

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA
DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

MATHEUS MAXIMILIAN RATZ SCOARIZE

Distribuição e diversidade de hifomicetos aquáticos em riachos Neotropicais

Maringá
2018

MATHEUS MAXIMILIAN RATZ SCOARIZE

Distribuição e diversidade de hifomicetos aquáticos em riachos Neotropicais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.
Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Evanilde Benedito

Maringá
2018

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

S421d

Scoarize, Matheus Maximilian Ratz, 1992-

Distribuição e diversidade de hifomicetos aquáticos em riachos Neotropicais /
Matheus Maximilian Ratz Scoarize.-- Maringá, 2018.
58 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--
Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2018.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Evanilde Benedito.

1. Fungos Ingoldianos - Comunidades, Ecologia de - Riachos - Parque Nacional dos
Campos Gerais - Ponta Grossa - Paraná (Estado). 2. Fungos aquáticos de água doce -
Taxonomia - Novos registros - Brasil. 3. Fungos aquáticos de água doce - Taxonomia -
Novos registros - Mata Atlântica - Brasil. 4. Fungos aquáticos de água doce - Riachos
subtropicais - Riqueza de espécies - Taxonomia. I. Universidade Estadual de Maringá.
Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes
Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -579.551782098162
NBR/CIP - 12899 AACR/2

MATHEUS MAXIMILIAN RATZ SCOARIZE

Distribuição e diversidade de hifomicetos aquáticos em riachos Neotropicais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Evanilde Benedito
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Dr.^a Verónica Jacinta Lopes Ferreira
Universidade de Coimbra (UC)

Dr. Luiz Felipe Machado Velho
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Aprovado em: 28 de março de 2018.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. Dr. Keshiyu Nakatani, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e avós pela paciência, incentivo, temperança e amor.

Ao meu irmão e a minha irmã pelo crescimento conjunto e as muitas risadas.

A Professora Evanilde Benedito pela orientação, coragem e amizade.

A Mestre Laryssa Helena Ribeiro Pazianoto pela vasta contribuição em ideias, coleta de dados, revisão da dissertação, pela seriedade e pela amizade.

A Doutora Gisele Daiane Pinha pela ampla contribuição na coleta de dados, nas análises estatísticas, pela agilidade e pela amizade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Aos membros da banca, Doutora Verónica Jacinta Lopes Ferreira e Doutor Luiz Felipe Machado Velho, pelas excelentes contribuições.

A Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela minha formação, pela qualidade e por unir todos pela ciência.

Aos meus grandes amigos pelo carinho, incentivo, partilha de momentos marcantes e risadas.

Ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia) e aos seus funcionários pela estrutura, equipamentos e apoio nas coletas de dados.

Ao Laboratório de Ecologia Energética e aos colegas pelo companheirismo e paciência.

A Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná pelo investimento financeiro na realização deste projeto.

A Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza pelo investimento financeiro na realização deste projeto.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela estrutura e apoio a realização deste trabalho.

Nós não precisamos de magia para mudar o mundo,
nós carregamos todo o poder que precisamos já dentro de nós:
o poder de imaginar o melhor.

(J. K. Rowling)

Distribuição e diversidade de hifomicetos aquáticos em riachos Neotropicais

RESUMO

Fungos aquáticos são fundamentais para ecossistemas de riachos pois esses microrganismos são os principais decompositores de matéria orgânica nesses ambientes lóticos altamente dinâmicos. A decomposição desempenhada por esses fungos constitui o elo entre matéria alóctone da vegetação marginal e a biota aquática. Por isso, esses fungos também dependem de condições da paisagem para a estrutura e a composição da comunidade. Uma área protegida deveria portar *habitats* de maior qualidade do que áreas altamente impactadas por atividade humana. O Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG) é a maior área de Floresta Ombrófila Mista protegida no bioma Mata Atlântica. Que é um dos principais *hotspots* de biodiversidade mundial, devido aos intensos impactos antrópicos e a alta ocorrência de espécies endêmicas. Praticamente dois terços da população brasileira reside no domínio desse bioma e impactos são diversos. Além da importância da vegetação ripária e das características da paisagem, tem sido demonstrado que a comunidade de fungos de água doce depende de variáveis ambientais, mas, a escala principal que determina riqueza e abundância é incerta. Na primeira abordagem compara-se as comunidades fúngicas de uma área menos impactada (em uma Unidade de Conservação, UC) com aquelas de áreas com maior atividade antrópica (predomínio de atividades relacionadas ao agronegócio). Considerando que os índices de diversidade permitem a comparação entre comunidades de áreas distintas, a hipótese da primeira abordagem foi que os índices Shannon-Wiener, equitabilidade de Pielou e diversidade β são maiores dentro de uma UC do que em uma área agrícola próxima, que sofre impactos antrópicos. Na segunda abordagem avaliou-se qual escala é a mais significativa para determinar a composição dessa comunidade (microescala ou macroescala). Considerando que as variáveis ambientais mensuradas diretamente nos bancos de folhas específicos (onde as amostras de fungos foram coletadas) provavelmente são mais relacionadas a composição da comunidade de fungos, a hipótese foi que a microescala é mais determinante que a macroescala para a composição da comunidade fúngica. Foram coletadas folhas do fundo de riachos localizados no interior e fora do PNCG. As hipóteses desta investigação científica foram rejeitadas. Conclui-se que diferenças nas concentrações de nutrientes dos riachos possam ser determinantes para as diferenças entre dentro e fora do PNCG. E, amônia e condutividade são as variáveis que mais influenciam a comunidade de fungos em macroescala. Assim, cada riacho deve ser considerado como um sistema singular e suas características influenciam mais fortemente a comunidade de fungos do que variáveis específicas dos bancos de folhas, o que contrasta com a maioria dos estudos com microbiota. Foram registradas ainda novas ocorrências de espécies de fungos para o Brasil (34) e para a Mata Atlântica (42). Ressalta-se que a conservação da comunidade aquática de fungos no ecossistema investigado deve ser assegurada com um maior número de riachos incluídos em área protegida. Ações de conservação devem ser implementadas a fim de que a bacia hidrográfica como um todo seja protegida dos impactos urbanos e do agronegócio. Apenas desta forma, os impactos antrópicos impostos aos pequenos cursos de água poderão ser minimizados e os serviços ecossistêmicos e qualidade ambiental assegurados a longo prazo.

Palavras-chave: Fungos Ingoldianos. Ecologia de comunidade. Composição da comunidade. Riachos. Parque Nacional dos Campos Gerais.

Diversity and distribution of aquatic hyphomycetes in Neotropical streams

ABSTRACT

Stream ecosystems depend on aquatic fungi because they are the main decomposers of organic matter in these environments. Thus, these fungi link the allochthonous material of the surrounding vegetation and the stream biota. Also, these fungi rely on landscape conditions for the community structure and composition. A protected area should present better habitat quality than a heavily human impacted area. Parque Nacional Campos Gerais (PNCG) which is the largest protected area from the Araucaria moist forest, an evergreen subtropical moist forest. This forest is part of the Atlantic Forest, one of the main global biodiversity hotspots because of intense anthropic impacts and high occurrence of endemic species on the biome. Practically two thirds of all Brazilian population dwell in this biome and impacts are diverse. Beyond the importance of riparian vegetation and landscape features, studies have shown that freshwater fungal community depends on environmental variables, but, the main scale determining its richness and abundance is not certain. This work, divided in two parts, compares in the first part, fungal communities from an area which suffers less human impacts (inside a Nature Reserve, NR) with an area which suffers more intense impacts (in a surrounding farmland). Considering that diversity indices allow us to compare distinct communities, our hypothesis was that Shannon-Wiener, Pielou evenness and β -diversity are higher inside a NR than in a farmland. The second part aimed to evaluate which scale (microscale or macroscale) was the most predominant in determining the aquatic fungal community. Considering that environmental variables measured directly at the leaf banks in the streambed (from which fungi samples were collected) probably are more related to the community composition, our hypothesis was that microscale is more determinant than macroscale. For that, we collected leaves from the streambed inside and outside PNCG and analysed them in the laboratory. Both hypotheses were rejected. We concluded that nutrient concentration differences may have determined the high values of the diversity indices outside the park. Also, ammonia and conductivity are the variables that most influenced the fungal community in the macroscale. Altogether, each stream must be considered a singular system for its characteristics influence more fungal community than variables from the leaf banks. We registered new occurrences from Brazil (34) and from the Atlantic Forest (42). Finally, aquatic fungal community conservation in the investigated ecosystem must be ensured including the highest possible number of streams in the protected area. Conservation actions must be implemented to comprise the watershed as a whole in an attempt to protect it from urban and rural impacts. Only with protective approaches impacts will be minimised and ecosystem services and environmental quality ensured in the long term.

Keywords: Ingoldian fungi. Community ecology. Community composition. Streams. National Park.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	Área de Proteção Ambiental
Clorof	Clorofila
cm	Centímetro
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Condut	Condutividade
EP	Erro padrão
g	Gramma
Hz	Hertz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
IUCN	União Internacional para a Conservação da Natureza
m	Metro
mg	Miligrama
N	Nitrato
NRMA	Novo registro para a Mata Atlântica
NRB	Novo registro para o Brasil
NT	Nitrogênio total
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez
Nupélia	Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura
OD	Oxigênio dissolvido
OP	Ortofosfato
PCoA	Análise de Coordenadas Principais
PEA	Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais
PERMANOVA	Análise de variância multivariada por permutação
PERMDISP	Teste de homogeneidade variada de grupos de dispersão

pH	Potencial hidrogeniônico
PNCG	Parque Nacional dos Campos Gerais
PT	Fósforo total
p valor	Valor de probabilidade
QGis	Sistema de Informação Geográfica Quantum
RDA	Análise de Redundância
rpm	rotações por minuto
s	segundo
SP	Espécies não identificadas
µg	Micrograma
µS	MicroSiemens
UC	Unidade de Conservação
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *The ISME Journal*. Disponível em: <https://media.nature.com/full/nature-assets/ismej/ismej_new_gta.pdf>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	12
	REFERÊNCIAS.....	14
2	COMUNIDADE E DIVERSIDADE DE FUNGOS INGOLDIANOS EM RIACHOS SUBTROPICAIS COM DIFERENTES USOS DE SOLO.....	17
	RESUMO.....	17
2.1	INTRODUÇÃO.....	17
2.2	MATERIAIS E MÉTODO.....	19
2.2.1	Área de estudo.....	19
2.2.2	Amostragem das variáveis ambientais e caracterização dos riachos.....	21
2.2.3	Coleta e identificação de fungos.....	21
2.2.4	Análise de dados.....	22
2.3	RESULTADOS.....	24
2.4	DISCUSSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	32
3	PAPEL DA MICROESCALA E DA MACROESCALA NA COMPOSIÇÃO DE FUNGOS INGOLDIANOS DE RIACHOS SUBTROPICAIS.....	39
	RESUMO.....	39
3.1	INTRODUÇÃO.....	39
3.2	MATERIAIS E MÉTODO.....	42
3.2.1	Área de estudo.....	42
3.2.2	Coleta e identificação de fungos.....	43
3.2.3	Variáveis ambientais.....	44
3.2.4	Análise de dados.....	45
3.3	RESULTADOS.....	45
3.4	DISCUSSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	51
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58

1 INTRODUÇÃO GERAL

Riachos são ecossistemas altamente dependentes de material alóctone e a tendência esperada para esses ambientes lóticos é que seu metabolismo seja predominantemente heterotrófico, como sugerido por Vannote *et al.* (1980). A principal fonte material e energética é a vegetação ripária (também conhecida como mata ciliar), cujas folhas e galhos ao caírem se acumulam em determinados pontos conforme a dinâmica hídrica local. O principal grupo de organismos responsável pelo processamento deste material advindo da biota terrestre marginal e disponibilização às cadeias alimentares é conhecido como hifomicetos aquáticos, fungos aquáticos ou fungos Ingoldianos (Krauss *et al.*, 2011).

Esses microrganismos desempenham várias funções que se relacionam com outras espécies da biota aquática e são elos fundamentais para a teia trófica. Os fungos aquáticos mediam a fonte nutricional de estruturas vegetais (como folhas e galhos) aos consumidores invertebrados detritívoros (Bärlocher e Boddy, 2016). A assimilação de nutrientes em sua biomassa incrementa o conteúdo nutricional do detrito vegetal (Kaushik e Hynes, 1971), enquanto degradam os polímeros resistentes como a celulose (Suberkropp *et al.*, 1976), assim, aumentam a palatabilidade do detrito para invertebrados detritívoros e fragmentadores (Pattee e Chergui, 1995; Canhoto e Graça, 2008; Cornut *et al.*, 2015; Tant *et al.*, 2015; Danger *et al.*, 2016). Outra guilda de invertebrados beneficiada é a dos filtradores, que se alimentam de matéria orgânica particulada, gerada em parte pela decomposição realizada pelos fungos aquáticos (Suberkropp e Klug, 1980).

Outras funções ecossistêmicas executadas por fungos aquáticos compreendem a regulação da taxa de perda de massa de detrito, a liberação de nutrientes inorgânicos, o sequestro de íons e a degradação de xenobióticos (Krauss *et al.*, 2011). Podem ainda ser utilizados como bioindicadores ambientais, uma vez que algumas espécies se desenvolvem apenas em ambientes lóticos, com águas limpas e aeradas (Schoenlein-Crusius e Grandi, 2003). Portanto, os hifomicetos desempenham papel relevante nos processos ecossistêmicos e fluxo de energia em ambientes aquáticos, considerando que mudanças na composição e na atividade das espécies influenciam a alimentação, e conseqüentemente a biomassa e abundância de espécies detritívoras, determinando sua sobrevivência e crescimento (Cornut *et al.*, 2015).

Praticamente dois terços dos brasileiros residem no domínio da Mata Atlântica. A grande pressão imobiliária e os impactos antrópicos das atividades agropastoris reduziram a

vegetação original a cerca de 12%. Entretanto, grande parte desses remanescentes são descontínuos e correspondem a fragmentos espalhados em meio a matriz rural e urbana (Colombo e Joly, 2010). Por isso, a floresta mais antiga do Brasil foi enquadrada como um dos principais *hotspots* de biodiversidade mundial (Myers *et al.*, 2000). Todavia, menos da metade desses remanescentes são oficialmente protegidos em Unidades de Conservação (UC) (Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 1998) e algumas UC não exercem seu papel efetivamente (Rylands e Brandon, 2005) por serem constantemente ameaçadas por pressões políticas, sociais e econômicas (<http://www1.folha.uol.com.br/ambiente/2017/10/1931106-projeto-no-pr-quer-retirar-protacao-de-area-de-400-milhoes-de-anos.shtml>).

Uma destas Unidades de Conservação é o Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG), localizado na região sul do Brasil (Estado do Paraná), criado em 2006, corresponde a maior área de proteção da fitofisionomia Floresta Ombrófila Mista. No PNCG, muitas populações biológicas não foram estudadas e a maioria das espécies nem sequer inventariadas. A falta de um plano de manejo e problemas socioambientais dificultam a regularização e aplicação de ações de conservação e recuperação do ecossistema. Apesar de a área do PNCG ser composta por 62% de imóveis rurais ainda não desapropriados, o entorno do Parque é ainda mais impactado por intenso agronegócio (Oliveira, 2012), envolvendo agricultura, pecuária e plantio de espécies exóticas (IBGE, 2012). Entre as principais consequências negativas ao ecossistema promovidas por estas atividades destacam-se a degradação da vegetação ciliar, erosão, poluição, sobre-exploração de recursos e invasão de espécies exóticas, principalmente no entorno do parque. Esses impactos culminam em fragmentação de *habitats*, perda de biodiversidade e extinção de espécies, alterando o funcionamento de todo o ecossistema (Viana e Rocha, 2009) e comprometendo a conservação da biodiversidade deste fragmento protegido da Mata Atlântica.

Neste contexto, esta dissertação, focada em um componente básico e essencial da biodiversidade aquática, apresenta resultados obtidos no aprofundamento da ecologia dos hifomicetos e é apresentada em duas partes. Na primeira abordagem objetivou-se comparar as comunidades fúngicas de uma área menos impactada (dentro de uma UC (PNCG)) e de uma área mais impactada (área vizinha ao parque intensamente explorada pelo agronegócio). Para tal, foram utilizados índices de diversidade amplamente empregados em ecologia de ecossistemas. A hipótese testada foi de que os maiores valores dos índices Shannon-Wiener, equitabilidade de Pielou e diversidade β são mais elevados na área protegida (riachos amostrados no interior do PNCG), do que fora desta área. Na segunda abordagem da

dissertação, identificaram-se os fatores de cada escala (micro e macroescala) determinantes para a composição da comunidade de fungos aquáticos presentes nos riachos. Para tal, foram utilizadas variáveis ambientais, com valores separados entre microescala e macroescala. A hipótese testada foi de que fatores da microescala determinam a composição dos hifomicetos em detrimento a fatores da macroescala.

Alterações antrópicas como uso do solo, eutrofização, poluição e mudanças climáticas têm potencial para afetar a diversidade e funções ecológicas de hifomicetos aquáticos (Bärlocher, 2016) e conseqüentemente dos integrantes da cadeia alimentar do ecossistema. Assim, é imprescindível conhecer e estrutura e diversidade dos hifomicetos em ambientes naturais, impactados ou não, e os fatores predominantes na determinação da composição das comunidades para que ações de manejo possam ser planejadas e implementadas, respaldadas por conhecimento científico. Os resultados obtidos permitirão não apenas direcionar os esforços para novos estudos, mas também compreender os fatores que regulam o funcionamento dos ecossistemas de riachos da Mata Atlântica e que são imprescindíveis a conservação de sua biodiversidade.

REFERÊNCIAS

- Bärlocher F. (2016). Aquatic hyphomycetes in a changing environment. *Fungal Ecology* 19:14-27.
- Bärlocher F, Boddy L. (2016). Aquatic fungal ecology - how does it differ from terrestrial? *Fungal Ecology* 19:5-13.
- Canhoto C, Graça MAS. (2008). Interactions between fungi and stream invertebrates: back to the future. *Novel Techniques and Ideas in Mycology, Fungal Diversity Research Series* (Sridhar KR, Bärlocher F, Hyde KD, eds.), pp. 305-325. Fungal Diversity Press, Yunnan, P.R. China.
- Cornut J, Ferreira V, Gonçalves AL, Chauvet E, Canhoto C. (2015). Fungal alteration of the elemental composition of leaf litter affects shredder feeding activity. *Freshwater biology* 60:1755-1771.

- Colombo AF, Joly CA. (2010). Brazilian Atlantic Forest lato sensu: the most ancient Brazilian forest, and biodiversity hotspot, is highly threatened by climate change. *Braz.J.Biol.* 70:697-708.
- Danger M, Gessner MO, Bärlocher F. (2016). Ecological stoichiometry of aquatic fungi: current knowledge and perspectives. *Fungal Ecology* 19:100-111.
- Fundação SOS Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2017). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica 2015-2016. São Paulo, 69 p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2012). Manual técnico da vegetação brasileira. Manuais técnicos em geociências.
- Kaushik NK, Hynes HBN. (1971). The fate of the dead leaves that fall into streams. *Arch. Hydrobiol.* 68:465-515.
- Krauss GJ, Solé M, Krauss G, Schlosser D, Wesenberg D, Bärlocher F. (2011). Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS Microbiol. Rev.* 35:620-651.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- Oliveira EA. (2012). O Parque Nacional dos Campos Gerais: processo de criação, caracterização ambiental e proposta de priorização de áreas para regularização fundiária. Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. 297 p.
- Pattee E, Chergui H. (1995). The application of habitat templates and traits to hyphomycete fungi in a mid-European river system. *Freshwater Biology* 33:525-539.
- Rylands AB, Brandon K. (2005). Unidades de conservação brasileiras. *Megadiversidade* 1:27-35.
- Schoenlein-Crusius IH, Grandi RAP. (2003). The diversity of aquatic hyphomycetes in South America. *Brazilian Journal of Microbiology* 34:183-193.
- Suberkropp K, Godshalk GL, Klug MJ. (1976). Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology* 57:720-727.

Suberkropp K, Klug MJ. (1980). The maceration of deciduous leaf litter by aquatic hyphomycetes. *Can. J. Bot.* 58:1025-1031.

Tant CJ, Rosemond AD, Mehring AS, Kuehn KA, Davis JM (2015) The role of aquatic fungi in transformations of organic matter mediated by nutrients. *Freshwater Biology* 60:1354-1363.

Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE. (1980). The river continuum concept. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science* 37:130-137.

Viana FMF, Rocha CHB. (2009). Impactos ambientais em unidades de conservação. *UFJF/PGECOL*. 1-25 p.

2 COMUNIDADE E DIVERSIDADE DE FUNGOS INGOLDIANOS EM RIACHOS SUBTROPICAIS COM DIFERENTES USOS DE SOLO

RESUMO

Processos ecossistêmicos de riachos são dependentes dos fungos aquáticos, pois estes são os principais decompositores de matéria orgânica nesses ambientes. Esses fungos dependem da vegetação ripária e das condições da paisagem, que conseqüentemente estruturam a composição dessa comunidade. O objetivo deste trabalho foi comparar a comunidade de fungos de riachos em uma área menos impactada (UC) e em uma mais impactada (área agrícola). Considerando que os índices de diversidade nos permitem tal comparação, a hipótese testada foi que diversidade de Shannon-Wiener, equitabilidade de Pielou e diversidade β são maiores nos riachos dentro de uma UC do que em riachos em área agrícola próxima, que sofre impactos antrópicos. Foram coletadas folhas do leito de dezenove riachos. A hipótese foi rejeitada, os índices foram maiores fora da UC ou a diferença não foi significativa. Esse resultado provavelmente é decorrente de diferenças em concentrações de nutrientes da água. Outros resultados relevantes foram o registro da ocorrência de mais espécies para o Brasil (34) e para a Mata Atlântica (42). Os dados indicam que cada riacho deve ser interpretado como um sistema singular. Assim, para garantir a conservação da comunidade de fungos aquáticos, o maior número possível de riachos deve ser protegido.

2.1 INTRODUÇÃO

Em ecossistemas de riachos, o metabolismo é predominantemente aquático (Vannote et al, 1980) e processos locais são responsáveis pela manutenção dos fluxos de matéria e energia (Fellows et al, 2006). Aportes alóctones criam uma condição de grande dependência com o entorno, especificamente a vegetação, cuja quantidade e qualidade de matéria orgânica depositada em riachos determinam a composição de espécies (Mathuriau & Chauvet, 2002; Esteves & Gonçalves, 2011). Assim, o aporte de folhas, por exemplo, é uma fonte nutricional e energética constante para rios de pequena ordem, que “alimentam teias tróficas de riachos”. Essas folhas são processadas por decompositores, como bactérias, fungos e invertebrados, que liberam compostos ao ecossistema aquático (Tank et al, 2010).

Em conjunto, todos decompositores são essenciais para o funcionamento ecossistêmico adequado, disponibilizando nutrientes de origem alóctone à biota aquática.

Entretanto, as comunidades microbianas do sedimento são as principais contribuintes à atividade metabólica em sistemas lóticos de água doce (Gibbons et al, 2014). Fungos aquáticos, também conhecidos como hifomicetos aquáticos e fungos ingoldianos, são considerados os principais decompositores em atividade e biomassa dentre os microrganismos (Bärlocher, 1985; Krauss et al, 2011). De acordo com Suberkropp e Chauvet (1995), perdas da biomassa foliar são proporcionais ao aumento da colonização microbiana. Dessa maneira, esses fungos aquilatam a palatabilidade do material enquanto o degradam. Conseqüentemente aumentam a ação de invertebrados aquáticos sobre o material (Pattee & Chergui, 1995; Cornut et al, 2015; Tant et al, 2015; Danger et al, 2016), o que destaca a importância dos hifomicetos para ecossistemas de riacho.

Em um riacho há diferentes condições causadas pela dinâmica hidrológica, que forma distintas áreas de deposição de folhas (Brookshire & Dwire, 2003), que constituem os núcleos da atividade fúngica, pelo menos nos estágios iniciais de decomposição foliar (Gessner & Chauvet, 1994), assim, esses depósitos podem ser considerados manchas de *habitat* de maior qualidade. Essas áreas de deposição diferem entre si, e por isso, a distribuição de microrganismos em um riacho não é bem compreendida. Portanto, é importante saber como a diversidade pode ser afetada pela distribuição. Fatores limnológicos como oxigênio dissolvido (Chandrashekar et al, 1991; Medeiros et al, 2009), condutividade (Sridhar & Bärlocher, 1997; Raviraja et al, 1998; Gönczöl et al, 2003) e concentrações de nutrientes (Pascoal et al, 2005; Biasi et al, 2017) alteram a riqueza e a abundância fúngicas. Então, diferenças limnológicas podem explicar uma diferença potencial na composição da comunidade de fungos. A distribuição de fungos ingoldianos no mundo não é completamente entendida, mas estudos têm sugerido que em zonas de latitudes intermediárias há maior ocorrência de espécies do que em zonas tropicais e árticas (Shearer et al, 2007).

Áreas de deposição de folhas em riachos são afetadas pela vegetação marginal, que também afeta a biodiversidade local. Por isso, o *status* de conservação de uma área é importante para entender como índices de diversidade podem diferir, dependendo de impactos antrópicos. Devido a propriedade multidimensional de sistemas naturais, é difícil quantificar a biodiversidade de uma área e para tal, há uma múltiplos índices que permitem a comparação entre diferentes regiões, *taxa*, e níveis tróficos (Morris et al, 2014). Portanto, eles têm fundamental importância para o monitoramento e a conservação ambientais. Índices de diversidade como alfa (α), beta (β) e gama (γ) têm sido amplamente empregados em ecologia desde o estudo pioneiro de Wittakker em 1972 sobre a diversidade beta (Koleff et al, 2003). Ambos α e γ representam a diversidade de espécies, mas α é a diversidade média de espécies

de um local, dentro de uma área ou de um *habitat*, enquanto que γ é a diversidade total de espécies numa escala regional ou de paisagem (Tuomisto, 2010). Diferentemente, diversidade β é o tamanho de variação na composição da comunidade, ou grau de diferenciação da comunidade, em relação ao gradiente de complexidade do ambiente, ou a um padrão de ambientes (Whittaker, 1960).

Uma vez que manchas de deposição de folhas podem apresentar suas próprias características específicas, eles provavelmente apresentam uma única diversidade α , que pode ser comparada dentro de um mesmo riacho, usando manchas de um mesmo rio para calcular a diversidade β em um riacho e usando a α de um riacho todo para calcular a diversidade β entre riachos. Como a conservação de riachos está ameaçada por impactos antrópicos no mundo todo (Heathwaite, 2010), estudar a diversidade e distribuição desse grupo aumenta as ferramentas para que se possa focar no planejamento de ações prioritárias e específicas para a conservação desses ambientes lóticos.

Unidades de Conservação (UC) têm papel determinante na proteção de áreas para a conservação da biodiversidade. Especialmente em *hotspots* de biodiversidade (Myers et al, 2000). O parque estudado está no domínio da Mata Atlântica, um dos principais *hotspots* de biodiversidade do mundo e a mais velha floresta brasileira (Colombo & Joy, 2010, 1997; Myers et al, 2000). Qualquer ação adotada nesse bioma tem imenso impacto na biodiversidade mundial total. Nesses riachos, a conservação de fungos aquáticos é imprescindível para assegurar os fluxos de matéria e energia, interações bióticas e serviços ecossistêmicos.

O objetivo foi avaliar a estrutura e a diversidade da comunidade de hifomicetos aquáticos de uma área subtropical e como esta diversidade está distribuída em riachos de um parque e de uma área agrícola. Para isso, foram comparados dez riachos de dentro do Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG) com nove riachos de uma área agrícola muito próxima (na fronteira com o parque). A hipótese foi que os riachos de dentro do parque apresentam maiores valores para todos os seguintes índices de diversidade: Shannon-Wiener, equitabilidade de Pielou e diversidade β . Adicionalmente, esperávamos que a dominância da espécie com maior abundância seria maior nos riachos da área agrícola.

2.2 MATERIAIS E MÉTODO

2.2.1 Área de estudo

A área compreende dezenove riachos de cabeceira na região do Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG) (Figura 1). Este parque possui área de 21 298,91 ha na macrorregião Sul do Brasil (BRASIL, 2006). Esses ecossistemas aquáticos lóticos estão inseridos na bacia hidrográfica do Rio Ribeira. O PNCG é um *hotspot* global de biodiversidade, a Mata Atlântica, um dos ambientes mais ricos em espécies endêmicas (Myers et al, 2000). Espécies como a árvore *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze (pinheiro-do-paraná, criticamente ameaçada) e outras espécies endêmicas, como o peixe *Isbrueckerichthys duseni* Miranda Ribeiro, 1907 (cascudo, não avaliado pela IUCN) (IUCN Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas, 2016) emblematizam a relevância desse para a conservação da biodiversidade. O clima é subtropical úmido com verões amenos, tipo climático Cfb de Köppen (Paraná, 2004; Alvares et al., 2013). A temperatura média anual foi de 17,8 °C e a precipitação total anual média foi de 1554 mm no período de registro entre 1954 e 2001 (Estação Meteorológica de Ponta Grossa do Instituto Agrônomo do Paraná). A região é enquadrada fitogeograficamente como Floresta Ombrófila Mista, com remanescentes de floresta com araucárias e campos sulinos (IBGE, 1991). O parque foi criado com o intuito de minimizar a forte exploração e suas consequências de degradação sobre as vegetações porque aos dados sobre o estado delas eram “extremamente desfavoráveis à conservação” (Oliveira, 2012).

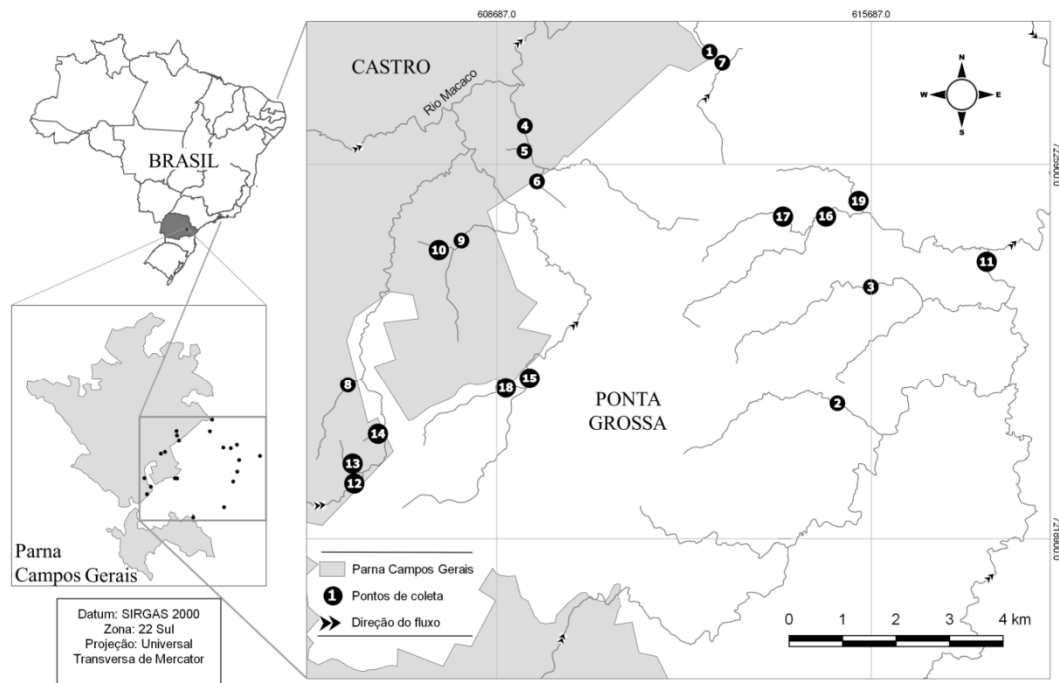


Figura 1. Mapa dos riachos amostrados. Áreas cinzas representam o Parque Nacional dos campos Gerais (PNCG). Círculos pretos indicam os pontos de amostragem.

2.2.2 Amostragem das variáveis ambientais e caracterização dos riachos

Os riachos amostrados foram divididos em dois grupos: dentro do parque (10 riachos: 1;4;5; 6; 8; 9; 10; 12; 13; 14) e fora (9 riachos: 2; 3; 7; 11; 15; 16; 17; 18; 19). Variáveis ambientais foram amostradas para comparar os grupos: clorofila ($\mu\text{g L}^{-1}$); nitrogênio total ($\mu\text{g L}^{-1}$); nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$); Amônia ($\mu\text{g L}^{-1}$); fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$); Ortofosfato ($\mu\text{g L}^{-1}$); altitude (m); área (m^2); largura (m); temperatura ($^{\circ}\text{C}$); oxigênio dissolvido (mg L^{-1}); condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$); profundidade (cm); velocidade (m s^{-1}); pH; turbidez (NTU).

Tabela 1. Variáveis ambientais obtidas nos grupos dentro e fora do Parque Nacional dos Campos Gerais. Valores médios nas primeiras linhas e mínimos e máximos nas segundas e terceiras linhas dos grupos. Clorofila (Clorof.; $\mu\text{g L}^{-1}$), nitrogênio total (NT; $\mu\text{g L}^{-1}$), nitrato (N; $\mu\text{g L}^{-1}$), amônia ($\mu\text{g L}^{-1}$), fósforo total (PT; $\mu\text{g L}^{-1}$), ortofosfato (OP; $\mu\text{g L}^{-1}$); altitude (m), área da sub-bacia (área, m^2), largura (m), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (OD; mg L^{-1}), condutividade (Conduct.; $\mu\text{S cm}^{-1}$), profundidade (Prof.; cm), velocidade (veloc.; m s^{-1}), pH, turbidez (NTU).

	Clorof.	NT	N	Amônia	PT	OP	Altitude	Área
Dentro	0,99	2317,61	340,55	4,62	57,11	36,67	878,50	226,92
Mínimo	0,00	1574,41	79,85	0,00	4,89	3,99	842	12,53
Máximo	6,10	3351,41	608,35	27,95	291,85	258,82	908	566,27
Fora	1,01	2330,12	416,34	2,96	19,69	6,54	817,22	1627,06
Mínimo	0,00	1399,31	248,10	0,00	5,61	2,30	687	13,96
Máximo	4,37	3211,80	557,69	5,13	62,59	15,12	873	9262,83
	Largura	$^{\circ}\text{C}$	OD	Conduct.	Prof.	Veloc.	PH	Turbidez
Dentro	2,32	16,91	7,47	151,80	20,00	0,14	8,13	12,10
Mínimo	1,02	12,7	5,89	29,70	9,00	0,00	7,07	4,75
Máximo	5,17	20,13	8,57	392,92	50,00	0,22	10,94	26,92
Fora	2,95	17,81	7,64	285,76	23,00	0,23	8,47	16,05
Mínimo	1,70	11,30	6,40	93,50	11,00	0,14	7,31	2,24
Máximo	6,50	21,40	9,41	361,00	46,04	0,39	10,17	51,39

2.2.3 Coleta e identificação de fungos

Para cada riacho foram selecionados trechos de 30 m. Nesses trechos, foram selecionados aleatoriamente cinco remansos com acúmulo de folhas encontrados no leito do riacho. De cada banco de folha foram retiradas cinco folhas negras (indicando que estavam em decomposição por algum tempo). Esse procedimento foi repetido nos quatro meses de coleta: julho e outubro de 2016, e, janeiro e abril de 2017. As folhas coletadas foram

acondicionadas em sacolas plásticas e mantidas em uma caixa térmica com gelo para análise posterior. Em laboratório, utilizando um cortador para folhas (cortador de cortiça - 10 mm), foram extraídos cinco discos (um de cada folha) de cada amostra (remanso), para esporulação fúngica.

Inicialmente, os discos foram transferidos para *erlenmeyers* com 50 mL de água destilada e deionizada, depois, foram mantidos por dois dias (48 h) em agitador orbital (90 rpm ou 1.5 Hz). Temperatura foi mantida em aproximadamente 18°C. Essa metodologia é específica para a indução da formação de esporos (Graça et al, 2005). Posteriormente, a porção sobrenadante foi transferida para tubos Falcon e foram adicionados 2mL de formalina (4%) e 2 mL de Triton X-100 (5%) para a fixação dos esporos.

Na etapa de identificação das espécies, foram filtrados 10 mL da suspensão com esporos em filtros de nitrato celulose (porosidade: 5 µm) com auxílio de uma bomba a vácuo. Os filtros foram corados com 0.05% trypan blue em 60% de ácido láctico, e esporos foram identificados e contados em um microscópio (aumento de 400×), para 60 campos do microscópio. Isso foi feito para padronizar a riqueza de espécies e a abundância de esporos (conídios). Esporos foram identificados a nível de espécie, sempre que possível, usando chaves de identificação específicas (Goh & Hyde, 1996; Chan et al, 2000; Gönczöl & Révay, 2002; Cruz et al, 2007; Cruz & Gusmão, 2009a; Cruz & Gusmão, 2009b; Barbosa et al, 2011; Fiuza & Gusmão, 2013; Fiuza et al, 2015). Todos os *taxa* foram utilizados para calcular os índices.

2.2.4 Análise de dados

Uma curva de acumulação foi produzida usando o pacote *vegan* (Oksanen et al, 2017), função *Specaccum*, no ambiente R (R Core Team, 2017). O número de esporos por amostra foi utilizado como abundância. Espécies nas colunas e riachos nas linhas da matriz. As linhas usadas foram número de esporos por riacho, por isso, foi feita a média dos bancos de folhas (cinco para cada riacho) de um mesmo riacho para compor os valores para o riacho. A dominância foi calculada dividindo a produção conidial da espécie mais abundante (dominante) pela produção conidial total (Berger & Parker, 1970).

Foram empregados todas as amostras de todos os meses para os índices. A diversidade gama (γ) foi calculada como um somatório de todos os *taxa* registrados em todas as amostras (riqueza de espécies total), consistindo no pool regional de espécies. Os índices de diversidade de Shannon-Wiener (Lloyd et al, 1968) e de equitabilidade de Pielou (Pielou, 1966) foram

calculados por meio da função *diversity* do pacote *vegan* no ambiente R (R Core Team, 2017). A diversidade alfa (α) foi elaborada de duas maneiras devido à diferenças na qualidade de *habitat* que bancos de folhas podem apresentar: i) uma como riqueza taxonômica de cada remanso com banco de folhas (diversidade local de cinco pontos dentro do riacho, posteriormente utilizada para calcular a diversidade β dentro do riacho); e ii) como riqueza taxonômica de cada riacho (diversidade local de cada riacho, posteriormente utilizada para a diversidade β entre riachos). A divisão de riachos em dois grupos permitiu uma comparação direta entre esses ecossistemas e como a distribuição e a diversidade de fungos aquáticos se organizam nesses ambientes. Depois, a hipótese foi testada comparando os índices de diversidade entre os dois grupos por meio de testes-t pareados, no *software* Statistica 8.0.

Variações na diversidade β foram investigadas em ambas escalas (dentro de um mesmo riacho e entre riachos) usando o teste de homogeneidade variada de grupos de dispersão (PERMDISP; Anderson et al, 2006), considerando as diferenças de riachos de dentro e de fora do PNCG. A primeira escala (micro) foi entre amostras dentro de um mesmo riacho, conferindo um valor de β para o riacho, e a segunda escala um outro valor de β entre riachos (considerando riachos como amostras), sendo esse segundo um β absoluto para o grupo. Depois, foram comparados o β absoluto e a média de todos os β de cada riacho, e também dividido nos dois grupos (dentro e fora do parque), para verificar se o padrão é similar para ambos grupos. Para cada escala, foi testado se, em um espaço multidimensional dado pela Análise de Coordenadas Principais (PCoA; Anderson & Walsh, 2013), a distância média das abundâncias de esporos ao centroide do grupo foi menor em riachos fora do parque em relação aos de dentro. A distância alterada de Gower foi utilizada para calcular as dissimilaridades na comunidade fúngica, como proposto por Anderson (2006). O valor de p foi calculado a partir de 999 permutações de resíduos de modelos, que foram utilizados para gerar uma distribuição permutacional de F sob a hipótese nula de que não há diferença na dispersão entre os grupos (dentro e fora). Para tal foi utilizada a função *betadisper* do pacote *vegan* (Oksanen et al, 2017) no ambiente R (R Core Team, 2017). Para testar a mudanças significativas na composição das comunidades de fungos dos riachos, foi empregada uma análise de variância multivariada por permutação (PERMANOVA; Anderson et al, 2008), controlando os dois grupos amostrados de riachos como fatores (dentro e fora dos riachos), com 999 procedimentos de permutação.

2.3 RESULTADOS

Foram registrados 74 *taxa* de hifomicetos aquáticos, 56 identificados a nível de e 14 não puderam ser categorizados em nenhum gênero, por isso, foram organizados como "SP". Há novos registros para o Brasil (NRB), 34 espécies, e novos registros para a Mata Atlântica (NRMA), 42 espécies (Tabela 2). Somente *Anguillospora longissima* ocorreu em todas as amostras. *Anguillospora longissima*, *A. pseudolongissima*, *Campylospora chaetoclada*, *Heliscus submersus* e *Taeniolella alta* foram as mais frequentes, enquanto 31 espécies ocorreram em somente um riacho.

Tabela 2. Lista de espécies registradas no Parque Nacional dos Campos Gerais (Mata Atlântica) e novos registros. NRB: novo registro para o Brasil. NRMA: novo registro para a Mata Atlântica. SP: espécie de hifomiceto não identificada.

Táxon	Novos registros
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold, 1942	
<i>Alatospora pulchella</i> Marvanová, 1977	NRB NRMA
<i>Anguillospora crassa</i> Ingold, 1958	
<i>Anguillospora longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Ingold, 1942	
<i>Anguillospora pseudolongissima</i> Ranzoni, 1953	NRMA
<i>Articulospora tetracladia</i> Ingold, 1942	
<i>Beltrania rhombica</i> Penz., 1882	NRB NRMA
<i>Brachiosphaera tropicalis</i> Nawawi, 1976	NRMA
<i>Cacumisporium pleuroconidiophorum</i> (Davydkina & Melnik) R.F. Castañeda, Heredia & Iturr., 2007	NRB NRMA
<i>Camposporium antennatum</i> Harkn., 1884	NRB NRMA
<i>Campylospora chaetoclada</i> Ranzoni, 1953	
<i>Campylospora</i> sp.	
<i>Centrospora aquatica</i> S. H. Iqbal, 1971	NRB NRMA
<i>Clavariopsis aquatica</i> De Wild., 1895	
<i>Clavatospora tentacula</i> Sv. Nilsson, 1964	NRB NRMA
<i>Colispora cavicola</i> Gönczöl&Révay, 1996	NRB NRMA
<i>Condylospora gigantea</i> Nawawi & Kuthub, 1988	NRMA
<i>Culicidospora gravida</i> R. H. Petersen, 1963	NRMA
<i>Dendrosporium lobatum</i> Plakidas & Edgertonex J. L. Crane, 1972	
<i>Diplocladiella scalaroides</i> G. Arnaudex M. B. Ellis, 1976	NRB NRMA

<i>Flabellospora crassa</i> Alas., 1968	
<i>Flabellospora</i> sp.	
<i>Fusariella obstipa</i> (Pollack) S. Hughes, 1949	NRB NRMA
<i>Goniopila monticola</i> (Dyko) Marvanová & Descals, 1985	NRB NRMA
<i>Heliocephala zimbabweensis</i> Decock, V. Robert & Masuka, 1998	NRB NRMA
<i>Heliscus submersus</i> H. J. Huds, 1961	NRB NRMA
<i>Henicospora amazonensis</i> J. S. Monteiro, Gusmão & R. F. Castañeda, 2014	NRB NRMA
<i>Lemonniera pseudofloscula</i> Dyko, 1977	NRMA
<i>Lunulospora cymbiformis</i> K. Miura, 1972	
<i>Microstella pluvioriens</i> K. Ando & Tubaki, 1984	NRB NRMA
<i>Mycocentrospora acerina</i> (R. Hartig) Deighton, 1972	
<i>Mycocentrospora filiformis</i> (Greath.) S. H. Iqbal, 1974	NRB NRMA
<i>Nawawia dendroidea</i> K. D. Hyde, Goh & Steinke, 1996	NRB NRMA
<i>Nawawia filiformis</i> (Nawawi) Marvanová, 1980	NRB NRMA
<i>Pseudoanguillospora stricta</i> S. H. Iqbal, 1974	NRB NRMA
<i>Repetophragina inflatum</i> (Berk. & Ravenel) W.P. Wu, 2005	NRB NRMA
<i>Savoryella verrucosa</i> Minoura & T. Muroi, 1978	NRB NRMA
<i>Scutisporus brunneus</i> K. Ando & Tubaki, 1985	NRMA
<i>Sigmoidea aurantiaca</i> Descals, 1982	NRB NRMA
<i>Spadicoides cordanoides</i> Goh & K. D. Hyde, 1997	NRB NRMA
<i>Sporidesmium verrucisporum</i> M. B. Ellis, 1958	NRB NRMA
<i>Submersisphaeria aquatica</i> K. D. Hyde, 1996	NRB NRMA
<i>Taeniolella alta</i> (Ehrenb.) S. Hughes, 1958	NRB NRMA
<i>Tetracladium breve</i> A. Roldán, 1989	NRMA
<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wild., 1893	
<i>Tetracladium setigerum</i> (Grove) Ingold, 1942	
<i>Thozetella acerosa</i> B. C. Paulus, Gadek & K. D. Hyde, 2004	NRB NRMA
<i>Thozetella cubensis</i> R. F. Castañeda & G. R. W. Arnold, 1985	NRB NRMA
<i>Thozetella radicata</i> (E. F. Morris) Piroz. & Hodges, 1973	NRB NRMA
<i>Tricladiella pluvialis</i> K. Ando & Tubaki, 1984	NRB NRMA
<i>Tricladium attenuatum</i> S. H. Iqbal, 1971	NRB NRMA
<i>Tricladium chaetocladium</i> Ingold, 1974	NRB NRMA

<i>Tricladium fallax</i> Marvanová, 1984	NRB NRMA
<i>Trifurcospora</i> sp.	NRB NRMA
<i>Trinacriumin curvum</i> Matsush., 1993	NRMA
<i>Trinacrium</i> sp.	NRB NRMA
<i>Triscelophorus acuminatus</i> Nawawi, 1975	
<i>Triscelophorus curviramifer</i> Matsush., 1993	
<i>Triscelophorus deficiens</i> (Matsush.) Matsush., 1993	
<i>Trisulcosporium acerinum</i> H. J. Huds. & B. Sutton, 1964	
SP1	
SP2	
SP3	
SP4	
SP5	
SP6	
SP7	
SP8	
SP9	
SP10	
SP11	
SP12	
SP13	
SP14	

Quanto ao esforço amostral, o padrão de assíntota não foi atingido pela curva de acumulação (Figura 2).

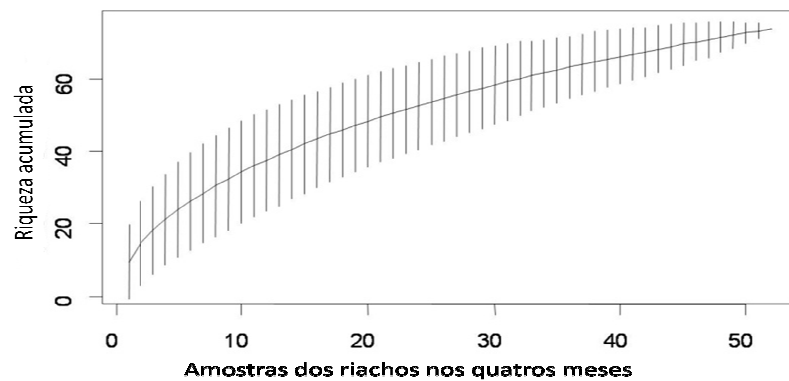


Figura 2. Curva de acumulação dos esporos de fungos aquáticos por riacho amostrado.

O índice de dominância de Berger-Parker foi calculado para *A. longissima*, a espécie mais abundante em número de conídios (valor médio do índice de dominância = 0,467; mínimo: 0,034; valor máximo: 1). Para *A. longissima*, a média do valor de dominância nos riachos de dentro do parque foi 0,657, e nos de fora, 0,429.

O maior valor para a diversidade de Shannon-Wiener foi do riacho 7 (1,52, fora do parque), enquanto que o riacho 1 apresentou o menor (0,46, dentro do parque). A diversidade de Shannon-Wiener evidenciou que fora do parque, os riachos apresentaram uma média maior ($t_{(17,1)} = -4,61$, $p < 0,01$; Figura 3A). A média para a equitabilidade de Pielou dos riachos foi 0,38 e a equitabilidade entre riachos foi 0,30. Riachos dentro do parque apresentaram menor média para equitabilidade, o valor de p ($t_{(17,1)} = -2,01$; $p = 0,06$) foi marginalmente significativo (Figura 3B). A diversidade β em riachos dentro e fora do parque mostrou que o valor médio foi maior dentro do parque (Figura 3C). Porém, variações na diversidade β não foram significativas ($t_{(17,1)} = 0,45$; $p = 0,66$).

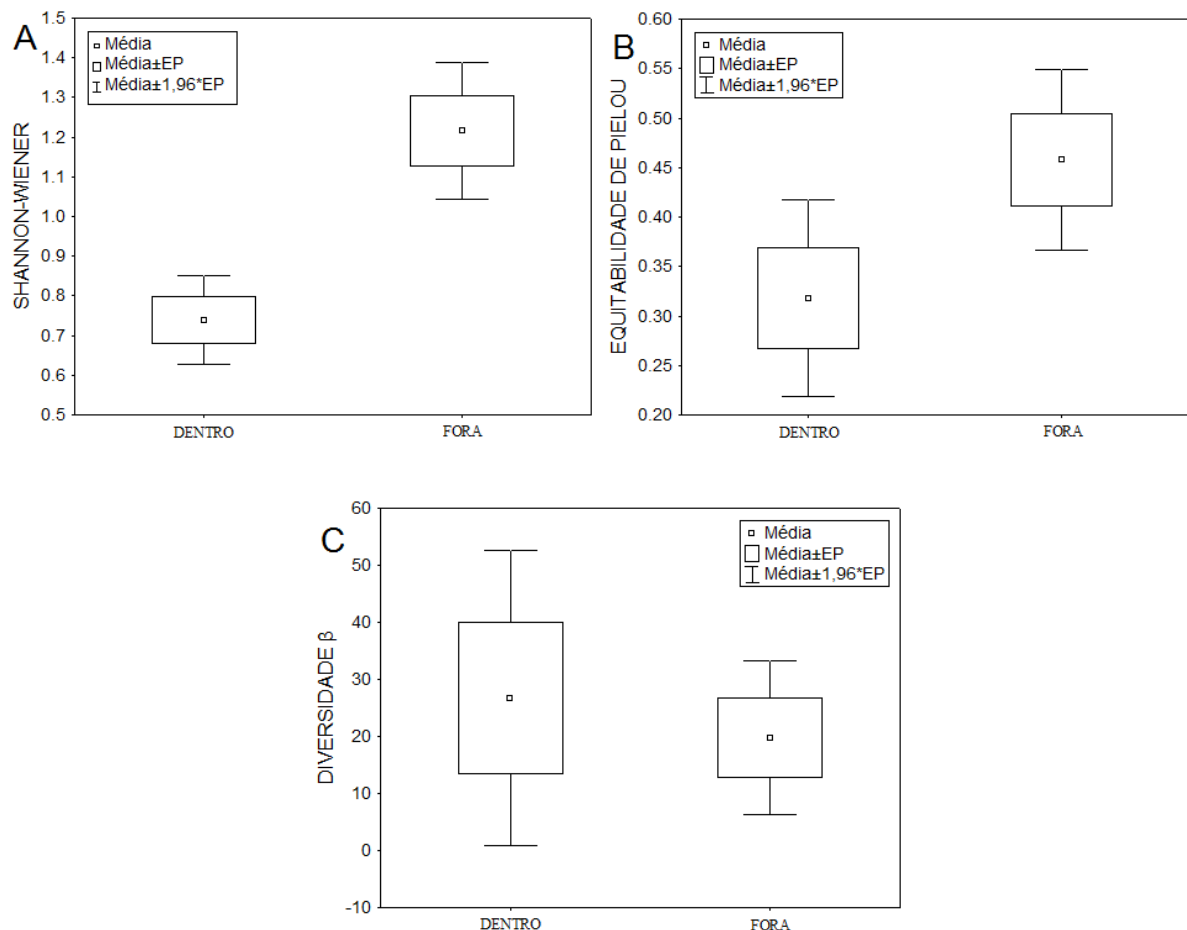


Figura 3. A. Média e erro padrão da diversidade de Shannon-Wiener dos riachos entre dentro e fora do Parque nacional dos Campos Gerais (PNCG). B. Média e erro padrão de equitabilidade de Pielou dos riachos entre dentro e fora do PNCG. C. Média e erro padrão da diversidade β dos riachos entre dentro e fora do PNCG.

A composição da comunidade de fungos diferiu (entre dentro e fora do PNCG) em riqueza de espécies e marginalmente em equitabilidade. Entretanto, não foi possível verificar essas diferenças visualmente por meio da ordenação da análise de coordenadas principais (PCoA) (Figura 4), Permanova: $F_{\text{model}(17,1)}=0,26$, $p=0,77$. Embora a diversidade α e a equitabilidade na microescala tenham sido maiores fora do parque, a diversidade β regional entre riachos foi significativa ($F_{\text{model}(17,1)} = 5,20$; $p = 0,03$) e maior dentro do parque (163,95) do que (88,47). Adicionalmente, a diversidade β entre riachos ($\beta = 126,21$) foi maior que a média dos β de cada riacho ($\beta = 23,45$).

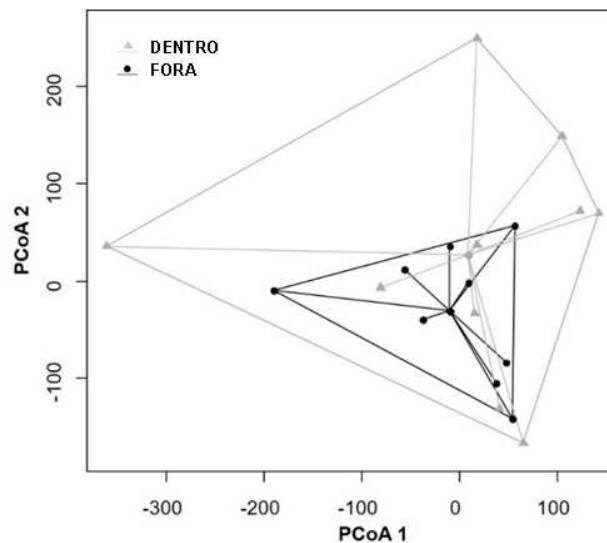


Figura 4. Distâncias médias ao centroide baseadas nas diferenças das comunidades de fungos entre os riachos amostrados. Círculos representam os riachos fora do Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG). Triângulos representam os riachos dentro do PNCG.

2.4 DISCUSSÃO

O número total de *taxa* foi considerado um valor elevado para trabalhos brasileiros de identificação de fungos aquáticos. Em âmbito nacional, foi o mesmo número de *taxa* encontrado por Cruz e Gusmão (2009a) em um bioma diferente. Outros estudos realizados no país e no mundo apresentaram menos espécies (Bärlocher & Rosset, 1981:42 espécies; Akridge & Koehn, 1987: 10 espécies; Crawford et al, 1990: 36 espécies; Chauvet, 1991:54 species; Gessner et al, 1993: 43 espécies; Czezuga & Orłowska, 1997: 33 espécies; Goh & Hyde, 1996: 57 espécies; Gulis, 1999: 41 espécies; Baudoin et al, 2008: 37 espécies) enquanto que alguns têm valores semelhantes (Bärlocher, 2000: 77 espécies). Estudos com fungos ingoldianos no Brasil são escassos e estavam registradas 54 espécies para a Mata Atlântica brasileira, em somente 18 trabalhos, assim, este estudo identificou o maior valor

para este bioma. É altamente provável que esse baixo valor de espécies para o Brasil seja consequência de questões de esforço amostral (Fiuza et al, 2017), que também ocorrem em áreas não temperadas (Jabiol et al, 2013). Este estudo realizou 34 novos registros para o Brasil e 42 novos registros para a Mata Atlântica, uma grande contribuição para a área subtropical nacional. Ambientes notoriamente ricos em espécies, como áreas úmidas (o Pantanal e a planície de inundação do Alto Rio Paraná, por exemplo) não foram amostrados e podem ser *hotspots* de diversidade de fungos (Bärlocher & Boddy, 2016) assim como o PNCG. Portanto, a consideração que “a diversidade de hifomicetos aquáticos é menor em áreas tropicais e subtropicais do que em sistemas temperados” (Graça et al, 2016) pode ser precipitada. A alta dissimilaridade entre riachos dessa pequena área, encontrada por este estudo, evidenciou que o potencial para encontrar novos registros e espécies para o Brasil é muito alto. É importante salientar que a área de estudo está em uma região de latitude intermediária, por isso, alta riqueza é esperada de acordo com Shearer et al (2007) e Jabiol et al (2013).

No conjunto, as espécies não identificadas e a curva de acumulação indicam a necessidade de mais amostragem na área, talvez em riachos mais distantes e no núcleo do parque (principalmente nas partes norte e oeste). A área estudada é abrangida por diferentes fitofisionomias, o que provavelmente muda o aporte de nutrientes e energia (Kominoski et al, 2009). A diversidade β encontrada é muito elevada entre riachos. Isso sugere que a distribuição de hifomicetos ocorre em manchas de *habitat* adequado, que são folhas em decomposição nos leitos de rios. É improvável que somente quarto momentos de amostragem sejam suficientes para alcançar um padrão assintótico. Além da alta diversidade β , a equitabilidade de Pielou foi considerada baixa para quase todos os riachos (exceto para o 10 e o 17), seu valor é fortemente relacionado a alta dominância de *A. longissima* (que também foi dominante na produção de esporos no estudo realizado por Sridhar e Bärlocher (1997)). Esses ambientes têm mostrado incrível variabilidade na equitabilidade (0,15 a 0,73). Isso implica que bancos de folhas (manchas) são grandes determinantes da composição da comunidade de hifomicetos aquáticos e essa comunidade parece apresentar especificidade de *habitat*, o que é inesperado para *taxa* cosmopolitas (Pascual-García et al, 2014), o que reduziria a diversidade β .

Diferentemente do esperado, os índices de diversidade não apresentaram valores maiores para o grupo de riachos de dentro do parque. Assim, a hipótese foi rejeitada. Uma explicação plausível para esse resultado é que as diferenças na qualidade dos aportes de detrito, que compõem os bancos de folhas, entre os dois grupos de riachos poderia estar alterando a diversidade de fungos (Jabiol et al, 2013). Porém, alguns autores têm discutido

que na maioria dos casos os nutrientes dissolvidos desempenham papel mais importante no controle da atividade microbiana e na decomposição do detrito, por fungos aquáticos, do que os nutrientes do detrito (Biasi et al, 2017) e podem aumentar a biomassa fúngica e a produção cumulativa em 3,9 vezes (Gulis & Suberkropp, 2003). Fosfate, nitrato e amônio são negativamente relacionados à riqueza de fungos aquáticos (Pascoal et al, 2005). Por isso, a concentração seis vezes mais de ortofosfato dentro do parque poderia explicar o número mais baixo de espécies presentes nesse grupo de riachos, juntamente com a maior concentração de amônia nos riachos do interior do parque. Não obstante, a concentração de nitrato foi maior fora do parque, mas a diferença entre os grupos é menor quando comparada aos outros nutrientes. Adicionalmente, baixos valores de nitrato aumentam a produção de esporos enquanto altos valores a decrescem (Sridhar & Bärlocher, 1997). Ainda, a condutividade é apontada como um fator que influencia a composição da comunidade de fungos em riachos (Gönczöl et al, 2003), por isso, a evidente diferença dessa variável entre os grupos pode ter um papel importante. A turbulência foi relatada como fator relacionado a capacidade de dispersão de esporos e a estimulação de sua produção (Webster, 1975), dessa forma, a diferença na velocidade pode ser uma variável influenciando as espécies encontradas em cada grupo. Outra possibilidade é uma interação entre a comunidade fúngica e macroinvertebrados bentônicos, que também decompõem material nesses riachos e poderia predação fungos aquáticos. Entretanto, isso é improvável, porque invertebrados aparentemente têm “pouca influência sobre as comunidades de fungos” (Jabiol et al, 2013). De modo geral, essa diferença deve ser enfatizada e estudada em trabalhos futuros.

A alta diversidade β entre riachos (elevada dissimilaridade) indica que para hifomicetos cada riacho pode ser interpretado como um sistema singular, onde suas próprias características influenciam a composição da comunidade e determinam sua distribuição ao longo da área. Microrganismos têm sido interpretados como organismos de distribuição ubíqua e cientistas discutem novas teorias acerca de sua distribuição, como grupo. A ideia clássica "tudo está em todo lugar, mas o ambiente seleciona" (Baas Becking, 1934) está ameaçada porque condições ambientais e a localização geográfica podem influenciar uma comunidade microbiana local (Horner-Devine et al, 2004; Martiny et al, 2006; Soininen, 2012; Heino et al, 2014). Green et al (2004) mostrou que fatores ambientais são determinantes para a distribuição de fungos. Portanto, mesmo que esse estudo não tenha utilizado dados ambientais em análises estatísticas, nós acreditamos que condições ambientais diferentes devem facilitar o crescimento de espécies distintas de fungos.

A perda de espécies é uma das principais consequências do impacto antrópico em ambientes aquáticos, usualmente, espécies sensíveis são extintas localmente ou tem drástica redução de abundância enquanto que espécies tolerantes são favorecidas (McKinney & Lockwood, 1999; Loughheed et al, 2008), conseqüentemente, homogeneizando a comunidade. A maioria dos fungos aquáticos são cosmopolitas (Wood-Eggenschwiler & Bärlocher, 1985; Wong et al, 1998), e muitos são tolerantes à condições adversas, o que aumenta a similaridade da comunidade em condições ambientais específicas (Gulis & Suberkropp, 2002). Apesar de os mais altos valores de riqueza de espécie terem ocorrido em riachos de fora do parque, a diversidade β e a variação em seus valores foram maiores dentro dele, o que indica que um processo de homogeneização biótica na comunidade de fungos dos riachos da área agrícola. Isso foi sustentado pela PCoA, que mostrou que a comunidade de fora do parque pareceu ser mais homogênea do que a comunidade de dentro, os riachos de dentro são mais diversos na composição da comunidade do que os de fora. Assim, apesar dos maiores valores de Shannon para os riachos externos, suas composições são muito similares, basicamente compreendendo as mesmas espécies. De maneira geral, cada riacho apresenta suas próprias especificidades, que são mais determinantes na composição da comunidade de fungos do que a posição do riacho, dentro ou fora do parque.

A frequência da ocorrência de espécies mostrou que houve grande quantidade de espécies raras na região do PNCG. Mesmo assim, dominância também foi marcante, considerando a espécie *A. longissima*. A dominância apresentada por essa espécie, ao contrário do esperado, foi maior em riachos de dentro do parque. Isso sugere que as condições de conservação do parque podem estar diferentes das esperadas para uma UC.

Do ponto de vista da conservação, preservar mais riachos aumenta a chance de atingir proteção para mais espécies e disponibilizar mais *habitats* para diferentes hifomicetos aquáticos. Portanto, as teias tróficas de riachos serão asseguradas pelo processamento da matéria e a transferência de energia realizadas pelos fungos aquáticos, essenciais para a manutenção da qualidade ambiental. Também, serviços ecossistêmicos como regulação da taxa de perda de massa do detrito, liberação de nutrientes inorgânicos, sequestro de íons metálicos, degradação de xenobióticos, aumento da palatabilidade do detrito foliar para invertebrados e a produção de material particulado fino (Krauss et al, 2011) serão garantidos. Uma ação imprescindível deve ser promover um levantamento dos impactos antrópicos que atingem a área. Essa abordagem permitiria aos envolvidos com a conservação do parque focar investimentos em determinadas áreas, que são provavelmente mais alteradas. Uma segunda ação poderia ser a implementação de uma pesquisa ecológica de longa duração, essa

abordagem é decisiva para áreas ameaçadas e a conservação da biodiversidade regional. Outra sugestão de ação prioritária é a elaboração do plano de manejo do parque, que planeje as etapas de desenvolvimento progressivo de pesquisas científicas e educação ambiental. Esse plano poderia ser usado para instigar políticos a atuar em conjunto com metas e prazos bem estabelecidos para transformar o parque em uma efetiva UC. Por fim, esse plano poderia integrar a sociedade, especialmente os moradores próximos ao parque, para que a conservação estivesse associada com a melhoria de vida da população regional.

REFERÊNCIAS

- Akridge RE, Koehn RD. (1987). Amphibious hyphomycetes from the San Marcos River in Texas. *Mycologia* 79:228-233.
- Anderson MJ. (2006). Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics* 62:245–253.
- Anderson MJ, Ellingsen KE, McArdle BH. (2006). Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters* 9:683–693.
- Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR. (2008). *Permanova for primer: guide to software and statistical methods*. Plymouth, Primer-E Ltd.
- Anderson MJ, Walsh DCI. (2013). PERMANOVA, ANOSIM and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: what null hypothesis are you testing? *Ecological Monographs* 83:557-574.
- Baas Becking L. (1934). *Geobiologie of inleiding tot de milieukunde*. Van Stockum & Zoon, The Hague.
- Barbosa FR, Silva SS, Fiuza PO, Gusmão LFP. (2011). Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil, new species and records for *Thozetella*. *Mycotaxon* 115:327-334.
- Bärlocher F. (1985). The role of fungi in the nutrition of stream invertebrates. *Botanical Journal of the Linnean Society* 91:83-94.
- Bärlocher F. (2000). Water-borne conidia of aquatic hyphomycetes: seasonal and yearly patterns in Catamaran Brook, New Brunswick, Canada. *Can. J. B.* 78:157-167.

- Bärlocher F, Boddy L. (2016). Aquatic fungal ecology - how does it differ from terrestrial? *Fungal Ecology* 19:5-13.
- Bärlocher F, Rosset J. (1981). Aquatic hyphomycete spora of two black forest and two Swiss Jura streams. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 76:479-483.
- Baudoin JM, Guérold F, Felten V, Chauvet E, Wagner P, Rousselle P. (2008). Elevated Aluminium concentration in acidified headwater streams lowers aquatic hyphomycete diversity and impairs leaf-litter breakdown. *Microbial Ecology* 56:260-269.
- Berger WH, Parker FL. (1970). Diversity of planktonic Foraminifera in deep-sea sediments. *Science* 168:1345-1347.
- Biasi C, Graça MAS, Santos S, Ferreira V. (2017). Nutrient enrichment in water more than in leaves affects aquatic microbial litter processing. *Oecologia* 184:555-568.
- Brasil. (2006). Decreto de 23 de março de 2006. Cria o Parque Nacional dos Campos Gerais, no Estado do Paraná, e dá outras providências. Publicado no Diário Oficial da União de 24 de março de 2006.
- Brookshire ENJ, Dwire K. (2003). Controls on patterns of coarse organic particle retention in headwater streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 22:17-34.
- Chandrashekar KR, Sridhar KR, Kaveriappa KM. (1991). Aquatic hyphomycetes of a sulphur spring. *Hydrobiologia* 218:151-156.
- Czeczuga B, Orłowska M. (1997). Hyphomycetes fungi in rainwater falling from building roofs. *Mycoscience* 38:447-450.
- Chan SY, GohTK, Hyde KD. (2000). In: Hyde KD, Ho WH, Pointing SB (eds) *Aquatic mycology across the millennium*. Fungal Diversity Press, Hong Kong, pp 89–107.
- Chauvet E. (1991). Aquatic hyphomycete distribution in South-Western France. *Journal of Biogeography* 18:699-706.
- Cornut J, Ferreira V, Gonçalves AL, Chauvet E, Canhoto C. (2015). Fungal alteration of the elemental composition of leaf litter affects shredder feeding activity. *Freshwater Biology* 60:1755-1771.

- Crawford RH, Carpenter SE, Harmon ME. (1990). Communities of filamentous fungi and yeast in decomposing logs of *Pseudotsuga menziesii*. *Mycologia* 82:759-765.
- Cruz ACR, Gusmão LFP. (2009). Fungos conidiais na Caatinga: espécies associadas ao folhedo. *Acta bot. bras.* 23:999-1012.
- Cruz ACR, Gusmão LFP. (2009). Fungos conidiais na Caatinga: espécies lignícolas. *Acta bot. bras.* 23:1133-1144.
- Cruz ACR, Marques MFO, Gusmão LFP. (2007). Fungos anamórficos (Hyphomycetes) da Chapada Diamantina: novos registros para o Estado da Bahia e Brasil. *Acta bot. bras.* 21:847-855.
- Danger M, Gessner M O, Bärlocher F. (2016). Ecological stoichiometry of aquatic fungi: current knowledge and perspectives. *Fungal Ecology* 19:100-111.
- Esteves FA, Gonçalves JFJR. (2011). Etapas do Metabolismo Aquático. In: Esteves F.A. (ed) *Fundamentos de Limnologia*. Interciência, Rio de Janeiro, 3ª ed, pp.
- Fellows CS, Valett HM, Dahm CN, Mulholland PJ, Thomas SA. (2006). Coupling nutrient uptake and energy flow in headwater streams. *Ecosystems* 9:788-804.
- Ferreira V, Chauvet E. (2012). Changes in dominance among species in aquatic hyphomycete assemblages do not affect litter decomposition rates. *Aquat. Microb. Ecol.* 66:1-11.
- Fiuza PO, Gusmão LFP (2013). Ingoldian fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. *Mycosphere* 4:559-565.
- Fiuza PO, Ottoni-Boldrini BMP, Monteiro JS, Catena NR, Hamada N, Gusmão LFP. (2015). First records of Ingoldian fungi from the Brazilian Amazon. *Braz. J. Bot.* 38: 615-621.
- Fiuza PO, Catillo-Pérez T, Gulis V, Gusmão LFP. (2017). Ingoldian fungi of Brazil: some new records and a review including a checklist and a key. *Phytotaxa* 306:171-200.
- Gessner MO, Chauvet E. (1994). Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology* 75:1807-1817.
- Gessner MO, Thomas M, Jean-Louis A-M, Chauvet E. (1993). Stable successional patterns of aquatic hyphomycetes on leaves decaying in a summer cool stream. *Mycol. Res.* 97:163-172.

- Gibbons SM, Jones E, Bearquiver A, Blackwolf F, Roundstone W, Scott N, et al. (2014). Human and environmental impacts on river sediment microbial communities. *Plos One* 9:1-9.
- Goh TK, Hyde KD. (1996). Biodiversity of freshwater fungi. *Journal of Industrial Microbiology* 17:328-345.
- Gönczöl J, Csontos P, Révay A. (2003). Catchment scale patterns of aquatic hyphomycetes. The role of physicochemical variables and substrate composition in structuring conidial communities. *Arch. Hydrobiol.* 157:249-266.
- Gönczöl J, Révay A. (2002). Treehole fungal communities: aquatic, aero-aquatic and dematiaceous hyphomycetes. *Fungal Diversity* 12:19-34.
- Graça MAS, Bärlocher F, Gessner MO. (2005). *Methods to study litter decomposition: a practical guide.* Springer, Berlin.
- Graça MAS, Hyde K, Chauvet E. (2016). Aquatic hyphomycetes and litter decomposition in tropical - subtropical low order streams. *Fungal Ecology* 19:182-189.
- Green JL, Holmes AJ, Westoby M, Oliver I, Briscoe D, Dangerfield M, et al. (2004). Spatial scaling of microbial eukaryote diversity. *Nature* 432:747-750.
- Gulis V. (1999). Preliminary list of aquatic hyphomycetes from central Belarus. *Mycotaxon* 72:227-230.
- Gulis V, Suberkropp K. (2003). Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshw. Biol.* 48:123-134.
- Heathwaite AL. (2010). Multiple stressors on water availability at global to catchment scales: understanding human impact on nutrient cycles to protect water quality and water availability in the long term. *Freshwater Biology* 55:241-257.
- Heino J, Tolkkinen M, Pirttilä AM, Aisala H, Mykrä H. (2014). Microbial diversity and community-environment relationships in boreal streams. *Journal of Biogeography* 41:2234-2244.
- Horner-Devine MC, Lage M, Hughes JB, Bohannan BJM. (2004). A taxa-area relationship for bacteria. *Nature* 432:750-753.

- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (1991). Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. Por Veloso, HP et al. Rio de Janeiro, IBGE. 124p
- Jabiol J, Bruder A, Gessner MO, Makkonen M, McKie BG, Peeters ETHM, et al. (2013). Diversity patterns of leaf-associated aquatic hyphomycetes along a broad latitudinal gradient. *Fungal Ecology* 6:439-448.
- Koleff P, Gaston KJ, Lennon JJ. (2003). Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology* 72:367-382.
- Krauss GJ, Solé M, Krauss G, Schlosser D, Wesenberg D, Bärlocher F. (2011). Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS Microbiology Review* 35:620-651.
- Lloyd H, Zar JH, Karr JR. (1968). On the calculation of information-theoretical measures of diversity. *Am. Mid. Nat* 79:257-272.
- Lougheed VL, McIntosh MD, Christian A, Parker CA, Stevenson RJ. (2008). Wetland degradation leads to homogenization of the biota at local and landscape scales. *Freshwater Biology* 53:2402–2413.
- Martiny JBH, Bohannan BJM, Brown JH, Colwell RK, Fuhrman JA, Green JL, et al. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature* 4:102-112.
- Mathuriau C, Chauvet E. (2002). Breakdown of leaf litter in a neotropical stream. *Journal of the North American Benthological Society* 21:384–396.
- Mayers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- McKinney ML, Lockwood JL. (1999). Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology & Evolution* 14:450–453.
- Medeiros AO, Pascoal C, Graça MAS. (2009). Diversity and activity of aquatic fungi under low oxygen conditions. *Freshwater Biology* 54:142-149.
- Morris EK, Caruso T, Buscot F, Fischer M, Hancock C, Maier, TS, et al. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology Evolution* 4:3514–3524.

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, et al. (2017). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.4-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Oliveira EA. (2012). O Parque Nacional dos Campos Gerais: processo de criação, caracterização ambiental e proposta de priorização de áreas para regularização fundiária. Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. 297 p.

Paraná – Governo do Estado. (2004). Plano de manejo do Parque Estadual de Vila Velha. Gobbi EF, et al (coordenação geral). Curitiba, Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Instituto Ambiental do Paraná, Diretoria de Biodiversidade e Áreas Protegidas. 5 Encartes mais Anexos

Pascoal C, Marvanová L, Cássio F. (2005). Aquatic hyphomycete diversity in streams of Northwest Portugal. *Fungal Diversity* 19:109-128.

Pascual-García A, Tamames J, Bastolla U. (2014). Bacteria dialog with Santa Rosalia: are aggregations of cosmopolitan bacteria mainly explained by habitat filtering or by ecological interactions? *BMC Microbiology* 14:284-299.

Pattee E, Chergui H. (1995). The application of habitat templates and traits to hyphomycete fungi in a mid-European river system. *Freshwater Biology* 33:525–539.

Pielou EC. (1966). The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13:131-144.

R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.r-project.org/>.

Raviraja NS, Sridhar KR, Bärlocher F. (1998). Breakdown of *Ficus* and *Eucalyptus* leaves in an organically polluted river in India: fungal diversity and ecological functions. *Freshwater Biology* 39:537-545.

Shearer CA, Descals E, Kohlmeyer B, Kohlmeyer J, Marvanová L, Padgett D, et al. (2007). Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodivers. Conserv.* 16:49-67.

Soininen J. (2012). Macroecology of unicellular organisms - patterns and processes. *Environmental Microbiology Reports* 4:10-22.

- Sridhar KR, Bärlocher F. (1997). Water chemistry and sporulation by aquatic hyphomycetes. *Mycol. Res.* 101:591-596.
- StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.
- Suberkropp K, Chauvet E. (1995). Regulation of leaf breakdown by fungi in streams: influences of water chemistry. *Ecology* 76:1433-1445.
- Tank JL, Rosi-Marshall EJ, Griffiths NA, Entekin SA, Stephen ML. (2010). A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 29:118-146.
- Tant CJ, Rosemond AD, Mehring AS, Kuehn KA, Davis JM. (2015). The role of aquatic fungi in transformations of organic matter mediated by nutrients. *Freshwater Biology* 60:1354-1363.
- The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-2. Available in: www.iucnredlist.org. Accession: 12 Oct 2016.
- Tuomisto H. (2010). A diversity of beta diversities: straightening up a concept gone awry. Part 1. Defining beta diversity as a function of alpha and gamma diversity. *Ecography* 33:2-22.
- Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE. (1980). The river continuum concept. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science* 37:130-137.
- Webster J. (1975). Further studies of sporulation of aquatic hyphomycetes in relation to aeration. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64:119-127.
- Whittaker RH. (1960). Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs*, 30:280-338.
- Wong MKM, Goh T-K, Hodgkiss IJ, Hyde KD, Ranghoo VM, Tsui CKM, et al. (1998). Role of fungi in freshwater ecosystems. *Biodiversity and Conservation* 7:1187-1206.
- Wood-Eggenschwiler S, Bärlocher F. (1985). Geographical distribution of Ingoldian fungi. *Vehr. Internat. Verein. Limnol.* 22:2780-2785.

3 PAPEL DA MICROESCALA E DA MACROESCALA NA COMPOSIÇÃO DE FUNGOS INGOLDIANOS DE RIACHOS SUBTROPICAIS

RESUMO

Fungos aquáticos são imprescindíveis para a manutenção dos fluxos de material e energia e para os serviços ecossistêmicos de riachos. Biólogos têm demonstrado que essa comunidade depende de variáveis ambientais, porém, a escala principal que determina sua riqueza e abundância é incerta. Assim, o objetivo desse trabalho é avaliar qual escala foi mais determinante. Foram amostradas variáveis ambientais da água e folhas em decomposição do leito de nove riachos de cabeceira no Sul do Brasil. As análises evidenciaram a escala principal e as variáveis que influenciaram a comunidade. A macroescala foi predominante, o contrário do esperado pela hipótese. Das variáveis selecionadas, amônia e condutividade foram as mais fortes nessa escala. A maioria dos estudos com microrganismos apresentou uma prevalência da microescala, mas os resultados deste estudo indicam o padrão oposto. Isso indica que cada riacho deve ser considerado um sistema único e que suas características definem mais essa comunidade do que variáveis específicas medidas nos bancos de folhas, o que contrasta com a maioria dos estudos com microbiota. Ações de conservação devem ser planejadas considerando o riacho como um todo e considerando o potencial que impactos antrópicos podem ter para mudar as variáveis ambientais por toda uma bacia hidrográfica.

3.1 INTRODUÇÃO

Biólogos têm investigado a distribuição da vida na Terra por séculos (Darwin, 1859; Gulick, 1872; Pianka et al, 1966; Horner-Devine et al, 2004). Escalas espaciais e suas influências na composição de comunidades biológicas são uma área de estudo mais recente. Para riqueza de espécies de micro e macrorganismos, alguns autores têm argumentado que “a relação taxa-área parece ser uma lei universal” (Horner-Devine et al, 2004). Porém, quando considerado como fatores ambientais e processos espaciais estruturam a biodiversidade, é possível notar que as pesquisas têm sido feitas mais frequentemente com macro do que com microrganismos (Lindström & Langenheder, 2012). De maneira geral, a hipótese de Baas-Becking para a distribuição de microrganismos "tudo está em todo lugar – o ambiente seleciona" (Baas-Becking, 1934; Martiny et al, 2006) está desafiada.

Fungos aquáticos (também conhecidos como fungos ingoldianos e hifomicetos aquáticos) são um grupo de microrganismos que tem sido estudado nas últimas décadas e

trabalhos científicos apontaram que é um grupo imprescindível para ecossistemas aquáticos (Krauss et al, 2011). Tão incerto quanto o gradient latitudinal, a escala preponderante que determina a composição de fungos em pequenas áreas permanece um desafio. Wood-Eggenschwiler e Bärlocher (1985) pensaram que barreiras geográficas não restringiam fungos aquáticos, por isso, sua distribuição seria determinada somente por fatores ambientais. Entretanto, estudos mais recentes provaram que a localização geográfica pode, também, afetar a composição da microbiota local (Horner-Devine et al, 2004; Martiny et al, 2006; Hájek et al, 2011; Lindström & Langenheder, 2012; Soininen, 2012). Mundialmente, a temperatura e seus impactos na vegetação são os principais fatores determinantes dos padrões de distribuição de fungos aquáticos (Wood-Eggenschwiler & Bärlocher,1985). Mas localmente, esses autores acreditam que características químicas da água explicam a diferença entre os fungos de riachos próximos, por exemplo. A importância relativa de fatores locais e regionais depende da extensão da área de estudo (Heino et al, 2011). Assim, em uma pequena área é provável que as variáveis medidas diretamente no folhijo no fundo dos corpos aquáticos seriam mais determinantes do que aqueles fatores menos variáveis medidos no riacho como um todo.

Fungos aquáticos são vitais para ambientes aquáticos, como riachos. Esses ecossistemas são predominantemente heterotróficos e dependem de entrada de material alóctone vindo da vegetação marginal, o que determina a composição das espécies do ecossistema até certo ponto (Mathuriau & Chauvet, 2002). As espécies desses ecossistemas são responsáveis pelo processamento de matéria orgânica e inorgânica, principal fonte energética para trocas na teia trófica presente nesse tipo de ambiente (Vannote et al, 1980; Abelho, 2001). Fungos aquáticos intermedeiam a relação entre estruturas vegetais (folhas e galhos) e invertebrados detritívoros (Bärlocher & Boddy, 2016). Eles incrementam a qualidade nutricional do detrito foliar (Kaushik & Hynes, 1971) e degradam polímeros vegetais (celulose, hemicelulose) (Suberkropp et al, 1976), por isso, aumentam a palatabilidade para invertebrados (Canhoto & Graça, 2008). A produção de material particulado fino provém alimento para invertebrados filtradores (Suberkropp & Klug, 1980). Pascoal & Cássio (2004) demonstraram que eles podem ser responsáveis por mais de 90% da produção microbiana em riachos. Não somente a produção, esses fungos também dominam a decomposição em termos de biomassa e degradação de substrato enzimático (Krauss et al, 2011). Outras funções ecossistêmicas de fungos de água doce são a regulação da taxa de perda de massa foliar, liberação de nutrientes inorgânicos, sequestro de íons metálicos e degradação de xenobióticos (Krauss et al, 2011).

Cientistas têm demonstrado que variáveis ambientais estão relacionadas com a composição da comunidade fúngica (Krauss et al, 2011). Há muitos trabalhos publicados sobre a influência da vegetação ripária sobre fungos aquáticos (Fabre, 1966; Bärlocher & Graça, 2002; Laitung & Chauvet, 2005; Lecerf et al, 2005; Ferreira et al, 2006). Porém, variáveis abióticas podem desempenhar papel mais importante do que a vegetação ripária na estruturação das comunidades de hifomicetos (Gönczöl et al, 2003). Apesar da importância da qualidade do detrito adicionado pela vegetação que compõe o detrito foliar, na maioria dos casos nutrientes dissolvidos desempenham papel mais importante no controle da atividade microbiana e a decomposição de detrito do que os nutrientes do próprio detrito (Biasi et al, 2017). Por exemplo, dependendo da concentração, fosfato, nitrato e amônio podem ser negativamente correlacionados à riqueza de fungos aquáticos (Pascoal et al, 2005). Ainda, pequenos incrementos de nitrato aumentam a produção de esporos enquanto altos níveis desse nutriente a diminuem (Sridhar & Bärlocher, 1997). Outros estudos avaliaram nitrogênio de suas formas (Raviraja et al, 1998; Sridhar et al, 2009) e fósforo e suas formas (Raviraja et al, 1998; Sridhar et al, 2009) em condições de água doce e demonstraram correlações positivas e negativas com a composição de fungos.

Além dos estudos mais predominantes realizados com nutrientes, que influenciam a diversidade fúngica (Jabiol et al, 2013), autores têm estudado muitos outros fatores que podem influenciar a diversidade e composição de fungos aquáticos (Krauss et al, 2011). Como temperatura (Koske & Duncan, 1974; Chandrashekar et al, 1991; Sridhar & Bärlocher, 1997; Chauvet & Suberkropp, 1998; Raviraja et al, 1998; Bärlocher et al, 2008; Dang et al, 2009), water velocity (Webster, 1975), altitude (Gönczöl et al, 2003), profundidade (Hao et al, 2005; Sudheep & Sridhar, 2012), pH (Bärlocher, 1987; Chandrashekar et al, 1991; Sridhar & Bärlocher, 1997; Raviraja et al, 1998; Baudoin et al, 2008), condutividade (Sridhar & Bärlocher, 1997; Raviraja et al, 1998; Gönczöl et al, 2003), turbidez (Bärlocher et al, 2010; Sanpera-Calbet et al, 2012) e oxigênio dissolvido (Chandrashekar et al, 1991; Medeiros et al, 2009). Mas, essas variáveis não foram estudadas em conjunto. A maioria delas não são estacionárias, seus valores mudam ao longo do riacho e do tempo. As áreas de decomposição das folhas são um exemplo onde essas variáveis poderiam ser diferentes de um valor geral amostrado na correnteza no meio do riacho. Essas variáveis ambientais ocorrem em diferentes escalas e é importante saber como elas afetam a composição de fungos aquáticos quando são todas consideradas. Assim, separar o valor de microescala do valor de macroescala é importante, especialmente considerando que a escala e os processos de microrganismos são associados ao seus tamanhos corporais (May, 1988; Martiny et al, 2006).

Então, impactos antrópicos, como eutrofização, poluição, mudança climática e uso da terra, têm o potencial para afetar a diversidade e funções ecológicas de fungos aquáticos (Bärlocher, 2016). O conhecimento dos fatores predominantes que determinam a composição da comunidade é essencial para que ações de manejo possam ser planejadas e executadas. Considerando a importância e funções de fungos nos ambientes aquáticos, nosso objetivo foi testar qual escala e variáveis são predominantes na determinação da composição dessa comunidade. A hipótese foi que a microescala (condições ambientais locais, dos bancos de folhas) é mais determinante do que a macroescala (condições ambientais regionais, do riacho) em riachos de cabeceira. Esses resultados nos permitirão identificar áreas prioritárias para a conservação e enriquecer ações que objetivem reduzir a homogeneização de *habitats*.

3.2 MATERIAIS E MÉTODO

3.2.1 Área de estudo

Nove riachos de cabeceira na região do Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG) (Figura 5). Este parque tem área de 21 298,91 ha e é localizado na macrorregião Sul do Brasil (BRASIL, 2006), uma área subtropical (latitude média). Esses ecossistemas lóticos estão inseridos na bacia hidrográfica do Rio Ribeira. O bioma é um *hotspot* de biodiversidade, a Mata Atlântica, um dos ambientes mais ricos do mundo em espécies endêmicas (Myers et al, 2000). O clima é subtropical úmido com verões amenos, tipo climático Cfb de Köppen (Paraná, 2004; Alvares et al., 2013). A temperatura média anual foi de 17,8 °C e a precipitação total anual média foi de 1554 mm no período de registro entre 1954 e 2001 (Estação Meteorológica de Ponta Grossa do Instituto Agrônomo do Paraná). A região é enquadrada fitogeograficamente como Floresta Ombrófila Mista, com remanescentes de floresta com araucárias e campos sulinos (IBGE, 1991). O parque foi criado no intuito de minimizar a forte exploração e suas consequências de degradação sobre as vegetações porque aos dados sobre o estado delas eram “extremamente desfavoráveis à conservação” (Oliveira, 2012).

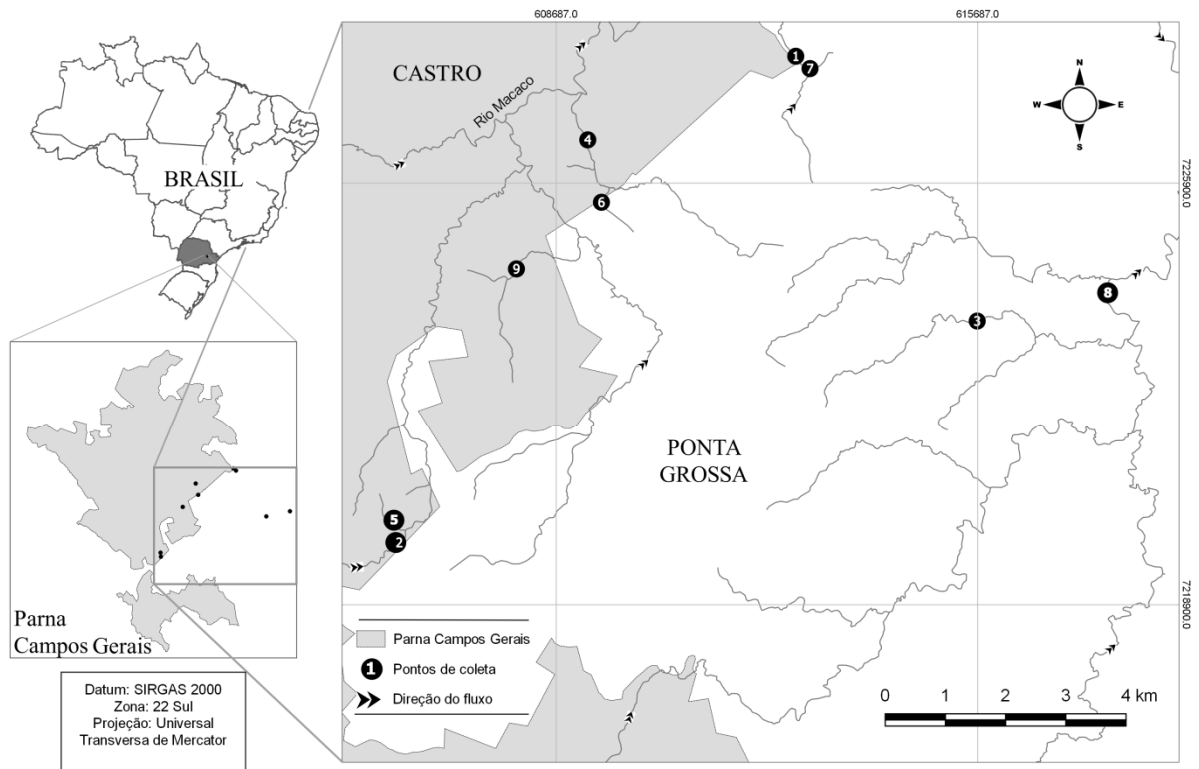


Figura 5. Mapa dos riachos amostrados. Áreas cinzas representam o Parque Nacional dos Campos Gerais (PNCG). Círculos pretos representam os pontos de amostragem.

3.2.2 Coleta e identificação de fungos

Cada riacho foi amostrado três vezes (outubro de 2016 e janeiro e abril de 2017). Em cada riacho foi determinado um trecho de 30 m, onde foi coletado o detrito foliar de cinco bancos de folhas (selecionados aleatoriamente) no leito do riacho. Foram coletadas cinco folhas de cada banco de folhas, que foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em gelo até posterior processamento em laboratório. No laboratório, cinco discos foram extraídos das folhas (um disco por folha, com cortador de cortiça - 10 mm) de cada amostra de banco de folhas para esporulação fúngica. Inicialmente, os cinco discos de cada amostra foram depositados em erlenmeyers com 50 mL de água destilada e esterilizada, posteriormente foram mantidas em agitador orbital (90 rpm or 1.5 Hz) sob temperatura controlada (18°C) por 48 h para indução de esporos. A porção sobrenadante foi transferida para tubos Falcon e 2 mL de formalina (37%) e 2 mL de Triton X-100 (5%) foram adicionados para a fixação dos esporos. O número total de amostras foi 135 (cinco amostras por riacho por mês). Para a identificação, foram filtrados 10 mL da suspensão de esporos utilizando uma membrana de

nitrate celulose (porosidade: 5 μm) com auxílio de uma bomba a vácuo. Cada um dessas membranas foi corado com azul algodão (corante ácido que se adere à quitina presente na parede celular de fungos), e, a membrana com os esporos filtrados foram observados em microscópio (400x). Os esporos foram identificados ao nível de espécie com a utilização de chaves de identificação (Goh & Hyde, 1996; Chan et al, 2000; Gönczöl & Révay, 2002; Cruz et al, 2007; Cruz & Gusmão, 2009a; Cruz & Gusmão, 2009b; Barbosa et al, 2011; Fiuza & Gusmão, 2013; Fiuza et al, 2015). A riqueza de espécies de hifomicetos aquáticos foi o número de espécies por amostra.

3.2.3 Variáveis ambientais

Oxigênio dissolvido (OD) (mgL^{-1}) e temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$) foram determinados com oxímetro digital portátil (YSI[®] 550A). Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) e pH foram mensurados com potenciômetros digitais portáteis (Digimed[®]), e turbidez (NTU) foi medida com turbidímetro digital portátil (LaMotte[®]). Profundidade do banco de folhas (cm) foi medida com uma régua graduada. Velocidade da água (m/s) foi aferida com fluxômetro (General Oceanics[®]). Essas variáveis foram mensuradas em triplicata. Área de drenagem da bacia de cada riacho (km^2) foi medida utilizando técnicas de geoprocessamento no programa Quantum Gis (QGis). Análises de nutrientes (ortofosfato; nitrato; amônia) e do material particulado em suspensão (MPS) foram realizadas no Laboratório de Limnologia Básica da Universidade Estadual de Maringá. Algumas das variáveis foram as mesmas para ambas escalas (temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, pH), mas foram medidas em escalas diferentes. Algumas (microescala) foram mensuradas nos bancos de folhas dos quais as amostras foram feitas e outras (macroescala) foram mensuradas em um ponto do riacho. Os coeficientes de variação das variáveis tanto para a micro quanto para a macroescala foram calculados (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficiente de variação (%) para as variáveis de microescala (CVmicro): temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (OD), condutividade (Cond.), profundidade (Prof.), velocidade (Vel.), pH e turbidez (Turb.); e para as variáveis de macroescala (CVmacro): temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (OD), condutividade (Cond.), nitrato, amônia, ortofosfato (Ortof.), pH, área e material particulado em suspensão (MPS).

Variáveis	$^{\circ}\text{C}$	OD	Cond.	Prof.	Vel.	PH	Turb.		
CVmicro	0,237	2,907	2,683	58,914	116,589	1,631	53,674		
Variáveis	$^{\circ}\text{C}$	OD	Cond.	Nitrato	Amônia	PH	Ortof.	Área	MPS
CVmacro	9,727	14,357	42,438	17,268	48,629	19,795	40,751	9,623	95,366

3.2.4 Análise de dados

Para verificar a importância das escalas na determinação da composição da comunidade de fungos, duas análises de redundância (RDAs) (Rao, 1964; Legendre & Legendre, 1998) foram calculadas para os três meses de amostragem na mesma matriz. Primeiro, uma RDA comparando a matriz biótica com cinco linhas por riacho (riqueza de espécies e abundância de conídios (esporos)) com a matriz abiótica (variáveis ambientais) da microescala (amostradas nos mesmos cinco bancos de folhas dos quais foram coletadas as amostras de fungos). Depois, uma segunda RDA com a macroescala (amostrada em um ponto do trecho do riacho, como uma variável do riacho) e com uma matriz biótica de uma linha por riacho (média da riqueza e abundância dos cinco bancos de um riacho). A porcentagem de explicação foi usada para definir a escala mais importante. A seleção de Blanchet et al (2008) foi usada para ambas escalas, por isso, foi possível estabelecer os fatores ambientais determinantes para essa comunidade em cada escala. Entretanto, para testar a relação entre cada variável biótica e as variáveis abióticas separadamente, foi realizada uma seleção de Blanchet para uma matriz de abundância (Tabelas 2 e 4) e para uma matriz de riqueza (presença ausência). As RDA foram calculadas usando o pacote *vegan*, com as funções *decostand* para padronizar valores abióticos e *log* para valores bióticos (Oksanen et al, 2017) e as seleções de Blanchet foram calculadas usando *packfor* (Dray et al, 2013) no ambiente R (R Core Team, 2017), foi considerado $p < 0,05$ para significância estatística.

Coefficientes de correlação de Pearson foram calculados entre as variáveis selecionadas (Blanchet) e abundância e riqueza para cada escala. Eles foram realizados com o objetivo de verificar como as variáveis selecionadas se relacionam (positivo ou negativamente) com a riqueza de espécies e abundância de conídios. Para esse propósito, usamos os gradientes ambientais reais e assim avaliamos como cada variável influenciou os atributos da comunidade de fungos. Os coeficientes foram realizados no *software* Statistica 8.0 (Statsoft, 2007).

3.3 RESULTADOS

Foram identificados 62 táxons nos nove riachos nos três meses de amostragem. Em outubro o maior número de táxons foi observado. A RDA da microescala foi significativa ($F = 4,160$ e $p = 0,001$) e as variáveis ambientais locais explicaram 19% da variação da composição fúngica.

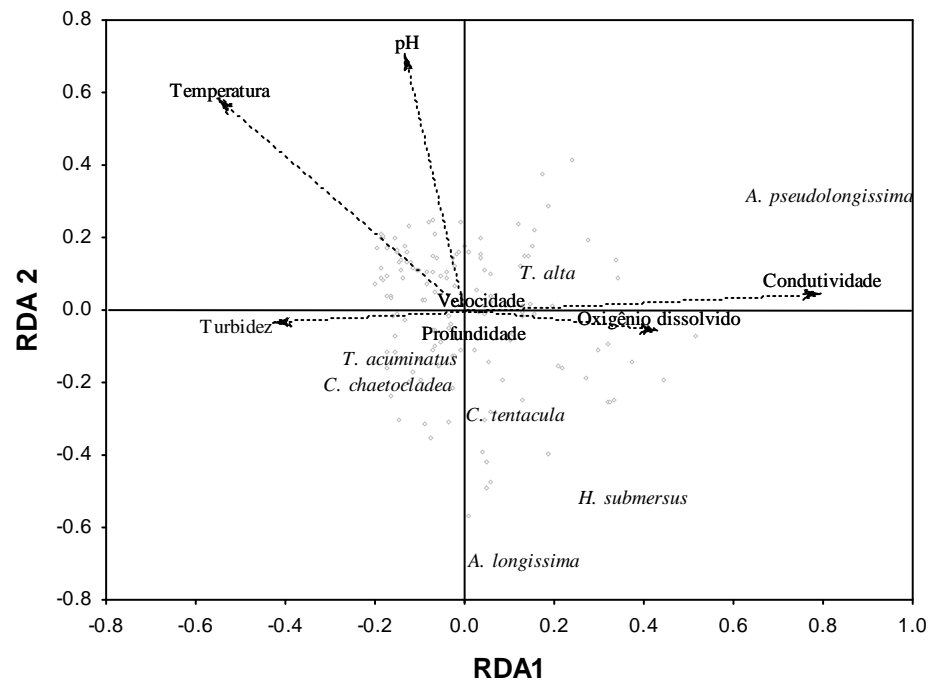


Figura 6. Análise de redundância (RDA) das variáveis locais e suas relações com a composição da comunidade de fungos aquáticos.

De acordo com a seleção de Blanchet, temperatura, pH, condutividade e turbidez foram as variáveis selecionadas responsáveis pelo agrupamento da riqueza na microescala (Tabela 4). Turbidez foi a variável ambiental que mais explicou (5,7%) a riqueza de espécies, na microescala. Condutividade, turbidez, pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram as variáveis selecionadas responsáveis pelo agrupamento dos dados de abundância na microescala (Tabela 4); oxigênio dissolvido foi a variável ambiental que mais explicou (14%) a abundância de conídios, localmente.

Tabela 4. Variáveis de microescala selecionadas pela seleção de Blanchet (2008) para riqueza de espécies e abundância de conídios. E, coeficiente de correlação de Pearson.

Riqueza

Variáveis selecionadas	R ² ajustado	F	P valor	R de Pearson
Temperatura (°C)	0,022	4,075	0,001	-0,3196
PH	0,036	2,878	0,001	-0,3200
Condutividade (μS cm ⁻¹)	0,046	2,388	0,002	0,0354
Turbidez (NTU)	0,057	2,555	0,005	-0,1086

Abundância

Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	0,063	10,062	0,001	0,3221
Turbidez (NTU)	0,099	6,311	0,001	-0,0729
PH	0,123	4,493	0,003	-0,1638
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	0,132	2,408	0,035	-0,2459
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	0,144	2,896	0,018	0,1000

A RDA da macroescala foi significativa ($F= 1,6208$ e $p= 0,023$) e as variáveis regionais explicaram 46% da variação da composição de fungos.

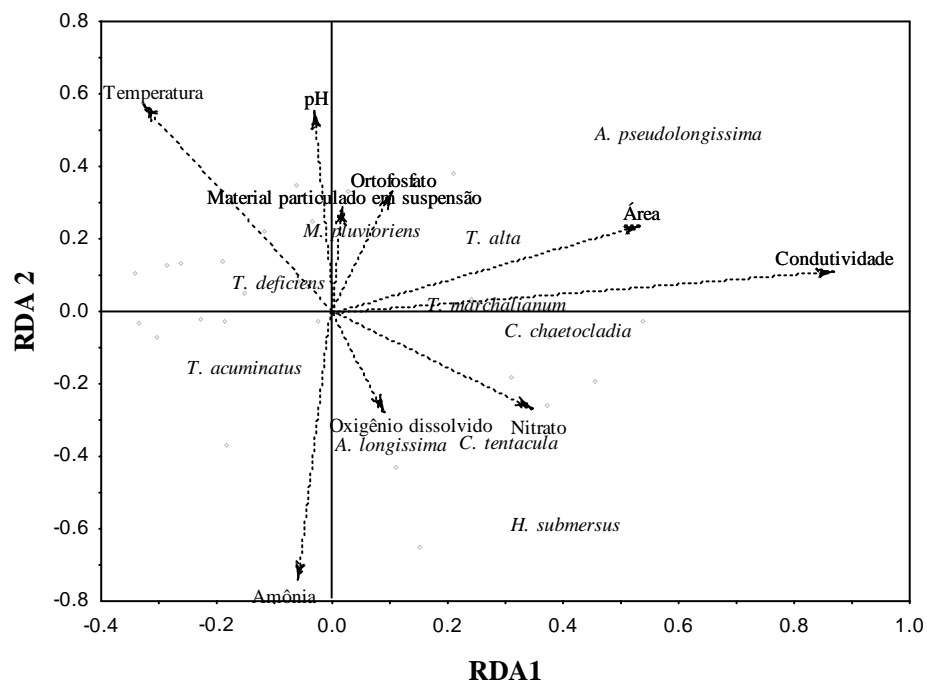


Figura 7. Análise de redundância (RDA) de variáveis regionais e suas relações com a composição da comunidade de fungos aquáticos.

A seleção de Blanchet selecionou temperatura, nitrito e condutividade como as variáveis mais importantes que explicam as variações de riqueza na macroescala (Tabela 5). Condutividade foi a variável ambiental que mais explicou (8,7%) a riqueza de espécies. Condutividade e amônia foram as variáveis mais importantes que explicaram as variações da abundância na macroescala (Tabela 5). Amônia foi a variável ambiental que mais explicou (19%) a abundância de conídios, na macroescala.

Tabela 5. Variáveis regionais selecionadas pela seleção de Blanchet (2008) para riqueza de espécies e abundância de conídios. E, coeficiente de correlação de Pearson.

Riqueza				
Variáveis selecionadas	R ² ajustado	F	P valor	R de Pearson
Temperatura (°C)	0,044	2,211	0,002	-0,4880
Nitrato (NO ₃ - µg L ⁻¹)	0,067	1,599	0,023	0,1758
Condutividade (µS cm ⁻¹)	0,087	1,532	0,031	-0,1586
Abundância				
Condutividade (µS cm ⁻¹)	0,137	5,114	0,005	0,6965
Amônia (NH ₃ ; µg L ⁻¹)	0,186	2,518	0,033	-0,0304

De acordo com os coeficientes de correlação de Pearson, turbidez, pH e temperatura foram negativamente relacionados com ambas riqueza e abundância de fungos ingoldianos, na microescala. Enquanto que, condutividade foi positivamente relacionada a ambas riqueza e abundância e oxigênio dissolvido positivamente relacionado a abundância. Na macroescala, a condutividade foi positivamente relacionada com a abundância de conídios e negativamente relacionada com a riqueza de espécies. Amônia apresentou a tendência oposta e foi negativamente relacionada a abundância. Enquanto que o nitrato foi positivamente relacionado a riqueza, na macroescala. É importante notar que a condutividade e a temperatura foram as únicas variáveis selecionadas nas duas escalas.

3.4 DISCUSSÃO

A percentagem de explicação da macroescala foi maior do que a microescala, por isso, essa escala pode ser considerada a mais predominante na determinação da composição de fungos aquáticos em riachos subtropicais. Assim, a hipótese foi rejeitada. Isso é consoante com a ideia de que cada riacho é um sistema singular, com suas características determinando a composição da comunidade. Em síntese, não se deve fixar um conjunto ideal de parâmetros para que um riacho o possua, mas sim interpretar cada sistema aquático como uma unidade e desenvolver abordagens específicas de conservação. Intrigantemente, variáveis ambientais do riacho foram mais determinantes do que aquelas medidas nos bancos de folhas no leito de cada riacho. Quando se considera que a maioria das variáveis foram as mesmas mas mensuradas em diferentes escalas, a expectativa é que aquelas medidas exatamente nos bancos de folhas seriam mais relacionadas aos fungos específicos daquele banco, porém, isso

não foi encontrado. A predominância da macroescala indica que ações de conservação devem ser focadas em características do riacho como um todo.

Por um lado, a microescala apresentou um número maior de variáveis significativas, mas com percentagem de explicação menor. Por outro lado, com uma percentagem de explicação maior e um número maior de variáveis analisadas (na matriz) na RDA, a macroescala apresentou três variáveis para riqueza e somente duas para abundância. Isso significa que menos variáveis e da macroescala determinaram a composição de fungos. A escala mais predominante tem influência de valores de nutrientes, relatados como fortes determinantes da atividade de fungos ingoldianos (Pascoal & Cássio, 2004; Heino et al, 2014). Apesar de sua importância, para essa comunidade de fungos aquáticos, a seleção de Blanchet selecionou somente amônia como um nutriente significativo para abundância e nitrato para riqueza, na macroescala. Talvez fósforo estivesse em tais concentrações em que não foi nem um nutriente limitante e nem tóxico para as comunidades de fungos dos riachos. Fósforo e nitrogênio também não exibiram padrão com esporulação em outro estudo (Sridhar & Bärlocher, 1997), portanto, parcialmente diferente dos resultados obtidos.

As variáveis selecionadas pelo método de Blanchet foram estudadas separadamente em diversos trabalhos. Temperatura por Chandrashekar et al (1991), que foi correlacionada negativamente a diversidade de fungos, mesmo resultado deste estudo. Sridhar e Bärlocher (1997) encontraram uma correlação entre temperatura e a abundância de conídios, similar a este estudo. Chauvet e Suberkropp (1998) encontraram que ela também está relacionada a taxa de esporulação e pode inibir o crescimento quando alta (Koske & Duncan, 1974; Dang et al, 2009); amônio por Pascoal et al (2005), negativamente relacionado a riqueza de fungos aquáticos, o que diferiu dos resultados deste estudo, no qual a amônia não se relacionou com a riqueza do grupo, mas foi negativamente relacionada a abundância de conídios. Considerando somente as variáveis químicas, o pH foi a mais importante variável na microescala (Baudoin et al, 2008), similar ao que Heino et al (2014) encontraram. Baudoin et al (2008) encontraram uma relação forte entre riqueza de fungos aquáticos e pH, sendo baixa riqueza quando em águas ácidas. Bärlocher (1987) encontrou que o pH é negativamente relacionado a riqueza de fungos, também encontrado neste estudo. Bärlocher e Rosset (1981) compararam os seus resultados com outros estudos e encontraram uma curva unimodal que explicou 51% da variação, e concluíram que o número de espécies de fungos é em função do pH, o que está em concordância com os resultados deste estudo, considerando que os riachos analisados apresentaram valores mais alcalinos (pH médio: 8,51). Apesar de o pH ser a mais importante variável química, oxigênio dissolvido mostrou o mais alto valor de R^2 ajustado para a

microescala. Chandrashekar et al (1991) encontraram que o oxigênio dissolvido não teve relação com a riqueza de fungos. Por outro lado, Medeiros et al (2009) mostraram que quando o OD foi baixo, a esporulação foi inibida e a riqueza de espécies diminuiu, similar aos resultados da microescala que indicaram uma relação positiva com abundância de conídios e com riqueza de espécies. A turbidez apresentou relação negativa com ambas riqueza e abundância na microescala, uma possível explicação para isso é que turbidez mais elevada está relacionada com erosão e escoamento superficial, o que poderia interferir na disponibilidade de oxigênio para os fungos aquáticos (Bärlocher et al, 2010).

Considerando a macroescala, a amônia foi a variável com o mais valor de correlação (seleção de Blanchet), o que significa que os nutrientes desempenham um papel determinante na comunidade de fungos de riacho. As únicas variáveis significantes em ambas escalas foram condutividade e temperatura, entretanto mais na macroescala. Sridhar e Bärlocher (1997) não encontraram padrão claro entre a esporulação e condutividade, e, Raviraja et al (1998) não encontraram uma relação consistente entre a condutividade e abundância e diversidade de fungos, diferente dos resultados deste estudo. Por outro lado, Gönczöl et al (2003) encontraram que a condutividade foi umas das variáveis mais fortes correlacionadas a composição de fungos, porém, não testaram para um efeito positivo ou negativo. Portanto, é razoável sugerir que condutividade e temperatura podem ser os principais determinantes limnológicos da comunidade de fungos aquáticos. Mesmo assim, é difícil afirmar que esse resultado é conclusivo. Para este estudo, a condutividade foi mais importante na determinação da quantidade de conídios encontrada do que qualquer outra variável mensurada.

A maioria dos estudos com microrganismos encontraram que a escala local é mais importante para a composição da comunidade em diversos ambientes (Fierer et al, 2007; Van der Gucht et al, 2007; Verleyen et al, 2009; Lindström & Langenheder, 2012; Heino et al, 2014). Este estudo obteve resultados que indicam a tendência oposta, na qual a macroescala predomina na determinação da composição de fungos aquáticos. Isso amplia a perspectiva de trabalhos futuros, que não devem focar somente em pequenas áreas de escala. A possibilidade de que para diferentes áreas do mundo até a escala mais determinante poderia ser diferente não deve ser ignorada. Ambientes tropicais são incrivelmente complexos em suas relações e processos, talvez uma tendência tropical não seja a mesma que uma tendência temperada.

Quanto a perspectiva da conservação, essas sete variáveis ambientais (muito menos do que medir dezenas delas) podem ser utilizadas para avaliar as influências ambientais sobre a comunidade de fungos aquáticos. Seu poder preditivo deve ser testado em um modelo. É importante mencionar que a "biodiversidade de fungos de água doce governa as funções

ecológicas em riachos" (Krauss et al, 2011). Por isso, fungos aquáticos são essenciais para a proteção desses ecossistemas, e para a manutenção dos serviços ecossistêmicos, devemos proteger a diversidade de fungos. De acordo com os resultados, a macroescala é predominante na determinação dessa comunidade. Isso significa que ações e conservação devem considerar os aspectos regionais de um riacho como um todo. Por exemplo, proteger somente um trecho do riacho não seria suficiente, é necessário proteger o rio inteiro, incluindo a vegetação ripária, porque impactos antrópicos podem afetar a comunidade de fungos de todo o riacho, não só localmente. Outra implicação para os resultados obtidos é que no caso de poluição humana (como resíduos de mineração e esgoto doméstico), a influência sobre a composição de fungos seria regional, por toda a bacia hidrográfica. Portanto, as ações de conservação devem abranger grandes áreas marginais dos rios. Essas variáveis relacionadas provavelmente têm forte efeito na atividade de decomposição realizada pelos fungos. Apesar de não ter sido avaliada, uma mudança ambiental pode alterar a composição e estrutura da comunidade de fungos aquáticos. Mesmo que o efeito seja sentido por única espécie, ele poderia criar um efeito cascata no ecossistema inteiro. Manter os fungos em sua diversidade natural preservaria os serviços mencionados e resguardaria a integridade dos riachos.

REFERÊNCIAS

- Abelho M. (2001). From litterfall to breakdown in streams: a review. *The Scientific World Journal* 1:656-680.
- Baas Becking L. (1934). *Geobiologie of inleiding tot de milieukunde*. Van Stockum & Zoon, The Hague.
- Barbosa FR, Silva SS, Fiuza PO, Gusmão LFP. (2011). Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil, new species and records for *Thozetella*. *Mycotaxon* 115:327-334.
- Bärlocher F. (1987). Aquatic hyphomycete spora in 10 streams of New Brunswick and Nova Scotia. *Canadian Journal of Botany* 65:76-79.
- Bärlocher F. (2016). Aquatic hyphomycetes in a changing environment. *Fungal Ecology* 19:14-27.
- Bärlocher F, Boddy L. (2016). Aquatic fungal ecology - how does it differ from terrestrial? *Fungal Ecology* 19:5-13.

- Bärlocher F, Graça MAS. (2002). Exotic riparian vegetation lowers fungal diversity but not leaf decomposition in Portuguese streams. *Freshwater Biol.* 47:1123-1135.
- Bärlocher F, Helson JE, Williams DD. (2010). Aquatic hyphomycete communities across a land-use gradient of Panamanian streams. *Fundam. Appl. Limnol., Arch. Hydrobiol.* 177:209-221.
- Bärlocher F, Rosset J. (1981). Aquatic hyphomycete spora of two black forest and two Swiss Jura streams. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 76:479-483.
- Bärlocher F, Seena S, Wilson KP, Williams DD. (2008). Raised water temperature lowers diversity of hyporheic aquatic hyphomycetes. *Freshwater Biology* 53:368-379.
- Baudoin JM, Guérold F, Felten V, Chauvet E, Wagner P, Rousselle P. (2008). Elevated Aluminium concentration in acidified headwater streams lowers aquatic hyphomycete diversity and impairs leaf-litter breakdown. *Microbial Ecology* 56:260-269.
- Biasi C, Graça MAS, Santos S, Ferreira V. (2017). Nutrient enrichment in water more than in leaves affects aquatic microbial litter processing. *Oecologia* 184:555-568.
- Blanchet FG, Legendre P, Borcard D. (2008). Forward selection of explanatory variables. *Ecology* 89:2623-2632.
- Brasil. (2006). Decreto de 23 de março de 2006. Cria o Parque Nacional dos Campos Gerais, no Estado do Paraná, e dá outras providências. Publicado no Diário Oficial da União de 24 de março de 2006.
- Canhoto C, Graça MAS. (2008). Interactions between fungi and stream invertebrates: back to the future. *Novel Techniques and Ideas in Mycology, Fungal Diversity Research Series* (Sridhar KR, Bärlocher F, Hyde KD, eds.), pp. 305-325. Fungal Diversity Press, Yunnan, P.R. China.
- Chan SY, Goh TK, Hyde KD (2000) In: Hyde KD, Ho WH, Pointing SB (eds). *Aquatic mycology across the millennium*. Fungal Diversity Press, Hong Kong, pp 89–107.
- Chandrashekar KR, Sridhar KR, Kaveriappa KM. (1991). Aquatic hyphomycetes of a sulphur spring. *Hydrobiologia* 218:151-156.

- Chauvet E, Suberkropp K. (1998). Temperature and sporulation of aquatic hyphomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 64:1522-1525.
- Cruz ACR, Gusmão LFP. (2009). Fungos conidiais na Caatinga: espécies associadas ao folhedo. *Acta bot. bras.* 23:999-1012.
- Cruz ACR, Gusmão LFP. (2009). Fungos conidiais na Caatinga: espécies lignícolas. *Acta bot. bras.* 23:1133-1144.
- Cruz ACR, Marques MFO, Gusmão LFP. (2007). Fungos anamórficos (Hyphomycetes) da Chapada Diamantina: novos registros para o Estado da Bahia e Brasil. *Acta bot. bras.* 21:847-855.
- Dang CK, Schindler M, Chauvet E, Gessner MO. (2009). Temperature oscillations coupled with fungal communities can modulate warming effects on litter decomposition. *Ecology* 90:122-131.
- Darwin C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or preservation of favoured races in the struggle for life.* London: John Murray.
- Dray S, Legendre P, Blanchet FG. (2013). packfor: Forward Selection with permutation (Canoco p.46). R package.
- Fabre E. (1996). Relationships between aquatic hyphomycetes communities and riparian vegetation in 3 Pyrenean streams. *CR Acad. Sci. III Vie.* 319:107-111.
- Ferreira V, Elozegi A, Gulis V, Pozo J, Graça MAS. (2006). Eucalyptus plantations affect fungal communities associated with leaf-litter decomposition in Iberian streams. *Arch. Hydrobiol.* 166:467-490.
- Fierer N, Morse JL, Berthrong ST, Bernhardt ES, Jackson RB. (2007). Environmental controls on the landscape-scale biogeography of stream bacterial communities. *Ecology* 88:2162-2173.
- Fiuza PO, Gusmão LFP. (2013). Ingoldian fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. *Mycosphere* 4:559-565.
- Fiuza PO, Ottoni-Boldrini BMP, Monteiro JS, Catena NR, Hamada N, Gusmão LFP. (2015). First records of Ingoldian fungi from the Brazilian Amazon. *Braz. J. Bot.* 38:615-621.

- Goh TK, Hyde KD (1996). Biodiversity of freshwater fungi. *Journal of Industrial Microbiology* 17:328-345.
- Gönczöl J, Csontos P, Révay A. (2003). Catchment scale patterns of aquatic hyphomycetes. The role of physicochemical variables and substrate composition in structuring conidial communities. *Arch. Hydrobiol.* 157:249-266.
- Gönczöl J, Révay A. (2002). Treehole fungal communities: aquatic, aero-aquatic and dematiaceous hyphomycetes. *Fungal Diversity*12:19-34.
- Gulick JT. (1872). On the variation of species as related to their geographical distribution, illustrated by the achatinellinae. *Nature* :222-224.
- Hao Y, Mo M, Su H, Zhang K. (2005). Ecology of aquatic nematode-trapping hyphomycetes in southwester China. *Aquatic Microbial Ecology* 40:175-181.
- Hájek M, Roleček J, Cottenie K, Kintrová K, Horsák M, Pouličková A, Hájková P, Fránková M, Dítě D. (2011). Environmental and spatial controls of biotic assemblages in a discrete semi-terrestrial habitat: comparison of organisms with different dispersal abilities sampled in the same plots. *Journal of Biogeography* 38:1683-1693.
- Heino J. (2011). A macroecological perspective of diversity patterns in the freshwater realm. *Freshwater Biology* 56:1703-1722.
- Heino J, Tolkkinen M, Pirttilä AM, Aisala H, Mykrä H. (2014). Microbial diversity and community-environment relationships in boreal streams. *Journal of Biogeography* 41:2234-2244.
- Horner-Devine MC, Lage M, Hughes JB, Bohannan BJM. (2004). A taxa-area relationship for bacteria. *Nature* 432:750-753.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (1991). *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*. Por Veloso, HP et al. Rio de Janeiro, IBGE. 124p
- Jabiol J, Bruder A, Gessner MO, Makkonen M, McKie BG, Peeters ETHM, et al. (2013). Diversity patterns of leaf-associated aquatic hyphomycetes along a broad latitudinal gradient. *Fungal Ecology* 6:439-448.

- Kaushik NK, Hynes HBN. (1971). The fate of the dead leaves that fall into streams. *Arch. Hydrobiol.* 68:465-515.
- Kominoski JS, Hoellein TJ, Kelly JJ, Pringle CM. (2009). Does mixing litter of different qualities alter stream microbial diversity and functioning on individual litter species? *Oikos* 118:457-463.
- Koske RE, Duncan JW. (1974). Temperature effects on growth, sporulation, and germination of some "aquatic" hyphomycetes. *Can. J. Bot.* 52:1387-1391.
- Krauss GJ, Solé M, Krauss G, Schlosser D, Wesenberg D, Bärlocher F. (2011). Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS Microbiol. Rev.* 35:620-651.
- Laitung B, Chauvet E. (2005). Vegetation diversity increases species richness of leaf-decaying fungal communities in woodland streams. *Arch. Hydrobiol.* 164:217-235.
- Lecerf A, Dobson M, Dang CK, Chauvet E. (2005). Riparian plant species loss alters trophic dynamics in detritus-based stream ecosystems. *Oecologia* 146:432-442.
- Lindström ES, Langenheder S. (2012). Local and regional factors influencing bacterial community assembly. *Environmental Microbiology Reports* 4:1-9.
- Martiny JBH, Bohannan BJM, Brown JH, Colwell RK, Fuhrman JA, Green JL, et al. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature* 4:102-112.
- Mathuriau C, Chauvet E. (2002). Breakdown of leaf litter in a neotropical stream. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 21:384-396.
- May RM. (1988). How many species are there on Earth? *Science* 241:1441-1449.
- Medeiros AO, Pascoal C, Graça MAS. (2009). Diversity and activity of aquatic fungi under low oxygen conditions. *Freshwater Biology* 54:142-149.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, et al. (2017). *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.4-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

- Oliveira EA. (2012). O Parque Nacional dos Campos Gerais: processo de criação, caracterização ambiental e proposta de priorização de áreas para regularização fundiária. Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. 297 p.
- Paraná – Governo do Estado. (2004). Plano de manejo do Parque Estadual de Vila Velha. Gobbi EF, et al (coordenação geral). Curitiba, Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Instituto Ambiental do Paraná, Diretoria de Biodiversidade e Áreas Protegidas. 5 Encartes mais Anexos
- Pascoal C, Cássio F. (2004). Contribution of fungi and bacteria to leaf litter decomposition in a polluted river. *Applied and Environmental Microbiology* 70:5266-5273.
- Pascoal C, Marvanová L, Cássio F. (2005). Aquatic hyphomycete diversity in streams of Northwest Portugal. *Fungal Diversity* 19:109-128.
- Pianka ER. (1966). Latitudinal gradients in species diversity: a review of concepts. *The American Naturalist* 100:33-46.
- Rao CR. (1964). The use and interpretation of principal component analysis in applied research. *Sankhyaá, Series A* 26:329-358.
- Raviraja NS, Sridhar KR, Bärlocher F. (1998). Breakdown of *Ficus* and *Eucalyptus* leaves in an organically polluted river in India: fungal diversity and ecological functions. *Freshwater Biology* 39:537-545.
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.r-project.org/>.
- Sanpera-Calbet I, Chauvet E, Richardson JS. (2012). Fine sediment on leaves: shredder removal of sediment does not enhance fungal colonisation. *Aquat. Sci.* 74:527-538.
- Soininen J. (2012). Macroecology of unicellular organisms - patterns and processes. *Environmental Microbiology Reports* 4:10-22.
- Sridhar KR, Bärlocher F. (1997). Water chemistry and sporulation by aquatic hyphomycetes. *Mycol. Res.* 101:591-596.

- Sridhar KR, Duarte S, Cássio F, Pascoal C. (2009). The role of early fungal colonizers in leaf-litter decomposition in Portuguese streams impacted by agricultural runoff. *Int. Rev. Hydrobiol.* 94:399-409.
- StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.
- Suberkropp K, Godshalk GL, Klug MJ. (1976). Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology* 57:720-727.
- Suberkropp K, Klug MJ. (1980). The maceration of deciduous leaf litter by aquatic hyphomycetes. *Can. J. Bot.* 58:1025-1031.
- Sudheep NM, Sridhar KR. (2012). Aquatic hyphomycetes in hyporheic freshwater habitats of southwest India. *Limnologica* 42:87-94.
- Van der Gucht K, Cottenie K, Muylaert K, Vloemans N, Cousin S, Declerck S, et al. (2007). The power of species sorting: local factors drive bacterial community composition over a wide range of spatial scales. *PNAS* 104:20404-20409.
- Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE. (1980). The river continuum concept. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science* 37:130-137.
- Verleyen E, Vyverman W, Sterken M, Hodgson DA, Wever AD, Juggins S, et al. (2009). The importance of dispersal related and local factors in shaping the taxonomic structure of diatom metacommunities. *Oikos* 118:1239-1249.
- Webster J. (1975). Further studies of sporulation of aquatic hyphomycetes in relation to aeration. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64:119-127.
- Wood-Eggenschwiler S, Bärlocher F. (1985). Geographical distribution of Ingoldian fungi. *Vehr. Internat. Verein. Limnol.* 22:2780-2785.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de as hipóteses terem sido rejeitadas, os resultados trouxeram novas questões para investigação sobre a ecologia da comunidade de fungos aquáticos de riachos subtropicais. Os índices de diversidade amplamente utilizados para a macrobiota são adequados a microbiota? Como os hifomicetos respondem aos diferentes impactos antrópicos (urbanos e do agronegócio)? Condutividade, temperatura e nutrientes influenciam a comunidade fúngica exclusivamente no Bioma investigado? As respostas a estas questões devem ser implementadas e experimentos devem ser conduzidos a fim de que os papéis funcionais destes organismos sejam mais bem compreendidos.

Mesmo sob a proteção de UC, os resultados indicam que as condições dos riachos dentro de áreas protegidas oficialmente podem ser insuficientes para garantir que os índices de diversidade sejam melhores. É provável que os impactos dentro do PNCG sejam muito semelhantes aos sofridos pelo entorno. É imprescindível que a qualidade ambiental e os serviços ecossistêmicos sejam assegurados. Para tanto os efeitos das atividades antrópicas devem ser minimizados, pois UC, por si só não garantem a proteção a biodiversidade. Os comitês de bacia devem atuar de forma a garantir a proteção de toda a bacia hidrográfica, em especial dos riachos de baixa ordem.

Portanto, a pretendida redução da Área de Proteção Ambiental da Escarpa Devoniana, na qual se insere o ecossistema estudado, compromete ainda mais a biodiversidade e os serviços ambientais. Interferências políticas e sócio-econômicas sobre a área protegida denotam que, por meio de ações imediatistas, não há interesse em se cumprir a Lei e conservar ambientes de qualidade para gerações futuras. Os indicadores acima são essenciais para garantir e assegurar a biodiversidade mundial, manter a segurança hídrica e a estabilidade climática regional. Como política pública de desenvolvimento sustentável esses resultados deveriam ser observados pelo Governo do estado para o estabelecimento de diretrizes cuja finalidade seria resguardar a história e o símbolo do estado do Paraná o pinheiro-do-paraná (espécie destaque da Floresta Ombrófila Mista), criticamente ameaçada de extinção, *Araucaria angustifolia*.