.) remanescente pelos dias de submersão das folhas de *T. pulchra* no Lago das Ninféias (LN).

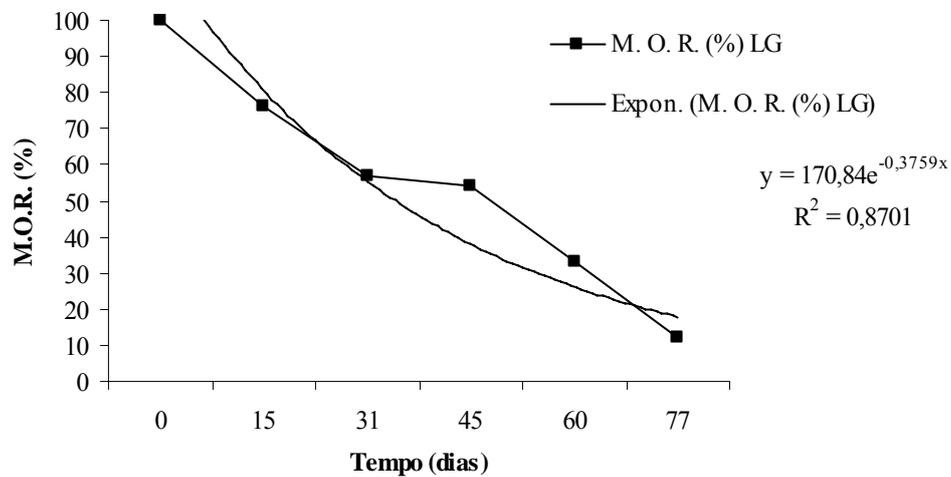


Figura 8. Velocidade de decomposição expressa pela porcentagem da matéria orgânica (M.O.R.) remanescente pelos dias de submersão das folhas de *T. pulchra* no Lago das Garças (LG).

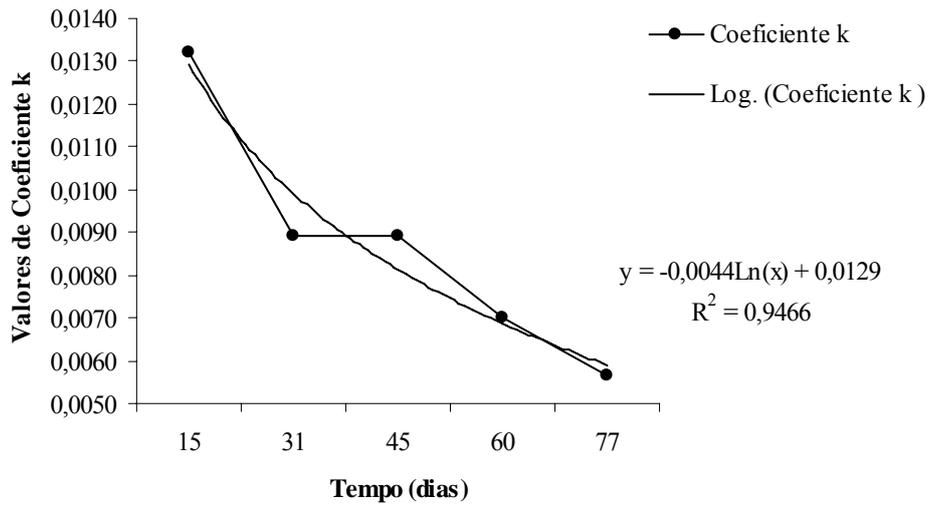


Figura 9. Valores dos coeficientes de decomposição k pelos dias de submersão das folhas de *T. pulchra* Cogn. no Lago das Ninféias.

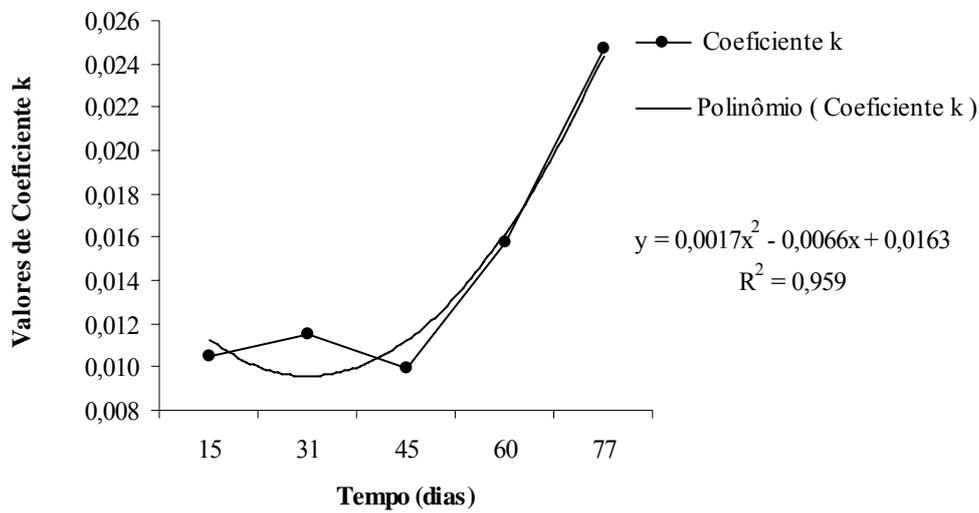


Figura 10. Valores dos coeficientes de decomposição k pelos dias de submersão das folhas de *T. pulchra* Cogn. no Lago das Garças.

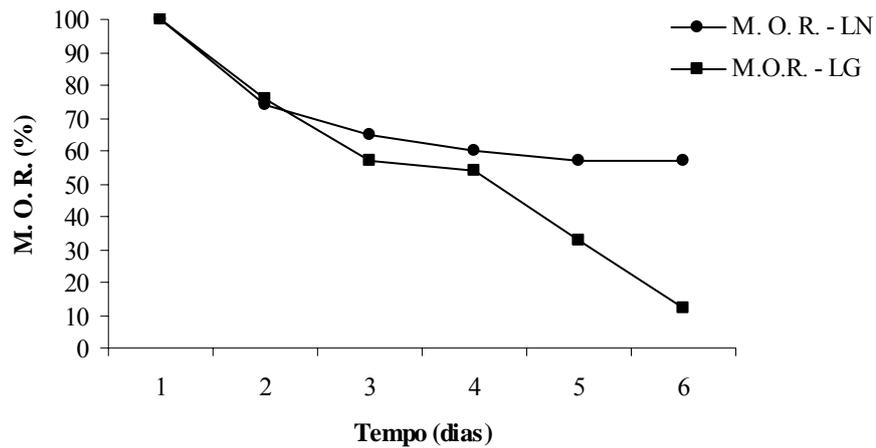


Figura 11. Velocidade de decomposição expressa pela matéria orgânica (M.O.R.) remanescente pelos dias de exposição, das folhas de *T. pulchra* Cogn. submersas nos dois lagos. Lago das Ninféias – LN (●) e Lago das Garças – LG (■).

Tabela 6. Taxas de decomposição de seis espécies vegetais em um córrego de Michigan – USA. Modificado de Petersen e Cummins (1974) utilizada por Magalhães (2002).

	<i>Lenta</i>	<i>Média</i>	<i>Rápida</i>
- k	0,005	0,005 – 0,10	0,10 – 0,15
Tempo de processamento de 50% do peso inicial (meses)	4.6	2.3 – 4.6	1.5 – 2.3
Tempo de processamento de 90% do peso inicial (meses)	≥ 15	8.0 - 15	≤ 8

4.5. Análise de ergosterol das folhas em decomposição

Os resultados da análise do ergosterol são demonstrados pelas médias obtidas das amostras de folhas coletadas quinzenalmente em cada lago (Figura 12 e 13). A metodologia para extração do ergosterol foi baseada em Gessner & Chauvet (1993), Miller *et al.* (1998), Montgomery (2000), as duas últimas compiladas e aperfeiçoadas por Silva (2004).

A porcentagem média de recuperação do ergosterol por esta metodologia foi de $77,43\% \pm 7,15\%$, sendo que a perda de ergosterol tende a diminuir com a repetição do fracionamento do n-hexano uma ou duas vezes, a fim de retirar partes aderidas ao recipiente (Silva, 2004). Trabalhos realizados concluíram que a eficiência do método de extração do ergosterol depende do tipo de amostra a ser analisada, sendo que amostras ambientais estão sujeitas a maiores interferências, visto que o método pode ser influenciado pela composição do substrato e a relação destes com os fungos, além de práticas metodológicas, tais como: tipo de solvente e substâncias utilizadas na saponificação para destruição da membrana fúngica e liberação total do ergosterol (Gessner *et al.*, 1991).

A metodologia mostrou-se satisfatória quando utilizada em folhas, já que os resultados obtidos para quantificar as concentrações de ergosterol corroboram os resultados de trabalhos realizados em regiões de clima temperado (Samiadi & Bärlocher 1996, Suberkropp 1997, Sridhar & Bärlocher 2000, Dangles & Chauvet 2003).

As concentrações de ergosterol obtidas para o Lago das Ninféias variaram bruscamente entre as coletas. A primeira coleta apresentou $89,738\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas, os teores de ergosterol das folhas diminuíram bruscamente na segunda coleta apresentando valor de $31,567\mu\text{g/g}$. A terceira coleta de folhas demonstrou maiores valores de ergosterol $103,423\mu\text{g/g}$, com acréscimo de $71,856\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas, quando comparada à segunda coleta. Novamente na quarta coleta os valores diminuíram chegando a $32,311\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas, valor semelhante ao encontrado para segunda coleta. Na quinta coleta os valores voltaram a subir de maneira menos brusca, apresentando valor total de $58,748\mu\text{g/g}$ com diferença de $26,437\mu\text{g/g}$ para o valor obtido na

coleta anterior.

A curva dos valores de ergosterol para este lago apresentada na Figura 12, não possibilitou o uso de linha de tendência para avaliar o valor de r^2 . As diminuições das concentrações de ergosterol parecem, em algumas coletas, estar relacionadas com a diminuição do número de táxons de fungos nas folhas (Figura 14). Porém esse fato não foi verificado na terceira coleta, pois apesar de possuir valor alto de ergosterol apresentou baixo número de táxons. Na quinta coleta houve grande aumento na diversidade de fungos com adição de 18 táxons e elevação das taxas de ergosterol. A curva de perda de peso das folhas, ou diminuição de massa expressa pelo valor de matéria orgânica remanescente, não apresentou relação com as concentrações de ergosterol neste lago (Figura 16), visto que a decomposição das folhas foi baixa, chegando à estabilização e posterior ganho de massa do material foliar.

Esta baixa velocidade de decomposição das folhas demonstra a importância dos detritívoros como consumidores deste material, junto aos fungos e bactérias, já que neste lago foram observadas grandes quantidades de protozoários, mas poucos macroinvertebrados agindo nas folhas. Trabalhos realizados em rios e lagos de regiões de clima temperado apresentaram resultados satisfatórios quanto à velocidade de decomposição de substratos foliares, quando estes são colonizados por fungos, bactérias e detritívoros (Baldy *et al.* 1995, Dangles & Chauvet 2003). Segundo Cummins (1974), a presença de outros consumidores além das bactérias e dos fungos na cadeia de detritos, mostra-se como grande responsável por parte do fracionamento e utilização de massa foliar.

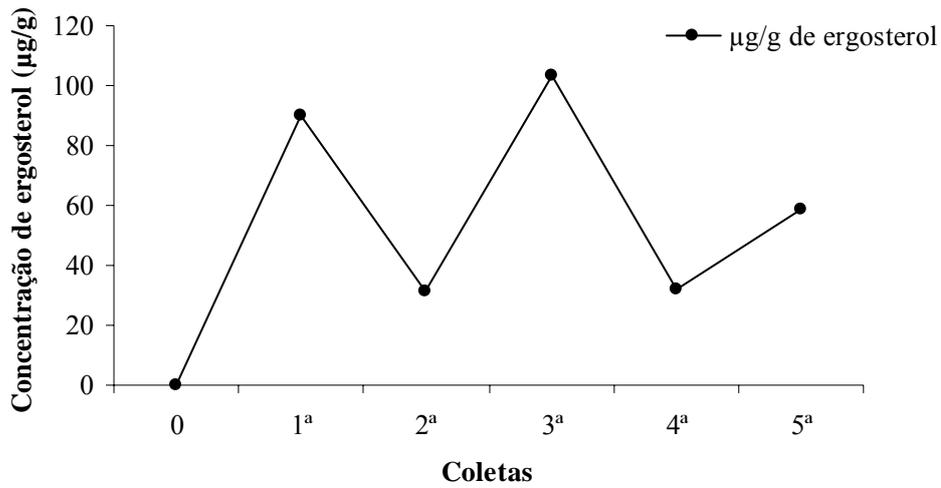


Figura 12. Concentrações de ergosterol expressas em µg de ergosterol por g de folhas secas, obtidas durante a decomposição de folhas de *T. pulchra* no Lago das Ninféias.

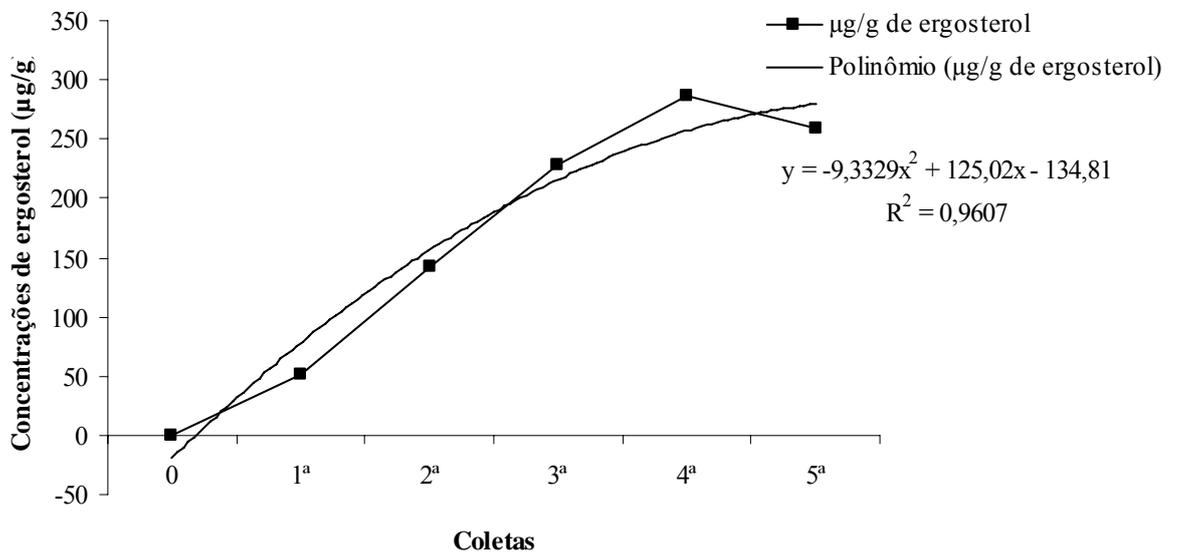


Figura 13. Concentrações de ergosterol expressas em µg de ergosterol por g de folhas secas, obtidas durante a decomposição de folhas de *T. pulchra* no Lago das Garças.

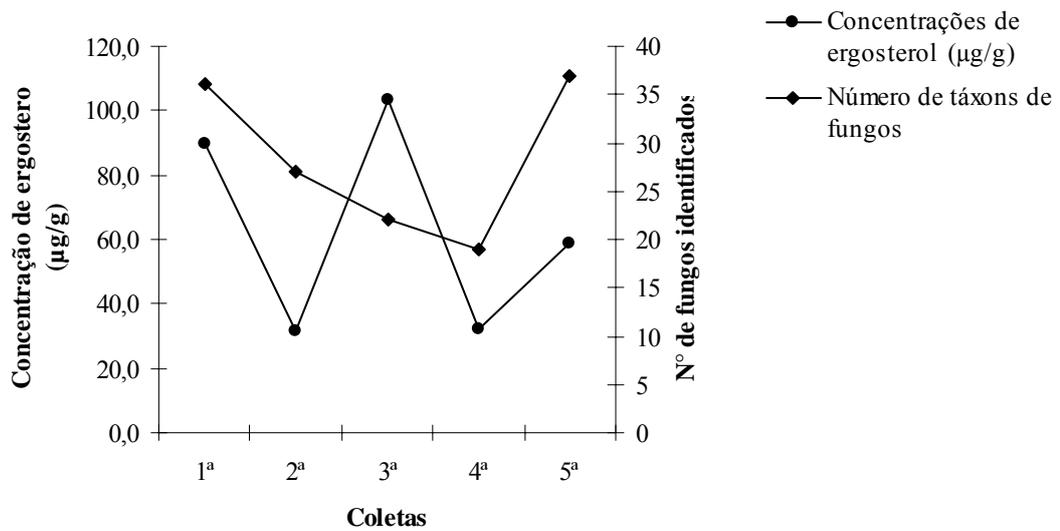


Figura 14. Concentração de ergosterol expressa em µg/g (●) encontradas nas folhas durante a decomposição e os números de táxons de fungos (◆) decompositores das folhas de *T. pulchra* obtidos para cada coleta realizada no Lago das Ninféias.

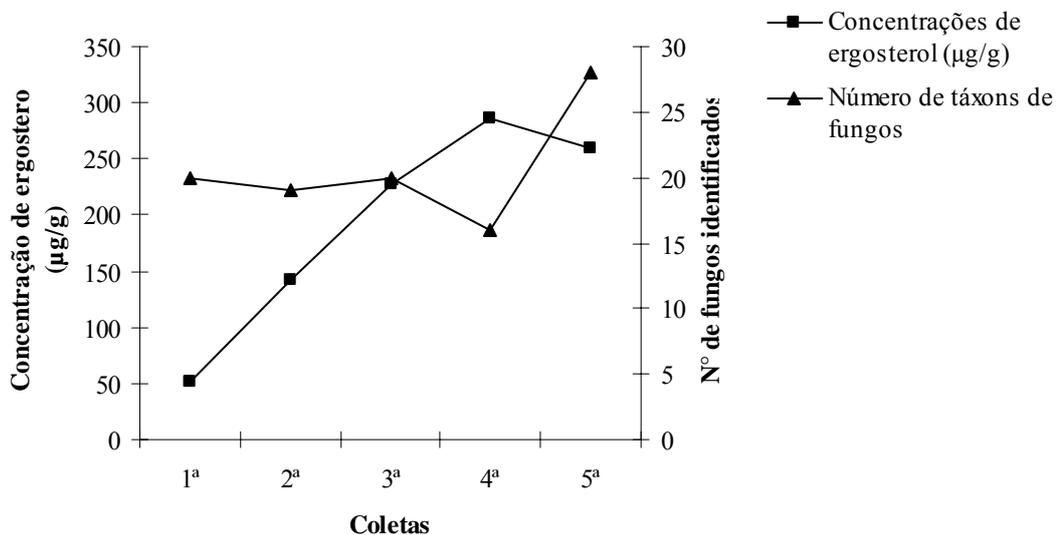


Figura 15. Concentração de ergosterol expressa em µg/g (■) encontradas nas folhas durante a decomposição e os números de táxons de fungos (▲) decompositores das folhas de *T. pulchra* obtidos para cada coleta realizada no Lago das Garças.

Moulton & Magalhães (2003) verificaram maior velocidade de decomposição das folhas submersas, quando estas foram acondicionadas em sacos de tela de náilon com malhas de 10mm de espessura, o que possibilitou a maior entrada de detritívoros, auxiliando na decomposição. Além disto, verificaram nos rios impactados decomposição mais lenta do material foliar e atribuíram este fato a menor diversidade e ocorrência dos micro e macroconsumidores, sensíveis aos níveis de impacto. Em trabalho realizado por Malosso (1999) sobre levantamento de espécies de hifomicetos aquáticos decompositores de folhas submersas, foi verificado, juntamente com os fungos, grande quantidade de protozoários em pontos próximos às nascentes e em locais com altos índices de nutrientes.

Os resultados obtidos para o Lago das Garças, com exceção à primeira coleta, mostraram-se mais elevados e menos variáveis, quando comparados aos dados apresentados para o Lago das Ninféias. A linha de tendência mostrou-se polinomial com $r^2 = 0,9607$ (Figura 13). A primeira coleta apresentou valor de $50,816\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas, com grande alta na segunda coleta e valor de $142,731\mu\text{g/g}$ de ergosterol. Na terceira e na quarta coletas os valores continuaram a subir, apresentando respectivamente, $227,962\mu\text{g/g}$ e $286,39\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas. A quinta e última coleta apresentou ligeira baixa de valor com $259,467\mu\text{g/g}$ de ergosterol nas folhas, fato explicado pela pequena quantidade de biomassa vegetal em decomposição e conseqüente diminuição da colonização fúngica. Segundo Baldy *et al.* (1995) a biomassa fúngica tende a diminuir no final do processo de decomposição, possivelmente como conseqüência da substituição dos fungos pelas bactérias no processo de degradação.

Observou-se maior concentração de ergosterol nas folhas coletadas no lago mais eutrofizado, resultado que acompanha tendências já verificadas em outros trabalhos realizados em reservatório, rios e riachos (Malosso 1999, Sridhar & Bärlocher 2000, Gulis & Suberkropp 2003). De acordo com Sridhar & Bärlocher (2000), são verificadas maiores taxas de esporulação bem como produção de biomassa (ergosterol) pelos fungos, quando estes são colocados junto aos substratos foliares em meio rico em nitrogênio e fósforo, demonstrando que fontes externas de

nutrientes alteram fortemente o metabolismo e crescimento fúngico, acelerando a decomposição dos substratos submersos e sua incorporação nos níveis mais altos da cadeia trófica.

Nos trabalhos realizados por Gulis & Suberkropp (2003, 2004), os autores verificaram, de maneira semelhante ao trabalho anteriormente citado, aumento na concentração de conídios e na produção de biomassa fúngica em meios ricos em nutrientes, com concentrações menores desses mesmos parâmetros quando analisados em ambiente controle pobre em nutrientes. Fato semelhante pode ter ocorrido no presente estudo, já que o Lago das Garças possui altos índices de fósforo e nitrogênio em suas águas por conta dos aportes de esgoto (Carmo *et al.* 2002).

De modo contrário ao Lago das Ninféias, as concentrações de ergosterol encontradas no Lago das Garças apresentaram correlação negativa com a decomposição do folhedo (Figura 17), sendo as duas curvas expressas proporcionalmente inversas, demonstrando a possível ação dos fungos durante a decomposição.

Em regiões de clima temperado, muitos são os trabalhos realizados sobre a ação dos fungos na dinâmica de decomposição de substratos foliares submersos. Suberkropp (1997) estudou a contribuição fúngica durante a decomposição de folhas submersas e encontrou relação significativa entre a quantidade de esporos, biomassa (ergosterol) e folhas encontradas no ambiente aquático, verificando decréscimo da maioria das espécies e na biomassa fúngica nas folhas durante o verão, como consequência da menor quantidade de matéria orgânica disponível.

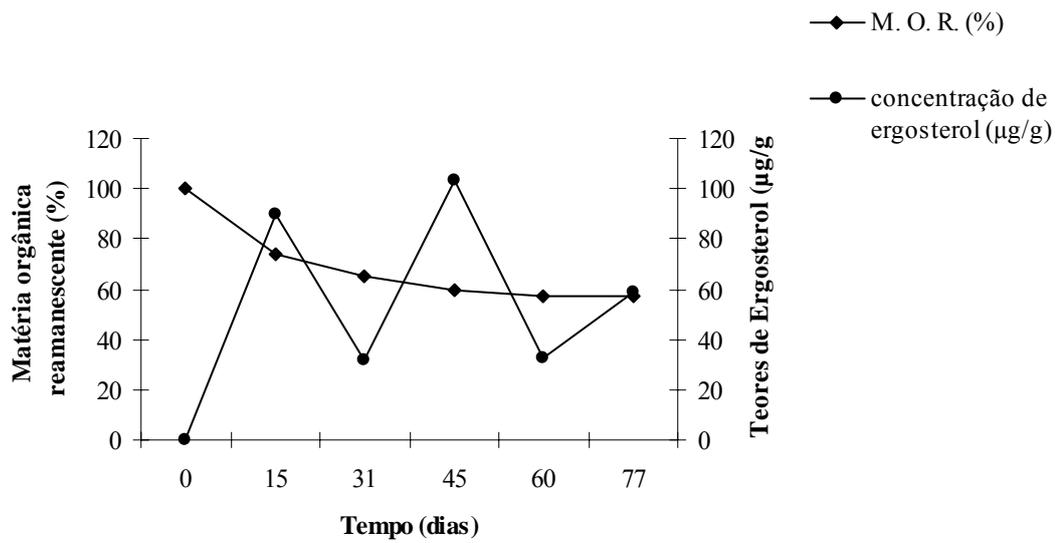


Figura 16. Concentração de ergosterol expressa em $\mu\text{g/g}$ (■) e os valores de matéria orgânica remanescente (M. O. R.) (▲), expressos em porcentagem (%), obtidos durante a decomposição das folhas de *T. pulchra* obtidos no Lago das Ninféias.

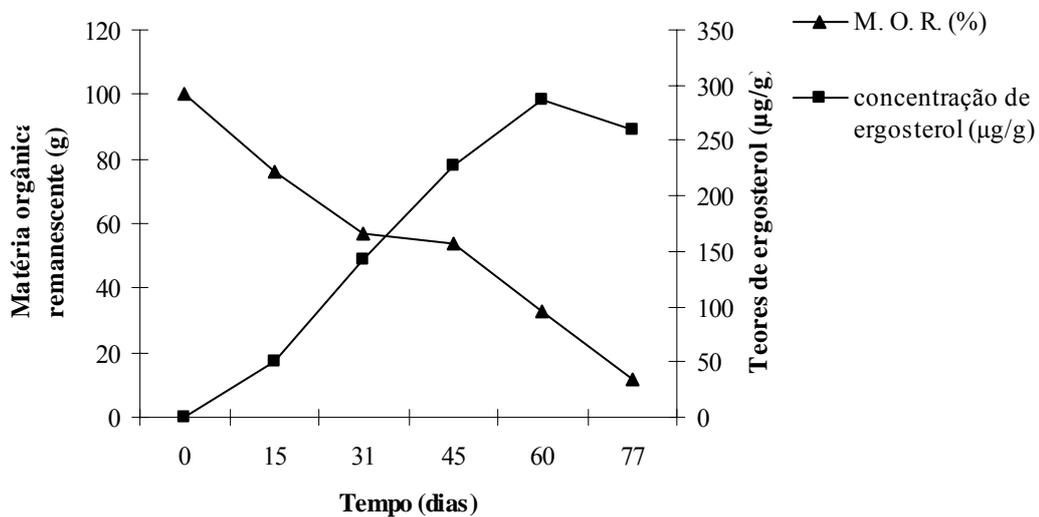


Figura 17. Concentração de ergosterol expressa em $\mu\text{g/g}$ (■) e os valores de matéria orgânica remanescente (M. O. R.) (▲), expressos em porcentagem (%), obtidos durante a decomposição das folhas de *T. pulchra* submersas no Lago das Garças.

Em trabalho realizado por Gessner & Chauvet (1994), foram verificadas elevações crescentes nas concentrações de biomassa fúngica durante a decomposição, semelhante ao ocorrido no Lago das Garças, embora os autores tenham verificado valores mais altos, com mínimos de $336,3\mu\text{g g}^{-1}$ e máximos de $848,9\mu\text{g g}^{-1}$. Concentrações semelhantes de ergosterol, em relação ao presente estudo, foram verificadas em trabalho realizado por Maharning & Bärlocher (1996), na qual foram avaliadas as concentrações de ergosterol e de conídios de hifomicetos aquáticos durante decomposição de quatro diferentes espécies de plantas. Os autores obtiveram valor máximo de $67\mu\text{g g}^{-1}$ de ergosterol nas folhas, dado atribuído às baixas temperaturas das águas ($3,3^{\circ}\text{C}$) ocorridas durante o experimento. Estudo realizado sobre decomposição de macrófitas aquáticas também apresentou valores altos de ergosterol nas folhas e nos pecíolos, com máximos de $368\mu\text{g.g}^{-1}$ e mínimos de $203\mu\text{g.g}^{-1}$ (Kuehn *et al.* 1999).

Apenas dois trabalhos sobre quantificação de ergosterol em folhas em decomposição foram realizados no Brasil, Malosso (1999) e Schoenlein-Crusius *et al.* (dados não publicados). O primeiro avaliou a ocorrência de hifomicetos aquáticos e teores de ergosterol em folhas submersas em diversos pontos de dois ambientes aquáticos impactados, sendo um lótico e um lêntico. Segundo a autora, a maior ocorrência destes fungos foi registrada no ambiente lótico, enquanto que os maiores teores de ergosterol foram encontrados no ambiente lêntico ($6137,4\mu\text{g.g}^{-1}$) e concluiu que as relações existentes entre os teores de ergosterol, tipo de substrato, disponibilidade de nutrientes e condições ambientais, necessitam ainda ser esclarecidas.

Schoenlein-Crusius *et al.* (dados não publicados) realizaram trabalho sobre a diversidade e concentração de ergosterol em folheto submerso em diferentes pontos de um mesmo riacho localizado na mata atlântica e, de maneira semelhante, verificaram correlação negativa da diversidade de fungos com a concentração de ergosterol no folheto, com valores mínimos de $18,3\mu\text{g g}^{-1}$ e máximos de $251,7\mu\text{g g}^{-1}$ de ergosterol nas folhas. A grande diferença encontrada entre os dados do trabalho apresentado por Malosso (1999) e do presente estudo possivelmente ocorre em consequência das diferentes metodologias utilizadas para extração do ergosterol, já que no trabalho

realizado por Schoenlein-Crusius *et al.* (dados não publicados) utilizou-se a mesma metodologia e não foram verificados dados discrepantes.

Os dados observados mais nitidamente no Lago das Garças e de maneira semelhante por Malosso (1999) e Schoenlein-Crusius (dados não publicados), referente à existência de relação inversa entre as concentrações de ergosterol e os números de táxons de fungos observados, contradizem resultados obtidos por trabalhos realizados em regiões de clima temperado, nos quais, o incremento na quantidade de ergosterol mostrou-se relacionado ao aumento de crescimento e esporulação dos táxons de hifomicetos aquáticos, bem como ao aumento no número de espécies (Sridhar & Bärlocher 2000, Gulis & Suberkropp 2003, 2004).

Apesar de possuir diversidade fúngica mais baixa, o Lago das Garças apresentou maior concentração de ergosterol na maioria das coletas realizadas, dado que demonstra a grande colonização do substrato por estes microrganismos. Em trabalhos realizados sobre a diversidade de fungos em corpos d'água poluídos, tanto em regiões de clima temperado, como em regiões de clima tropical, os resultados demonstraram que a maioria dos fungos, inclusive os fungos zoospóricos, possuem resistência a poluentes, mesmo metais pesados (Krauss *et al.* 2003, Pires-Zottarelli 1999).

A ocorrência dos fungos zoospóricos nas folhas foi densa. Durante todas as coletas foram verificadas nas superfícies das folhas incubadas em água grande volume de micélio pertencente a espécies deste grupo. De acordo com Newell (1992), os microrganismos pertencentes a este grupo são conhecidos por não apresentar ergosterol como constituinte celular, mas trabalhos mais recentes demonstram o inverso. Trigos *et al.* (2005) verificaram a presença deste metabólito sendo sintetizado por *Phytophthora drechsleri*, fungo zoospórico conhecido como fitopatógeno, demonstrando que possivelmente estes microrganismos podem auxiliar no aumento das concentrações de ergosterol em substratos em decomposição.

Além dos fungos zoospóricos, se em grande quantidade, certas espécies de microalgas, cianobactérias e protozoários podem contribuir para o aumento dos teores de ergosterol em substratos submersos, fato que pode ter causado pequena superestimação das concentrações de

ergosterol encontradas no Lago das Garças (Peeler 1989, Newell 1992, Disch *et al.* 1998).

Além da concentração de ergosterol encontrada em substratos foliares estar relacionada com a concentração de nutrientes do meio aquático, é também influenciada pela composição química do substrato, como concentrações iniciais de lignina e de nutrientes disponíveis nas folhas, temperatura do meio aquático e estágios fisiológicos dos fungos (Gessner 1997).

Outros trabalhos demonstraram que a síntese e distribuição deste metabólito nas células fúngicas variam com os estágios de crescimento ou idade fisiológica das diferentes espécies de fungos, que pode gerar diferentes concentrações deste metabólito, visto que, culturas em estágio de idade avançada podem apresentar baixas concentrações deste constituinte de membrana, ou ainda, espécies em estágios iniciais de crescimento podem apresentar altas taxas de ergosterol enquanto que outras podem desenvolver o pico de produção deste em fase estacionária (Behalová *et al.* 1994, Barajas-Aceves *et al.* 2002, Silva 2004).

A análise do ergosterol vem sendo utilizada por muitos autores para quantificar a biomassa fúngica em amostras ambientais, tanto em solo (Montgomery *et al.* 2000, Barajas-Aceves *et al.* 2002, Silva 2004) quanto em material foliar em ambientes aquáticos continentais e marinhos (Newell 1992, Suberkropp & Weyers 1996, Samiaji & Bärlocher 1996, Spänhoff & Gessner 2004).

Diferentes metodologias foram desenvolvidas, desde avaliação do volume de micélio através de microscopia, estimando-se o biovolume fúngico, a análises de moléculas específicas destes microrganismos. A glicosamina, um monômero de quitina e presente na parede celular dos fungos, com exceção de algumas leveduras e dos Oomycetes, é uma dessas moléculas muito utilizada para avaliar a biomassa fúngica. Apesar disto, a glicosamina pode superestimar valores de biomassa fúngica em análises ambientais, já que não é totalmente específica aos fungos, ocorrendo em bactérias e invertebrados, ambos participantes da cadeia de detritos. A glicosamina demora a ser decomposta, assim durante análise pode-se medir biomassa fúngica morta e viva, superestimando o valor real de fungos ativos na decomposição do substrato (Newell 1992).

Outras técnicas podem também ser utilizadas, como quantificação de antígenos fúngicos,

receptores de enzimas, indução a respiração durante a decomposição, entre outras (Newell 1992).

Para trabalhos realizados em ambientes aquáticos de regiões de clima temperado pode-se utilizar um fator de correção responsável por “transformar” os valores das concentrações de ergosterol à biomassa fúngica (Gessner & Chauvet 1993). Para obtenção deste fator foram realizados levantamentos sobre a diversidade de espécies de fungos responsáveis pela decomposição de substratos foliares submersos, sendo destas selecionadas as mais comuns, purificadas e analisadas quanto aos teores totais de ergosterol. Segundo os autores foram utilizados diferentes meios de cultura e nestes foram avaliadas as taxas de crescimento fúngico junto à produção de ergosterol, chegando a uma média de $5,5\text{mg.g}^{-1}$ de massa seca ou o 182 (fator de correção), que deve ser multiplicado ao valor de ergosterol obtido através da quantificação deste metabólito.

A maior dificuldade na utilização deste fator decorre das espécies avaliadas, sendo estas pertencentes ao grupo dos hifomicetos aquáticos, mais comuns na decomposição de serrapilheira em ecossistemas aquáticos de região de clima temperado (Gessner & Chauvet 1993). De modo que impossibilita o uso em outras localidades, dadas às diferenças da micota decompositora.

Em resumo, a metodologia para extração de ergosterol se aplicou bem às folhas em decomposição, principalmente quando são avaliados os dados obtidos para o Lago das Garças (ambiente mais poluído), demonstrando correlação existente entre a decomposição das folhas e a quantidade deste metabólito. Apesar disto, esta metodologia deve ser utilizada com cautela quanto à quantificação de biomassa fúngica, isto pois os valores obtidos de amostras ambientais podem não expressar os valores reais deste dado, sendo passíveis de interferências. Pode-se concluir que a quantificação dos teores de ergosterol em substratos submersos pode ser utilizada como um parâmetro quantitativo junto a outras metodologias qualitativas para avaliação da colonização fúngica.

4.6. Análise integrada dos dados abióticos e bióticos

A avaliação conjunta das principais tendências de variação de quatro variáveis limnológicas abióticas e de três bióticas (ergosterol, matéria orgânica remanescente de folhas e ocorrência de fungos) em experimentos de sucessão fúngica em folhas em decomposição, conduzidos durante 77 dias em dois reservatórios, foi feita mediante análise multivariada de componentes principais (ACP). Com base no modelo de linha quebrada, a análise extraiu dois eixos interpretáveis que resumiram 79% da variabilidade dos dados (Figura 16 e Tabela 7).

Grande parte da variação foi explicada pelo eixo 1 (57%), no qual houve a separação das unidades amostrais provenientes do Lago das Garças (direita do eixo) e do Lago das Ninféias (esquerda do eixo). As variáveis que mais pesaram na ordenação neste eixo foram, pela ordem, oxigênio dissolvido ($r = 0,97$), condutividade ($r = 0,86$), pH ($r = 0,79$), ergosterol ($r = 0,76$), temperatura ($r = 0,71$) e a ocorrência de fungos ($r = -0,69$). As unidades amostrais provenientes do Lago das Ninféias, com exceção a pertencente à terceira coleta, estiveram associadas aos maiores valores de diversidade de fungos, variável altamente correlacionada a este eixo (Tabela 7).

No eixo 2, as unidades amostrais foram ordenadas pela variabilidade temporal (dias de coleta e tempo de decomposição do material), de forma que a primeira coleta do Lago das Garças esteve associada aos maiores valores de matéria orgânica remanescente (M.O.R.) e de pH, cujas variáveis foram altamente correlacionadas com este eixo (Tabela 7), conseqüentemente mais associadas aos menores valores de ergosterol. Em contraposição, as amostras coletadas no último dia, em ambos os sistemas, posicionaram-se do lado negativo do eixo, associando-se aos menores valores de pH e matéria orgânica remanescente.

Em síntese, pode-se afirmar que a maior variabilidade foi dada pela escala espacial (tipo de reservatório), de forma que no ambiente hipereutrófico (Lago das Garças) ocorreram os maiores teores de ergosterol, oxigênio dissolvido, condutividade, pH, temperatura, menores números de táxons de fungos e menores valores de matéria orgânica remanescente, contrapondo ao sistema mesotrófico (Lago das Ninféias). A segunda maior fonte de variabilidade foi dada pela escala

temporal (decomposição do material foliar) de forma que os estádios iniciais apresentaram os maiores valores de matéria orgânica remanescente, principalmente no sistema degradado. Desta forma, pode-se considerar que houve maior heterogeneidade temporal no Lago das Garças, visto que as unidades amostrais do Lago das Ninféias ordenaram-se de forma mais agrupada no eixo 2.

Os valores encontrados para as concentrações de ergosterol, diversidade fúngica e velocidade de decomposição das folhas também demonstraram nítida relação com o estado trófico dos reservatórios, estando os maiores valores de ergosterol relacionados ao ambiente mais eutrofizado, assim como, às menores quantidades de matéria orgânica. De acordo com Gulis & Suberkropp (2003), a decomposição de matéria orgânica pelos fungos está diretamente relacionada e é influenciada pelas concentrações de nutrientes disponíveis e maiores valores de temperatura na coluna d'água, sendo acelerada quando estes são elevados. Experimentos realizados tanto no campo quanto em laboratório em regiões de clima temperado demonstraram que a elevação na concentração de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, aumentam a produtividade e esporulação de hifomicetos aquáticos causando aumento da taxa de decomposição de matéria orgânica submersa (Suberkropp & Chauvet 1995, Gessner *et al.* 1997, Sridhar & Bärlochaer 2000, Gratan & Suberkropp 2001, Suberkropp 2001, Gulis & Suberkropp 2003).

O Lago das Garças, apesar de possuir menor número de táxons geral de fungos, apresentou maior número de fungos aquáticos. De acordo com Cooke & Matsuura (1969) os fungos, no geral, são muito plásticos quanto a sua capacidade de resposta aos mais variados tipos de ambientes.

De modo contrário, o número de táxons de fungos ocorreu de forma mais expressiva no ambiente mesotrófico, mostrando-se sempre mais alta em todas as coletas realizadas. O Lago das Ninféias apresentou padrão alterado de decomposição, fato visível durante o decaimento de peso das folhas de *Tibouchina pulchra*. Uma possível explicação para isto reside na flora existente no lago, macrófitas aquáticas, responsável por colonizar grande área do ecossistema. De acordo com Bianchini Jr. (1999), as macrófitas aquáticas contribuem com grande quantidade de matéria

orgânica, em muitos casos, alterando a dinâmica de distribuição do oxigênio dissolvido e conseqüentemente todo metabolismo do lago, inclusive a cadeia de detritos.

Segundo Fonseca (2005), além dos estados tróficos dos reservatórios, outros fatores podem estar atuando na determinação das espécies fitoplanctônicas presentes nos dois lagos citados, sendo que no Lago das Ninféias a elevada quantidade de macrófitas aquáticas parece interferir diretamente nos táxons presentes. De maneira semelhante, podem ocorrer alterações nas espécies de fungos decompositores de substratos foliares. O maior número de táxons encontrado neste lago não significa elevada atividade decompositora, visto que os resultados anteriormente apresentados sobre a velocidade de decomposição e concentrações de ergosterol não apresentaram tendência nítida, como no Lago das Garças.

Segundo Gessner *et al.* (1997), a decomposição e a concentração de densidade de colonização fúngica em substratos orgânicos submersos dependem de fatores internos e externos aos substratos, responsáveis por controlar a atividade microbiana. Assim, as diferenças nas taxas de decomposição, concentrações de ergosterol e diversidade de fungos no presente trabalho demonstram estar relacionadas às diferenças encontradas nas águas dos reservatórios.

Em resumo conclui-se que, apesar de mais poluído, o Lago das Garças demonstrou rápida taxa de decomposição, mesmo apresentando menores números de táxons de fungos, resultado justificado pelos elevados teores de ergosterol obtidos das folhas. De modo contrário, o Lago das Ninféias, embora com maior número de táxons de fungos apresentou decomposição lenta e sucessão fúngica diferenciada, possivelmente em decorrência do elevado acúmulo de matéria orgânica de origem vegetal e menores concentrações de oxigênio.

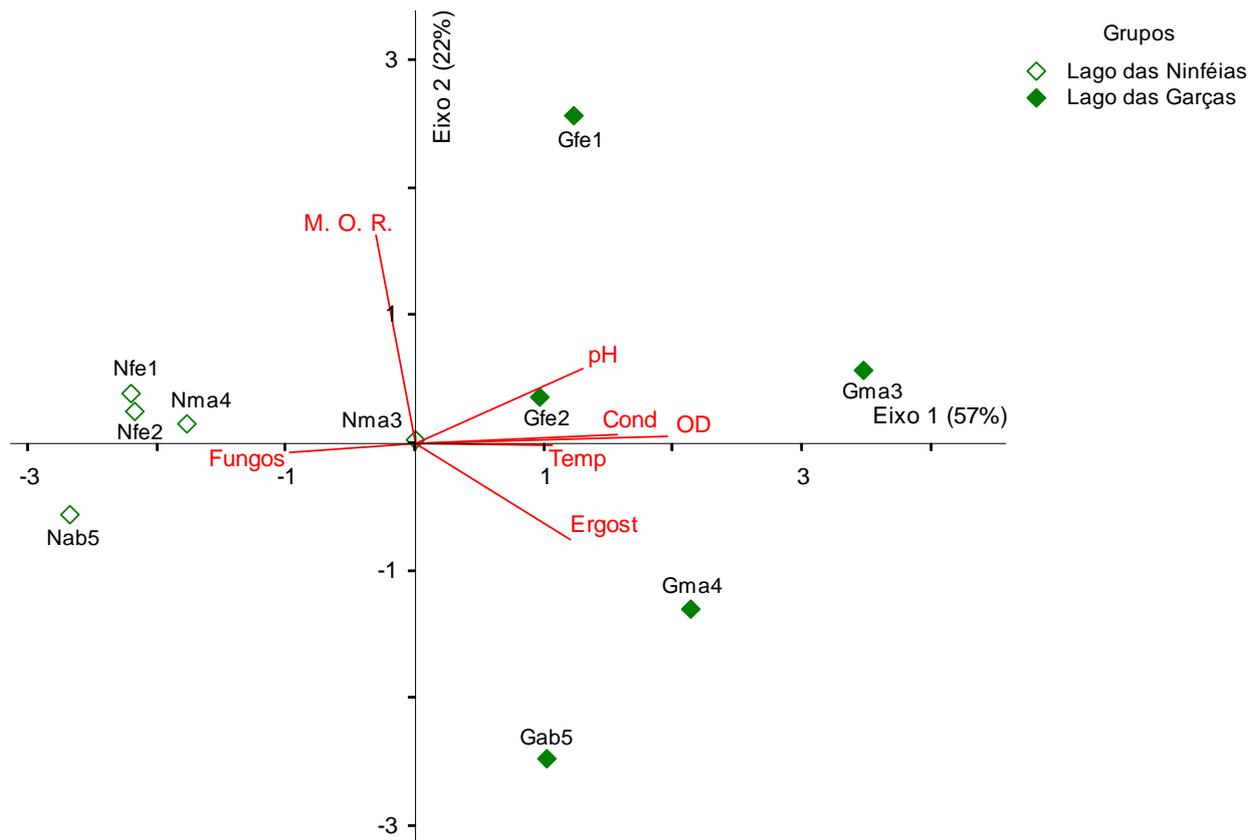


Figura 16. Ordenação pela ACP das unidades amostrais dos lagos das Garças (G) e das Ninféias (N) durante experimento de sucessão fúngica e decomposição foliar, com duração de 77 dias. Os números indicam a seqüência das coletas quinzenais. Vetores conforme Tabela 3.

Tabela 7. Correlações das variáveis abióticas e bióticas com os componentes principais 1 e 2. Em negrito: correlações mais elevadas.

Variáveis	Componentes principais	
	1	2
Temperatura (Temp)	0,714	-0,118
Condutividade (Cond)	0,863	0,188
Oxigênio dissolvido (OD)	0,966	0,181
pH	0,786	0,528
Ergosterol (Ergost)	0,757	-0,601
Matéria Orgânica Remanescente (MOR)	-0,389	0,883
Ocorrência de Fungos (Fungos)	-0,685	-0,190
Autovalor observado	4,000	2,593
Autovalor da linha de quebra	1,538	1,593
Varição explicada	57 %	22 %

5. Conclusões

- A avaliação da diversidade da micota revelou maior número de táxons de fungos nas folhas submersas no Lago das Ninféias, caracterizado como mesotrófico, com predomínio dos fungos de origem terrestre durante a decomposição das folhas nos dois reservatórios, seguidos pelos fungos zoospóricos e pelos hifomicetos aquáticos;
- Dentre os geofungos, os fungos anamórfos foram predominantes seguidos pelos ascomicetos, zigomicetos e basidiomicetos;
- Os gêneros *Penicillium*, *Trichoderma*, e *Fusarium* predominaram durante a decomposição das folhas nos dois reservatórios e apresentaram o maior número de espécies;
- Dentre os fungos zoospóricos, o gênero *Pythium* ocorreu em todas as coletas nos dois reservatórios;
- Foi verificada a ocorrência de sucessão fúngica durante a decomposição das folhas de *T. pulchra* nos dois reservatórios, embora em padrão mais lento no Lago das Ninféias;
- Nos dois lagos foi verificado o estabelecimento da comunidade pioneira composta por fungos autóctones e nativos com predomínio dos geofungos até etapas intermediárias e finais da decomposição das folhas submersas, fato que demonstra possível resistência destes às mudanças de ambiente;
- A micota obtida, tanto para o Lago das Garças, quanto para o Lago das Ninféias, apresentou composição distinta ao longo do processo de decomposição, sendo que as modificações mais bruscas foram verificadas no Lago das Garças;
- A metodologia de quantificação do ergosterol apresentou boa resposta como parâmetro para estimativa de colonização fúngica do substrato, sendo necessário o melhor desenvolvimento da metodologia para a utilização como índice de biomassa fúngica;
- A quantificação do ergosterol das folhas apresentou padrões distintos para os dois lagos, no lago das Garças seguiu a tendência de aumento de concentração através do tempo de submersão, mostrando-se inversamente proporcional ao decaimento de matéria orgânica;

- Para o Lago das Ninféias não se pode concluir a que estão relacionadas as concentrações de ergosterol, já que esta não apresentou relação visível com o decaimento de matéria orgânica e com o número de táxons de fungos;
- As folhas submersas no Lago das Garças apresentaram maior velocidade de decomposição, sendo classificada de média a rápida, enquanto que o Lago das Ninféias apresentou velocidade de decomposição lenta, com estabilização e posterior ganho de massa pelas folhas;
- Os estados tróficos dos reservatórios possivelmente influenciaram a sucessão fúngica, velocidade de decomposição e concentrações de ergosterol nas folhas submersas;
- O ambiente eutrofizado (Lago das Garças) apresentou padrões mais homogêneos nas amostras, sendo verificada relação existente entre a velocidade de decomposição das folhas e suas concentrações de ergosterol;
- O Lago das Ninféias não apresentou padrão de relação entre os parâmetros analisados, o que demonstra influência externa do ecossistema sobre a decomposição do substrato, possivelmente em função do acúmulo de matéria orgânica remanescente autóctone;

6. Referências Bibliográficas

- Alexopoulos, C. J.; Mims, C. W. & Blackwell, M.** 1996. *Introductory Mycology*. 4. ed. New York: John Wiley, Sons, Inc. 869 p.
- Antonio, R. M., Bianchini Jr., I. & Cunha-Santino, M. B.** 2002. Teste de método nanométrico para estimativa da mineralização anaeróbia em sedimentos de um ecossistema aquático. *Acta limnologica Brasiliensia*, 14(2): 59-64.
- Aprile F. M., Delitti, W. B. C. & Bianchini Jr., B.** 1999. Aspectos cinéticos da degradação de laminados de madeiras em ambientes aquático e terrestre. *Revista brasileira de Biologia*, 59(3): 485-492.
- Aprile F. M., Delitti, W. B. C. & Bianchini Jr., B.** 1999. Proposta de modelo cinético da degradação de laminados de madeira em ambientes aquático e terrestre. *Revista brasileira de Biologia*, 59(3): 493-501.
- Au, D. W. T. & Hodgkiss, I. J.** 1992. Fungi and cellulolytic activity associated with decomposition of *Bauhinia purpurea* leaf litter in a polluted and unpolluted Hong Kong waterway. *Canadian Journal of Botany*, 70: 1071-1079.
- Baldy, V., Gessner, M. O. & Chauvet, E.** 1995. Bacteria, fungi and the breakdown of leaf litter in a large river. *Oikos*, 74:93-102.
- Barajas-Aceves, M., Hassan, M., Tinoco, R. & Vazquez-Duhalt, R.** 2002. Effect of pollutants on the ergosterol content as an indicator of fungal biomass. *Journal of Microbiological Methods*, 50: 227-236.
- Barbosa, F. A. R. & Coutinho, M. E.** 1987. Taxa de decomposição do material alóctone "litter" na Lagoa Carioca, Parque Florestal do Rio Doce, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Biologia*, 47(1/2): 37-45.
- Barbosa, L. M., Potomati, A. & Peccinini, A. A.** 2002. O PEFI: histórico e legislação. *In*: D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de

conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 15-28.

Bärlocher, F. 1992. Research on aquatic hyphomycetes: historical background and overview. *In*: Bärlocher, F. (ed.) The ecology of aquatic Hyphomycetes. Berlin: Springer-Verlag, pp. 1-15.

Bärlocher, F. 1992. Community organization. *In*: Bärlocher, F. (ed.). The ecology of aquatic Hyphomycetes. Berlin: Springer-Verlag, pp.38-76.

Bärlocher, F. & Kendrick, B. 1973. Fungi in the diet of *Grammarus pseudolimnaeus*. *Oikos*, 24: 295-300.

Bärlocher, F. & Kendrick, B. 1974. Dynamics of the fungal population on leaves in a stream. *Journal of Ecology*, London, 62 (3): 761-791.

Barnett, H. L. & Hunter, B. B. 1999. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th ed., Minnessota: APS. 218 p.

Barros, F., Mamede, M. C. H., Melo, M. M. R. F., Lopes, E. A., Jung-Mendaçolli, S. L., Kirizawa, M., Muniz, C. F. S., Makino-Watanabe, H., Chiea, S. A. C. & Melhem, T. S. A. 2002. A flora fanerogâmica do PEFI: composição, afinidades e conservação. *In*: D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 93-110.

Barron, G. L. 1968. The genera of hyphomycetes from soil. New York: Robert E. Krieger, 140 p.

Behalová, B., Bláhová, M. & Behal, V. 1994. Regulation of sterolbiosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Folia Microbiology*, 39(4): 287-290.

Bell, D. T., Johnson, F. L. & Gilmore, A. R. 1978. Dynamics of litter fall, decomposition and incorporation in the streamside forest ecosystem. *Oikos*, 30: 76-82.

Beneke, E. S. & Rogers, L. 1962. Aquatic Phycomycetes isolated in the states of Minas Gaerais. São Paulo and Paraná, Brazil. *Rickia*, 1: 181-193.

Bianchini Jr., I. 1999. A decomposição da vegetação e o consumo de oxigênio nos reservatórios:

implicações ecológicas. In: Henry, R. (ed.). Ecologia de Reservatórios: estrutura, função, aspectos sociais. Botucatu: Fundibio, Fapesp, pp. 629-649.

Bianchini Jr., I., Bitar, A. L., Verani, J. R. & Peret, A. C. 2003. Experimento de mineralização aeróbia ára ambientes aquáticos: determinação do número de réplicas. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 25(2): 245-251.

Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. 2002a. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 321 p.

Bicudo, D. C., Forti, M. C., Carmo, C. F., Bourotte, C., Forti, C. E. M., Melfi, A. J. & Lucas, Y. 2002b. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 161-200.

Biesemeyer, K. F. 2005. Variação nictemeral da estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica em função da temperatura da água nas épocas de seca e chuva em reservatório urbano raso mesotrófico (Lago das Ninféias), Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo. 153 p.

Bisset, J. A. 1983. A Revision of the genus *Trichoderma* I. Section Longibrachiatum sect. Nov. *Canadian Journal of Botany*, 62: 924-931.

Bisset, J. A. 1983. A Revision of the genus *Trichoderma* II. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany*, 69: 2357-2372.

Bitar, A. L., Antonio, R. M. & Bianchini Jr., I. 2002. Degradação anaeróbiade folhas e galhos, cascas e serrapilheira. *Acta limnologica Brasiliensia*, 14(2): 17-26.

Bononi, V. L. R., Autuori, M. & Rocha, M. B. 1981. *Leucocoprinus gongylophorus* (Möller) Heim, o fungo do formigueiro de *Atta sexdens rubropilosa* Forel. *Rickia*, 9: 93-97.

Bononi, V. L. R., Grandi, R. A. P., Lopes, S. A. R., Rodrigues, E. & Fonseca, M. P. 1990.

Micorrizas vesículo-arbusculares em Araucária angustifólia (Bertolonii) O. Kuntze. Revista do Instituto Florestal, 2 (1): 87-93.

Bononi, V. L. R., Trufem, S. F. B. & Grandi, R. A. P. 1981. Fungos macroscópicos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, Brasil, depositados no Herbário do Instituto de Botânica. Rickia, 9: 37-53.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Surrey: Commonwealth Mycological Institute. 58 p.

Buttler, S. K., Suberkropp, K. 1986. Aquatic Hyphomycetes on oak leaves: comparison of growth, degradation and palatability. Mycologia, 78(6): 922-928.

Calijuri, M. C., Deberdt, G. L. B. & Minoti, R. T. 1999. A produtividade primária pelo fitoplâncton na Represa de Salto Grande (Americana – SP). In: Henry, R. (ed.). Ecologia de Reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais. Botucatu: Fundibio, Fapesp, pp. 112-148.

Carmo, C. F., Henry, R., Bicudo, D. C & Bicudo, C. E. M., 2002. A degradação nos reservatórios do PEFI. In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 271-296.

Carvalho, I. & Milanez, A. I. 1988. Efeitos do pH e temperatura, sobre *Pythium splendens* Braun “in vitro”. Revista Brasileira de Botânica, 11: 33-36.

Chapman, S. B. 1976. Methods in plant ecology. Blackwell, London, 536 p.

Chauvet, E. & Suberkropp, K. 1998. Temperature and sporulation of aquatic Hyphomycetes. Applied and Environmental Microbiology, 64:1522-1525.

Chiea, S. C. Flora fanerogâmica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil), 90 Melastomataceae. Hoehnea, 17 (2): 127-151. 1990.

Christensen, M. 1989. A view of fungal ecology. Mycologia, 81 (1): 1-19.

Coccaro, D. M. B. Saiki, M., Vasconcelos, M. & Marcelli, M. P. 1999. Estudo comparativo das concentrações de elementos traço presentes em diferentes espécies de líquens. In: Annals of the VII CGEN – General Conference on Nuclear Energy, Belo Horizonte, MG, 6 p.

- Coccaro, D. M. B. Saiki, M., Vasconcelos, M. & Marcelli, M. P.** 2000a. Evaluation of trace elements in different species of lichens by neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 244(1): 141-145.
- Coccaro, D. M. B. Saiki, M., Vasconcelos, M. & Marcelli, M. P.** 2000b. Analysis of *Canoparmelia texana* lichens collected in Brazil by neutron activation analysis. In: "Proceedings of the International workshop of the Atomic Energy Agency, 1152: 143-148.
- Conti, J. B. & Furlan, S. A.** 2003. Geologia: o clima, os solos e a biota. In: Ross, J. L. *Geografia do Brasil*. São Paulo: Edusp, pp. 64-207.
- Cooke, W. B.** 1961. Pollution effects on the fungus population of a stream. *Ecology*, 42: 1-17.
- Cooke, W. B.** 1976. Fungi in sewage. In: Gareth Jones, E. B. (ed.). *Recent Advances in aquatic mycology*. Elek Science, London, pp. 389-434.
- Cooke, W. B., Matsuura, G. S.** 1969. Distribution of fungi in a waste-stabilization pond system. *Ecology*, 50(4): 689-694.
- Cummins, K. W.** 1974. Structure and function of Stream Ecosystems. *BioScience*, 24(11): 631-341.
- Cunha-Santino, M.B., Bianchini Jr., I. & Serrano, L. E. F.** 2002. Aerobic and anaerobic degradation of tannic acid in water samples from monjolinho reservoir, São Carlos, SP, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4A): 585-590.
- Czeczuga, B.** 1991a. Studies of aquatic fungi: XXII. Mycoflora of the river Węgorapa and its tributary, the river Goldapa-Jarka. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 19(5): 517-528.
- Czeczuga, B.** 1991b. Studies of aquatic fungi: XXIII. Aquatic fungi in Lake Sniardwy and eighteen neighbouring lakes. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*, 76(1): 121-135.
- Czeczuga, B.** 1994. Studies of aquatic fungi: 17. Aquatic fungi of Lake Hańcza in the Suwalki Scenic Park and of some adjacent lakes (northeastern Poland). *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 36(3): 371-385.
- Czeczuga, B.** 1995. Hydromycoflora fungi of a small lake "Suchary" in the Wigry National Park.

Acta Mycologica, 30(2): 167-180.

- Czeczuga, B., Brzozowska, K. & Woronowicz, L.** 1990b. Studies of aquatic fungi: XIII. Mycoflora of the river Czerna Hancza e its tributary the river Marycha. Internationale Revue der gesamten Hydriobiologie, 75(2): 245-255.
- Czeczuga, B., Woronowicz, L. & Brzozowska, K.,** 1990a. Studies of aquatic fungi: XII. Aquatic fungi of the lowland river Biebza. Acta Mycologica, 26(1): 77-83.
- Dangles, O. & Chauvet, E.** 2003. Effect of stream acidification on fungal biomass in decaying beech leaves and leaf palatability. Water Research, 37: 533-538.
- Davis, S. F. & Winterbourn, M. J.** (1977). Breakdown and colonization of *Nothofagus* leaves in a New Zeland stream. Oikos, 28: 250-255.
- Dick, M. W.** 1976. The ecology of aquatic Phycomycetes. *In*: Gareth Jones, E. B. (ed.). Recent advances in aquatic mycology. Elek Science, London, pp. 513-542.
- Difco Manual.** 1972. Michigan: Difco Laboratories, 9 ed., 350 p.
- Disch, A., Schwender, J., Muller, C., Lichtenthaler, H. K., Rohmer, M.** 1998. Distribution of the mevalonate and glyceraldehyde phosphate/pyruvate pathways for isoprenoid biosynthesis in unicellular algae and the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6714. Biochemistry, 30(5): 427-433.
- Dix, N. J. & Webster, J.** 1995. Fungal Ecology. Cambridge: Chapman & Hall. 549 p.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. H. C.** 1980. Compendium of soil fungi. New York: Academic Press, 560 p.
- Esteves, F. A.** 1998. Fundamentos da limnologia. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda. 602 p.
- Esteves, F. A. & Barbieri, R.** 1983. Dry weigth and chemical changes during decomposition of tropical macrophytes in Lobo reservoir, São Paulo, Brazil. Aquatic Botany, 16: 286-295.
- Ellis, M. B.** 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Cambridge: Commonwealth Agricultural Bureaux. 608 p.

- Fellerhoff, C. Voss, M. & Wantzen, K. M.** 2003. Stable carbon and nitrogen isotope signatures of decomposing tropical macrophytes. *Aquatic Ecology*, 37: 361-375.
- Fernandes, A. J., Reis, L. A. M. & Carvalho, A.** 2002. Caracterização do meio físico. *In*: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 51-62.
- Fidalgo, O.** 1963. Studies on the type species of the genus *Hydnopolyporus* Reid. *Mycologia*, 55: 713-727.
- Fidalgo, O. & Fidalgo, M. E. P. K.** 1962. A new genus base on *Fistulina brasiliensis*. *Mycologia*, 54: 342-352.
- Fidalgo, O. & Fidalgo, M. E. P. K.** 1970. A poisonous *Ramaria* from Southern Brazil. *Rickia*, 5: 71-91.
- Fidalgo, O., Fidalgo, M. E. P. K. & Furtado, J. S.** 1960. A large collection of a rare fungus. *Mycologia*, 52: 153-154.
- Fisher, S. G. & Likens, G. E.** 1973 Energy flow in Bear Brook, New Hampshire: an integrative approach to stream ecosystem metabolism. *Ecological Monographs*, 43: 421-439.
- Fonseca, B. M.** 2005. Diversidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em dois reservatórios rasos com diferentes estados tróficos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 208 p.
- Frankland, J. C.** 1992. Mechanisms in fungal succession. *In*: Carroll & Wicklow (eds.). *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. 2ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1992, pp. 383-401.
- Frankland, J. C.** 1998. Residential adress: fungal succession – unraveling the unpredictable. *Mycological Research* 102: 1-15.
- Furtado, J. S.** 1965. A new aquatic fungi, *Achlya benekei* sp. nov. *Rickia*, 2: 121-127.
- Galli, M. A.** 1996. Influencias de fontes de material orgânica na formação de ectomicorrizas em

mudas de *Eucalyptus citriodora* inoculadas com *Psilolithus tinctorius*. Tese de Doutorado, ESALQ-USP, 1996, 90 p.

Garrett, S. D. 1963. Soil fungi and fertility. Pergamon, Oxford, 165 p.

Gams, W. 1971. Cephalosporium-artige Hyphomycete. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag. 120 p.

Gessner, M. O. 1991. Differences in processing dynamics of fresh and dried leaf litter in a stream ecosystem. *Freshwater Biology*, 26: 387-398.

Gessner, M. O. 1999. A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos*, 85: (2) 377-384.

Gessner, M. O. & Chauvet, E. 1993. Ergosterol-to-Biomass Conversion Factory for Aquatic Hyphomycetes. *Applied Environmental Microbiology*, 59: 502-507.

Gessner, M. O & Chauvet, E. 1994. Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology*, 75(6): 1807-1817.

Gessner, M. O., Newell, S. 2002. Biomass, growth rate, and production of filamentous fungi in plant litter. *In: Hurst, C. J., Crawford, R. L., Knudsen, G., McInerney & Stetzenbach, L. D.* (eds.). *Manual of Environmental Microbiology*, 2nded. ASM Press, Washington, DC, pp. 390-408.

Gessner, M. O., Bärlocher, F., & Chauvet, E. 2003. Qualitative and quantitative analyses of aquatic Hyphomycetes in streams. *In: Tsui, C. K. M., Hyde, K. D.* (eds.). *Freshwater Mycology, Fungal Diversity Research Series*, v.10, pp. 127-157.

Gessner, M. O., Bauchrowitz, M. A. & Escutier, M. 1991. Extration and quantification of ergosterol as a measure of fungal in leaf litter. *Microbiology Ecology*, 22: 285-291.

Gessner, M. O. & Schworbel, J. 1991. Fungal biomass associated with decaying leaf litter in a stream. *Oecologia*, 87: 602-603.

Gessner, M. O. Schieferstein, B., Muller, U., Barkmann, S., Lenfers, U. A. 1996. A partial budget of primary organic carbon flows in the littoral zone of hardwater lake. *Aquatic Botany* 55: 93-105.

- Gessner, M. O., Suberkropp & Chauvet, E.** 1997. Decomposition of plant litter by fungi in marine and freshwater ecosystem. *In: Wicklow, D. T. Söderström, B.* (vol. eds). Environmental and microbial relationships IV. *In: Esser, K. Lemke, P. A.* (eds.) The Mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental system form basic and applied research, Springer-Verlag, Berlin, 1997, pp. 303-322.
- Gomes, A. L.** 2006. Diversidade de Oomycota da Reserva Biológica de Paranapiacaba, Santo André, SP. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, 107 p.
- Grandi, R. A. G.** 1990. Hyphomycetes decompositores, 1: espécies associadas às raízes de *Calathea stramata* (horticultura). *Revista Brasileira de Biologia*, 50 (1): 123-132.
- Grandi, R. A. G.** 1991a. Hyphomycetes decompositores, 2: Táxons associados às raízes de *Maranta bicolor* Ker. *Revista Brasileira de Biologia*, 51 (1): 133-141.
- Grandi, R. A. G.** 1991b. Hyphomycetes decompositores, 4: espécies associadas às raízes de *Ctenanthe oppenheimiana* Sond. *Acta Botânica Brasilica*, 5 (1): 13-23.
- Grandi, R. A. G.** 1992a. Duas espécies de *Chaetomium* (Ascomycotina-Chaetomiaceae) associadas a decomposição de raízes. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, 13: 87-92.
- Grandi, R. A. G. & Trufem, S. F. B.** 1991. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em Marantaceae cultivadas no Instituto de Botânica, São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, 14: 89-95.
- Grandi, R. A. G., Guzmán, G. & Bononi, V. L.** 1984. Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia*, 11: 27-33.
- Grattan, R. M. & Suberkropp, K.** 2001. Effects of nutrient enrichment on yellow poplar leaves decomposition and fungal activity in streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 20: 33-43.
- Gulis, V. & Suberkropp, K.** 2003. Leaf litter decomposition and microbial activity in a nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshwater Biology*, 48: 123-134.

- Gulis, V. & Suberkropp, K.** 2004. Effects of whole-stream nutrient enrichment on the concentration and abundance of aquatic Hyphomycetes conidia in transport. *Mycologia*, 96(1): 57-65.
- Harley, J. L. & Waid, J. S.** 1955. A method of studying on living roots and surface in the soil. *Transactions of the British Mycological Society, Cambridge*, 38(2): 104-118.
- Hjortstam, K. & Bononi, V. L. R.** 1986a. Fungos corticídeos do Brasil. *Rickia*, 13: 113-125.
- Hjortstam, K. & Bononi, V. L. R.** 1986 b. Studies in Tropical Corticiaceae (Basidiomycetes), 6: a new espécies of *Steccherinum* from Brazil. *Mycotaxon*, 25: 467-468.
- Hudson H. J.** 1968. *Fungal Biology (Contemporary biology)*. London: Edward Arnold.
- Hyde, K. D. & Jones, E. B. G.** 2002. Introduction to fungal succession. *In: Hyde, K. D. Jones, E. B. G.* Fungal succession. *Fungal diversity*, 10: 1-4.
- Ingold, C. T.** 1975. *Guide to aquatic and water-borne Hyphomycetes (Fungi Imperfecti) with notes on their biology*. Ambleside, Freshwater Biological Association, 96p.
- Kaushik, N. K. & Hynes, H. B. N.** 1968. Experimental study on the role of autumn shed leaves in aquatic environments. *Journal of Ecology*, 56: 229-543.
- Kaushik, N. K. & Hynes, H. B. N.** 1971. The fate of the dead leaves that fall into streams. *Archiv für Hydrobiologie*, 68: 465-515.
- Kjøller, A. & Struwe, S.** 1992. Functional groups of microfungi in decomposition. *In: Carroll & Wicklow (eds.)*. *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. 2ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1992, pp. 619-630.
- Komínková, D., Kuehn, K. A., Büsing, N., Steiner, D. & Gessner, M. O.** 2000. Microbial biomass, growth, and respiration associated with submerged decomposition in a *Phragmites australis* decomposing in a littoral reed stand of a large lake. *Aquatic Microbial Ecology*, 22: 271-282.
- Krauss, G., Bärlocher, F. & Krauss, G.-J.** 2003. Effect of pollution on aquatic hyphomycetes. *In: Tsui, C. K. M. & Hyde, K. D. (eds)*. *Freshwater Mycology. Fungal Diversity Research Series*, v.10, pp. 211-230.

- Kuehn, K. A., Gessner, M. O., Wetzel, R. G. & Suberkropp, K.** 1999. Decomposition and CO₂ evolution from standing litter of the emergent macrophyte *Erianthus giganteus*. *Microbial Ecology*, 38: 50-57.
- Kuehn, K. A., Steiner, D. & Gessner, M. O.** 2004. Diel mineralization patterns of standing-dead plant litter: implication for CO₂ flux from wetlands. *Ecology*, 85(9): 2504-2518.
- Lopes, M. I. M. S. & Bicudo, C. E. M.** 2002. Publicações sobre o PEFI. *In*: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo, São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 319-351.
- Lyra, N. P. & Milanez, A. I.** 1974. Notas para o levantamento dos ficomicetos aquáticos do Estado de São Paulo, Instituto de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. Publicação nº 698, pp.1-27.
- Magalhães, S. A. P.** 2002. Efeitos do impacto por esgoto doméstico na decomposição e fauna associada, em três rios do Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de Janeiro, RJ. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 103 p.
- Maharning, A. R. & Bärlocher, F.** 1996. Growth and reproduction in aquatic hyphomycetes. *Mycologia*, 88(1): pp. 80-88.
- Malosso, E.** 1995. Ocorrência de Hyphomycetes (Fungos Imperfeitos) e Fungos Zoospóricos em Ambientes Aquáticos (Rio do Monjolinho, São Carlos, SP). Monografia, Universidade Federal de São Carlos. 54 p.
- Malosso, E.** 1999. Hyphomycetes em ambientes aquáticos lótico e lêntico – ocorrência e biomassa. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, SP, 98 p.
- Marcelli, M. P.** 1998. History and current knowledge of Brazilian lichenology. *In*: Marcelli, M. P. & Seaward, M. R. D. (eds.) *Lichenology in Latin America: history current knowledge and applications*. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, pp. 25-45.

- Meguro, M., Vinueza, G. N. & Delitti, W. B. C.** 1979. Ciclagem de nutrientes minerais na mata mesófila secundária, São Paulo, 1: Produção e conteúdo de nutrientes minerais no folheto. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 7: 11-31.
- Meguro, M., Vinueza, G. N. & Delitti, W. B. C.** 1980. Ciclagem de nutrientes minerais na mata mesófila secundária, São Paulo, 3. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 8: 7-20.
- Melão, M. G. G.** 1999. A produtividade secundária de zooplâncton: métodos, implicações e um estudo na Lagoa Dourada. In: Henry, R. (ed.). Ecologia de Reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais. Botucatu: Fundibio, Fapesp, pp.151-183.
- Milanez, A. I. & Val, F. C.** 1969. Occurrence of *Petersenia irregulare* (H. E. Petersen) Sparrow in Brazil. Rickia, 4: 75-82.
- Milanez, A. I.** 1965a. *Achlya brasiliensis*, a new species from Brazil. Rickia, 2: 183-189.
- Milanez, A. I.** 1965b. *Myzocyttium megastomum* de Wild. In São Paulo, Brazil. Rickia, 2: 153-158.
- Milanez, A. I.** 1984a . Distribuição geográfica de *Karlingia rosea* (de Bary & Woronin) Johanson no Brasil. In: Anais 4º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Rio de Janeiro, pp. 73-76.
- Milanez, A. I.** 1984b. Fungos zoospóricos do Estado de São Paulo, 2: Chytridiomycetes da Região Oeste. Rickia, 11: 115-127
- Milanez, A. I.** 1989. Fungos de águas continentais. In: Fidalgo, O. & Bononi, V. L. (eds.). Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Instituto de Botânica, São Paulo, pp. 17-20.
- Milanez, A. I., Bicudo, C. E M., Vital, D. M. & Grandi, R. A, P.** 1990. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP.: planejamento. Hoehnea, 17 (2): 43-49.
- Milanez, A. I. & Trufem, S. F. B.** 1981. Ficomicetos em frutos submersos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Rickia, 9: 7-15.
- Milanez, A. I. & Trufem, S. F. B.** 1984. Fungos zoospóricos em frutos submersos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, 2. Rickia, 11: 77-84.

- Milanez, A. I., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1994. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos 1: Monoblepharidales. Hoehnea, 21 (1-2): 157-161.
- Milanez, A. I., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1995. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos 2: Lagenidiales. Hoehnea, 22 (1-2): 115-123.
- Milanez, A. I., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1996. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos 5: Leptomitales. Hoehnea, 23 (1): 67-76.
- Miler, M., Palojarvi, A., Rangger, A., Reeslev, M., Kjoller, A.** 1998. The fluorogenic substrates to measure fungal presence and activity in soil. Applied and Environmental Microbiology, 64(2): 613-617.
- Montgomery, H. J., Monreal, C. M., Young, J. C. & Seifert, K.A.** 2000. Determination of soil fungal biomass from ergosterol analyses. Soil Biology & Biochemistry, 32: 1207-1217.
- Moore-Landecher, E.** 1996. Fundamental of the fungi. 4th. ed., New Jersey: Prentice-Hall. 574 p.
- Moreira, C. G.** 2002. Sucessão de fungos (Hyphomycetes aquáticos e geofungos) associados à decomposição de folhas de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas em um riacho da Mata Atlântica. São Paulo. Monografia, Universidade de Santo Amaro, 48 p.
- Moulton, T. P. & Magalhães, S. A. P.** 2003. Response of leaf processing to impacts in streams in atlantic rain forest, Rio de Janeiro, Brazil: a teste of biodiversity ecosystem functioning relationship? Brazilian Journal of Biology, 63(1): 87-95.
- Moura, D. O.** Decomposição de folhas em manguezais na região de Bertioga, São Paulo, Brasil. São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Muller-Dombois, D., Ellenberg, H.** 1974. Mathematical treatment of vegetation data. In: Aims and methods of vegetation ecology. New York, John Wiley, v. 2, pp. 211-302.

- Nagaoka, L. Y. & Marcelli, M. P.** 1989. Líquens da área de reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. *Acta Botânica Brasilica*, 3(2) supl.: 95-98.
- Newell, S. Y.** 1976. Mangrove fungi: The succession in the mycoflora of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) seedlings. In: Jones, E. B. G. Recent Advances in aquatic Mycology. Elek Science, London, pp. 51-91.
- Newell, S. Y.** 1992. Estimating fungal biomass and productivity in decomposing litter. In: Carroll & Wicklow (eds.). The fungal community: its organization and role in the ecosystem. 2ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1992, pp. 521-561.
- Newell, S. Y., Arsuffi, T. L. & Fallon, R. D.** 1978. Fundamental procedures for determining ergosterol content of decaying plant material by liquido chromatography. *Applied Environmental Microbiology*, 47: 873-875.
- Ninomiya, A., Antunes, M. F. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1993. Fungi from soil affected by birds in the "Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, SP", São Paulo State, Brazil. *Revista de Microbiologia*, 24(1): 49-53.
- Nykvist, N.** 1959. Leaching and decomposition of litter: Experiments on leaf litter of *Fraxinus excelsior*. *Oikos*, 10: 190-209.
- Odum, E. P.** 1983. *Ecologia*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 434 p.
- Olson, J.S.** Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, 44 (2): 322-331. 1963.
- Osono, T.** 2005. Colonization and succession of fungi during decomposition of *Swida controversa* leaf litter. *Mycologia*, 97(3): 589-597.
- Park, D.** 1968. The ecology of terrestrial fungi. In: Ainsworth, G. C. & Sussman, A. S. The fungi: na advanced treatise. New York, Academic Press Inc., 1968. v. 3, cap.1, pp. 5-37.
- Park, D.** 1972. On the ecology of hetrotrophic micro-organisms in freshwater. *Transactions of the British Mycological Society*, 58 (2): 291-299.

- Peeler, T. C., Stephenson, M. B., Einspahr, K. J. & Tompson Jr., G. A.** 1989. Lipid Chracterization of na enriched plasma membrane fraction of *Dunaliella salina* Grown in media of varying salinity. *Plant Physiology*, 89: 970-976.
- Pegler, D. N.** 1997. The agarics of São Paulo, Brazil. Kew, Royal Botanic Gardens. 68p.
- Pelizon, M. H. & Milanez, A. I.** 1979. Ficomicetos parasitas de algas da região da grande São Paulo. *Rickia*, 8: 51-61.
- Pereira, S. Y., Reis, L. A. M., Oda, G. H. & Iritani, M. A.** 2002. Caracterização dos recursos hídricos subterrâneos. *In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 63-74.*
- Perez, F. S.** 1996. Teor de ergosterol do micélio de isolados de *Pisolithus tinctorius* e de *Rhizopogon* sp. Dissertação de Mestrado Universidade de São Paulo, Piracicaba, 56 p.
- Pires-Zottarelli, C. L. A.** 1999. Fungos zoospóricos dos Vales dos Rio Moji e Pilões, Região de Cubatão, São Paulo, SP. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências, Rio Claro, SP, 300 p.
- Pires-Zottarelli, C. L. A., Milanez, A. I. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1993. Quantitative estimation of zoosporic fungi and aquatic hyphomycetes on leaves submerged in a stream in the atlantic rain forest, in the State of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Microbiologia*, 24: 192-197.
- Pires-Zottarelli, C. L. A., Milanez, A. I. & Schoenlein-Crusius, I. H.** 1995. Cripotógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 3: Peronosporales. *Hoehnea*, 22(1-2): 125-133.
- Pires-Zottarelli, C. L. A., Milanez, A. I. & Schoenlein-Crusius.** 1996a. Cripotógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 4: Saprolegniales. *Hoehnea*, 23(1): 39-66.

- Pires-Zottarelli, C. L. A., Milanez, A. I. & Schoenlein-Crusius.** 1996b. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos, 6: Chytridiales. Hoehnea, 23(1): 77-90.
- Pitt, J. I.** 2000. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Food Science Australia, 3^a ed. North Ryde, Australia.
- Pivello, V. R. & Peccinini, A. A.** 2002. A vegetação do PEFI. *In*: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 75-92.
- Plaats-Niterink, A. J. van der.** 1981. Monograph of genus *Pythium*. Studies in Mycology, Baarn, v. 21, 242 p.
- Pugh, G. J. F., Buckley, N. G. & Mulder, J.** 1972. The role of phylloplane fungi in the early colonization of leaves. Symposia Biológica Hungarica, 11: 329-333.
- Puppi, G.** 1983. Occurrence of filamentous fungi on decaying leaves in lake waters. Annali di Botânica, 16: 27-36.
- Rancovic, B.** 1998. Population of fungi in some reservoirs in Serbia. Cryptogamie Mycologie, 19(1-2): 79-86.
- Rancovic, B.** 2005. Five Serbian reservoirs contain different fungal propagules. Mycologia, 97(1): 50-56.
- Rocha, M.** 2004. Micota zoospórica de lagos com diferentes trofias no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 85 p.
- Riffai, M. A.** 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers, 116: 1-56.
- Rogers, A. L. & Beneke, E. S.** 1962. Two new species of *Achlya* in Brazil. Rickia, 1: 243-249.
- Rogers, A. L., Milanez, A. I., & Beneke, E. S.** 1970. Additional aquatic fungi from São Paulo State. Rickia, 5: 93-110.
- Saiki, M., Horimoto, L. K., Vasconcelos, M. B. A. & Marcelli, M. P.** 1997. Determination of

trace elements in lichen by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 217: 111-115.

Saiki, M., Horimoto, L. K., Vasconcelos, M. B. A., Marcelli, M. P. & Coccaro, D. M. B. 2001. Survey of elemental concentration in lichen samples collected from São Paulo State, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249 (2): 317-320.

Samiadi, J. & Bärlocher, F. 1996. Geratology and decomposition of *Spartina alterniflora* Loisel in a New Brunswick saltmarsh. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 201: 233-252.

Santos, P. M. & Funari, F. L. 2002. Clima local. *In*: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (eds.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pp. 29-48.

Schoenlein-Crusius, I. H. & Grandi, R. A. P. 2003. The diversity of aquatic hyphomycetes in South América. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 183-193.

Schoenlein-Crusius, I. H. & Milanez, A. I. 1989. Sucessão fúngica em folhas de *Ficus microcarpa* L. f. submersas no lago frontal situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Revista de Microbiologia* 20(1): 95-101.

Schoenlein-Crusius, I. H. & Milanez, A.I. 1990. Hyphomycetes aquáticos no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 13: 67-68.

Schoenlein-Crusius, I. H. & Milanez, A. I. 1996. Diversity of aquatic fungi in Brazilian Ecosystems. *In*: Bicudo, C. & Menezes, N. A. (eds.). *Biodiversity in Brazil: a first approach*. CNPq, São Paulo, pp. 31-48.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I. 1990. Sucessão fúngica em folhas de *Quercus robur* L. (carvalho) submersas em um lago situado no município de Itapecerica da Serra, SP. *Revista de Microbiologia* 21(1): 61-67.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I. 1992. Aquatic fungi in leaves Aquatic Fungi in leaves submerged in a stream in the Atlantic Rainforest. *Revista de*

Microbiologia 23(3): 167-171. 1992.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Milanez, A. 1998a. Influence of nutrients concentration on the aquatic mycota of leaves submerged in a stream in the aquatic rainforest. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Limnologie*, Stuttgart, 26: 1125-1128.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Milanez, A. 1998b. Fungos microscópicos da Mata Atlântica de Paranapiacaba, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 21(1): 73-79.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Milanez, A. 1998c. Fungos zoospóricos (Mastigomycotina) da mata atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, SP. *Revista Brasileira de Botânica*, 2(2): 177-181.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Milanez, A. 1998d. Fungal succession on leaves of *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg. submerged in a stream of an Atlantic Rainforest in the State of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 21(3): 253-259.

Schoenlein-Crusius, I. H., Pires-Zottarelli, C. L. A. & Milanez, A. I. 2004. Amostragem em limnologia: os fungos aquáticos. *In*: Bicudo, C. E. M. & Bicudo, D. C. (eds.) Amostragem em limnologia. São Carlos: RiMa Editora, pp. 179-191.

Seitz, L. M., Mohr, H. E., Burroughs, R. & Sauer, D.B. Ergosterol as na indicator of fungal invasion in grains. *Cereal Chemistry*, 54(6): 1207-1217.

Silva, R. R. 2004. Ergosterol para a determinação de biomassa dos fungos *Lentinus crinitus* Berk. e *Psilocybe castanella* Peck. em biorremediação de solos. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 108 p.

Silva-Filho, N. L., Nagaoka, L. Y., Haag, H. P. & Marcelli, M. P. 1989. Os líquens como bioindicadores de poluição atmosférica nas proximidades de uma siderúrgica. *Anais do III Congresso Brasileiro de Defesa do Meio Ambiente*, Lindóia, SP, v. 2: 734-742.

Singer, R. 1964. Boletales and related groups in South America. *Nova Hedwigia*, 7: 93-132.

Singer, R. & Fidalgo, O. 1965. Two interesting basidiomycetes from the state of São Paulo. *Rickia*, 2: 11-16.

- Soares, S. C. S. & Gugliotta, A. M.** 1998. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos, 7: Aphyllophorales. *Hoehnea*, 25 (1): 11-31.
- Spänhoff, B. & Gessner, M. O.** 2004. Slow initial decomposition and fungal colonization of pine branches in a nutrient-rich lowland stream. *Can. J. Fis. Aquat. Sci.*, 61: 2007-2013.
- Sparrow, F. K. Jr.** 1968. Ecology of freshwater fungi. *In: Ainsworth, G. C. & Sussman, A. S.* The fungi: an advanced treatise. New York, Academic Press Inc., 1968. v. 3, pp. 41-83.
- Sridhar, K. R & Bärlocher, F.** 2000. Initial colonization, nutrient supply, and fungal activity on leaves decaying in stream. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3): 1114-1119.
- Struffaldi-De-Vuono, Y., Domingos, M.; Lopes, M. I. M. S.** 1989. Decomposição da serapilheira e liberação de nutrientes na floresta da Reserva Biológica de Paranapiacaba, sujeita aos poluentes atmosféricos de Cubatão, São Paulo, Brasil. *Hoehnea* 16: 179-193.
- Suberkropp, K.** 1991. Relationship between growth and sporulation of aquatic Hyphomycetes on decomposition leaves. *Mycological Research*, 95: 843-850.
- Suberkropp, K.** 1992. Aquatic Hyphomycetes communities. *In: Carroll & Wicklow (eds.)*. The fungal community: its organization and role in the ecosystem. 2ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1992, pp. 729-747.
- Suberkropp, K.** 1997. Annual production of leaf-decaying fungi in a woodland stream. *Freshwater Biology*, 38: 169-178.
- Suberkropp, K.** 2001. Fungal growth, production, and sporulation during leaf decomposition in two streams. *Applied and Environmental microbiology*, 67(11): 5063-5068.
- Suberkropp, K. & Klug, M. J.** 1976a. Fungi and bacteria associated with leaves during processing in a woodland stream. *Ecology*, 57: 707-719.
- Suberkropp, K. & Klug, M. J.** 1980. The maceration of deciduous leaf litter by aquatic hyphomycetes. *Canadian Journal of Botany*, 58: 1025-1034.
- Suberkropp, K., Gessner, M. O. & Chauvet, E.** 1993. Comparison of ATP and ergosterol as indicators of fungal biomass Associated with Decomposition leaves in Stream. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(10): 3367-3372.

- Suberkropp, K., Godshalk, G. L. & Klug, M. J.** 1976b. Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology*, 57: 720-727.
- Suberkropp, K., Weyers, H.** 1996. Application of fungal and bacterial production methodologies to decomposition leaves in stream. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5): 1610-1615.
- Sutton, B. C.** 1980. *The coelomycetes*. Surrey: Commonwealth Mycological Institute. 240 p.
- Tan, T. K. & Lim, G.** 1984. A comparison of fungi from polluted water. *Environmental Pollution*, 35(1): 57-65.
- Teixeira, A. R. & Fidalgo, O.** 1983. *Polyporus tricholoma* Mont. (Polyporaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 6(2): 129-132.
- Thompson, P. L. & Bärlocher, F.** 1989. Effect of leaf breakdown in stream and in the laboratory. *Journal of the North American Benthological Society*, 8(3): 203-210.
- Trigos, A., Castellanos-Onorio, O., Salinas, A. & Yáñez-Morales.** 2005. Ergosterol from *Phytophthora drechsleri*, a unusual metabolite of a member this genus. *Mycopathologia*, 159: 469-471.
- Trufem, S. F. B.** 1978. Mucorales (Zygomycetes) do Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Escola Paulista de Medicina. 187p.
- Trufem, S. F. B. & Viriato, A.** 1985. Mucorales do Estado de São Paulo. 6: Mucoraceae coprófitas. *Rickia*, 12: 113-123.
- Trufem, S. F. B., Grandi, R. A. G & Silveira, R. B. A.** 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em plantas ornamentais do Jardim Botânico de São Paulo, SP. *Hoehnea*, 17 (1): 85-89.
- Vriato, A.** 1996. Diversidade e aspectos ecológicos de Mucorales (Zygomycetes) de solo e de fezes de herbívoros, no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade de Guarulhos, Guarulhos, 162 p.
- Viriato A. & Trufem S. F. B.** 1985b. Mucorales do Estado de São Paulo. 7: espécies merosporangiadas. *Rickia*, 12: 147-154.

- Viriato, A. & Trufem, S. F. B.** 1985a. Mucorales do Estado de São Paulo. 5: Pilobolaceae. *Rickia*, 12: 147-154.
- Vital, D. M., Capelari, M., Gugliota, A. M. & Bononi, V. L. R.** 2000. Bryophytes on fungi. *Tropical Bryology*, 19: 31-40.
- Warner, S. A. Sovocool, G. W. & Domnas, A. J.** 1982. Ergosterol, the unusual dominant sterol of the Pythiaceus fungus *Zoophagus insidians*. *Phytochemistry*, 21(8): 2135-2136.
- Wellbaum, C.** 2001. Fungos filamentosos de folhas em decomposição dos ambientes terrestres e aquáticos da Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 284 p.
- Wellbaum, C, Schoenlein-Crusius, I. H. & Santos, V. B.** 1999. Fungos filamentosos em folhas do ambiente terrestre e aquático da Ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, SP. *Revista Brasileira de Botânica*, 22: 69-74.
- Wells, K.** 1969. New or noteworthy Tremellales from southern Brazil. *Mycologia*, 61: 77-86.
- Wetzel, R. G.** 1993. *Limnologia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 912 p.
- Willoughby, L. G.** 1974. Decomposition of litter in freshwaters. *In*: Dickinson, C. H., Pugh, G. T. F. *Biology of plant litter decomposition*. Academic Press: London, v.10, pp.659-681.
- Witkamp, M.** 1963. Microbial population of leaves litter in relation to environmental conditions and decomposition. *Ecology*, 44(2): 370-37.
- Witkamp, M.** 1966. Rates of carbon dioxide evolution from the forest floor. Report of the oak Ridge Nature Laboratories, Oak Ridge, Late Spring, 492-493 p.
- Witkamp, M. & Van Der Drift, J.** 1961. Breakdown of forest litter in relation to environmental factors. *Plant and Soil*, 15(4): 595-311.