

Ana Maria Macedo Mesquita

**Decomposição da folhada de *Eucalyptus globulus*
em sistemas lóticos:
papel dos macroinvertebrados e dos fungos
aquáticos**



**Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
Porto, 2003**



FC

Biblioteca
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto



D000055807

7/11/64^a

CDU : 574.58 (469.12)(043.2) 2BN

Ecosistemas aquáticos / rios / Noroeste de Portugal

Decomposição / folhada de *Eucalyptus globulus* /
macroinvertebrados / fungos aquáticos

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E ANTROPOLOGIA
BIBLIOTECA

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E ANTROPOLOGIA
BIBLIOTECA

Arquivo de Jui
RST

Ana Maria Macedo Mesquita

**Decomposição da folhada de *Eucalyptus globulus*
em sistemas lóticos:
papel dos macroinvertebrados e dos fungos
aquáticos**

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E ANTROPOLOGIA
45017A
BIBLIOTECA

**Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
Porto, 2003**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências da Universidade do
Porto, para a obtenção do grau de
Mestre, no âmbito do Mestrado em
Ecologia Aplicada.

Porto, 2003

*AOS MEUS PAIS E
AO MEU IRMÃO*

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Fernanda Cássio e Pedro Gomes quero expressar a minha gratidão pela disponibilidade imediata para a orientação deste trabalho, pelos ensinamentos valiosos, apoio incondicional e amizade que transmitiram nos momentos mais delicados.

Ao Professor Doutor Américo Sousa, por todo o empenho, colaboração e paciência demonstrados ao longo de todo este período.

À Dra. Cláudia Pascoal quero agradecer, de um modo muito especial, o acompanhamento e dedicação constantes, essenciais para o desenrolar desta dissertação.

A todos os Professores e colegas de Mestrado, pelos bons momentos que me proporcionaram enquanto aluna e colega.

A todo o Departamento de Biologia da Universidade do Minho, pelo carinho com que me receberam.

À Magda, agradeço a colaboração no decorrer das análises químicas e microbiológicas.

Aos colegas de trabalho, Né, Fátima, Luís, Amaro, Sofia e Ana, pela colaboração prestada e por todos os momentos de descontração que partilhamos.

Aos meus amigos, pelo apoio e amizade que souberam transmitir nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais e ao meu irmão, pelo carinho e incentivo constantes que têm permitido a concretização dos meus sonhos.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A importância dos macroinvertebrados na avaliação da qualidade da água em sistemas lóticos	1
1.2. Decomposição da folhada em sistemas lóticos	3
1.2.1. Etapas da decomposição da folhada	3
1.2.2. Papel dos hifomicetos aquáticos na decomposição da folhada	4
1.2.2.1. Medidas de actividade dos hifomicetos aquáticos	5
1.2.3. Papel dos macroinvertebrados na decomposição da folhada	7
1.2.4. Factores que influenciam a decomposição da folhada	8
1.2.4.1. Factores extrínsecos	8
1.2.4.2. Factores intrínsecos: especial referência a <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	10
1.3. Objectivos	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1. Área de estudo e locais de amostragem	12
2.2. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos	13
2.3. Preparação dos sacos de folhada, colocação e recolha	15
2.4. Determinação da massa foliar seca e da ADFM	16
2.5. Macroinvertebrados associados às folhas	16
2.6. Hifomicetos aquáticos associados às folhas	16
2.6.1. Determinação das taxas de esporulação	16
2.6.2. Determinação da biomassa dos fungos por quantificação do ergosterol	17
2.7. Análise e tratamento estatístico dos dados	18
3. RESULTADOS	21
3.1. Características físicas, químicas e microbiológicas da água do rio Este e do rio Guisande	21
3.2. Perda de massa da folhada de eucalipto no rio Este e no rio Guisande	22
3.3. Macroinvertebrados associados à folhada em decomposição	24
3.4. Fungos associados à folhada em decomposição	28
4. DISCUSSÃO	37
4.1. Qualidade da água do rio Este e do rio Guisande	37
4.2. Colonização e decomposição da folhada de <i>E. globulus</i> no rio Este e no rio Guisande	39
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

RESUMO

Após a queda das folhas nos rios, estas são alvo da abrasão física, da decomposição microbiana e da fragmentação pelos macroinvertebrados. Os hifomicetos aquáticos desempenham um papel importante no condicionamento da folhada em ecossistemas lóticos, actuando como nível trófico intermédio entre a folhada e os macroinvertebrados detritívoros que dela se alimentam. O objectivo deste trabalho consistiu em estudar a dinâmica de colonização e de decomposição da folhada de *Eucalyptus globulus* Labill. por fungos aquáticos e por macroinvertebrados em dois rios do noroeste de Portugal, o rio Este e o rio Guisande. A contribuição relativa dos macroinvertebrados e dos microrganismos para a decomposição da folhada foi avaliada usando sacos de rede de malha grossa e de malha fina.

O rio Guisande apresentou melhor qualidade de água comparativamente ao rio Este, com base na avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, bem como na determinação de índices bióticos e de medidas de diversidade, aplicadas à comunidade de macroinvertebrados associados à folhada em decomposição.

As taxas de decomposição da folhada de *E. globulus* foram classificadas como altas, com excepção das obtidas nos sacos de malha fina no rio Este. No rio Guisande, a taxa de decomposição da folhada colocada nos sacos de malha grossa ($0,029\text{ d}^{-1}$) foi significativamente mais elevada do que a obtida com sacos de malha fina ($0,019\text{ d}^{-1}$). Contudo, no rio Este não foram encontradas diferenças na velocidade de decomposição da folhada de eucalipto colocada em sacos de malha grossa e de malha fina, o que poderá estar relacionado com a ausência de macroinvertebrados trituradores neste local e com a baixa velocidade da corrente.

A decomposição da folhada foi significativamente mais rápida no rio Guisande ($0,019\text{-}0,029\text{ d}^{-1}$) do que no rio Este ($0,009\text{-}0,011\text{ d}^{-1}$), o que pode ser explicado pelos valores mais elevados da biomassa e das taxas de esporulação dos fungos associados à folhada em decomposição no rio Guisande. A análise de correspondências, aplicada às comunidades dos macroinvertebrados e dos hifomicetos aquáticos colonizadores da folhada, permitiu discriminar os dois rios e foi encontrada uma maior riqueza em taxa no rio Guisande.

ABSTRACT

The leaves entering in streams are subject to physical abrasion, invertebrate fragmentation and microbial degradation. There is evidence that fungi, particularly aquatic hyphomycetes, dominate microbial leaf breakdown and condition the leaves, increasing their palatability for invertebrate shredders. The aim of this work was to study leaf decomposition of *Eucalyptus globulus* Labill. by macroinvertebrates and aquatic fungi in two rivers of northern Portugal, Este River and Guisande River. The relative role of macroinvertebrates and aquatic fungi on leaf decomposition was evaluated using coarse-mesh and fine-mesh bags.

Guisande River showed better water quality than Este River based on physical, chemical and microbiological parameters as well as on the biotic indices and diversity measures, applied to the macroinvertebrate community colonising decomposing leaves.

Leaf decomposition rates of *E. globulus* were classified as high, with the exception of those obtained in fine-mesh bags in the Este River. In the Guisande River, leaf decomposition rate was significantly higher in coarse-mesh (0.029 d^{-1}) than in fine-mesh bags (0.019 d^{-1}). However, in the Este River no significant differences were found between leaf decomposition rates in either coarse-mesh or fine-mesh bags, which was probably due to the absence of shredders and low current velocity at this site.

Decomposition rates of eucalyptus leaves were significantly higher in the Guisande River ($0.019\text{--}0.029\text{ d}^{-1}$) than in the Este River ($0.009\text{--}0.011\text{ d}^{-1}$), probably due to the higher biomass and sporulation rates of the fungi associated with decomposing leaves in the Guisande River. Correspondence analyses applied to macroinvertebrate and aquatic hyphomycete communities discriminated the two rivers and higher richness in taxa was found in the Guisande River.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Importância dos macroinvertebrados na avaliação da qualidade da água em sistemas lóticos

O aumento da população humana, a prática da agricultura intensiva e a industrialização crescente têm-se traduzido num impacto negativo na qualidade do meio ambiente, nomeadamente nos recursos aquáticos. Por este motivo, há necessidade de proceder à avaliação do impacto destes factores nos cursos de água de modo a melhor controlar e regular os seus efeitos. Durante muito tempo, a avaliação da qualidade da água era feita com base em análises físico-químicas, o que se revelou insuficiente por não fornecerem, por si só, dados sobre o efeito da poluição nos organismos (Metcalf-Smith, 1994). Os efeitos da alteração da qualidade da água são registados na maioria dos seres vivos, provocando alterações estruturais nas comunidades bióticas, por exemplo, no número de organismos e na sua distribuição. As medidas biológicas têm-se revelado úteis na avaliação da qualidade da água, uma vez que integram informação a longo prazo e, por isso, respondem mesmo quando a acção do foco poluente não é visível nem mensurável (Rosenberg e Resh, 1993).

Os macroinvertebrados bentónicos têm sido usados como bioindicadores da qualidade da água (Fontoura, 1984; Cortes e Monzón, 1991; Coimbra *et al.*, 1996) devido a determinadas características, algumas inerentes à espécie, que lhes conferem capacidade de resposta a várias alterações ambientais em simultâneo e a longo prazo (Rosenberg e Resh, 1993), nomeadamente i) apresentam diferentes sensibilidades a vários poluentes reagindo rapidamente à sua presença em determinada gama; ii) constituem comunidades muito heterogêneas aumentando o espectro de respostas ao stress ambiental; iii) estão presentes na maioria dos habitats aquáticos, com ciclos de vida longos que permitem denotar alterações temporais causadas por perturbações externas; iv) são basicamente sedentários reflectindo o efeito do poluente numa área mais restrita; v) são abundantes e a sua recolha é relativamente fácil e pouco dispendiosa e vi) estão taxonomicamente bem definidos e são relativamente fáceis de identificar através de chaves de identificação.

No entanto, a utilização destes organismos na avaliação da qualidade da água apresenta algumas limitações (Rosenberg e Resh, 1993): i) não respondem a concentrações muito baixas de poluentes nem a todo o tipo de alterações ambientais;

ii) nem sempre é possível estabelecer uma relação directa entre as alterações e as respostas dos organismos porque a acção de outros factores como, por exemplo, a velocidade da corrente e a natureza do substrato, também afectam a sua distribuição e abundância; iii) por terem uma vasta distribuição, torna-se difícil determinar o número ideal de amostras para adquirir a precisão desejável na estimativa da abundância populacional e assim evitar a subjectividade associada à amostragem; iv) o processamento das amostras e a identificação dos organismos pode ser um processo moroso; v) a presença de alguns organismos em determinadas áreas por deriva pode conduzir a conclusões incorrectas e vi) alguns grupos são particularmente difíceis de identificar, como as larvas de Chironomidae, de alguns Tricoptera e de Oligochaeta.

Vários métodos têm sido utilizados para a recolha de macroinvertebrados, entre os quais, podemos citar a rede de mão, o Surber e os substratos artificiais. Os substratos artificiais são utilizados para simular o substrato de modo a proporcionar a colonização por organismos bentónicos. Os invertebrados que colonizam os substratos artificiais utilizam-nos como habitat ou como fonte de alimento (Richardson, 1992 *in* Murphy e Giller, 2000). A utilização de substratos artificiais permite estandardizar o esforço de amostragem, uma vez que contêm uma determinada porção de substrato num volume definido, permitindo a obtenção de dados quantitativos e reduzir a variabilidade associada a métodos de amostragem convencionais, como é o caso da rede de mão e do Surber (Hellawell, 1978). A amostragem com substratos artificiais é vantajosa em águas profundas, locais rochosos ou com velocidade da corrente elevada, onde o uso da rede de mão e do Surber é limitado (Rosenberg e Resh, 1982; Fontoura, 1984; De Pauw *et al.*, 1986). No entanto, a sua utilização apresenta algumas limitações, como por exemplo, a dificuldade em seleccionar os materiais de enchimento, em calcular o tempo de imersão necessário para atingir a colonização óptima e representativa das espécies que vivem no local (Rosenberg e Resh, 1982). Há ainda o risco de soterramento no sedimento devido a longos períodos de imersão ou a factores de origem antropogénica, como a deposição de areias resultantes de obras, e o risco de vandalismo (Rosenberg e Resh, 1982; Hellawell, 1978; De Pauw *et al.*, 1986).

Os substratos artificiais têm sido utilizados para estudar a decomposição da folhada, para informar acerca das interacções bióticas e do carácter trófico animal-

vegetal (Dobson, 1991; Vingada, 1995) e para avaliar o efeito de poluentes (Fontoura, 1984; De Pauw *et al.*, 1986; Barton e Metcalfe-Smith, 1992).

1.2. Decomposição da folhada em sistemas lóticos

A matéria orgânica alóctone tem sido considerada como a principal fonte de energia para o biota de rios de baixa ordem (Vannote *et al.*, 1980). No caso de rios que percorrem florestas de folha caduca a entrada contínua de matéria vegetal contribui com cerca de 99% do total da energia do ecossistema (Kaushik e Hynes, 1971; Cummins, 1974). Este facto assume uma maior importância no Outono, devido à queda de folhas das árvores das zonas ribeirinhas que, levadas pela corrente, vão encontrando barreiras naturais e/ou artificiais e se vão depositando no fundo do rio. Os rios de cabeceira, que percorrem florestas constituídas por árvores de folha caduca e nos quais não há luminosidade suficiente para suportar a fotossíntese, dependem fortemente da matéria orgânica alóctone como fonte de nutrientes e de energia (Cummins, 1974; Benfield, 1996). No entanto, à medida que aumenta o número de ordem do rio, a entrada de material orgânico de origem terrestre tem cada vez menos importância, uma vez que ocorre um aumento considerável da produção primária autóctone e do transporte de material pela corrente. A decomposição destes detritos vegetais está, em parte, a cargo de microrganismos decompositores e dos macroinvertebrados detritívoros, quer por mecanismos físicos quer por mecanismos biológicos.

1.2.1. Etapas da decomposição da folhada

A decomposição da folhada pode ser descrita em três fases, nomeadamente a lixiviação, o condicionamento e a fragmentação biótica e física (Webster e Benfield, 1986; Maltby, 1995) que podem ocorrer simultânea ou sucessivamente (Gessner *et al.*, 1999).

A lixiviação tem lugar durante os primeiros dias (1 a 3 dias) após a entrada das folhas no rio e pensa-se que contribua para uma perda de aproximadamente 30% da massa foliar (Petersen e Cummins, 1974; Benfield, 1996). A perda de massa foliar é mais rápida em folhas senescentes uma vez que as folhas jovens mantêm a sua

estrutura e a actividade metabólica e, portanto, retêm os seus constituintes durante mais tempo (Bärlocher, 1992; Bärlocher, 1997). A lixiviação pode também ser influenciada pelo tipo de espécie vegetal, pelo clima e pela morfologia do rio (Gessner *et al.*, 1999).

O condicionamento é a etapa em que as folhas são colonizadas por microrganismos, nomeadamente fungos e bactérias, facto que aumenta a palatibilidade das folhas para os detritívoros trituradores (Cummins, 1974). No entanto, este aumento de palatibilidade depende da espécie vegetal, dos fungos colonizadores e do tempo de imersão (Jenkins e Suberkropp, 1995). Deste modo, a folha perde massa, quer pelo consumo pelos detritívoros quer pela acção enzimática e mecânica dos microrganismos (Gessner *et al.*, 1999). Os fungos, pela libertação de enzimas, quebram polímeros estruturais das células vegetais, assimilando e convertendo a matéria orgânica em dióxido de carbono e biomassa (Cummins e Klug, 1979). A superfície da folha é colonizada também por bactérias que assumem um papel mais importante em fases mais tardias da decomposição, uma vez que utilizam preferencialmente matéria orgânica constituída por partículas finas (Cummins e Klug, 1979).

A fragmentação física e biótica das folhas resulta da abrasão e pressão exercida pelo fluxo da água e da actividade dos detritívoros trituradores e conduz à libertação de matéria orgânica constituída por partículas finas (Cummins, 1974; Gessner *et al.*, 1999). A fragmentação das folhas conduz ao aumento da área de exposição da folha ao meio ambiente o que favorece a colonização microbiana.

1.2.2. Papel dos hifomicetos aquáticos na decomposição da folhada

As folhas que caem nos rios estão colonizadas por uma comunidade de fungos terrestres e é lícito admitir que esta comunidade seja rapidamente substituída por outra melhor adaptada ao ambiente aquático (Rodrigues e Graça, 1997). Os hifomicetos aquáticos ou fungos Ingold são um grupo ecológico de fungos filogeneticamente heterogéneo que inclui formas assexuadas (anamorfos) de Ascomiceta e de Basidomiceta (Ingold, 1975). O sucesso destes fungos resulta de possuírem adaptações morfológicas e fisiológicas que lhes possibilitam a colonização e decomposição da folhada em sistemas lóticos (Suberkropp, 1998). As conídias

apresentam formas tetra radiadas e sigmóides, o que lhes permite estabelecer vários pontos de contacto com os substratos. Além disso, as conídias produzem mucilagem nas extremidades dos braços (Bärlocher, 1992), o que lhes facilita a fixação aos substratos que colonizam. Os hifomicetos aquáticos estão ainda adaptados a crescerem a temperaturas baixas como as encontradas em climas temperados durante o Outono, estação da queda da folha (Suberkropp, 1984) e são capazes de produzir enzimas extracelulares que provocam a maceração das folhas.

Os hifomicetos aquáticos colonizadores da folhada contribuem para o aumento da palatibilidade da folha e constituem uma potencial fonte de alimento para os detritívoros (Gessner *et al.*, 1999), estabelecendo um importante elo trófico entre as partículas grosseiras de matéria orgânica, como é o caso de restos de folhada e de madeira, e os macroinvertebrados (Laitung *et al.*, 2002). Vários estudos comprovam que os detritívoros se alimentam selectivamente de folhas previamente colonizadas por fungos (por exemplo, Suberkropp, 1992; Graça, 1993). Este facto foi demonstrado alimentando detritívoros, como *Gammarus pulex* e *Asellus aquaticus*, com folhas condicionadas o que aumentou o seu crescimento, sobrevivência e sucesso reprodutivo (Graça *et al.*, 1993). A selectividade demonstrada pelos detritívoros em relação à folhada pode estar relacionada com a espécie de fungos que a coloniza. Embora ainda não esteja bem estudada a base desta selecção, estudos apontam para uma explicação baseada na síntese de micronutrientes pelos fungos (que não se encontram nas folhas) ou de compostos desagradáveis (Arsuffi e Suberkropp, 1986; Graça *et al.*, 1993). É de referir também o facto da colonização da folhada pelos fungos resultar na diminuição da dureza das folhas (Graça *et al.*, 1993; Jenkins e Suberkropp, 1995) o que pode facilitar a alimentação dos detritívoros.

1.2.2.1. Medidas de actividade dos hifomicetos aquáticos

Para avaliar o papel dos fungos nos ecossistemas lóticos, particularmente dos hifomicetos aquáticos, é importante conhecer a identidade, a actividade e as capacidades fisiológicas deste grupo de organismos. A avaliação da biomassa dos fungos colonizadores da folhada é um processo complexo já que estes, durante o crescimento, penetram no substrato dificultando a separação do micélio do tecido foliar. A quantificação de ATP (Suberkropp e Klug, 1976; Suberkropp, 1991) tem-se

revelado uma metodologia fiável para a avaliação de alterações da biomassa dos fungos associados à folhada. Contudo, como o ATP existe em todas as células vivas, a sua quantificação não traduz especificamente a biomassa de fungos. Para ultrapassar esta limitação tem-se procedido à quantificação de um constituinte específico da membrana das células dos fungos superiores, o ergosterol, que se degrada rapidamente após a morte celular. Assim, o ergosterol tem sido usado como medida da biomassa viva de fungos em vários substratos e sob condições ambientais diversas (Gessner e Newell, 2002; Charcosset e Chauvet, 2001). A quantidade de ergosterol presente na membrana dos fungos está relacionada com o estado fisiológico e condições de crescimento dos fungos. Estudos feitos com várias espécies de hifomicetos em cultura em meio líquido com diferentes razões C/N revelaram que o conteúdo em ergosterol foi pouco afectado pela idade da cultura e pela composição do meio (Gessner e Chauvet, 1993). Contudo, outros factores podem influenciar a síntese de ergosterol, nomeadamente a presença de oxigénio molecular, que em baixas tensões reduz a concentração de ergosterol (Charcosset e Chauvet, 2001). Deste modo, o conteúdo em ergosterol dos fungos pode variar com as condições de crescimento, o que limita, em parte, a utilização deste lípido como indicador de biomassa quando aplicado em diferentes condições ambientais (Charcosset e Chauvet, 2001).

A produção dos fungos associados a folhas em decomposição nos rios tem sido avaliada com base na determinação da taxa à qual o acetato radioactivo é incorporado em ergosterol (Suberkropp e Weyers, 1996; Gessner e Chauvet, 1997). Esta medida de actividade metabólica dos fungos é mais dinâmica do que a medida de biomassa pois reflecte a taxa específica de crescimento dos fungos (Gessner e Newell, 2002).

A estrutura das comunidades de hifomicetos aquáticos tem sido caracterizada pela identificação de estruturas de reprodução assexuada, nomeadamente pela análise das conídias libertadas das folhas e de outros materiais de origem vegetal em decomposição (Suberkropp e Klug, 1976) e presentes nas espumas (Chauvet, 1991; Rajashekhar e Kaveriappa, 1996; Descals *et al.*, 1995) e na água dos rios (Bärlocher, 1992). A taxa de esporulação dos hifomicetos aquáticos pode ser uma medida do seu potencial reprodutor e tem sido utilizada para avaliar a actividade decompositora deste grupo de fungos, uma vez que têm sido encontradas fortes relações positivas

entre as taxas de esporulação, a biomassa dos fungos e a taxa de decomposição da folhada (Gessner e Chauvet, 1994; Maharning e Bärlocher, 1996).

1.2.3. Papel dos macroinvertebrados na decomposição da folhada

Os macroinvertebrados que se encontram nos rios incluem larvas e ninfas de insectos, nomeadamente Ephemeroptera, Plecoptera, Odonata, Diptera e Trichoptera, moluscos e crustáceos (Tachet *et al.*, 1994). De acordo com o modo como se alimentam podemos classificar estes organismos segundo grupos funcionais (Merritt e Cummins, 1996):

- Predadores: obtêm o alimento a partir de tecidos vivos ou fluídos de outros animais (com os quais estabelecem uma relação de parasitismo) e a partir de animais que predam;
- Raspadores: alimentam-se do biofilme que envolve a superfície dos caules de plantas e das pedras submersas, estando dependentes da produção autóctone como fonte trófica;
- Detritívoros trituradores: alimentam-se de detritos orgânicos previamente colonizados por fungos e bactérias (como é o caso da folhada) transformando a matéria orgânica particulada grosseira, CPOM > 1mm, em matéria particulada fina, $0,45\mu\text{m} < \text{FPOM} < 1\text{mm}$ (Cummins, 1974; Maltby, 1995).
- Detritívoros colectores: alimentam-se de matéria orgânica fina (FPOM) associada ao substrato (colectores de depósito) ou em suspensão na coluna de água (colectores filtradores).

A inclusão de determinados *taxa* nos grupos funcionais acima referidos é um processo delicado uma vez que determinados organismos podem ter um comportamento oportunista ou generalista pertencendo simultaneamente a diferentes grupos funcionais. A sua versatilidade nutricional possibilita a ocupação de vários habitats de modo a compensarem qualquer tipo de deficiência na dieta (Cummins e Klug, 1979). Por vezes, na ausência de grupos tipicamente detritívoros, outros grupos tendem a actuar como tal, como testemunha um estudo feito num ribeiro onde, na ausência de tricópteros e plecópteros, os gastrópodes assumiram um comportamento detritívoro (Chergui e Pattee, 1991 *in* Graça, 2001).

Os macroinvertebrados detritívoros alimentam-se das folhas e a sua densidade tende a estar relacionada com a acumulação temporal e espacial da matéria orgânica nos rios (Graça, 2001). Os ciclos de vida de vários detritívoros estão ajustados à presença dos detritos vegetais nos rios (Cummins *et al.*, 1989) de tal modo que uma alteração na quantidade e qualidade destes recursos, em diferentes alturas do ano, pode ter efeitos dramáticos nos padrões de crescimento e desenvolvimento destes animais. A quantidade e diversidade dos detritos alóctones disponíveis nos rios para consumo pelos macroinvertebrados depende do tipo de vegetação e da capacidade de retenção do rio (Abelho e Graça, 1996). Quanto mais diversa é a vegetação ripícola maior é a quantidade de detritos o que se traduz num período mais longo de abundância de alimento.

Em zonas temperadas, a queda das folhas e consequente entrada nos cursos de água é sazonal o que condiciona o alimento disponível para os detritívoros (Abelho e Graça, 1996). A matéria orgânica alóctone, sob a forma de partículas orgânicas finas e de partículas orgânicas grosseiras, constitui uma fonte alimentar para os macroinvertebrados, especialmente depois da colonização pelos fungos (Bärlocher, 1992; Suberkropp, 1998; Graça, 2001).

1.2.4. Factores que influenciam a decomposição da folhada

Tem sido demonstrado que a decomposição da folhada é afectada por factores extrínsecos, como a temperatura da água (Chauvet e Suberkropp, 1998), a concentração dos nutrientes (Suberkropp e Chauvet, 1995; Grattan e Suberkropp, 2001; Gulis e Suberkropp, 2003), o pH e a alcalinidade (Bärlocher, 1992) e por factores intrínsecos à própria folha como, por exemplo, a razão C/N, o conteúdo em lenhina (Royer e Minshall, 2001) e o conteúdo em compostos fenólicos (Bärlocher *et al.*, 1995; Canhoto e Graça, 1999).

1.2.4.1. Factores extrínsecos

As características físico-químicas da água podem ser importantes factores reguladores da decomposição da folhada nos rios uma vez que afectam a actividade dos fungos decompositores (Suberkropp e Chauvet, 1995). A ocorrência e a

distribuição dos hifomicetos aquáticos é condicionada pela temperatura. Algumas espécies são mais comuns em climas temperados enquanto que outras são mais comuns nos trópicos (Bärlocher, 1992). Em climas temperados podem ocorrer sucessões sazonais na composição em espécies, com espécies tropicais a dominarem no Verão e estando ausentes no Inverno. Para algumas espécies constatou-se que um aumento da temperatura se traduziu num aumento da actividade microbiana decompositora e, consequentemente, num aumento da decomposição da folhada (Chauvet e Suberkropp, 1998).

A actividade dos fungos no processo de decomposição da folhada é também afectada pela concentração de nutrientes dissolvidos na água, como demonstram estudos feitos por diversos autores em que as taxas de decomposição da folhada foram estimuladas pela adição de nutrientes, nomeadamente azoto e/ou fósforo (Suberkropp e Chauvet, 1995; Grattan e Suberkropp, 2001; Gulis e Suberkropp, 2003).

Estudos efectuados por Suberkropp (1991) revelaram que a biomassa, a actividade e número de espécies de fungos associados a folhas em decomposição é também influenciada pela dureza da água. Verificou-se que a decomposição foi superior em águas duras (Suberkropp e Chauvet, 1995), o que poderá ser o resultado da melhor dissolução dos macro e micronutrientes nestas condições.

O pH é outro factor que parece afectar a actividade e distribuição dos fungos. Rios com valores de pH próximos da neutralidade e/ou ligeiramente alcalinos parecem favorecer a actividade das pectinases dos hifomicetos aquáticos que colonizam as folhas, explicando a maior concentração de conídias nesses rios (Chamier, 1992). Além disso, tem sido encontrada baixa riqueza em espécies e baixas taxas de decomposição em rios ácidos (Chamier, 1992).

A velocidade da corrente pode acelerar o processo de decomposição pelo efeito abrasivo da água sob as folhas (Vingada, 1995). Outro factor importante que condiciona a decomposição da folhada é a tipologia do rio, nomeadamente o seu caudal e a sua capacidade de retenção (por exemplo, Thompson e Bärlocher, 1989; Cortes *et al.*, 1995).

1.2.4.2. Factores intrínsecos: especial referência a *Eucalyptus globulus* Labill.

O processo de decomposição da folhada depende do conteúdo em nutrientes (Royer e Minshall, 2001; Sampaio *et al.*, 2001) e das defesas químicas (Bärlocher *et al.*, 1995; Sampaio *et al.*, 2001) das folhas que são diferentes consoante a espécie vegetal.

As folhas de *E. globulus* apresentam características próprias, sendo particularmente ricas em compostos polifenólicos e em óleos (Bärlocher *et al.*, 1995; Graça *et al.*, 2002) e foi demonstrado que estes compostos inibem o crescimento dos fungos (Canhoto e Graça, 1995; Canhoto e Graça, 1999) e a sua actividade enzimática (Canhoto *et al.*, 2002). A colonização mais lenta das folhas de eucalipto pelos fungos, comparativamente, por exemplo, à do amieiro, para além de estar relacionada com a acção antimicrobiana dos compostos fenólicos, é também condicionada pela presença de uma cutícula cerosa espessa que constitui uma barreira física ao ataque pelos fungos (Canhoto e Graça, 1999).

Um outro constituinte abundante nas folhas do eucalipto é a lenhina que, sendo resistente à degradação enzimática, dificulta o acesso dos microrganismos à celulose presente nas folhas, condicionando a sua actividade (Royer e Minshall, 2001). O conteúdo em lenhina foi o factor mais importante que controlou a taxa de decomposição das folhas de sete espécies caducifólias (Gessner e Chauvet, 1994). O conteúdo em lenhina parece ser melhor indicador da qualidade da folha do que o seu conteúdo em azoto, principalmente quando a decomposição não está limitada por nutrientes, como o azoto e o fósforo (Royer e Minshall, 2001).

Constata-se que folhas ricas em nutrientes, como carbono, azoto e fósforo, tendem a decompor-se mais rapidamente comparativamente a outras com menor valor nutritivo (Pozo *et al.*, 1998). As taxas de decomposição da folhada de 48 espécies de folha caduca correlacionaram-se positivamente com a concentração inicial de azoto e de fósforo nas folhas, bem como com a razão C/N na folha Ostrofsky (1997). As folhas de eucalipto são pobres em azoto e fósforo quando comparadas, por exemplo, com as de amieiro (Sampaio *et al.*, 2001), o que pode explicar a mais lenta velocidade de decomposição da folha de *E. globulus* comparativamente à de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (Canhoto e Graça, 1996; Pozo *et al.*, 1998; Sampaio *et al.*, 2001).

A colonização da folhada de eucalipto pelos hifomicetos parece ser mais tardia do que a do amieiro (Bärlocher *et al.*, 1995), o que poderá afectar a comunidade de macroinvertebrados uma vez que os fungos são importantes mediadores da transferência de energia das folhas para os detritívoros. Abelho e Graça (1996) constatarem que, no Inverno, os rios que atravessam plantações de eucalipto têm um menor número e menor diversidade de macroinvertebrados do que os rios que percorrem florestas de folha caduca. No entanto, estudos da colonização de folhas de eucalipto por hifomicetos aquáticos demonstram riqueza em espécies semelhante no eucalipto e no amieiro e uma produção de esporos ligeiramente superior no eucalipto (Bärlocher *et al.*, 1995) o que sugere que, à semelhança de espécies nativas, o eucalipto constitui um substrato adequado para a colonização pelos fungos.

1.3. Objectivos

O objectivo deste trabalho foi analisar a dinâmica de colonização e de decomposição da folhada de *Eucalyptus globulus* Labill. por fungos aquáticos e por macroinvertebrados em dois rios do noroeste de Portugal, o rio Este e o rio Guisande. Para isso, folhas de eucalipto, colocadas em sacos de malha fina (0,5 mm²) e de malha grossa (10 mm²), foram imersas nos rios e o processo de decomposição foi acompanhado ao longo de 12 semanas, avaliando: i) a perda de massa foliar, ii) a biomassa de fungos, as taxas de esporulação e a diversidade da comunidade de hifomicetos aquáticos associados às folhas, e iii) a estrutura da comunidade de macroinvertebrados associados às folhas em decomposição. Além disso, foi avaliada a qualidade da água dos rios em estudo com base nas comunidades de macroinvertebrados colonizadoras da folhada e em parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e locais de amostragem

A área de estudo localiza-se na freguesia de Arnoso - Santo Eulália, em Famalicão, numa zona de exploração agrícola. As experiências decorreram no Rio Este e num afluente do Este, o Rio Guisande. Na tabela 1 referem-se as principais características dos locais de amostragem.



Figura 1 – Rio Este; onde é visível a vegetação ribeirinha de copa larga.



Figura 2 – Rio Guisande; leito mais estreito e vegetação mais rasteira.

Tabela 1 –Caracterização dos locais de amostragem.

Local de amostragem	Número de ordem	Profundidade (m)	Largura (m)	Velocidade da corrente (cm s ⁻¹)	Vegetação ripícola	Tipo de substrato
Rio Este	1	1,5-3	10 - 15	Lenta (12,7)	Estrato arbóreo abundante (cerca de 50% de cobertura) e de copa relativamente larga	Fundo lodoso
Rio Guisande	2	0,3-0,5	2,5 - 4	Média (27)	Rasteira; confinada às margens	Gravilha, vegetação

No troço do rio Este, a vegetação ribeirinha apresenta alteração antropogénica. A cobertura arbórea é representada maioritariamente por *Populus nigra* e *Alnus glutinosa* ocorrendo também, embora mais raramente, *Salix atrocinerea*. A cobertura arbustiva consiste em *Salix x crisochoma*, *A. glutinosa*, *Quercus robur* e *Vitis vinifera*. Em termos de herbáceas, no local registou-se a presença de *Iris pseudacorus* no leito do rio e de gramíneas no campo agrícola adjacente até ao limite das margens. No rio Guisande, a vegetação ribeirinha já não é tão abundante, não existindo cobertura arbórea. Em termos de arbustos ocorrem *S. atrocinerea*, *V. vinifera*, *A. glutinosa*, *Rumex* sp., *Oenanthe crocata*, *Polypodium* sp. e gramíneas de campo.

Ambos os locais sofreram alteração da vegetação ribeirinha original, embora seja mais nítida no rio Guisande, onde a degradação é maior que no rio Este.

2.2. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos

Nos locais de amostragem, aquando da recolha dos sacos de folhada foram feitas análises, *in situ*, aos parâmetros físico-químicos da água (sonda WTW-Multiline F/set 3 n° 400327), como o pH, a temperatura, a condutividade, oxigénio dissolvido, a velocidade da corrente (Mechanical Flowmeter, Model 2030R, General Oceanics Inc.) e a dureza da água (Método La Motte – Hardness Test Kit: Model PHT-CM-DR-LT 4824-DR-LT). Em dois tempos de amostragem (4/12/01 e 14/02/02), foram efectuadas colheitas de água em recipientes esterilizados e mantidos a uma temperatura de 4°C para posteriormente, no Laboratório de

Microbiologia do Departamento de Biologia da Universidade do Minho, serem analisados os parâmetros Carência Química em Oxigénio (CQO), nitratos (NO_3^-), fosfatos (PO_4^{3-}) e os parâmetros microbiológicos heterotróficos totais, coliformes totais e coliformes fecais.

A carência química de oxigénio (CQO) mede a quantidade de oxigénio necessária para oxidar a matéria orgânica existente na água, utilizando um oxidante forte, o dicromato de potássio (Metcalf e Eddy, 1991). Este parâmetro indica a quantidade de matéria orgânica presente na água. Os resultados expressam-se em $\text{mg O}_2 \text{l}^{-1}$.

Os fosfatos foram determinados usando o reagente de molibdato através de um kit, cuja referência é WTW - n.º 250366 modelo P4 – 25.

Para a análise dos nitratos utilizou-se o método de redução do cádmio seguido de medição colorimétrica com o espectofotómetro HACH, usando como reagente o *Nitra Ver5 Nitrat Reagent Powder Pillow* para gamas de azoto entre 0 e 30 mg l^{-1} , referência n.º 14034-66 de HACH. O procedimento correspondeu ao método n.º 8039 do Manual do utilizador da HACH.

A densidade de bactérias heterotróficas totais foi determinada por contagem em meio de cultura PCA (Plate Count Agar) da Merck, de acordo com o “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998). Após inoculação as culturas foram incubadas a 22°C durante 72 horas, efectuou-se a contagem das colónias e os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colónias (UFC) ml^{-1} .

Para a identificação dos coliformes fecais e totais utilizou-se meio de cultura Chromocult Coliform Agar (Merck). Este meio contém uma mistura cromogénica que permite detectar simultaneamente coliformes totais (colónias de cor vermelha) e *Escherichia coli* (colónias de cor azul-violeta). As placas foram inoculadas e incubadas a 37°C durante 48 horas.

Para determinação dos coliformes fecais foi usado o meio Bacto Endo Agar e as culturas foram incubadas a 37°C durante 48 horas. Os resultados foram expressos como UFC ml^{-1} .

2.3. Preparação dos sacos de folhada, colocação e recolha

Construíram-se 48 sacos de rede de plástico com malha de 0,5 mm² (malha fina) e sacos de rede plástica com malha de 10 mm² (malha grossa) (figura 3). Em cada saco foram colocados 4 g de folhas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto).

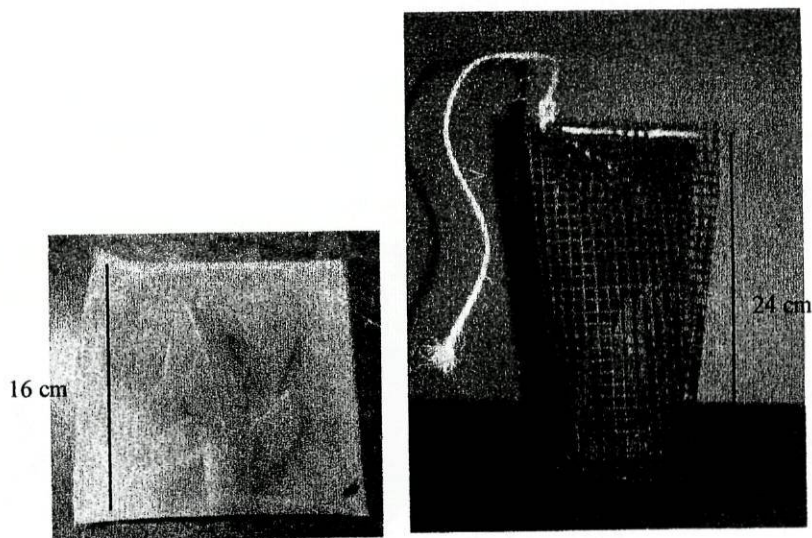


Figura 3 – Sacos de malha fina (à esquerda) e de malha grossa (à direita).

As folhas foram colhidas antes da senescência e foram armazenadas num local fresco, seco e arejado. Imediatamente antes de serem utilizadas foram secas numa estufa durante 48 horas a uma temperatura de 50°C. Depois de cheios, os sacos foram cosidos no topo com fio de nylon (sacos de malha fina) ou com corda (sacos de malha grossa) de modo a que os respectivos conteúdos não saíssem.

No dia 22 de Novembro de 2001 foram colocados nove grupos de três réplicas de cada tipo de saco nos dois locais de amostragem (dispostos ao longo de 10 metros no rio Guisande e ao longo de 50 metros no rio Este). Em cada rio os sacos foram colocados em zonas relativamente homogéneas para que mais tarde os resultados pudessem ser facilmente comparáveis. Os sacos foram colocados no rio presos às margens com fio de nylon e de modo a ficarem mergulhados na água. No dia de colocação dos sacos nos rios foi retirado da água o primeiro grupo de réplicas (após 20 minutos de imersão) que viria a constituir o valor da massa foliar inicial. As colheitas decorreram entre Novembro de 2001 e Fevereiro de 2002, nos tempos de amostragem seguintes: 0, 5, 12, 19, 26, 41, 47, 54 e 84 dias. No momento de recolha das amostras três sacos de cada malha foram retirados do rio e devidamente

acondicionados em sacos plásticos etiquetados. O transporte para o laboratório foi efectuado numa mala térmica (4°C).

2.4. Determinação da massa foliar seca e da AFDM

No laboratório, as folhas foram cuidadosamente lavadas e os macroinvertebrados associados foram retirados (secção 2.5). As folhas foram cortadas em discos (12 mm de diâmetro) e subamostras foram colocadas em placas de Petri e secas durante pelo menos 48 horas numa estufa a 50°C até atingirem peso constante (Grubbs e Cummins, 1994). Para determinar a massa seca livre de cinzas (Ash Free Dry Mass - AFDM), subamostras de discos de folhas foram queimadas a 500°C, de acordo com o protocolo proposto por Benfield (1996).

2.5. Macroinvertebrados associados às folhas

No laboratório o conteúdo dos sacos foi despejado num jogo de crivos com malhas de 850 µm e 355 µm e o material resultante desta selecção foi colocado em frascos de vidro devidamente identificados e conservado em álcool a 70% para, a curto prazo, se proceder à triagem e identificação dos indivíduos. Todos os organismos foram identificados, sempre que possível, até ao nível do género por se considerar a diversidade genérica muito próxima da estrutura específica da comunidade (Kaesler *et al.*, 1978). A identificação foi feita usando uma lupa binocular.

2.6. Hifomicetos aquáticos associados às folhas

2.6.1. Determinação das taxas de esporulação

Após a lavagem das folhas cortaram-se 15 discos (com 12 mm de diâmetro) de folhada de cada saco que foram colocados em Erlenmeyers de 100 ml, devidamente marcados, contendo 40 ml de água do rio dos respectivos locais, filtrada sequencialmente por membranas com poro de 0,45 e 0,20 µm diâmetro. O conteúdo dos Erlenmeyers foi arejado durante 48 horas recorrendo a uma bomba de aquário.

Após este período, adicionaram-se a cada amostra umas gotas de Polisorbato 80 (Uniqema) a 20% para assegurar uma distribuição uniforme dos esporos em cada uma das réplicas e perfez-se o volume com água desionizada. De seguida filtrou-se um volume apropriado de suspensão através de membranas (poro com 5 μ m de diâmetro) que foram montadas entre lâmina e lamela e coradas com azul de algodão (Mickroskope) preparado em ácido láctico (Merck). As preparações foram armazenadas a 4°C e posteriormente foi feita a identificação e contagem dos esporos ao microscópio óptico (Leica Biomed). Sempre que possível foram contados e identificados pelo menos 300 esporos. Os resultados foram expressos em conídias mg^{-1} AFDM d^{-1} .

2.6.2. Determinação da biomassa dos fungos por quantificação do ergosterol

A biomassa viva de fungos presente nas folhas em decomposição nos dois locais de amostragem, foi avaliada pela quantificação de ergosterol, de acordo com o procedimento experimental descrito por Gessner e Newell (2002).

De cada réplica foram cortados 8 discos de folha que foram colocados em 5 ml de uma solução 0,8% de KOH em metanol e armazenados a -20°C até ao momento de extracção do ergosterol.

O conteúdo dos frascos foi transferido para tubos de vidro resistentes a altas pressões devidamente etiquetados e os frascos de armazenamento foram lavados com 5 ml da solução de KOH em metanol (0,8%). Depois de bem fechados os tubos de vidro foram colocados em banho-maria a 80°C durante 30 minutos e posteriormente colocados durante 20 minutos em gelo. Em cada série de extracção foram usadas folhas não colonizadas que, à partida, não continham ergosterol e às quais foi adicionada uma solução de ergosterol preparada em KOH-metanol de concentração conhecida de modo a determinar a eficiência do processo de extracção.

Os cartuxos de extracção de fase sólida (Waters Sep-Pak) foram condicionados fazendo passar por cada um deles, através de um fluxo criado por uma bomba de vácuo, 7,5 ml de metanol seguidos de 7,5 ml de uma solução solvente (1 parte de metanol + 5 partes de KOH-metanol + 1 parte de 0,65 M HCl; pH < 2,7). Este condicionamento foi feito tendo o cuidado de nunca deixar secar os cartuxos. Os

extractos lipídicos foram transferidos para cartuxos e os tubos de vidro foram lavados duas vezes com 1 ml de metanol de modo a evitar perdas de extracto. Antes de se iniciar o fluxo foram adicionados a cada cartuxo 2 ml de HCl (Merck) 0,65 M o que permitiu baixar o pH da solução. Finalmente deu-se início ao fluxo ligando o vácuo e abrindo as torneiras, tentando ajustá-lo a 1 ml min^{-1} . Após completa eluição das amostras procedeu-se à lavagem da resina de cada cartuxo com 2,5 ml de solução de lavagem (0,4 M KOH em metanol:H₂O (6:4; vol:vol). No final deixou-se secar a resina dos cartuxos durante 90 minutos, mantendo o vácuo do sistema no máximo.

A eluição do ergosterol foi feita fazendo passar quatro vezes por cada cartuxo 400 μl de solução de isopropanol mantendo sempre um fluxo de 1 ml min^{-1} . O ergosterol foi recolhido em frascos de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), previamente pesados que foram fechados com as respectivas tampas, novamente pesados e o volume da solução foi calculado ($\delta_{\text{isopropanol}}=1,27\text{ g cm}^{-3}$ a 25°C). A separação do ergosterol dos restantes lípidos foi feita por HPLC. Usou-se o sistema cromatográfico Gold Beckman, consistindo numa bomba (modelo 126) e num detector de UV (modelo 166), ligados a um computador que operou como sistema de controlo. A coluna usada, RP18 Lichrospher, protegida por colunas guarda C18, possuía um comprimento de 25 cm e um diâmetro interno de 4,6 mm. A cromatografia foi efectuada nas seguintes condições: fase móvel, 100% metanol para HPLC; fluxo, $1,4\text{ ml min}^{-1}$; temperatura da coluna, 33°C ; comprimento de onda, 282 nm e volume de injeção, 30 μl .

Cada amostra foi injectada duas vezes e uma vez completada a corrida identificaram-se os picos de ergosterol nos cromatogramas. Para cada pico de ergosterol foi calculada a área e determinada a concentração do ergosterol com base numa curva padrão. Foram preparadas soluções de ergosterol em isopropanol (0; 2,5; 5; 10; 20; 40 e 80 $\mu\text{g l}^{-1}$) para construção da curva padrão. Os resultados foram expressos em termos de μg de ergosterol g^{-1} AFDM.

2.7. Análise e tratamento estatístico dos dados

As taxas de decomposição das folhas de eucalipto foram calculadas por regressão linear, após logaritmização dos valores da percentagem da massa seca livre de cinzas (AFDM-Ash free dry mass) em função do tempo (Webster e Benfield,

1986), de acordo com o seguinte modelo de decaimento exponencial (Petersen e Cummins, 1974):

$$W_t = W_0 e^{-kt}$$

em que W_t = massa no tempo t ; W_0 = massa no tempo 0; k = coeficiente de decomposição e t = tempo em dias.

De acordo com Petersen e Cummins (1974) classificam-se as taxas de decomposição da folhada em rápidas ($k > 0,01 \text{ d}^{-1}$), médias ($0,005 < k < 0,01 \text{ d}^{-1}$) ou lentas ($k < 0,005 \text{ d}^{-1}$).

Para testar a existência de diferenças significativas entre as taxas de decomposição da folhada efectuaram-se análises de covariância (ANCOVA) que compararam os declives das rectas de decaimento, seguidas do teste de comparações múltiplas Tukey HSD (Honestly Significant Differences) para saber onde se localizavam as diferenças (Zar, 1996).

Para analisar os dados referentes aos macroinvertebrados amostrados utilizaram-se medidas de diversidade, índices bióticos e procedeu-se ao agrupamento dos macroinvertebrados em grupos funcionais de acordo com Merritt e Cummins (1996). As famílias com apenas um indivíduo não foram consideradas para o cálculo dos índices.

O Índice de Margalef (M) estabelece a relação entre a riqueza em taxa e o logaritmo do número de indivíduos, segundo a seguinte equação (Margalef, 1958):

$$M = (S - 1) / \ln N$$

em que S = número total de taxa e N = número total de indivíduos amostrados

O Índice de Shannon (H') é uma medida de diversidade que é dada pela fórmula (Wilhm e Dorris, 1968):

$$H' = \sum p_i \times (\log_2 p_i)$$

em que p_i = frequência relativa do *taxon* i e S = número total de taxa

O Índice de Equitabilidade de Pielou (E) mede a abundância relativa das espécies e é dado por (Washington, 1984):

$$E = H' / H'_{\text{máx}}$$

em que H' = Índice de diversidade de Shannon, $H'_{\text{máx}} = \log_2 S$ e S = número total de taxa

O IBB (Índice Biótico Belga) baseia-se na análise da sensibilidade dos macroinvertebrados à poluição. Para o cálculo do IBB é utilizada uma tabela de dupla entrada, que tem em linha de conta o número de unidades sistemáticas e a tolerância dos grupos faunísticos à poluição. Os valores do IBB variam de 0 - poluição grave a 10 - boa qualidade da água (De Pauw e Vanhooren, 1983).

O índice BMWP' (Biological Monitoring Working Party adaptado à Península Ibérica) é calculado com base na atribuição de uma pontuação a cada uma das famílias de macroinvertebrados amostradas que reflecte o respectivo grau de intolerância à poluição. O valor do índice obtém-se pela soma da pontuação correspondente a cada família (Alba-Tercedor e Sanchez-Ortega, 1988; Rico *et al.*, 1992).

O índice ASPT' obtém-se da divisão da pontuação obtida no BMWP' pelo número de famílias presentes, resultando numa pontuação média por *taxon* (Armitage *et al.*, 1983; Alba-Tercedor e Sanchez Ortega, 1988). Tem a vantagem de ser menos sensível que o BMWP' ao esforço e tipo de amostragem (Muñoz *et al.*, 1995).

A %EPT corresponde à percentagem de ocorrência das famílias Ephemeroptera, Plecoptera e Tricoptera presentes na amostra e dá indicação do grau de alteração da qualidade da água. Valores de %EPT elevados traduzem a existência de organismos sensíveis, isto é, boa qualidade da água.

Para analisar a dinâmica de distribuição dos fungos e dos macroinvertebrados associados às folhas no rio Este e no rio Guisande ao longo dos tempos de amostragem recorreu-se a uma Análise de Correspondências – AC (Volle, 1993), após a seguinte transformação dos dados $y' = \ln(y+1)$. A análise foi feita utilizando o pacote estatístico ADE-4 (Thioulouse *et al.*, 1996) para Macintosh.

Para testar a existência de diferenças significativas entre as taxas de esporulação e entre a biomassa dos fungos associados à folhada utilizou-se o test-t emparelhado para discriminar as diferenças observadas entre as malhas e entre os rios. Foi aplicada a transformação $y' = \ln(y+1)$ para assegurar a normalidade na distribuição dos dados e a homogeneidade na variância (Zar, 1996). A análise estatística univariada foi realizada recorrendo ao pacote estatístico GraphPad Prism 3.0.2 para Macintosh.

3. RESULTADOS

3.1. Características físicas, químicas e microbiológicas da água do rio Este e do rio Guisande

Na tabela 1 apresentam-se os resultados das análises físicas, químicas e microbiológicas das amostras de água recolhidas no rio Este e no rio Guisande.

Tabela 1 – Características físicas, químicas e microbiológicas da água do rio Este e do rio Guisande, durante o período de estudo. Os dados representam valores médios com a gama de variação entre parêntesis.

Parâmetros		Rio Este	Rio Guisande
pH ***		6,8	6,1
		(6,6-6,9)	(5,7-6,4)
Temperatura ***** (°C)		9,7	9,4
		(6,6-11,8)	(7,3-11,3)
Velocidade da corrente (cm s ⁻¹) *		12,7	27
Condutividade ***** (μS cm ⁻¹)		226	131
		(207-251)	(122-142)
Oxigénio dissolvido ****	mg l ⁻¹	8,7 (6,0-10,2)	10,7 (9,4-13,8)
	% saturação	75,5 (60,3-86,8)	89,8 (74,6-113,5)
CQO ** (mg O ₂ l ⁻¹)		13 (7-19)	11 (7-15)
Nitratos ** (mg NO ₃ ⁻ l ⁻¹)		15	17,5 (16-19)
Fosfato ** (mg PO ₄ ³⁻ l ⁻¹)		1,48 (1,39-1,57)	0,36 (0,22-0,50)
Magnésio (p.p.m.) *		12	19
Cálcio (p.p.m.) *		28	10
Heterotróficos totais ** (UFC ml ⁻¹)		31,2×10 ³ (12,2-19,0 ×10 ³)	0,21×10 ³ (0,14-0,28 ×10 ³)
Coliformes totais ** (UFC ml ⁻¹)		0,31×10 ³ (0,12-0,50 ×10 ³)	<1
Coliformes fecais ** (UFC ml ⁻¹)		0,21×10 ³ (0,01-0,41 ×10 ³)	<1

número de amostras: * n=1; ** n=2; *** n=4; ***** n=5; **** n=6

O valor de pH no rio Este foi ligeiramente superior (pH 6,8) ao do rio Guisande (pH 6,1). Relativamente à temperatura, os valores registados não foram muito diferentes nos dois locais e estavam de acordo com a estação do ano. O rio Este apresentou valores de condutividade superiores ($226 \mu\text{g cm}^{-1}$) aos do rio Guisande ($131 \mu\text{g cm}^{-1}$). O valor médio de fosfato no rio Este foi cerca de quatro vezes superior ($1,48 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{ l}^{-1}$) ao do rio Guisande ($0,36 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{ l}^{-1}$). A nível do oxigénio dissolvido na água também se verificaram diferenças, tendo sido registados valores superiores no rio Guisande. A velocidade da corrente da água nos dois locais de estudo foi diferente, tendo sido medidos valores de $12,7 \text{ cm s}^{-1}$ e 27 cm s^{-1} , respectivamente nos rios Este e Guisande. Por outro lado, os valores de CQO (carência química de oxigénio), nitratos e magnésio medidos na água dos dois rios não foram muito diferentes durante o período de estudo. Da análise dos parâmetros físico-químicos da água constatou-se que foi ao nível da condutividade, do fosfato, do cálcio e da velocidade da corrente que melhor se distinguiram os dois locais.

Relativamente aos parâmetros microbiológicos verificou-se que a concentração dos heterotróficos totais foi cerca de 150 vezes superior na água do rio Este em relação à do rio Guisande. Também ao nível dos coliformes totais e fecais se registaram valores superiores no rio Este.

3.2. Perda de massa da folhada de eucalipto no rio Este e no rio Guisande

Na figura 1 está representada a perda de massa da folhada de *Eucalyptus globulus*, colocada em sacos de malha fina e de malha grossa, durante o período de imersão no rio Este e no rio Guisande. No final do período de exposição, a folhada imersa no rio Guisande reteve 13% e 6% da AFDM (Ash free dry mass - massa seca livre de cinzas) inicial, respectivamente nos sacos de malha fina e de malha grossa. Nos últimos tempos de exposição da folhada no rio Guisande as folhas apresentavam-se já muito decompostas ficando só as respectivas nervuras nos sacos (figura 2). No rio Este a perda de massa foliar foi menos acentuada, tendo ficado retida 47% e 34% da AFDM inicial, respectivamente nos sacos de malha fina e de malha grossa. Assim, verificou-se uma maior perda de massa foliar no rio Guisande do que no rio Este.

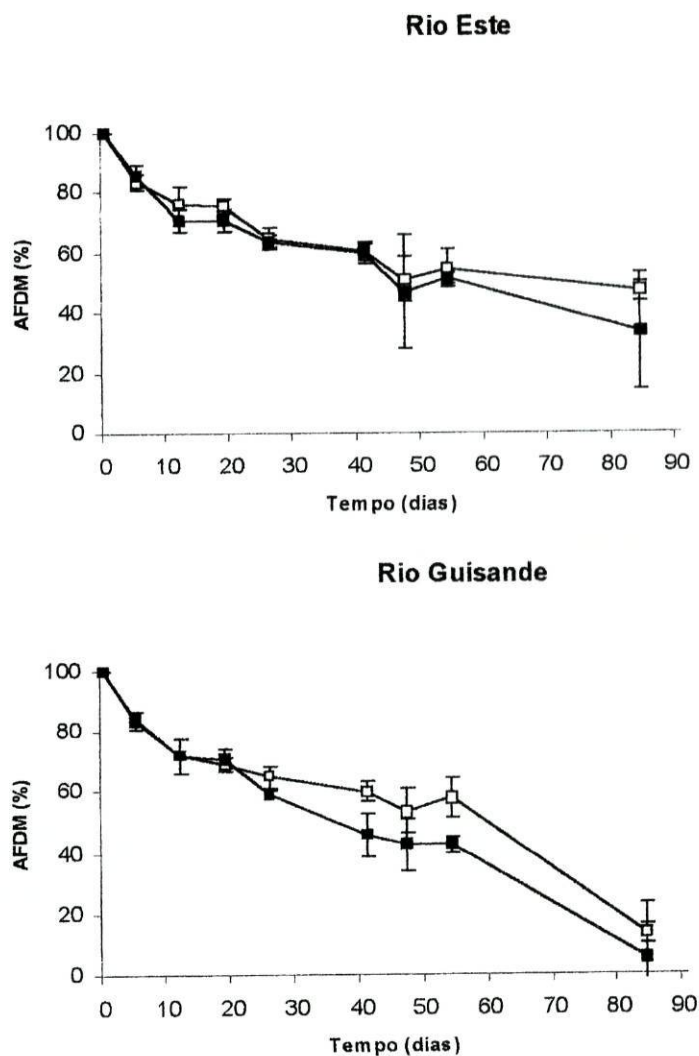


Figura 1 – Percentagem média de AFDM da folhada de eucalipto retida em sacos de malha fina (□) e de malha grossa (■) durante o tempo de imersão nos dois rios. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão ($n=3$).

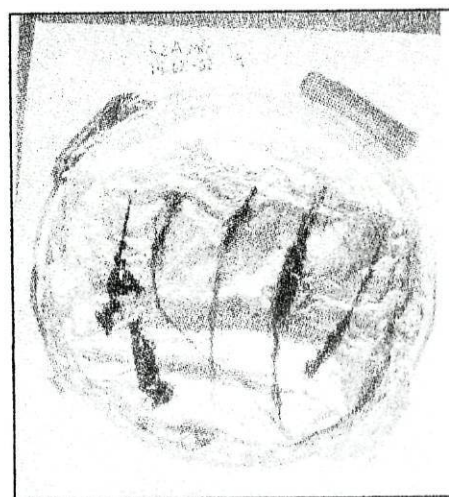


Figura 2 - Folhas de eucalipto após 12 semanas de exposição no rio Guisande, em sacos de malha grossa.

As taxas de decomposição das folhas de eucalipto no rio Este e no Guisande, apresentam-se na tabela 2 e os valores variaram entre $0,009 \text{ d}^{-1}$ e $0,029 \text{ d}^{-1}$. A análise de covariância revelou existirem diferenças significativas entre os valores das taxas de decomposição da folhada nos dois rios (ANCOVA, $F=20,6$; $p<0,0001$), tendo sido significativamente superiores no rio Guisande (Tukey, $p<0,05$). No rio Guisande, as taxas de decomposição da folhada colocada nos sacos de malha grossa foram significativamente mais elevadas do que as obtidas com sacos de malha fina (Tukey, $p<0,05$). No entanto, no rio Este não se verificaram diferenças significativas entre as taxas de decomposição da folhada colocada nos dois tipos de malha (Tukey, $p>0,05$).

Tabela 2 – Taxas de decomposição (d^{-1}) da folhada de eucalipto colocada em sacos de malha fina e de malha grossa, no rio Este e no rio Guisande.

Local	Tipo de malha	$k \pm \text{EP} (\text{d}^{-1})$	n	r^2
Rio Este	Fina	$0,009 \pm 0,0008^a$	27	0,82
	Grossa	$0,011 \pm 0,0011^a$	27	0,78
Rio Guisande	Fina	$0,019 \pm 0,0020^b$	27	0,79
	Grossa	$0,029 \pm 0,0027^c$	27	0,82

n = tamanho da amostra ; r^2 = coeficiente de determinação; EP= erro padrão
Letras diferentes traduzem diferenças significativas entre as taxas (Tukey, $p<0,05$).

3.3. Macroinvertebrados associados à folhada em decomposição

Na figura 3 está representada a densidade média de macroinvertebrados amostrados e a riqueza em taxa ao longo do tempo de decomposição nos rios estudados. No rio Este, os valores máximos da densidade média de macroinvertebrados colonizadores da folhada ocorreram aos 41 e aos 54 dias de imersão, correspondendo respectivamente a 81 e 84 indivíduos. Neste local, a riqueza em taxa foi máxima ao fim de 12 e de 54 dias, onde foram amostrados 8 taxa. No rio Guisande a densidade máxima de indivíduos (48 indivíduos) ocorreu aos 41 dias de imersão da folhada no rio e coincidiu com o valor máximo de riqueza em taxa (9 taxa). No rio Guisande observaram-se valores máximos de riqueza em macroinvertebrados superiores aos do rio Este e valores máximos de densidade

inferiores. De um modo geral, o aumento da densidade de indivíduos foi acompanhado pelo aumento da riqueza em taxa.

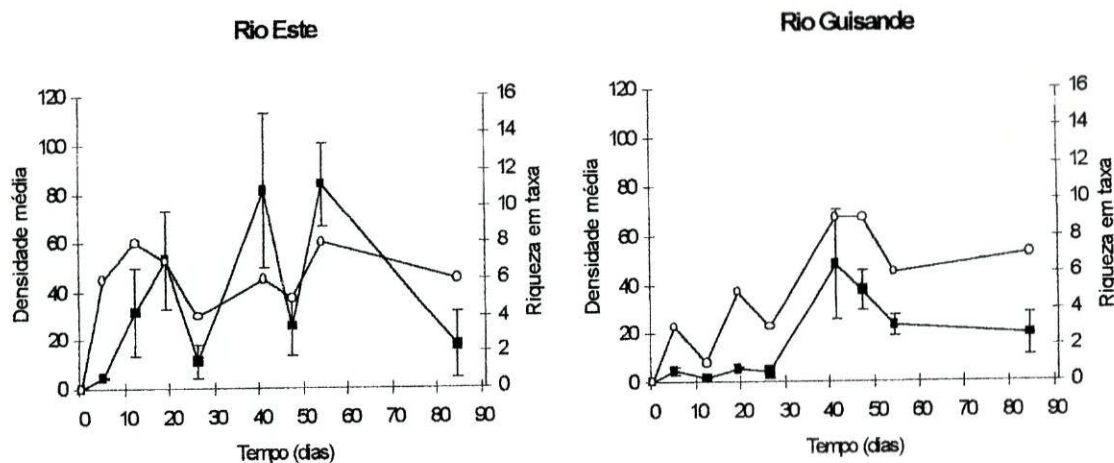
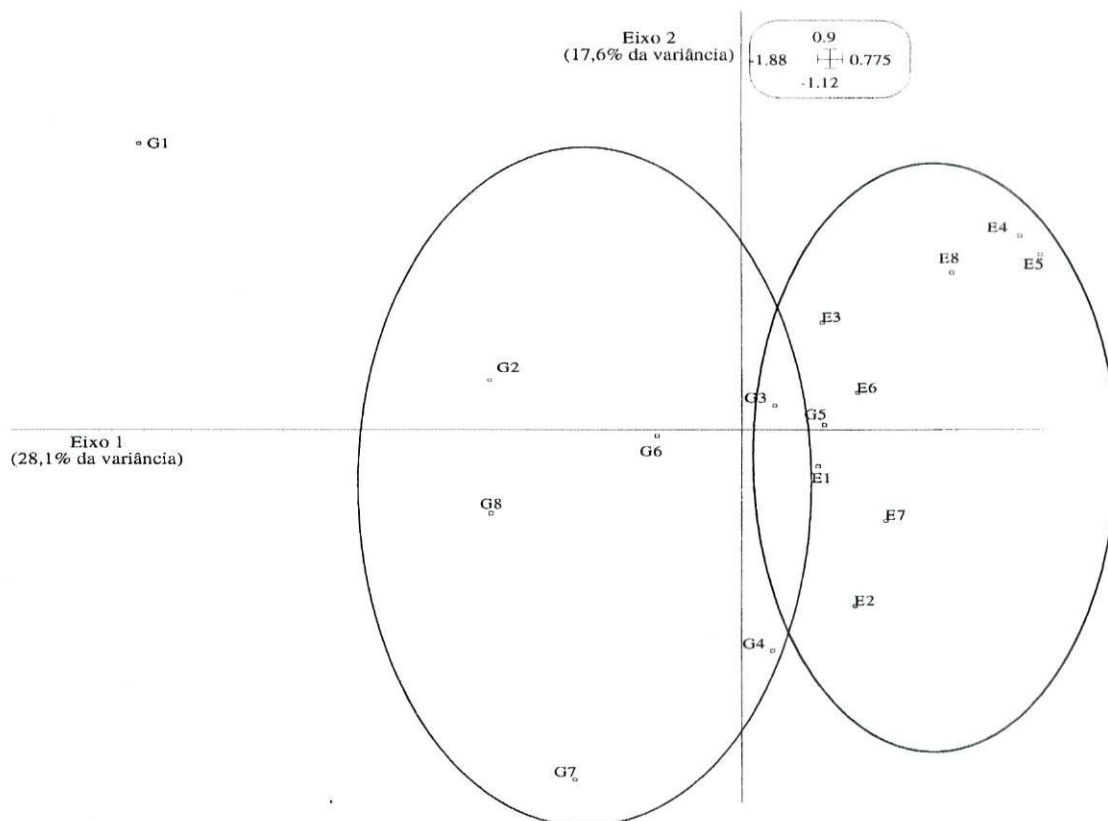


Figura 3 – Densidade média (n.º médio de indivíduos por saco $\pm$ EP) (■) e riqueza em taxa (○) dos macroinvertebrados associados à folhada de eucalipto em decomposição no rio Este e no rio Guisande. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão ($n=3$).

Uma Análise de Correspondências foi utilizada para ordenar a comunidade dos macroinvertebrados em função dos locais e dos tempos de amostragem. O resultado da análise (figura 4 A e B) mostrou que o primeiro eixo factorial explicou 28,1% da variância total e o segundo eixo 17,6%. O eixo 1 pareceu separar as comunidades de macroinvertebrados associadas ao rio Este das do rio Guisande. As famílias Baetidae, Leptophlebiidae, Rhyacophilidae e Caenidae só estavam presentes no rio Guisande e as famílias Dryopoidea, Dysticidae, Physidae e Tubificidae estavam principalmente associadas ao rio Este.

Os macroinvertebrados amostrados no rio Este e no rio Guisande foram classificados de acordo com os seus grupos funcionais. Em ambos os rios foi observada a dominância dos colectores, correspondendo, pelo menos, a 80% do total de indivíduos amostrados (figura 5).

A



B

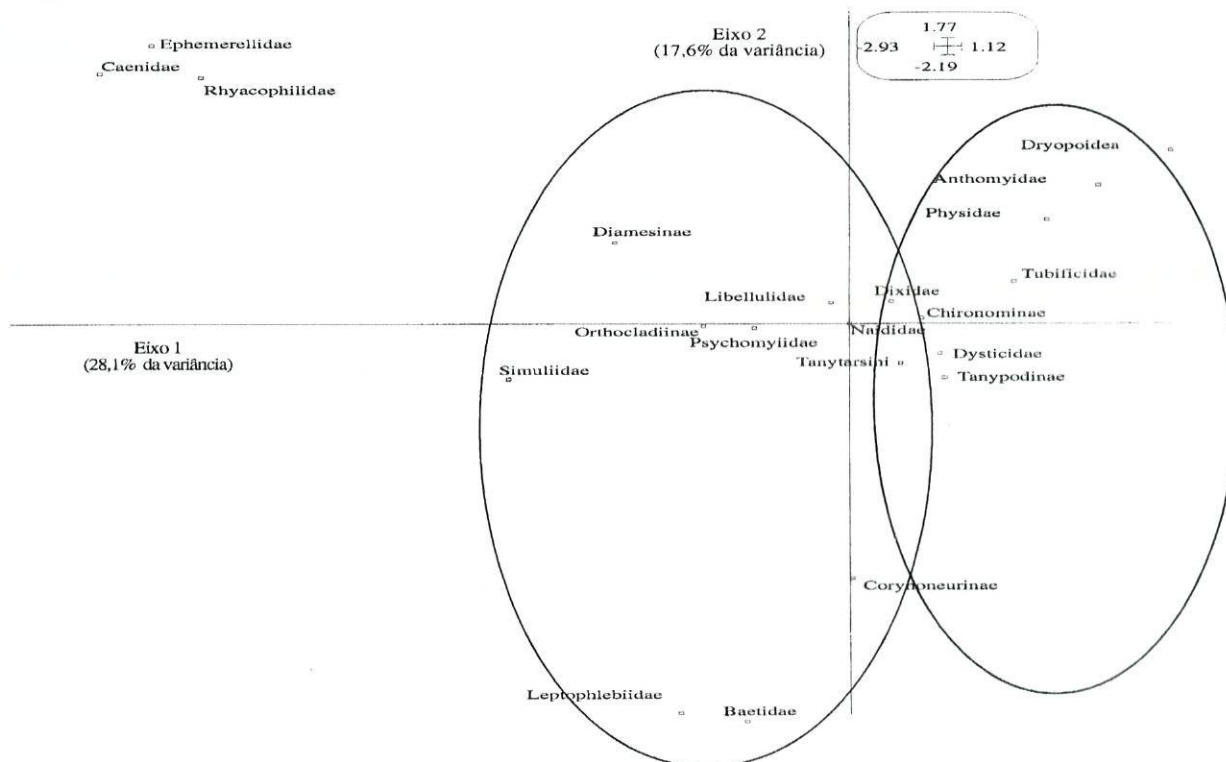


Figura 4 (A e B) - Ordenação dos macroinvertebrados pelos tempos de amostragem (1=5d, 2=12d, 3=19d, 4=26d, 5=41d, 6=47d, 7=54d e 8=84d) no rio Este (E) e no rio Guisande (G) através de uma Análise de Correspondências.

Outros grupos funcionais presentes no rio Este foram os predadores, incluindo os parasitas, e os raspadores. É de salientar que no rio Este não foram amostrados indivíduos trituradores que estavam presentes no rio Guisande, embora em percentagem diminuta (1,2 %).

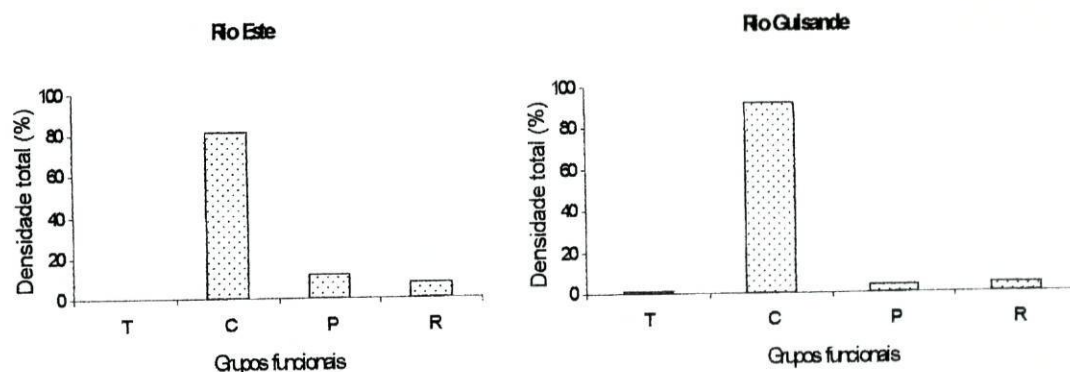


Figura 5 – Grupos funcionais de macroinvertebrados (%) presentes no rio Este e no rio Guisande. T=trituradores, C=colectores (depósito+filtradores), P=predadores+parasitas e R=raspadores.

Na tabela 3 apresentam-se os resultados das medidas de diversidade e dos índices bióticos obtidos no rio Este e no rio Guisande. O número de indivíduos associados à folhada de eucalipto foi superior no rio Este, enquanto que a riqueza em taxa foi maior no rio Guisande. O índice de Margalef e o índice de Shannon apresentaram valores superiores no caso do rio Guisande. A equitabilidade, avaliada pelo índice de Pielou, revelou também um valor superior no caso do rio Guisande relativamente ao do rio Este. De acordo com os índices bióticos, IBB (De Pauw e Vanhooren, 1983) e BMWP' (Alba-Tercedor e Sanchez-Ortega, 1988), o rio Guisande foi classificado como tendo águas, respectivamente, ligeiramente poluídas (IBB=8) ou com alguns efeitos de contaminação (BMWP'=85). O rio Este apresentou águas moderadamente poluídas (IBB=6) ou muito contaminadas (BMWP'=31). Verificou-se que o valor de ASPT' no rio Guisande foi superior ao do rio Este. Os valores da %EPT foram baixos em ambos os rios embora superiores no rio Guisande (%EPT=6,1), traduzindo um maior número de taxa sensíveis amostrados neste local. Os índices e as medidas de diversidade indicaram que o rio Guisande, embora apresentando águas com indícios de contaminação, apresentou uma melhor qualidade de água comparativamente à do rio Este.

Tabela 3 – Medidas de diversidade e índices bióticos aplicados aos macroinvertebrados amostrados no rio Este e no rio Guisande. Para o cálculo dos índices não foram tidos em conta as taxa em que foi amostrado apenas um indivíduo.

	Rio Este	Rio Guisande
Abundância	939	575
Riqueza em Taxa	8	14
Índice de Margalef	1,02	2,05
Índice de Shannon	0,08	0,96
Equitabilidade	0,02	0,25
IBB	6	8
<i>Significado</i>	<i>Águas moderadamente poluída</i>	<i>Águas ligeiramente poluída</i>
BMWP'	31	85
<i>Significado</i>	<i>Águas muito contaminadas</i>	<i>Águas com alguns efeitos de contaminação</i>
ASPT'	3,80	6,0
%EPT	0,32	6,1

3.4. Fungos associados à folhada em decomposição

A actividade dos hifomicetos aquáticos colonizadores da folhada de eucalipto foi avaliada em termos de taxas de esporulação e de biomassa de fungos, estimada por quantificação do ergosterol. Na figura 6 apresentam-se os dados da actividade dos fungos decompositores da folhada colocada em sacos de malha grossa e de malha fina no rio Este e no rio Guisande.

No rio Este, os valores máximos das taxas de esporulação dos hifomicetos aquáticos, expressos pelo número de conídias produzidas por milígrama de AFDM por dia, foram muito baixos e foram obtidos aos 26 dias de imersão da folhada colocada nos sacos de malha grossa (87 conídias mg^{-1} AFDM d^{-1}) e aos 41 dias nos de malha fina (27 conídias mg^{-1} AFDM d^{-1}).

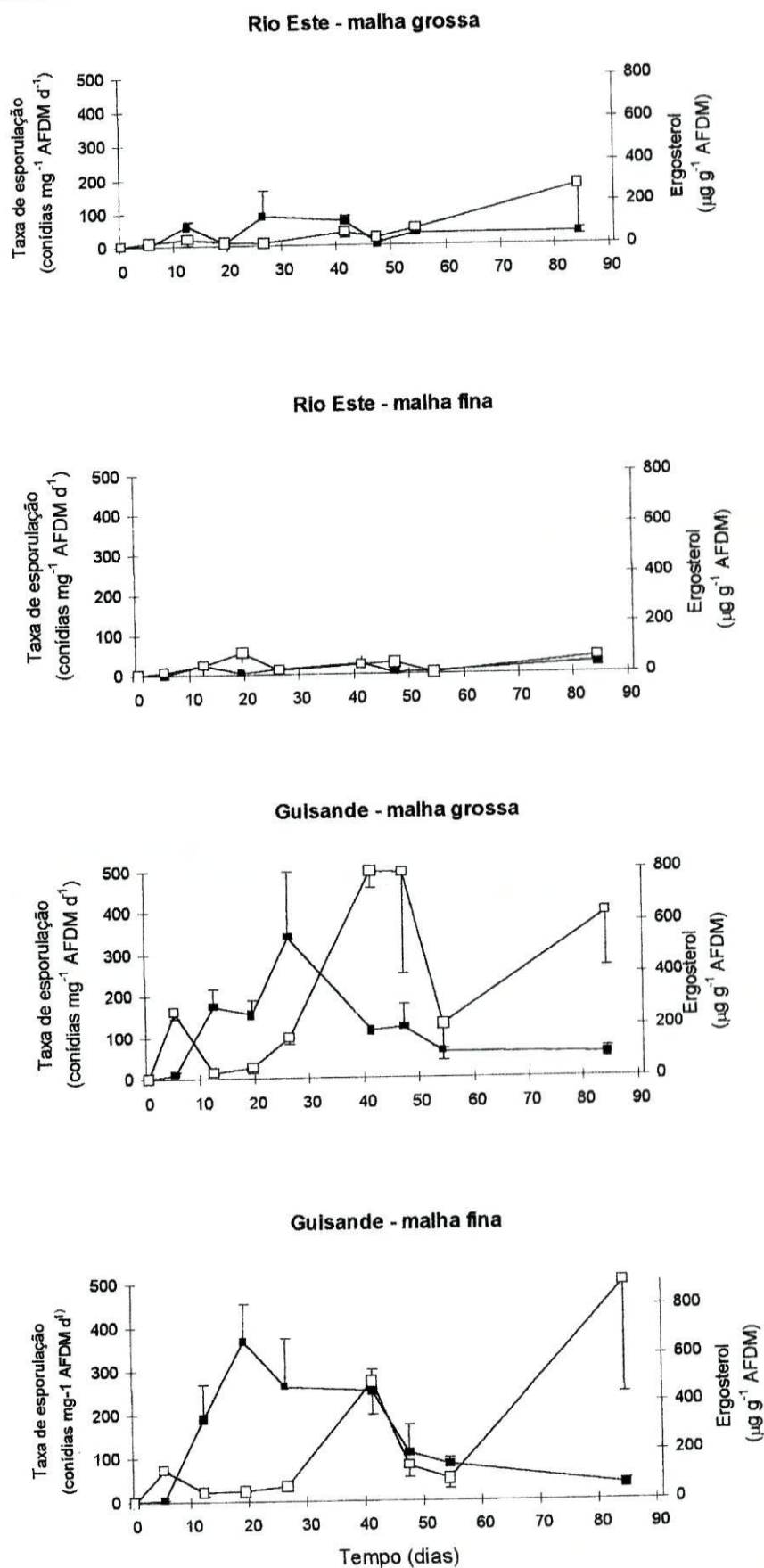


Figura 6 – Taxa de esporulação (■) e concentração de ergosterol (□) na folhada de eucalipto em sacos de malha grossa e de malha fina, ao longo do tempo de imersão no rio Este e no rio Guisande. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão ($n=3$).

No rio Guisande o pico de esporulação ocorreu aos 26 dias na folhada colocada em malha grossa ($339 \text{ conídias mg}^{-1} \text{AFDM d}^{-1}$) e aos 19 dias em malha fina ($367 \text{ conídias mg}^{-1} \text{AFDM d}^{-1}$). Não foram observadas diferenças significativas nas taxas de esporulação dos hifomicetos aquáticos associados à folhada em sacos de malha grossa e de malha fina, quer no rio Este quer no rio Guisande (teste-t emparelhado, $p > 0,05$). A taxa de esporulação dos hifomicetos aquáticos colonizadores da folhada de eucalipto foi significativamente menor no rio Este do que no rio Guisande (teste-t emparelhado, $p < 0,01$).

No rio Este, o valor mais elevado de biomassa de fungos foi atingido aos 84 dias de imersão das folhas no rio em sacos de malha grossa, embora apresentando um valor baixo, correspondendo a $282 \mu\text{g ergosterol g}^{-1} \text{AFDM}$. Na folhada colocada nos sacos de malha fina os valores máximos de ergosterol foram muito baixos ($87 \mu\text{g de ergosterol g}^{-1} \text{AFDM}$) e ocorreram por volta dos 19 dias de imersão das folhas no rio. No rio Guisande verificou-se que os valores máximos de biomassa de fungos ocorreram aos 41 dias de imersão das folhas, em ambos os tipos de malha, correspondendo a 794 e 494 $\mu\text{g ergosterol g}^{-1} \text{AFDM}$, respectivamente em sacos de malha grossa e de malha fina. É de salientar que, no ultimo tempo de recolha, foram registados valores bastante elevados de biomassa de fungos na folhada colocada nos rio Guisande, particularmente nos sacos de malha fina. Não se verificaram diferenças significativas entre a biomassa de fungos colonizadores da folhada em sacos de malha grossa e de malha fina em qualquer dos rios (teste-t emparelhado, $p > 0,05$). Além disso, foram encontradas diferenças entre a biomassa de fungos associados à folhada nos dois rios, registando-se valores significativamente menores no rio Este (teste-t emparelhado, $p < 0,05$).

No rio Guisande, os picos de produção de conídias ocorreram mais cedo que os picos de ergosterol em ambos os tipos de malha e o declínio da produção de conídias não foi acompanhado pela redução de biomassa de fungos (figura 6). No rio Este, os valores das taxas de esporulação e da biomassa dos fungos na folhada foram sempre muito baixos, quer em sacos de malha grossa quer de malha fina (figura 6).

A riqueza em taxa de hifomicetos aquáticos ao longo da decomposição da folhada de eucalipto em sacos de malha grossa e de malha fina no rio Este e no rio Guisande é apresentada na figura 7. No rio Este verificou-se que a riqueza em taxa foi sempre superior na folhada de eucalipto colocada nos sacos de malha grossa e o

valor máximo ocorreu aos 41 dias na malha grossa (13 taxa) e aos 12 dias na malha fina (6 taxa). Verificou-se que a riqueza em taxa no rio Guisande foi máxima aos 41 dias, com 13 taxa em ambos os tipos de malha.

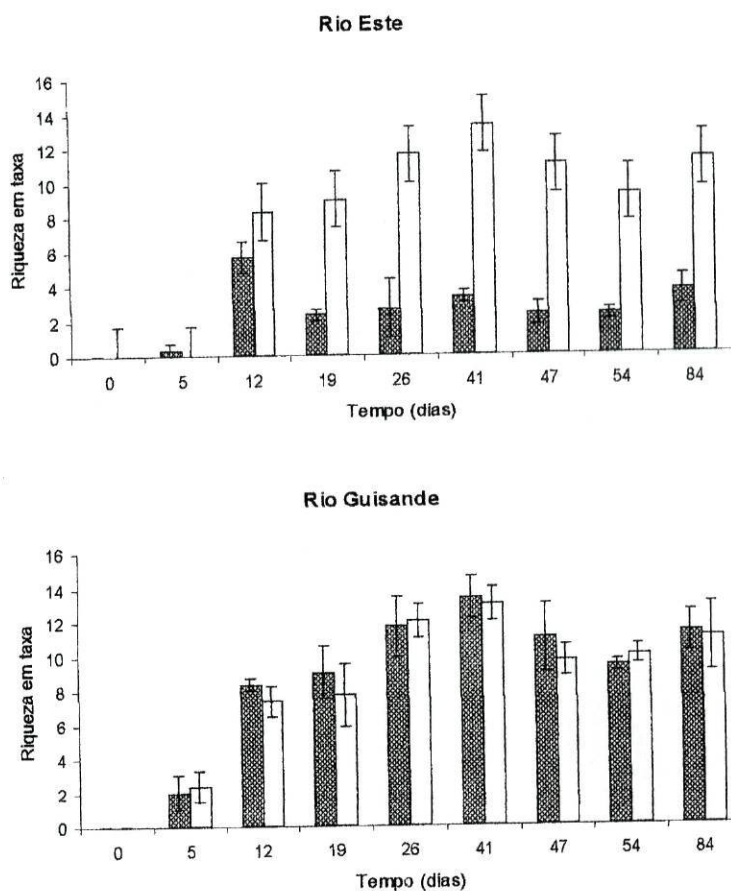


Figura 7 - Número médio de taxa de hifomicetos aquáticos associados à folhada em sacos de malha fina (barra escura) e de malha grossa (barra branca), ao longo de tempo de imersão no rio Este e no rio Guisande. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão ($n=3$).

A contribuição relativa dos taxa de hifomicetos aquáticos para o número total de conídias libertadas das folhas de eucalipto em decomposição, em sacos de malha fina e de malha grossa, no rio Este e no rio Guisande apresentam-se, respectivamente, nas tabela 4 e tabela 5. No rio Este foram amostrados 19 taxa de hifomicetos aquáticos ao longo do tempo de imersão da folhada, tendo sido atingido o valor máximo de riqueza após 84 dias em sacos de malha grossa (14 taxa) e após 12 dias em sacos de malha fina (9 taxa). Nos sacos de malha fina verificou-se que *Flagellospora curta* foi quase sempre a espécie dominante, embora ausente aos 19 dias de decomposição. Esta espécie foi também a que contribuiu com mais conídias

(87,9%) no pico de esporulação aos 41 dias (figura 6). *Heliscus submersus* e *Heliscus lugdunensis* figuraram entre as espécies mais frequentes no sacos de malha fina, inclusivamente aos 41 dias onde contribuíram, respectivamente, com 6,8% e 3,9%. Algumas espécies só foram encontradas na fase inicial da decomposição, como foi o caso de *Tetrachaetum elegans*, *Tricladium chaetocladium* e *Anguillospora longissima*, enquanto que *Clavatospora longibranchiata* só foi encontrada no último tempo de amostragem. No caso da malha grossa, *F. curta*, *H. submersus*, *H. lugdunensis*, *Anguillospora filiformis* e Sigmóide 1 foram as espécies mais frequentes ao longo do tempo de imersão. *F. curta*, à semelhança do que aconteceu na malha fina, não ocorreu no terceiro tempo de recolha das amostras, mas foi a primeira espécie a colonizar a folhada e a que mais contribuiu para o total de conídias (83,1%) no pico de esporulação, aos 26 dias. *H. lugdunensis* foi a segunda espécie que mais contribuiu para a produção de conídias neste tempo (10,1%), seguida de *H. submersus* (2,7%). *C. longibranchiata* tornou-se a espécie dominante nos últimos tempos de amostragem.

No rio Guisande foram encontrados 24 taxa de hifomicetos aquáticos ao longo do tempo de imersão (tabela 5), tendo sido atingido o valor máximo de riqueza (19 taxa) após 84 dias de imersão das folhas colocadas em sacos de malha grossa e após 41 dias no caso da malha fina (19 taxa). Nos sacos de malha fina, verificou-se que *T. elegans* e Sigmóide 1 foram as espécies mais frequentes estando presentes em quase todos os tempos de amostragem. No pico de esporulação, que ocorreu aos 19 dias (figura 6), as espécies mais produtoras de conídias foram *Clavariopsis aquatica* (41,5%), *H. submersus* (21,2%) e *H. lugdunensis* (21,0%). Nos sacos de malha grossa, *H. submersus* (43,6%), *F. curta* (19,4%), *C. longibranchiata* (14,1%) e *T. elegans* (12%) foram as espécies mais abundantes no pico de esporulação que ocorreu aos 26 dias de imersão da folhada (figura 6). No seu conjunto, estas espécies contribuíram com 89,1% para o total de conídias produzidas. *Tricladium splendens* e *A. longissima* apareceram apenas numa fase mais tardia da decomposição da folhada de eucalipto no rio Guisande em sacos de malha grossa.

A ordenação da comunidade dos hifomicetos aquáticos em função dos locais foi efectuada através de uma Análise de Correspondências. O resultado da análise (figura 8 A e B) mostrou que o primeiro eixo factorial explicou 23,2% da variância total e o segundo eixo 11,2%. As comunidades de hifomicetos aquáticos recolhidas aos 19 dias pareceram afastar-se das restantes segundo o eixo 1. O plano factorial

1/2 pareceu separar as amostras recolhidas no rio Este das do rio Guisande (figura 8 A). As espécies *Alatospora acuminata*, *Alatospora pulchella* e *Tricladium attenuatum* estavam ausentes no rio Este e as espécies *Articulospora tetracladia*, *Culicidospora aquatica*, *Flagellospora curvula*, *Lemonniera aquatica* e *T. chaetocladium* estavam principalmente associadas ao rio Guisande.

Tabela 4 – Contribuição relativa (%) de cada taxon de hifomicetos aquáticos para o número total de conídias produzidas durante o tempo de imersão da folha de eucalipto em sacos de malha fina (mf) e de malha grossa (mg) no rio Este.

	Tempo de imersão (dias)															
	5		12		19		26		41		47		54		84	
	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg
<i>Anguillospora filiformis</i> Greathead																
<i>Anguillospora longissima</i> (Sacc. e Sydow) Ingold	21,2	9,8	5,8	1,8	1,6	0,1	10,3									
<i>Articulospora tetractadia</i> Ingold																
<i>Clavariopsis aquatica</i> De Widman																
<i>Clavatospora longibranchiata</i> (Ingold) Marvanová e Nilsson																
<i>Culicidospora aquatica</i> R.H. Petersen																
<i>Cylindrocarpon</i> sp. Marvanová e Descals																
<i>Flagellospora curta</i> J. Webster	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Flagellospora curvula</i> Ingold																
<i>Heliscella stellata</i> (Ingold e Cox) Marvanová e Nilsson																
<i>Heliscus lugdunensis</i> Saccardo e Thérý																
<i>Heliscus submersus</i> H. J. Hudson																
<i>Lemonniera aquatica</i> De Wildman																
Sigmóide 1 (25×1,25 µm)	17,6	19,9	6,7	11,6	10,1	3,9	3,4	3,9	4,9	1,1						
Sigmóide 2 (50×1,25 µm)	2,8	0,2	40,4	1,4	2,7	6,8	6,4	28,1	1,2	8,4						
Sigmóide 3 (50×3,75 µm)								0,3								
<i>Tetrachaetum elegans</i> Ingold																
<i>Tricladiopsis flagelliformis</i> Descals																
<i>Tricladium chaetocladium</i> Ingold																
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Número total de taxa	1	1	9	9	5	7	6	9	4	12	3	8	4	10	8	14

Tabela 5 – Contribuição relativa (%) de cada taxon de hifomicetos aquáticos para o número total de conídias produzidas durante o tempo de imersão da folha de eucalipto em sacos de malha fina (mf) e de malha grossa (mg) no rio Guisande.

Taxa	Tempo de imersão (dias)															
	5		12		19		26		41		47		54		84	
	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg	mf	mg
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold																
<i>Alatospora pulchella</i> Marvanová		0,1					0,1	0,1	0,1	1,5	0,1	4,4	1,0	4,1	9,9	3,1
<i>Anguillospora filiformis</i> Greathead		3,8	7,7				3,0	1,0	2,6	0,9	11,4	0,5			1,6	1,7
<i>Anguillospora longissima</i> (Sacc. e Sydow) Ingold	12,5	0,7							0,04					0,1	1,3	2,0
<i>Articulospora tetraccladia</i> Ingold		0,1	0,9	13,4	18,3	0,2				0,1	1,8	2,7		0,1	0,3	
<i>Clavariopsis aquatica</i> De Widman			0,1	41,5	32,6	0,1	0,4	0,04	0,2	1,4	0,9	1,5	1,4	1,3	1,3	8,2
<i>Clavatospora longibranchiata</i> (Ingold) Marvanová e Nilsson						0,9	14,1	15,9	30,7	7,1	8,4	5,5	10,3	8,0	0,2	0,2
<i>Culicidospora aquatica</i> R.H. Petersen				0,1	0,5				1,3	0,2	0,8				1,2	1,2
<i>Cylindrocarpum</i> sp. Marvanová e Descals			0,5			0,4	0,3	0,6	0,3				0,2		2,8	0,7
<i>Flagellospora curta</i> J. Webster	2,1	6,9	7,1	0,1		30,9	19,4	26,3	23,6	21,8	33,9		13,0	23,0	14,0	14,0
<i>Flagellospora curvula</i> Ingold					0,1		0,2	0,1	0,1	0,8					0,3	0,3
<i>Heliscella stellata</i> (Ingold e Cox) Marvanová e Nilsson																
<i>Heliscus lugdunensis</i> Saccardo e Thérrey	12,5		0,2	1,5	21,0	0,5	0,9	0,2	1,3	0,3	0,8	0,2	0,3			0,2
<i>Heliscus submersus</i> H. J. Hudson		5,0	3,9	21,2	43,7		40,2	43,6	42,1	34,0	34,4	34,2	28,9	30,3	21,0	22,7
<i>Lemonniera aquatica</i> De Wildman		2,1	0,1				0,1		0,1				0,6			
<i>Lunulospora curvula</i> Ingold					0,1		0,8	0,2	0,7	0,2	0,2	2,4		0,1		1,3
Sigmóide 1 (25×1,25 µm)	37,5	29,2	30,3				2,7	2,0	0,2		0,1	1,4	14,7	7,0	8,9	7,5
Sigmóide 2 (50×1,25 µm)			0,6	1,3	1,5											
Sigmóide 3 (50×3,75 µm)		0,1		0,1		0,9			0,04	0,1	1,4	0,4	0,8	1,4		
<i>Tetrachaetum elegans</i> Ingold	12,5	66,6	51,8	74,9		12,5	17,7	12,0	7,1	5,2	13,0	6,5	13,9	27,3	2,9	3,5
<i>Tricladiopsis flagelliformis</i> Descals						1,7	4,7	1,0	0,2	3,8	0,5				1,3	1,0
<i>Tricladium attenuatum</i> Icbal					1,3	2,2								0,3	0,3	0,2
<i>Tricladium chaetocladium</i> Ingold	25,0						0,2	1,2	0,8	1,1	1,0	3,0	10,8	4,5	14,0	31,0
<i>Tricladium splendens</i> Ingold														0,1		0,7
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Número total de taxa	5	4	10	11	9	10	15	14	19	17	17	15	12	14	15	19

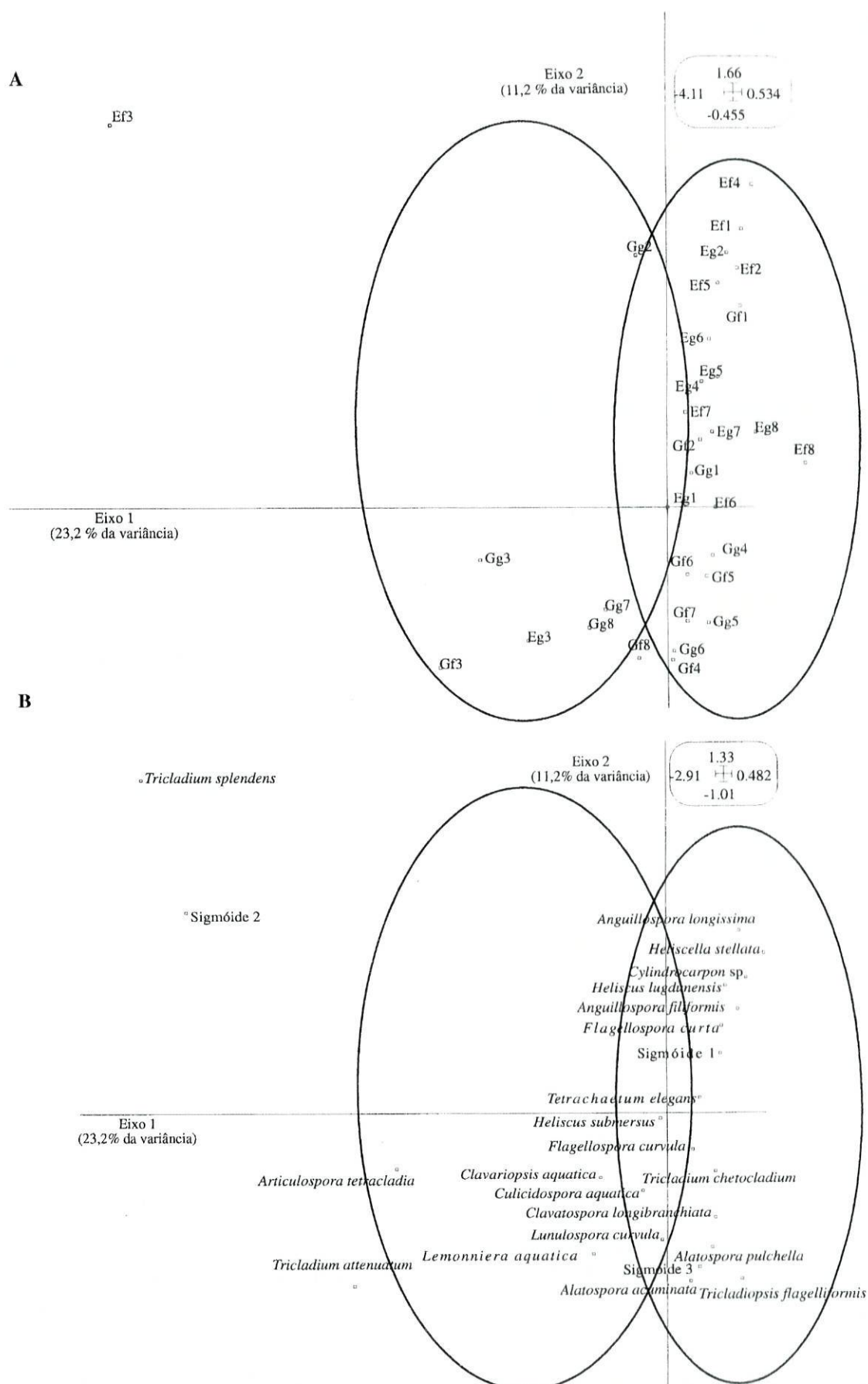


Figura 8 (A e B) - Ordenação dos hifomicetos aquáticos pelos tempos de amostragem (1=5d, 2=12d, 3=19d, 4=26d, 5=41d, 6=47d, 7=54d e 8=84d) e tipo de malha (g, grossa e f, fina) no rio Este (E) e no rio Guisande (G) através de uma Análise de Correspondências.

4. DISCUSSÃO

4.1. Qualidade da água do rio Este e do rio Guisande

O rio Este e o rio Guisande apresentaram uma carga de nutrientes elevada (tabela 1), nomeadamente de nitratos e de fosfatos. Os fosfatos no rio Este atingiram valores cerca de quatro vezes superiores aos medidos no rio Guisande, indiciando influência antropogénica, quer por práticas agrícolas excessivas quer por descargas de detergentes. No rio Este observaram-se frequentemente grandes quantidades de espumas, facto que sustenta a hipótese de ocorrerem descargas de detergentes e a presença de fertilizantes (em cuja constituição entram os fosfatos). No rio Este, os valores de condutividade foram mais elevados evidenciando pior qualidade da água. A velocidade da corrente e a concentração de oxigénio dissolvido foram superiores no rio Guisande, o que poderá conduzir a uma menor acumulação de matéria orgânica. Os parâmetros físico-químicos que melhor distinguiram os dois rios foram a condutividade, o fosfato e a velocidade da corrente. O resultado da análise dos parâmetros microbiológicos mostrou que a carga microbiana foi maior no rio Este do que no rio Guisande e indicou contaminação com matéria orgânica de origem fecal no rio Este. A maior estagnação da água no rio Este, criada pela menor velocidade da corrente, poderá ter favorecido a proliferação de bactérias. Numa perspectiva global, e tendo em consideração o resultado da análise dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, o rio Este apresentou pior qualidade da água do que o rio Guisande.

A qualidade biológica da água dos rios pode ser avaliada com base na análise da estrutura dos macroinvertebrados bentónicos (Washington, 1984; Metcalfe, 1989). As alterações da qualidade da água traduzem alterações na diversidade das comunidades bióticas. Geralmente, ambientes menos degradados apresentam maior riqueza em espécies e, à medida que as condições se tornam mais adversas, vai ocorrendo uma diminuição gradual das espécies mais sensíveis enquanto que outras, mais resistentes, se tornam mais abundantes (por exemplo, Wilhm e Dorris, 1968). No rio Este, a comunidade de macroinvertebrados apresentou valores máximos de riqueza inferiores aos do rio Guisande e valores máximos de densidade superiores (figura 3). A maior densidade de indivíduos no rio Este não se fez acompanhar de um maior número de unidades sistemáticas o que sugere que o aumento do número de indivíduos se deveu essencialmente aos taxa já existentes, nomeadamente

Oligochaeta, Physidae e Chironomidae. No rio Guisande foram obtidos valores mais elevados para os índices de Margalef, de Pielou e de Shannon (tabela 3), sugerindo condições mais favoráveis neste rio comparativamente às do rio Este. Esta maior diversidade pode ser também um reflexo das características do rio, nomeadamente do tipo de matéria que se deposita e do regime hidráulico. O facto de o rio Guisande apresentar um leito de areia e de gravilha, pode ter proporcionado diferentes habitats e refúgios para os macroinvertebrados e maiores quantidades de oxigénio, albergando assim maior diversidade de organismos (Barton e Metcalf-Smith, 1992). O rio Este com o fundo arenoso e lodoso e com uma velocidade de corrente mais baixa poderá ter albergado preferencialmente organismos que vivem enterrados no sedimento. Embora alterações nas medidas de diversidade possam indicar stress ambiental, estas medidas não entram em conta com a tolerância de cada *taxon* à poluição (Washington, 1994).

No presente estudo, além das medidas de diversidade, foram também usados índices bióticos como indicadores da qualidade da água (por exemplo, Metcalf-Smith, 1994). Os índices bióticos entram em linha de conta com a sensibilidade dos organismos à poluição e têm sido aplicados a diversos grupos de organismos, nomeadamente aos macroinvertebrados bentónicos, para avaliar a qualidade biológica das águas. No presente trabalho, os índices bióticos IBB, BMWP' e ASPT' foram aplicados aos macroinvertebrados recolhidos a partir da folhada de eucalipto para avaliar a qualidade da água do rio Este e do rio Guisande. Estudos prévios demonstraram que o grau de poluição avaliado pelos índices bióticos depende do método de amostragem e do índice usado (por exemplo, Pascoal, 1997). No entanto, a amostragem com rede de mão e com folhada de amieiro foram adequadas para avaliar o impacto da descarga do efluente de uma ETAR na água do rio Cávado (Pascoal *et al.* 2001). A aplicação do IBB mostrou que o rio Guisande foi o local com melhor qualidade de água (IBB=8), indicando águas ligeiramente poluídas (De Pauw e Vanhooren, 1983). Em contrapartida, a água do rio Este foi classificada como tendo poluição moderada (IBB=6). O valor mais alto do BMWP' foi determinado no rio Guisande, onde ocorreu um maior número de unidades sistemáticas sensíveis à poluição. Este resultado indicou uma melhor qualidade da água no rio Guisande (BMWP'=85, águas com alguns efeitos de contaminação) comparativamente à do rio Este (BMWP'=31), cuja água se apresentava muito

contaminada (Rico *et al.*, 1992). Os resultados do ASPT⁷ corroboram os anteriores indicando que o rio Guisande apresentava melhor qualidade de água (índice 6) do que o rio Este (índice 3,8). No rio Este foram dominantes famílias pouco sensíveis à poluição, nomeadamente Oligochaeta e Chironomidae, evidenciando condições mais adversas neste local. Os Chironomidae conseguem viver em condições pouco favoráveis, dado possuírem capacidade de usar o oxigénio presente na água, mesmo em baixas concentrações (De Pauw e Vanhooren, 1983). Efemeroptera, Plecoptera e Tricoptera incluem organismos geralmente abundantes em águas limpas e ricas em oxigénio (De Pauw e Vanhooren, 1983). O rio Este apresentou % EPT muito reduzida (0,32), denotando a ausência de espécies típicas de zonas pouco alteradas, enquanto que no rio Guisande a % EPT foi superior (6,1), indicando a presença de espécies mais sensíveis, facto que é apoiado pelos valores mais elevados de oxigénio dissolvido e pela maior velocidade da corrente (tabela 1). A ausência de Plecoptera e o número baixo de Efemeroptera e Tricoptera pode ser consequência do impacto da poluição nos dois locais. Estes resultados estão de acordo com os obtidos a partir das análises físico-químicas e microbiológicas (tabela 1).

A qualidade da água avaliada com base quer em parâmetros físico-químicos e microbiológicos quer pelo uso de índices bióticos e de diversidade permitiu distinguir o rio Este do rio Guisande. Foi ainda evidente o maior impacto negativo da poluição no rio Este. A presença de poluição pode afectar o equilíbrio e o desempenho da comunidade biótica existente e, consequentemente, o contributo desta para o funcionamento do ecossistema.

4.2. Colonização e decomposição da folhada de *E. globulus* no rio Este e no rio Guisande

A matéria orgânica de origem alóctone desempenha um papel fundamental no fluxo de energia e no ciclo da matéria, principalmente em rios de baixa ordem (Vannote *et al.*, 1980). Abelho e Graça (1998) demonstraram que alterações das áreas ripícolas, pela introdução do eucalipto, induziram grandes alterações ao nível do padrão da entrada e da qualidade dos detritos nos rios. A decomposição da folhada é um processo vital para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Maltby, 1995) e inclui a perda de massa por lixiviação, o condicionamento

microbiano e a fragmentação biótica e mecânica (Webster e Benfield, 1986; Gessner *et al.*, 1999). A decomposição da folhada nos rios é condicionada por factores abióticos, como a temperatura, o pH e a concentração de nutrientes na água, e factores intrínsecos à espécie vegetal, como o período da queda da folha, o conteúdo em nutrientes e as defesas químicas da folha (Graça *et al.*, 2002).

No presente estudo, a dinâmica de decomposição da folhada de *E. globulus* foi representada pelo modelo de decaimento exponencial e a perda de peso inicial traduziu o processo de lixiviação que as folhas sofrem nos primeiros dias de imersão na água (Petersen e Cummins, 1974). As taxas de decomposição das folhas de *E. globulus* foram elevadas (0,011 a 0,029 d⁻¹) traduzindo um processo de decomposição rápido ($k > 0,01$, Petersen e Cummins, 1974), com excepção do valor na malha fina no rio Este (0,008 d⁻¹) onde se observou uma taxa de decomposição média ($0,005 < k < 0,01$, Petersen e Cummins, 1974), mas mais elevada do que a observada na região do centro de Portugal (Canhoto e Graça, 1996). Os valores obtidos em malha grossa foram superiores aos encontrados por diversos autores para as taxas de decomposição de *E. globulus* quer no norte de Portugal (0,0083 d⁻¹, Sampaio *et al.*, 2001) quer de Espanha (0,002 a 0,01 d⁻¹, Molinero *et al.*, 1996). No corrente trabalho, verificou-se que 50% da massa foliar foi perdida num período de 40 a 80 dias de imersão, dependendo do rio e do tipo de malha (figura 1). Uma perda de peso semelhante foi observada após 76 (Bärlocher *et al.*, 1995) e 84 (Canhoto e Graça, 1996) dias de imersão da folha de eucalipto colocada em sacos de malha fina em rios do centro de Portugal.

Diversos estudos demonstram o aumento das taxas de decomposição da folhada em rios ricos em nutrientes (Meyer e Johnson, 1983; Suberkropp e Chauvet, 1995; Pozo *et al.*, 1998; Pascoal *et al.*, 2001). Os rios Este e Guisande apresentaram uma carga elevada em nutrientes, particularmente azoto e fósforo, o que poderá justificar as taxas de decomposição elevadas do eucalipto nestes locais. Contudo, o rio Este, que apresentou uma concentração de fosfato quatro vezes superior à do rio Guisande, apresentou taxas de decomposição da folhada de *E. globulus* significativamente mais baixas às estimadas no rio Guisande. As folhas imersas no rio Guisande estiveram expostas a uma corrente com velocidade superior (27 cm s⁻¹) relativamente às folhas imersas no rio Este (12,7 cm s⁻¹), o que poderá ter contribuído para melhores condições de oxigenação dentro dos sacos, essenciais ao bom funcionamento da

comunidade decompositora da folhada. A tipologia do rio Guisande, nomeadamente a redução temporária de caudal a que o rio estava sujeito, poderá ter promovido a capacidade de retenção (por exemplo, Thompson e Bärlocher, 1989) dos nutrientes o que, por sua vez, pode ter acelerado a decomposição.

O contributo relativo dos detritívoros e dos microrganismos para a decomposição da folhada tem sido avaliado comparando o processo de decomposição da folhada colocada em sacos de malha fina, que minimiza o acesso dos macroinvertebrados, com a decomposição da folhada em sacos de malha grossa (Boulton e Boon, 1991). No presente trabalho foi observado que as taxas de decomposição da folhada foram superiores nos sacos de malha grossa em ambos os locais. No entanto, a taxa de decomposição da folhada em sacos de malha grossa apenas foi significativamente maior no rio Guisande (tabela 2). Vários autores referem diferenças na velocidade de decomposição da folhada em sacos de malha fina e de malha grossa (por exemplo, Imbert e Pozo, 1989). Esta diferença pode ser atribuída ao papel desempenhado pelos macroinvertebrados detritívoros na decomposição da folhada e à abrasão física (Boulton e Boon, 1991). Os valores máximos de riqueza em macroinvertebrados foram registados no rio Guisande (figura 3) e, neste local, ocorreu uma maior percentagem de invertebrados detritívoros, nomeadamente trituradores e colectores (figura 5). A maior abundância de detritívoros associados à folhada imersa no rio Guisande pode também ser um reflexo do condicionamento microbiano. Foi demonstrado que folhas previamente colonizadas por fungos são preferencialmente seleccionadas pelos macroinvertebrados (Suberkropp, 1992; Graça *et al.*, 1993) e foram registados valores de taxas de crescimento e de reprodução mais elevados em invertebrados cuja dieta foi rica em fungos (Graça *et al.*, 1993). Em zonas de corrente elevada, o processo de decomposição da folhada colocada em sacos de malha grossa foi significativamente mais rápido do que em malha fina (Vingada, 1995). Deste modo, assume-se que nos sacos de malha grossa, as folhas ficariam mais vulneráveis à lixiviação, à abrasão e à fragmentação física (Webster e Benfield, 1986). Por outro lado, o uso de sacos de malha fina poderá criar situações de anóxia e inibir a decomposição da folhada (Maltby, 1995).

Na folhada de *E. globulus* colocada em sacos de malha grossa, os picos de esporulação ocorreram ao fim de 26 dias em ambos os rios (figura 6). Em rios da

região centro de Portugal o pico de esporulação dos hifomicetos colonizadores da folhada de *E. globulus* foi também atingido ao fim de 4 semanas, constituindo um atraso de 1-2 semanas, relativamente à colonização das folhas de *Alnus glutinosa* (Bärlocher *et al.*, 1995; Canhoto e Graça, 1996; Chauvet *et al.*, 1997). No caso dos sacos de malha fina, o pico de esporulação dos hifomicetos foi atingido ao fim de 41 (rio Este) e 19 dias (rio Guisande). No rio Este o pico de esporulação foi atingido mais rapidamente na malha grossa (26 dias) do que na malha fina (41 dias). Os valores máximos das taxas de esporulação foram observados no rio Guisande (367 e 339 conídias mg^{-1} AFDM d^{-1} , respectivamente em sacos de malha fina e de malha grossa) e foram mais baixos que os obtidos em folhas de eucalipto num rio da região do centro de Portugal (cerca de 650 conídias mg^{-1} folha seca d^{-1}). Os valores máximos de biomassa de fungos associados às folhas foram obtidos no rio Guisande e corresponderam a 794 e 494 μg ergosterol g^{-1} AFDM, respectivamente em sacos de malha grossa e de malha fina. Estes valores foram superiores aos observados em três rios do norte de Espanha com diferente química da água (Pozo *et al.*, 1998). Em ambos os locais de estudo, a biomassa de fungos e as taxas de esporulação dos hifomicetos aquáticos associados à folhada em decomposição foi dinâmica, aumentando até atingir um valor máximo seguido de um declínio (figura 6), o que está de acordo com o observado noutros rios (Gessner e Chauvet, 1994; Baldy *et al.*, 1995; Weyers e Suberkropp, 1996; Grattan e Suberkropp, 2001). Alguns autores verificam que a produção de esporos sofre um declínio brusco após ter atingido o pico, enquanto que, a biomassa, determinada pelo conteúdo em ergosterol, pode sofrer um declínio mais gradual (por exemplo, Gessner e Chauvet, 1994; Manharnig e Bärlocher, 1996). As taxas de esporulação dos hifomicetos aquáticos e a biomassa dos fungos colonizadores da folhada de eucalipto, avaliada pelo conteúdo em ergosterol, foram significativamente inferiores no rio Este (figura 6). Os resultados denotaram claramente que, neste local, a poluição reduziu o potencial reprodutivo e a actividade dos hifomicetos. Raviraja e colaboradores (1996) evidenciaram que a poluição orgânica restringe fortemente a diversidade dos hifomicetos aquáticos e o seu sucesso reprodutivo, mas não tem um efeito igualmente forte nas funções ecológicas geralmente associadas a este grupo de fungos. No rio Guisande, as melhores condições de oxigenação e a menor carga poluente em geral (por exemplo, condutividade) podem ter contribuído para uma maior riqueza em hifomicetos neste

local (tabelas 4 e 5). Graça e Ferreira (1995) observaram taxas de decomposição superiores e um número maior de conídias de hifomicetos aquáticos em rios com águas bem oxigenadas. No rio Guisande, onde a decomposição da folhada foi mais rápida do que no rio Este, foram encontrados valores significativamente maiores para as taxas de esporulação e biomassa de fungos. Estudos anteriores (por exemplo, Gessner e Chauvet, 1994; Manharning e Bärlocher, 1996) estabeleceram correlações positivas entre a produção máxima de conídias, a biomassa máxima de fungos e as taxas de decomposição. A maior biomassa de fungos conduziu provavelmente a uma maior actividade enzimática (celulases, hemicelulases e pectinases) no rio Guisande, o que resultou numa perda mais rápida de massa foliar. No presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas entre a biomassa de fungos e a produção de conídias na folhada colocada nos sacos de malha grossa e de malha fina, em ambos os rios. Estes dados são concordantes com a ideia de que a decomposição da folhada em rios é controlada primariamente por fungos (Manharning e Bärlocher, 1996) e também permitem explicar a rápida decomposição no rio Guisande.

Dados da literatura referem que mais de 90% do número total de conídias, libertadas a partir da folhada em decomposição nos rios, é produzido por uma a quatro espécies de hifomicetos aquáticos (Bärlocher, 1992). No rio Este, *Flagellospora curta* foi a espécie dominante no pico de esporulação dos hifomicetos associados à folhada colocada quer em sacos de malha fina quer de malha grossa, contribuindo com mais de 80% para o total de conídias produzidas. No rio Guisande, as espécies que mais contribuíram para o total de conídias produzidas no pico de esporulação em malha fina foram *C. aquatica*, *H. lugdunensis* e *H. submersus*, enquanto que em malha grossa foram *H. submersus* e *F. curta*. Além disso, as espécies *A. acuminata*, *A. pulchella*, *Lunulospora curvula*, *T. attenuatum* e *T. splendens* só foram encontradas no rio Guisande. O número de taxa total de hifomicetos aquáticos associados à folhada de eucalipto foi superior no rio Guisande (24 taxa) em relação ao rio Este (19 taxa). A riqueza em hifomicetos pode ser considerada elevada tendo em conta estudos de decomposição de folhada de eucalipto em rios de Portugal (Bärlocher *et al.*, 1995) e de Espanha (Chauvet *et al.*, 1997).

O rio Guisande distinguiu-se do rio Este por apresentar uma melhor qualidade da água avaliada de acordo com parâmetros físico-químicos e biológicos. A riqueza

em taxa de macroinvertebrados e de hifomicetos aquáticos associados à folhada de *E. globulus* foi superior no rio Guisande. Neste rio foram observados valores de biomassa de fungos e de produção de conídias superiores, o que deve ter contribuído para as elevadas taxas de decomposição. No rio Este não foram encontradas diferenças na velocidade de decomposição da folhada de eucalipto colocada em sacos de malha grossa e de malha fina, o que poderá estar relacionado com a ausência de trituradores neste local e com a baixa velocidade da corrente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Eucalyptus globulus* Labill. é uma espécie proveniente do Sul da Austrália que foi introduzida na Península Ibérica em 1829 (*in* Bärlocher *et al.*, 1995). Actualmente ocupa grandes áreas em Portugal, tendo substituído espécies nativas de folha caduca e pinheiros, o que se traduz em alterações no ecossistema da floresta em termos do ciclo dos nutrientes e de biodiversidade (Chauvet *et al.*, 1997; Bärlocher e Graça, 2002). A folha do eucalipto apresenta diferenças em relação às das espécies nativas de folha caduca, nomeadamente i) no período de queda da folha, que ocorre tipicamente no Verão quando a temperatura é mais elevada e a precipitação menor; ii) no baixo conteúdo em nutrientes, como o azoto e o fósforo; iii) nas defesas químicas e iv) nas características físicas (Graça *et al.*, 2002). Sabendo-se que os detritos vegetais produzidos nas áreas ripícolas são a principal fonte de energia em rios de baixa ordem, as plantações de eucalipto têm o potencial de afectar a biologia dos rios. Deste modo, é importante conhecer o impacto da presença do eucalipto na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas aquáticos.

As taxas de decomposição da folha de *E. globulus* são geralmente referidas como lentas ou médias (Canhoto e Graça, 1996; Abelho, 2000; Sampaio *et al.*, 2001). Diferenças na composição química das folhas parecem influenciar a taxa de decomposição e tem sido sugerido que a presença de compostos fenólicos, de óleos e de uma cutícula espessa nas folhas de eucalipto inibe o crescimento e a actividade dos fungos (Canhoto e Graça, 1999, Canhoto *et al.*, 2002). Contudo, taxas de decomposição elevadas foram observadas em rios ricos em nutrientes (Pozo *et al.*, 1998). O rio Guisande e o rio Este apresentaram concentrações elevadas em nutrientes, nomeadamente nitratos e fosfatos. As taxas de decomposição da folhada de *E. globulus* nestes rios foram classificadas na categoria rápida (Petersen e Cummins, 1974), à excepção da obtida em sacos de malha fina no rio Este. Este rio apresentou pior qualidade da água do que o rio Guisande, com base nas medidas físico-químicas e biológicas. A riqueza em taxa de macroinvertebrados e de hifomicetos aquáticos associados à folhada de *E. globulus* foi superior no rio Guisande. As taxas de decomposição da folhada foram maiores no rio Guisande, onde a produção de conídias e a biomassa dos fungos associados às folhas em decomposição foram mais elevadas. Além disso, só foram encontradas diferenças na

velocidade de decomposição da folhada colocada em sacos de malha grossa e de malha fina no rio Guisande, o que poderá ser justificado pela presença de trituradores neste local e/ou pela abrasão física devida a uma velocidade da corrente mais elevada.

Apesar do eucalipto ser uma espécie cuja folhada apresenta um valor nutritivo baixo, os resultados apresentados neste trabalho sugerem que a folhada de eucalipto constituiu um substrato adequado para a colonização e decomposição microbianas, uma vez que foram observadas taxas de decomposição elevadas suportadas por uma comunidade de hifomicetos aquáticos que apresentou diversidade e actividade elevadas, particularmente no rio Guisande. Estes resultados estão de acordo com os de Pozo e colaboradores (1998) que sugerem que a concentração alta em nutrientes dissolvidos na água poderá reduzir o impacto negativo das plantações de eucalipto nos ecossistemas lóticos. No entanto, no rio Este o enriquecimento em nutrientes não se traduziu numa elevada actividade dos fungos decompositores da folhada, o que poderá ser consequência do maior grau de poluição determinado neste rio. Assim, será relevante estudar o efeito dos factores que condicionam a colonização e a actividade dos decompositores da folhada de forma a melhor compreender o impacto da plantação de eucalipto no funcionamento de sistemas lóticos.

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E ENTOMOLOGIA
BIBLIOTECA

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelho, M. e Graça, M. A. S. (1996). Effects of eucalyptus afforestation on leaf litter dynamics and macroinvertebrate community structure of streams in Central Portugal. *Hydrobiologia* **324**: 195-204.
- Abelho, M. e Graça, M. A. S. (1998). Litter in a first-order stream of temperate deciduous forest (Margaraça Forest, Central Portugal). *Hydrobiologia* **386**: 147-152.
- Abelho M. (2000). *Once upon a time a leaf: from litterfall to breakdown in streams*. Dissertação de doutoramento, Universidade de Coimbra. Portugal.
- Alba-Tercedor, J. e Sánchez-Ortega, A. (1988). Um método rápido y simple para avaliar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética* **4**: 51-56.
- APHA, (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Armitage, P. D., Moss, D., Wright, J. F. e Furse, M. T. (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Wat. Res.* **17**: 333-347.
- Arsuffi, T e Suberkropp, K. (1986). Growth of two stream caddisflies (Trichoptera) on leaves colonized by different fungal species. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **5**: 297-305.
- Baldy, V., Gessner, M. O. e Chauvet, E. (1995). Bacteria, fungi and the breakdown of leaf litter in a large river. *Oikos* **74**: 93-102.
- Bärlocher, F. (1992). *The ecology of aquatic hyphomycetes*. Springer-Verlag, Berlin and New York: 225 pp.
- Bärlocher, F., Canhoto, C. e Graça, M. A. S. (1995). Fungal colonization of alder and eucalypt leaves in two streams in Central Portugal. *Arch. Hydrobiol.* **133**: 457-470.

Bärlocher, F. (1997). Pitfalls of traditional techniques when studying breakdown in aquatic habitats. *Limnetica* 13: 1-11.

Bärlocher, F. e Graça, M. A. S. (2002). Exotic riparian vegetation lowers fungal diversity but not leaf decomposition in Portuguese streams. *Freshwater Biol.* 47: 1123-1136.

Barton, D. e Metcalfe-Smith, J. (1992). A comparison of sampling techniques and summary indices for assessment of water quality in the Yamaska river, Quebec, based on benthic macroinvertebrates. *Environmental Monitoring and Assessment* 21: 225-244.

Benfield, E. F. (1996). Leaf breakdown in streams ecosystems in *Methods in stream ecology*. Hauer, F. and Lamberti, G. (eds). Academic Press. San Diego, CA: 579-589 pp.

Boulton, A. J. e Boon, P. I. (1991). A review of methodology used to measure leaf litter decomposition in lotic environments: time to turn over an old leaf? *Aust. J. Marine. Freshwater Res.* 42: 1-43.

Canhoto, C. e Graça, M. A. S. (1995). Food value of introduced eucalypt leaves for a Mediterranean stream detritivore: *Tipula lateralis*. *Freshwater Biol.* 34: 209-214.

Canhoto, C. e Graça, M. A. S. (1996). Decomposition of *Eucalyptus globulus* leaves and three native leaf species (*Alnus glutinosa*, *Castanea sativa* e *Quercus faginea*) in a Portuguese low order stream. *Hydrobiologia* 333: 79-85.

Canhoto, C. e Graça, M. A. S. (1999). Leaf barriers to fungal colonization and shredders (*Tipula lateralis*) consumption of decomposing *Eucalyptus globulus*. *Microb. Ecol.* 37: 163-172.

Canhoto, C., Bärlocher, F. e Graça, M. A. S. (2002). The effects of *Eucalyptus globulus* oils on fungal enzymatic activity. *Arch. Hydrobiol.* 154: 121-132.

Chamier, A. -C (1992). Water chemistry in F. Bärlocher (ed.) *The ecology of aquatic hyphomycetes*, Springer-Verlag, Berlin, Germany: pp 152-170.

Charcosset, J. e Chauvet, E. (2001). Effect of culture conditions on ergosterol as an indicator of biomass in the aquatic hyphomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2051-2055.

Chauvet, E. (1991). Aquatic hyphomycete distribution in South-Western France. *Journal of Biogeography* **18**: 699-706.

Chauvet, E., Fabre, E., Elósegui, A. e Pozo, J. (1997). The impact of eucalypt on leaf-associated aquatic hyphomycetes in Spanish streams. *Can. J. Bot.* **75**: 880-887.

Chauvet, E. e Suberkropp, K. (1998). Temperature and sporulation of aquatic hyphomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 1522-1525 pp.

Cortes, R. M. V. e Monzón, A. (1991). Biological assessment of water quality in northern Portugal using a method combining species tolerance and diversity along the longitudinal axis. *Limnética* (7). Asociación Española de Limnología.

Cortes, R. M. V., Graça, M. A. S., Vingada, J. N. e Varandas de Oliveira, S. (1995). Stream typology and dynamics of leaf processing. *Ann. Limn.* **31**: 119-131.

Coimbra, C., Graça, M. A. S. e Cortes, R. M. V. (1996). The effects of a basic effluent on macroinvertebrate community structure in a temporary mediterranean river. *Environmental Pollution* **4**: 301-307.

Cummins, K. W. (1974). Structure and function of streams ecosystems. *Bioscience*. **24**: 61-64.

Cummins, K. W. e Klug, M. J. (1979). Feeding ecology of stream invertebrates. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **10**: 147-172.

Cummins, K. W., Wilzbach, M., Gates, D., Perry, J. e Taliaferro, W. (1989). Shredders and riparian vegetation. *Bioscience* **39**: 25-30.

De Pauw, N. e Vanhooren, G. (1983). Methods for biological quality assessment of watercourses in Belgium. *Hydrobiologia* **100**: 153-168.

De Pauw, N., Roels, D. e Fontoura, A. (1986). Use of artificial substrates for standardized sampling in the assessment of water quality by the Belgian Biotic Index. *Hydrobiologia* **133**: 237-258.

Descals, E., Peláez, F. e Llorca, L. (1995). Fungal spora of stream foam from central Spain. II. Chronology, spore frequency and unknown forms. *Nova Hedwigia* **60**: 551-569.

Dobson, M. (1991). Na assessment of mesh bags and plastic leaf traps as tools for studying macroinvertebrates. Assemblage in natural leaf packs. *Hidrobiologia* **222**: 19-28.

Fontoura, A. P. (1984). As comunidades de macroinvertebrados como indicadores da qualidade da água: metodologia para a sua utilização. Trabalho de síntese. Provas de aptidão pedagógica e Capacidade Científica. F.C.U.Porto.

Gessner, M. O. e Chauvet, E. (1993). Ergosterol-to-biomass conversion factors for aquatic hyphomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 502-507.

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

Gessner, M. O. e Chauvet, E. (1997). Growth and production of aquatic hyphomycetes in decomposing leaf litter. *Ecology* **75**: 1807-1817.

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

Gessner, M. O. e Newell, S. Y. (2002). Biomass, growth rate, and production of filamentous fungi in plant litter. in Hurst, C., Crawford, R., Knudsen, C., McIerney, M. e Stetzenbach, L. (eds.). *Manual of Environmental Microbiology*, Second Edition, ASM Press, Washington, DC: 390-408 pp.

Graça, M. A. S. (1993). Patterns and processes in detritus-based stream systems. *Limnologica* **23**: 107-114.

Graça, M. A. S., Maltby, L e Callow, P. (1993). Importance of fungi in the diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*. *Oecologia* **96**: 304-309.

Graça, M. A. S. e Ferreira R. (1995). The ability of selected aquatic hyphomycetes and terrestrial fungi to decompose leaves in freshwater. *Sydowia* **47**: 167-179.

- Graça, M. A. S. (2001). The role of Invertebrates on Leaf Litter Decomposition in Streams – a Review. *Internat. Rev. Hydrobiol.* **86**: 383-393.
- Graça, M. A. S., Pozo, J., Canhoto, C. e Elósegui, A. (2002). Effects of *Eucalyptus* plantations on detritus, decomposers, and detritivores in streams. *The Scientific World Journal* **2**: 1173-1185.
- Grattan, R. M. e Suberkropp, K. (2001). Effects of nutrient enrichment on yellow poplar leaf decomposition and fungal activity in streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **20**: 33-43.
- Gulis, V. e Suberkropp, K. (2003). Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshwater Biol.* **48**: 123-134.
- Grubbs, S. A. e Cummins, K. W. (1994). A leaf-thoughness method for directly measuring the processing of naturally entrained leaf detritus in streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **13**: 39-58.
- Hellawell, J. (1978). *Biological surveillance of rivers: a biological monitoring handbook*. Water Research Center. Stevenage.
- Imbert, J. B. e Pozo, J. (1989). Breakdown of four leaf litter species and associated fauna in a basque country forested stream. *Hydrobiologia* **182**: 1-14.
- Ingold, C. (1975). Guide to aquatic hyphomycetes. *Freshwater Biological Association*: 97 pp.
- Jenkins, C. e Suberkropp, K. (1995). The influence of water chemistry on the enzymatic degradation of leaves in streams. *Freshwater Biol.* **33**: 245-253.
- Laitung, B., Pretty, J., Chuavet, E. e Dobson, M. (2002). Response of aquatic hyphomycete communities to enhanced stream retention in areas impacted by commercial forestry. *Freshwater Biol.* **47**: 313-322.

Kaesler, R., Herricks, E. e Crossman, J. (1978). Use of indices of diversity and hierarchical diversity in streams surveys. Biological data in water pollution assessment: quantitative and statistical analysis. ASTM STP 652. K. Dickson, Cairns, J. e Livingston, R. (Ed.). *American Society for Testing and Materials*. 92-112.

Kaushik, N. K. e Hynes, H. B. N. (1971). The fate of dead leaves that fall into streams. *Arch. Hydrobiol.* **68**: 465-513.

Mahaming, A. R. e Bärlocher, F. (1996). Growth and reproduction in aquatic hyphomycetes. *Mycologia* **88**: 80 – 88.

Maltby, L. (1995). Detritus Processing in *The Rivers Handbook: hydrological and ecological principles*. Vol. 1. Callow & Petts Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

Margalef, R. (1958). Information theory in ecology. *General Systems* **3**: 36-71.

Merritt, R. W. e Cummins, K. W. (1996). *An introduction to the aquatic insects of north America*. Third edition. Kendall/Hunt Publishing Company.

Metcalf, J. L. (1989). Water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. *Environmental Pollution* **60**: 101-1392.

Metcalf e Eddy (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, disposal, reuse*. McGraw-Hill. New York.

Metcalf-Smith, J. L. (1994). Biological water quality assessment of rivers: use of macroinvertebrate communities in *The Rivers Handbook*. Vol. 2. Peter Calow & Geoffrey Petts Ed. University Press. Cambridge: 144-171.

Meyer, J. L. e Johnson, C. (1983). The influence of elevated nitrate concentration on rate of leaf decomposition in a stream. *Freshwater Biol.* **13**: 177-183.

Molinero, J., Pozo, J. e González, E. (1996). Litter breakdown in streams of the Agüera catchment: influence of dissolved nutrients and land use. *Freshwater Biol.* **36**: 745-756.

- Muñoz, C., Sainz-Cantero, C., Sanchez-Ortega e Alba-Tercedor, J. (1995). Are biological indices BMWP' and ASPT' and their significance regarding water quality seasonally dependent? Factors explaining their variations. *Wat. Res.* **2**:285-290.
- Murphy, J. e Giller, P. (2000). A seasonal dynamics of macroinvertebrates assemblages in the benthos and associated with detritus packs in two low order streams with different riparian vegetation. *Freshwater Biol.* **43**: 617-631.
- Ostrofsky, M., (1997). Relationship between chemical characteristics of autumn-shed leaves and aquatic processing rates. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **16**: 750-759.
- Pascoal, C. (1997). Contribuição dos macroinvertebrados para a caracterização ecológica do troço superior do rio Cávado. Tese de mestrado. Universidade do Minho.
- Pascoal, C., Cássio, F. e Gomes, P. (2001). Leaf breakdown rates: a measure of water quality? *Inter. Rev. Hydrobiol.* **86**: 407-416.
- Petersen, R. C. e Cummins, K. W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biol.* **4**: 343-368.
- Pozo, J., González, E., Díez, J. R., Molinero, J. e Elósegui, A. (1998a). Inputs of particulate organic matter to streams with different riparian vegetation. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **16**: 602-611.
- Rajashekhar, M. e Kaveriappa, K. (1996). Studies on the aquatic hyphomycetes of a sulfur spring in the Western Ghats, India. *Microb. Ecol.* **32**: 73-80.
- Raviraja, N. S., Sridhar, K. R. e Bärlocher, F. (1996). Breakdown of introduced and native leaves in two Indian streams. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* **81**: 529-539.
- Rico, E., Rallo, A., Sevillano, M. e Arretxe, M. (1992). Comparison of several biological indices based on river macroinvertebrates benthic community for assessment of running water quality. *Annls. Limnol.* **28**: 147-152.

Rodrigues, A. P. e Graça, M. A. S. (1997). Enzymatic analysis of leaf decomposition in freshwater by selected aquatic hyphomycetes and terrestrial fungi. *Sidowia* **49**: 160-173.

Rosenberg, D. M. e Resh, V. H. (1982). The use of artificial substrates in the study of freshwater benthic macroinvertebrates in *Artificial substrates*. Jonh Cairns, Jr. (Ed.) Ann. Arbor Science Publishers, Inc. The Butterworth Group. Michigan: 175-234.

Rosenberg, D. M. e Resh, V. H. (Ed.) (1993). Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman & Hall.

Royer, T. e Minshall, W. (2001). Effects of nutrient enrichment and leaf quality on thr breakdown of leaves in a hardwater stream. *Freshwater Biol.* **46**: 603-608.

Sampaio, A., Cortes, R. M. V. e Leão, C. (2001). Invertebrate and microbial colonisation in native and exotic leaf litter species in a moutain stream. *Internat. Rev. Hydrobiol.* **86**: 527-540.

Suberkropp, K. e Klug, M. J. (1976). Fungi and bacteria associated with leaves during processing in a woodland stream *Ecology* **57**: 707-719.

Suberkropp, K. (1984). Effect of temperature on seasonal occurrence of aquatic hyphomicetes. *Tran. Br. Mycol. Soc.* **82**: 73-80.

Suberkropp, K. (1991). Relationships between growth and sporulation of aquatic hyphomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **82**: 53-62.

Suberkropp, K. (1992). Interations with invertebrates. 118-133 in Bärlocher (Ed.) The ecology of aquatic hyphomicetes. *Ecol. Stud.* **94**.

Suberkropp, K. e Chauvet, E. (1995). Regulation of leaf breakdown by fungi in streams: influences of water chemistry. *Ecology* **76**: 1433-1455.

Suberkropp, K. e Weyers, H. (1996). Fungal and bacterial associated with leaves during processing in a woodland stream. *Ecology* **57**: 707-719.

- Suberkropp, K. (1998). Effect of dissolved nutrients on two aquatic hyphomycetes growing on leaf litter. *Mycol. Res.* **102**: 998-1002.
- Tachet, H., Bourmand, M. e Richoux, P. (1994). *Introduction à l'étude de macroinvertébrés des eaux douces*. 4ème édition. U. Lyon et Association française de Limnologie. Paris: 154 pp.
- Thioulouse, Dolédec, Chessele e Olivier (1996). ADE version: 4.0 Hypercard © Stacks and Quick Basic Microsoft © Program library for the analysis of environmental data. URA CN RS 1451. U. Lyon 1. Villeurbanne.
- Thompson, P. L. e Bärlocher, F. (1989). Effect of pH on leaf breakdown in streams and in the laboratory. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **8**: 203-210.
- Vannote, R. L., Minshall, G. W., Cumins, K. W., Sedell, J. R. e Cushing, C. E. (1980). The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquatic. Sci.* **37**: 130-137.
- Vingada, J. N. (1995). Decomposição de folhada num rio de montanha. Influência dos factores físicos e biológicos. Dissertação de Mestrado em Ecologia Animal. F.C.T.U. Coimbra.
- Volle, M. (1993). Analyse des donnés. 3 ème édition. *Collection Économie et statistiques avancées*. Economica (Ed). Paris: 223 pp.
- Washington, H. (1984). Diversity, Biotic and Similarity Indices: a review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Res.* **18**: 653-694.
- Webster, J. R. e Benfield, E. F. (1986). Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **17**: 567-594.
- Weyers, H. e Suberkropp, K. (1996). Fungal and bacterial production during the breakdown of yellow poplar leaves in two streams. *J. N. Am. Benthol.* **15**: 408-420.
- Wilm, J. e Dorris, T. (1968). Biological parameters for water quality criteria. *Bioscience* **18**: 477-481.

Zar, J. H. (1996). Biostatistical Analysis. Third Edition. Prentice-Hall, Inc. New Jersey:
118 pp.

DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E ANTROPOLÓGIA
BIBLIOTECA

Outros grupos funcionais presentes no rio Este foram os predadores, incluindo os parasitas, e os raspadores. É de salientar que no rio Este não foram amostrados indivíduos trituradores que estavam presentes no rio Guisande, embora em percentagem diminuta (1,2 %).

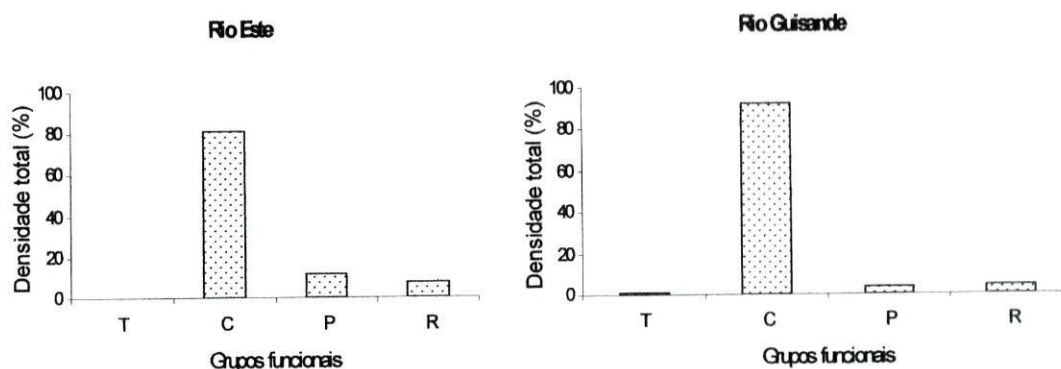


Figura 5 – Grupos funcionais de macroinvertebrados (%) presentes no rio Este e no rio Guisande. T=trituradores, C=colectores (depósito+filtradores), P=predadores+parasitas e R=raspadores.

Na tabela 3 apresentam-se os resultados das medidas de diversidade e dos índices bióticos obtidos no rio Este e no rio Guisande. O número de indivíduos associados à folhada de eucalipto foi superior no rio Este, enquanto que a riqueza em taxa foi maior no rio Guisande. O índice de Margalef e o índice de Shannon apresentaram valores superiores no caso do rio Guisande. A equitabilidade, avaliada pelo índice de Pielou, revelou também um valor superior no caso do rio Guisande relativamente ao do rio Este. De acordo com os índices bióticos, IBB (De Pauw e Vanhooren, 1983) e BMWP' (Alba-Tercedor e Sanchez-Ortega, 1988), o rio Guisande foi classificado como tendo águas, respectivamente, ligeiramente poluídas (IBB=8) ou com alguns efeitos de contaminação (BMWP'=85). O rio Este apresentou águas moderadamente poluídas (IBB=6) ou muito contaminadas (BMWP'=31). Verificou-se que o valor de ASPT' no rio Guisande foi superior ao do rio Este. Os valores da %EPT foram baixos em ambos os rios embora superiores no rio Guisande (%EPT=6,1), traduzindo um maior número de taxa sensíveis amostrados neste local. Os índices e as medidas de diversidade indicaram que o rio Guisande, embora apresentando águas com indícios de contaminação, apresentou uma melhor qualidade de água comparativamente à do rio Este.

ERRATA

	Onde se lê	Deve ler-se
Página 21	$\mu\text{g cm}^{-1}$	$\mu\text{S cm}^{-1}$
Página 26	Eixo 1 (17,6% da variância)	Eixo 2 (17,6% da variância)
Página 33	<i>Lemmoniera aquatica</i>	<i>Lemonniera aquatica</i>
Página 35	<i>Tricladium attenuatum</i>	<i>Tricladium attenuatum</i>
Página 36	<i>Lemoniera aquatica</i>	<i>Lemonniera aquatica</i>

DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E ANTROPOLOGIA
BIBLIOTECA