

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG  
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA**

**LEVEDURAS E ORGANISMOS  
LEVEDURIFORMES ISOLADOS DO  
SEDIMENTO DAS MARISMAS DO ESTUÁRIO  
DA LAGOA DOS PATOS-RS, BRASIL**

**RUBENS CAURIO LOBATO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica da Universidade Federal do Rio Grande - FURG, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientador: Dr. Paulo Cesar Abreu

**RIO GRANDE  
Agosto de 2011**

**Ofereço esta dissertação**

A todos os Micologistas do passado e do presente;

Aos maiores e mais intensos amores passados, presentes e futuros de  
minha vida;

Ao meu querido amigo e orientador Paulo;

Aos meus verdadeiros amigos;

À minha família material e espiritual;

À minha irmã, Lisandréia, para que este trabalho lhe sirva de incentivo para driblar as adversidades e transpor as dificuldades que encontra e que um dia serão apenas cinzas de uma chama que deixará num passado longínquo todas as dores e aflições de uma vida de provações, posto que a vida seja muito maior, e que Deus é supremo frente a todos os obstáculos!

## **Agradecimentos**

À minha querida mãe, fonte de todo amor que eu sinto neste mundo e a minha família terrena e espiritual, por todo amor, carinho e amizade.

Ao Marcelo, pelo apoio e amparo nestes últimos momentos: te amo.

Ao PPG em Oceanografia Biológica e ao CNPq.

Aos Coordenadores da AICB-FAMED-FURG, pelas oportunidades.

Ao meu orientador, Dr. Paulo Abreu, por tudo de bom que proporcionou para a realização deste trabalho. Por aceitar minha presença, respeitar minhas limitações e compreender minhas falhas e por sermos amigos!

À MSc. Érica Silveira, fiel companheira, irmã de estudos micológicos, raiz de minha ligação com este projeto, minha “criança maléfica” para sempre!

Ao MSc. Ng Haig They por todos os ensinamentos estatísticos!

Aos amigos do Labfito, que me aceitaram, abraçaram, sorriram e choraram: saúde, amor, sucesso e muitas vitórias para todos, sem exceção.

À Dr<sup>a</sup>. Patrícia Nascente do ICB-UFPel por todo o empenho e ajuda com o VitekII.

À Dr<sup>a</sup>. Regina Casartelli, amiga e profissional que realizou as análises em cromatografia iônica: muito obrigado, minha amiga!

À Vera, amiga e fonte de inesgotável senso de justiça e bom humor.

À Dr<sup>a</sup> Mônica Wallner Kersanach pelas análises de C e N, bem como de sua aluna MSc. Luiza Dy, grande companheira de risadas!

Às minhas queridas Leveduras, por se prestarem a ser meu objeto de estudo por tantos anos, além de representarem um importante papel no ambiente de marismas neste estuário.

**ÍNDICE**

	Página
RESUMO .....	01
ABSTRACT .....	02
INTRODUÇÃO .....	03
MATERIAL E MÉTODOS .....	08
RESULTADOS .....	14
DISCUSSÃO .....	32
CONCLUSÕES.....	41
LITERATURA CITADA .....	42
APÊNDICE 01.....	50
APÊNDICE 02.....	53
APÊNDICE 03.....	58

## Resumo

No estuário da Lagoa dos Patos são escassos os trabalhos sobre a comunidade fúngica. O objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência de leveduras em duas áreas de marismas e os fatores abióticos que afetam sua distribuição espacial e temporal. O estudo foi realizado durante o inverno (Agosto) de 2009 e o verão (Fevereiro) de 2010 em duas enseadas rasas no estuário da Lagoa dos Patos, com diferentes níveis de eutrofização. As amostras foram coletadas em marismas dominadas por duas espécies macrófitas emersas: *Juncus kraussii* e *Scirpus olneyi*. Nos locais de coleta foram analisados os parâmetros abióticos e coletadas amostras de sedimento, água intersticial e de vegetação. Foi realizado o isolamento das leveduras do sedimento através de diluição em meio de cultivo. A identificação dos isolados foi feita através da análise de caracteres morfológicos e testes fenotípicos de metabolismo através do Sistema Vitek II. Foram isoladas 73 leveduras classificadas em 09 gêneros, com predominância de Ascomycotas. Entretanto, 10 destes isolados de leveduras não identificados e 02 isolados leveduriformes foram identificados como microalgas do gênero *Prototheca*. Dentre os gêneros de leveduras encontrados, houve uma predominância de leveduras do gênero *Candida* (n=20), seguidos por *Rhodotorula* (n=14), *Yarrowia* (n=07), *Cryptococcus* (n=06), *Clavispora* (n=04), *Issatchenkia* (n=03), *Pichia* (n=03), *Torulaspota* (n=03) e *Kluyveromyces* (n=01). O maior número de leveduras foi isolado em temperatura mais alta, no ambiente menos eutrofizado, em condições com maiores concentrações de nutrientes dissolvidos e no sedimento dominado por detrito de *J. kraussii*.

**Palavras-chave:** Leveduras, *Prototheca*, marismas, *Juncus kraussii*, estuário.

## Abstract

In the Patos Lagoon estuary few studies have been conducted on the fungal community. The aim of this study was to determine the occurrence of yeasts and the environmental factors that affect their spatial and temporal distribution. The study was conducted during the winter (August) of 2009 and summer (February) of 2010 in two shallow bays of the Patos Lagoon estuary with different eutrophication levels. The samples were collected in salt marsh areas dominated by two emergent macrophyte species: *Juncus kraussii* and *Scirpus olneyi*. Abiotic parameters were analyzed in the field and sediment samples, interstitial water and vegetation were collected. Yeasts were isolated from the sediment by dilution using the culture medium method. The identification of isolates was performed according to morphological characteristics and through metabolic tests using the Vitek II system. Seventy-three yeasts were isolated and classified in 09 genera with the predominance of Ascomycota. However, 10 of these isolated yeasts were unidentified and 02 yeast-like organisms, were identified as microalgae of the genera *Prototheca*. Among the identified genera of yeasts, there was a predominance of the genera *Candida* (n=20), followed by *Rhodotorula* (n=14), *Yarrowia* (n=07), *Cryptococcus* (n=06), *Clavispora* (n=04), *Issatchenkia* (n=03), *Pichia* (n=03), *Torulasporea* (n=03) e *Kluyveromyces* (n=01). Highest number of isolates was found in higher temperature, less polluted environment, in water with higher dissolved nutrient concentrations and in sediment dominated by detritus of *Juncus kraussii*.

**Key-words:** Yeasts, *Prototheca*, saltmarsh, *Juncus kraussii*, estuary.

## Introdução

As leveduras constituem um grupo polifilético de organismos fúngicos osmotróficos, unicelulares, com presença de parede composta por quitina e processo reprodutivo por brotamento. Possuem alta capacidade de degradação de compostos orgânicos, despertando o interesse do seu estudo para aplicações biotecnológicas e industriais (Kutty & Phillip, 2008).

Leveduras são organismos cosmopolitas, presentes em diversos tipos de ambientes como na água (marinha ou doce), solo, matéria orgânica em decomposição, bem como em simbiose ou como parasitas de outros organismos. Estão presentes nos mais diversos substratos onde sofrem a influência da temperatura, fontes nutricionais, pH, umidade e disponibilidade de oxigênio. Fatores bióticos como a predação ou competição por substratos, são controladores da abundância de leveduras nos mais diferentes sítios, afetando o estabelecimento e a manutenção de comunidades fúngicas (Almeida, 2005; Loureiro *et al.*, 2005).

O estuário é um local de aporte e alta circulação de matéria orgânica dissolvida e particulada e de nutrientes dissolvidos. Por este motivo, constitui-se um ambiente favorável para o desenvolvimento de comunidades de fungos e leveduras. Diversos estudos confirmam a presença e importância de fungos nos processos de decomposição de matéria orgânica vegetal nas marismas (Newell, 2001; Buchan *et al.*, 2003).

No estuário da Lagoa dos Patos as marismas são áreas irregularmente alagadas localizadas o longo das margens em sua parte inferior, dominadas por macrófitas, em especial por *Spartina alterniflora* Loiset *et* Deslang, *S. densiflora* Brong., *Scirpus maritimus* L., *Scirpus olneyi* A. Gray e *Juncus kraussii* Hochst., (Costa *et al.*, 1997).

Nestas áreas a matéria orgânica vegetal produzida nos estuários, originária em grande parte de plantas vasculares, é rica em compostos de lignina e celulose, elementos refratários que não permitem sua utilização direta na cadeia alimentar, necessitando uma decomposição microbiana prévia. Neste processo, bactérias e fungos atuam na decomposição de macrófitas por meio de excreção de enzimas, degradando parte desta produção primária e enriquecendo com suas biomassas o detrito (Costa *et al.*, 1997; Almeida, 2005).

Outra característica de algumas das regiões de marismas do estuário da Lagoa dos Patos é o impacto antrópico gerado pela entrada de nutrientes decorrente da atividade humana. As primeiras evidências de uma eutrofização antrópica no estuário da Lagoa dos Patos vieram dos trabalhos de Kantin & Baumgarten (1982) e Costa *et al.* (1982). Ambos os trabalhos relacionam as maiores concentrações de nutrientes medidas nos Saco da Mangueira à presença do emissário de esgoto doméstico da cidade, localizado na Coroa do Boi. Alguns estudos fazem uma clara diferenciação entre as fontes de nutrientes, indicando que os elementos nitrogenados seriam provenientes da



deposição e mineralização dos esgotos domésticos, enquanto que a principal fonte de fósforo seria as indústrias de produção de fertilizantes químicos, cujas emissões aquáticas e especialmente aéreas, contribuiriam para o aumento deste elemento no Saco da Mangueira (Baumgarten *et al.*, 1995; Baumgarten *et al.*, 2001). Abreu *et al.*, 2006 demonstraram haver claras diferenças entre o Saco do Justino e o Saco da Mangueira, duas enseadas rasas, quanto ao nível de impacto ambiental, demonstrando através do uso de isótopos estáveis que o Saco do Justino apresenta condições mais prístinas do que o Saco da Mangueira, que recebe efluentes domésticos e industriais há muitos anos.

No Brasil, poucos estudos foram realizados a fim de se determinar os fatores que afetam à presença de leveduras em estuários e alguns fatores foram citados como controladores da abundância e da diversidade de leveduras. A presença de poluentes orgânicos e a geração de condições anóxicas ou hipóxicas são importantes, sendo este último fator determinante à presença de leveduras fermentativas em estuários (Mendoza-Hagler *et al.*, 2001; Loureiro *et al.*, 2005;).

Nas marismas, a presença de leveduras está ligada ao tipo de sedimento e a vegetação predominante que gera a matéria orgânica que será decomposta. Nestes locais, o arsenal enzimático das leveduras é crucial à sua sobrevivência, tendo em vista a necessidade da quebra bioquímica de compostos ricos em celulose e hemicelulose (Almeida, 2005; Caçador *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2007).

No estuário da Lagoa dos Patos existem poucos estudos que fazem referência aos fungos. Hickenbick *et al.* (2004), estudando a produção de detritos das macrófitas emergentes *Spartina alterniflora*, *Spartina densiflora*, *Scirpus maritimus* e *Scirpus olneyi*, observaram uma grande quantidade de hifas e esporos de fungos presentes nos detritos das macrófitas.

Em estudo recente, Sassi *et al.* (no prelo) evidenciaram a presença de fungos e leveduras na água do estuário da Lagoa dos Patos, demonstrando que a presença de micro-organismos que além de participar dos processos de ciclagem de nutrientes, podem representar riscos à saúde pública, devido a sua capacidade de promover infecções superficiais, invasivas ou sistêmicas, em especial a partir da invasão de tecidos através de lesões teciduais.

Dentro destes micro-organismos potencialmente patogênicos encontra-se o gênero *Prototheca*, que se constitui de microalgas não fotossintetizantes que apresentam metabolismo heterotrófico absorptivo e que, em alguns casos, estão associadas à parasitose em diversos grupos animais e no homem. Comensais de solo úmido ou alagado prevalecem em meio à decomposição de substratos oriundos de matéria orgânica e possuem a capacidade de assimilar compostos de carbono e nitrogênio (Pore, 1998; Ueno *et al.*, 2003). Seu fácil isolamento de substratos infectados, aspecto colonial, crescimento em meios de cultivos seletivos para fungos e leveduras, bem como seu perfil de assimilação de fontes de carbono e nitrogênio promoveu a classificação destas

espécies como organismos leveduriformes (“*yeast-like*”) fato este que as destina como objeto de estudos em Micologia (Ueno *et al.*, 2003).

### **Justificativa**

Devido à escassez de informações a respeito das leveduras em ambientes estuarinos e em especial no estuário da Lagoa dos Patos, bem como de sua importância nos processos de decomposição de matéria orgânica vegetal é que se propõe este estudo que visa analisar a abundância e riqueza de leveduras em marismas deste ecossistema e os fatores controladores de sua distribuição no espaço e no tempo

### **Objetivos**

#### ***Geral***

Determinar a ocorrência de leveduras em dois ambientes de marismas do estuário da Lagoa dos Patos-RS, com diferentes níveis de eutrofização em duas épocas do ano (inverno e verão).

#### **Específicos**

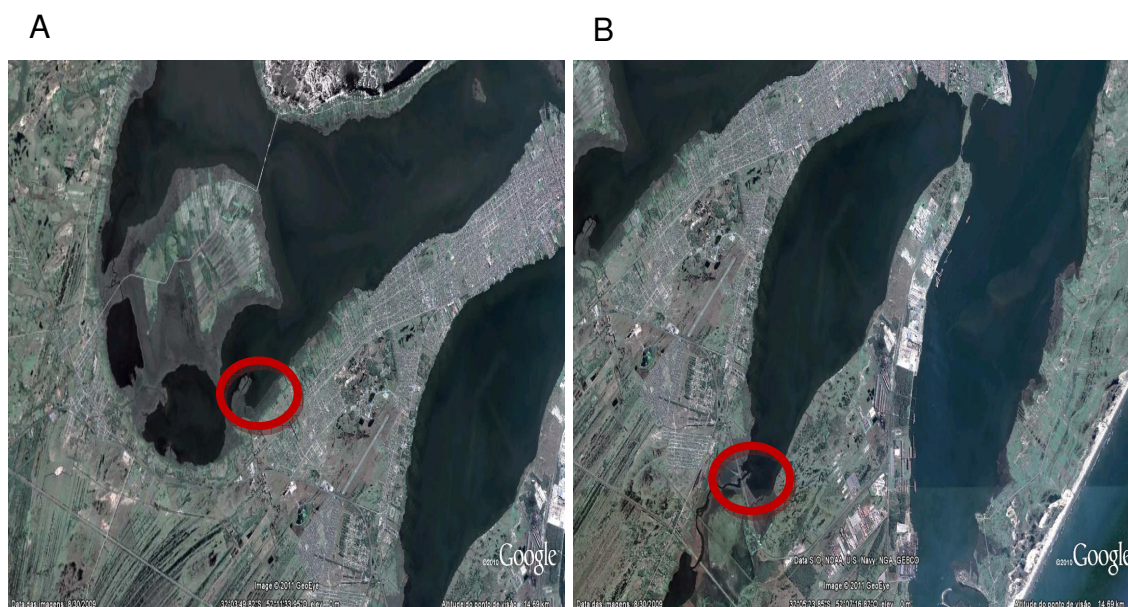
Isolar e identificar as leveduras presentes em regiões do estuário da Lagoa dos Patos – RS, Brasil, com distintos níveis de eutrofização e com a dominância de duas espécies de macrófitas (*Juncus kraussii* e *Scirpus olneyi*);

Identificar possíveis fatores controladores da distribuição espacial e temporal de leveduras nas amostras de sedimento de marismas do estuário da Lagoa dos Patos-RS, Brasil.

## Material e Métodos

### Local de estudo

O estudo foi realizado na área de marisma de duas enseadas rasas no estuário da Lagoa dos Patos, denominadas Saco do Justino ( $32^{\circ} 4' 34-38''$  S;  $52^{\circ} 12' 14-18''$  W), que é um ambiente mais pristino e Saco da Mangueira ( $32^{\circ} 6' 49-52''$  S;  $52^{\circ} 9' 25-30''$  W), local sujeito a descargas frequentes de efluentes domésticos e industriais (Figura 1). Estes ambientes foram visitados durante o inverno (08/2009) e o verão (02/2010). Nos dois locais, foi coletado sedimento em 03 pontos de 03 transectos adjacentes localizados na região entre marés ocupada pelas macrófitas *Juncus kraussii* e *Scirpus olneyi*, totalizando 09 amostras por local de coleta. Os transectos foram distribuídos a intervalos de 5 m, perpendiculares à margem.



**Figura 01:** Locais de coleta em marismas de duas enseadas (A = Saco do Justino e B = Saco da Mangueira) no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

Nos pontos dos transectos foram realizadas coletas de sedimento superficial (50 g) e de porções de folhas, talos e raízes da vegetação dominante. Uma amostra de água intersticial por transecto foi coletada através de escavação do sedimento até 20 cm de profundidade, coletando-se a água intersticial com o auxílio de tubos falcon de 50 ml (Mendonça & Costa, 2008).

Em cada local de coleta, nas duas estações do ano estudadas (inverno – verão), foram realizadas medidas na água superficial próxima aos pontos de coleta de sedimento, onde se analisou a temperatura da água ( $\pm 0,1$  °C), pH ( $\pm 0,1$ ), Oxigênio dissolvido ( $\pm 0,1$  mg/L) e salinidade ( $\pm 0,1$ ), utilizando-se uma sonda multi-parâmetro, Yellow-Spring modelo: YSI DO 85 (YSI, Yellow Springs, OH, USA), devidamente calibrada.

Amostras das macrófitas foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e conduzidas, conjuntamente com as demais amostras, ao Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Micro-organismos Marinhos-IO-FURG, para posterior processamento.

### **Análise de nutrientes em amostras de água intersticial**

As análises de nutrientes dissolvidos de amostras de água intersticial foram realizadas no Laboratório de Hidroquímica – IO - FURG, através da técnica de cromatografia iônica. Os elementos  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  foram dosados em Cromatógrafo Iônico, Metrohn<sup>®</sup> (modelo 861) com amostrador automático (modelo 863), utilizando-se uma coluna Metrosep A Supp 5-150

(4,0x150 mm) de álcool polivinil com supressão química. Como fase móvel foi utilizada solução eluente de 3,2 mmol L<sup>-1</sup> de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) e 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>). O volume injetado foi de 50 µL com fluxo médio de 0,7 mL min<sup>-1</sup>, condutividade aproximada de 17 µS cm<sup>-1</sup> e a pressão em torno de 9,0 MPa (Giambra, 2005).

As concentrações de Nitrogênio Amoniacal foram determinadas no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Micro-organismos Marinhos – IO – FURG por metodologia espectrofotométrica, conforme UNESCO(1983).

#### **Quantificação de carbono e nitrogênio orgânico particulado**

Para a análise de carbono (C) e nitrogênio (N) nas amostras de vegetação e sedimento as amostras foram homogeneizadas e conduzidas ao Laboratório de Hidroquímica do IO – FURG para posterior análise, seguindo o protocolo da Perkin Elmer. Para tanto, foram pesados entre 2,5 a 3,0 mg da amostra seca e macerada e colocadas em uma cápsula de estanho. O carbono e nitrogênio foram determinados no Analisador Elementar CHNS/O 2400 Series II da Perkin Elmer, sendo as concentrações de C e N expressas como percentual do peso da amostra. A calibração do equipamento e o controle de qualidade da análise foram realizados utilizando-se o material de referência certificado (Wallner-Kersanach *et al.*, 2010).

## **Isolamento e cultivo de leveduras**

As leveduras presentes nas amostras de sedimento foram isoladas a partir da diluição destas em água peptonada 0,1% estéril (1:9). As alíquotas (1 ml) das diluições foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar, suplementado com Cloranfenicol (40mg/L), em triplicata, para a obtenção dos isolados leveduriformes (Loureiro *et al.*, 2005).

O cultivo foi realizado à temperatura de 25 °C ( $\pm$  1 °C) em estufa microbiológica e o crescimento das colônias acompanhado por até 72 h. Para o isolamento, foram realizados repiques dos morfotipos de leveduras encontrados em tubos de ensaio estéreis contendo Sabouraud Dextrose Agar.

## **Identificação dos isolados**

A identificação, até o nível de gênero, das leveduras isoladas das amostras de sedimento foi realizada através da análise de caracteres morfológicos, testes fenotípicos (Apêndice 01) e testes de assimilação e fermentação de fontes de Carbono e Nitrogênio (Apêndice 02) através do sistema automatizado Vitek II (Biomerieux), no Laboratório de Micologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas- UFPel.

O sistema Vitek II constitui-se de um equipamento para a identificação microbiana, baseado na formação de cor em substrato específico gerado a partir da atividade metabólica dos organismos. Foram utilizados cartões YST (yeast and yeast-like organisms), constituídos de 46 fontes de substratos e a

utilização de alguns destes elementos propicia a determinação do perfil bioquímico dos isolados de leveduras (Orengas *et al.* 2009).

Os poços nos cartões contendo diferentes substratos foram inoculados com as leveduras isoladas. Após um período de 18 à 36h, sob temperatura controlada (30-37°C) verificou-se a viragem da coloração e o aumento da densidade no inóculo, gerando resultados positivos ou negativos para cada tipo de composto assimilado, o que permite uma posterior identificação do isolado (Orengas *et al.* 2009).

Os resultados dos testes fenotípicos, associados aos dados de assimilação e fermentação dos isolados obtidos a partir do sistema Vitek II, foram compilados e analisados junto ao sistema Poliphasic Identification do MycoBank da International Mycological Association (IMS). Para este estudo, consideramos um grau de similaridade dos resultados com o banco de dados do sistema, superior a 95%, nível de distância dos dados obtidos com aqueles presentes no sistema de identificação igual a zero e o maior número de caracteres similares (Crous, *et al.*, 2004).

Os espécimes encontrados foram criopreservados com Glicerol a 20% em tanque de Nitrogênio líquido, de acordo com Hoffman (1991).

### **Análise estatística dos dados**

Os dados relativos aos fatores abióticos estão apresentados em tabela de contingência. A abundância de leveduras foi estimada pelo número total de



isolados por amostra em cada local pesquisado, de acordo com o tipo de vegetação e estação do ano.

Foi realizado o Teste T de *Student* para verificar a diferença entre os valores das concentrações de nutrientes pesquisados entre as coletas realizadas nas diferentes estações do ano e entre os dois tipos de vegetações estudados.

Para determinação de diferenças na distribuição de leveduras entre locais e épocas do ano, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) e o Teste de Tukey *post hoc*. Foram analisadas as diferenças entre as médias das variáveis categóricas e das variáveis independentes, observando os níveis de significância de 95% (Triola, 2009).

A caracterização dos fatores controladores da abundância deste grupo de micro-organismos no estuário da Lagoa dos Patos foi feita determinando-se a relação entre as variáveis abióticas com o número de isolados de leveduras, através do modelo de Correlação Linear ( $r$ ) (Triola, 2009), aplicado para determinar as possíveis relações entre estes elementos e a distribuição das leveduras nas diferentes estações do ano, local de coleta e tipo de vegetação.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa *Statistica 10* (Statsoft®).

## Resultados

Os parâmetros abióticos pesquisados apresentaram variações de acordo com o período do ano e local de coleta. A temperatura da água apresentou valores semelhantes entre os locais na mesma época do ano. Entretanto, maiores temperaturas foram registradas no verão ( $\approx 26-27^{\circ}\text{C}$ ), caracterizando uma clara sazonalidade em relação ao inverno ( $\approx 19^{\circ}\text{C}$ ) (Tabela 01).

Os valores medidos de salinidade da água superficial foram normalmente baixos (0,2-1,5). No Saco do Justino houve diferença entre os valores de salinidade medidos nos dois períodos, fato este que não foi observado no Saco da Mangueira, que manteve seus valores de salinidade no mesmo nível, nos dois períodos de coleta (Tabela 01).

Valores de pH apresentaram variação entre os períodos do ano (08/2009 e 02/2010) em cada local de estudo, observando-se maiores valores no período do inverno (7,5-9,0), em especial no Saco da Mangueira (Tabela 01).

Os maiores valores de Oxigênio dissolvido na água, também foram medidos no período do inverno nos dois locais de coleta (9,5- 11,4  $\text{mg/l}^{-1}$ ), enquanto no verão os valores foram visivelmente mais baixos. Merece destaque a diferença entre os valores de Oxigênio dissolvido observados no Saco da Mangueira com uma queda acentuada entre Agosto de 2009 e Fevereiro de 2010 (Tabela 01).

**Tabela 01:** Fatores abióticos (Temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido) da água superficial de duas enseadas rasas próximas aos dois locais de coleta, no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

Parâmetros	Justino		Mangueira	
	08/2009	02/2010	08/2009	02/2010
Temperatura da água (°C)	19,0	26,2	19,3	26,7
Salinidade	1,2	0,2	1,5	1,5
pH	7,5	6,7	9,0	5,9
Oxigênio dissolvido (mg/L <sup>-1</sup> )	9,5	7,8	11,4	5,3

As concentrações médias de Amônio na água intersticial variaram com o tipo de vegetação e local de coleta. As amostras coletadas em *J. kraussii* apresentaram maior variação no Saco da Mangueira, com diferença significativa dos valores ( $p < 0,05$ ) entre 0,56 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 5,4 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010). Em *S. olneyi*, as maiores variações ocorreram também no Saco da Mangueira, mas foram de 1,31 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 1,45 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010). No Saco do Justino, em *J. kraussii* e em *S. olneyi* as diferenças deste nutriente entre as estações do ano não foram significativas (Tabela 02).

As concentrações médias de Nitrito apresentaram diferenças entre as estações do ano apenas no Saco do Justino, onde se encontrou um valor médio de concentração de 1,23 mg/L<sup>-1</sup> no inverno em áreas vegetadas por *J. kraussii*, mas no verão as dosagens foram indetectáveis ou próximas de zero. No Saco da Mangueira, os valores permaneceram similares entre as estações,

para *J. kraussii* (0,15 - 0,18 mg/L<sup>-1</sup>) e para *S. olneyi* (não detectável – 0,12 mg/L<sup>-1</sup>). Embora apresentem pequenas diferenças entre os tipos de macrófitas pesquisados, estes valores não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 02).

**Tabela 02:** Nutrientes analisados (mg/L<sup>-1</sup>) nas amostras de água intersticial nos dois locais escolhidos para o isolamento de leveduras no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande - RS, Brasil (n=3).

Nutrientes	Saco do Justino				Saco da Mangueira			
	08/2009		02/2010		08/2009		02/2010	
	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>
<b>NH<sub>4</sub></b>								
Média	0,76 <sup>A</sup>	0,45 <sup>A</sup>	0,75 <sup>A</sup>	0,41 <sup>A</sup>	0,56 <sup>A</sup>	1,31 <sup>A</sup>	5,40 <sup>B</sup>	1,45 <sup>A</sup>
D.P.	0,18	0,17	0,67	0,27	0,17	0,81	2,67	0,15
Mín.	0,61	0,25	0,26	0,25	0,38	0,49	2,33	1,36
Máx.	0,96	0,52	1,52	0,72	0,73	2,11	7,15	1,63
<b>NO<sub>2</sub></b>								
Média	1,23	ND	ND	0,19	0,18 <sup>A</sup>	ND	0,15 <sup>A</sup>	0,12
D.P.	2,13	ND	ND	0,28	0,31	ND	0,02	0,11
Mín.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,12	ND
Máx.	3,69	ND	ND	0,52	0,53	ND	0,17	0,20
<b>NO<sub>3</sub></b>								
Média	2,25 <sup>A</sup>	0,30 <sup>A</sup>	1,02 <sup>A</sup>	1,18 <sup>B</sup>	1,67 <sup>A</sup>	1,95 <sup>A</sup>	1,30 <sup>A</sup>	0,92 <sup>B</sup>
D.P.	2,25	0,10	0,06	0,28	0,54	0,16	0,38	0,02
Mín.	0,85	0,20	0,97	0,96	1,26	1,86	0,93	0,90
Máx.	4,84	0,41	1,08	1,50	2,28	2,12	1,69	0,94
<b>PO<sub>4</sub></b>								
Média	0,58 <sup>A</sup>	0,81	0,26 <sup>A</sup>	ND	1,03 <sup>A</sup>	0,28 <sup>A</sup>	15,54 <sup>B</sup>	3,70 <sup>B</sup>
D.P.	1,00	0,90	0,44	ND	1,04	0,48	6,90	2,04
Mín.	ND	0,28	ND	ND	ND	ND	7,69	2,18
Máx.	1,75	1,86	0,76	ND	2,08	0,83	20,66	6,00

ND: não detectado; Letras diferentes entre os valores, representam diferenças estatisticamente significativas.

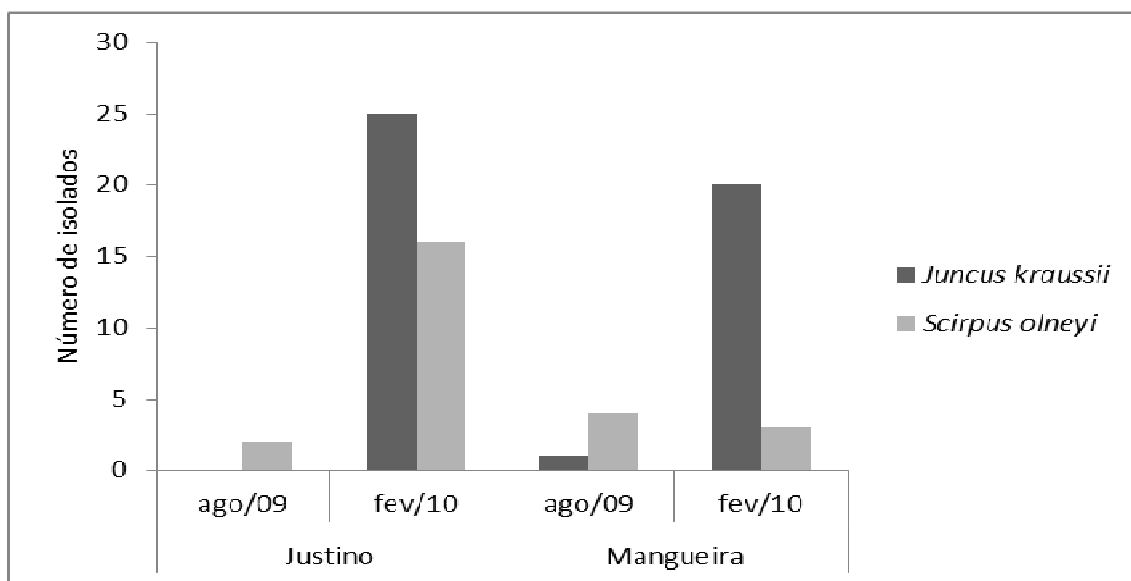
Em áreas vegetadas por *J. kraussii*, as dosagens médias de Nitrato apresentaram variação entre as estações do ano, não apresentando diferença estatisticamente significativa, com valores entre 2,25 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 1,02 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010), no Saco do Justino. No Saco da Mangueira, os valores variaram entre 1,67 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 1,30 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010). Em áreas vegetadas por *S. olneyi*, as dosagens médias de Nitrato apresentaram diferenças significativas entre os pontos de coleta. As amostras apresentam variação ( $p < 0,01$ ) entre as estações do ano, estabelecendo valores entre 0,3 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 1,18 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010), no Saco do Justino. No Saco da Mangueira, os valores variaram ( $p < 0,01$ ) entre 1,95 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 0,92 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010) (Tabela 02).

O teor de Fosfato variou entre os locais de amostragem durante as estações do ano nas duas vegetações pesquisadas. Em áreas de *J.kraussii*, no Saco do Justino, as amostras apresentaram variações entre 0,58 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 0,26 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010), mas não houve significância estatística. No Saco da Mangueira, ocorreram as maiores concentrações e diferenças, apresentando variações significativas entre os valores ( $p < 0,05$ ) de 1,03 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e 15,54 mg/L<sup>-1</sup> (02/2010).

Nos locais de amostragem em áreas vegetadas por *S. olneyi* as amostras apresentaram variações entre 0,81 mg/L<sup>-1</sup> (08/2009) e próximo de zero ou indetectável (02/2010), no Saco do Justino. No Saco da Mangueira, ocorreram maiores diferenças, apresentando variações estatisticamente

significativas entre os valores ( $p < 0.05$ ) de  $0,28 \text{ mg/L}^{-1}$  (08/2009) e  $3,70 \text{ mg/L}^{-1}$  (02/2010). Vale ressaltar a ocorrência de diferenças opostas entre as estações do ano nos dois locais de estudo (Tabela 02).

O número de isolados de leveduras das amostras de sedimento por local de coleta (Figura 02) revela um padrão de distribuição com maiores abundâncias no verão e em sedimento dominado por detrito de *J. kraussii*. Em agosto de 2009 nenhuma levedura foi encontrada no sedimento desta vegetação no Saco do Justino.

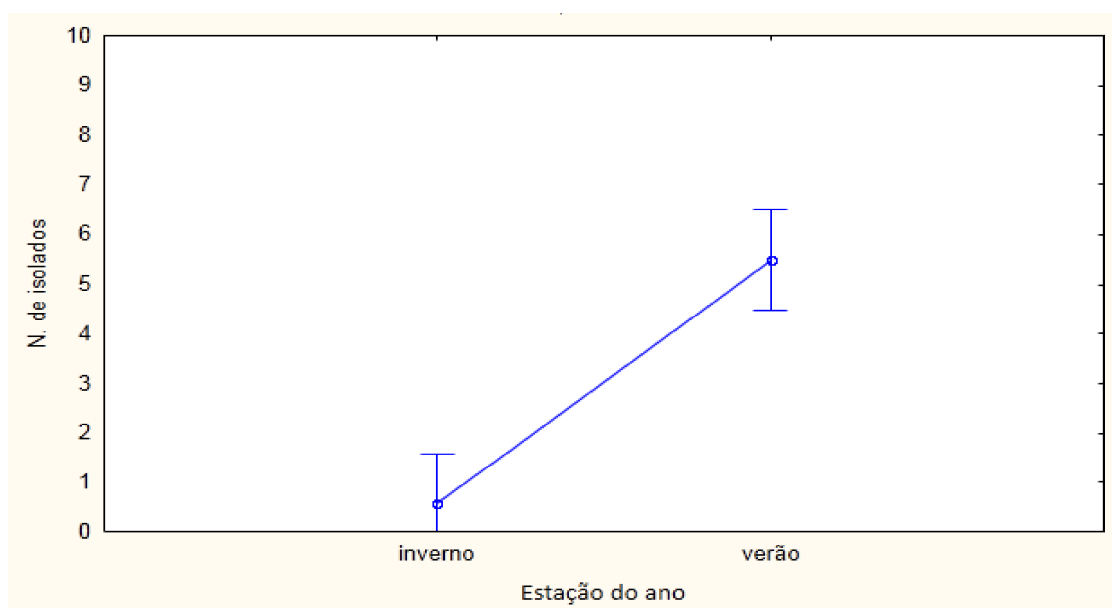


**Figura 02:** Distribuição do número de colônias de leveduras isoladas do sedimento do Saco do Justino e Saco da Mangueira no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil em marismas dominadas pelas macrófitas *Juncus kraussii* e *Scirpus olneyi*.

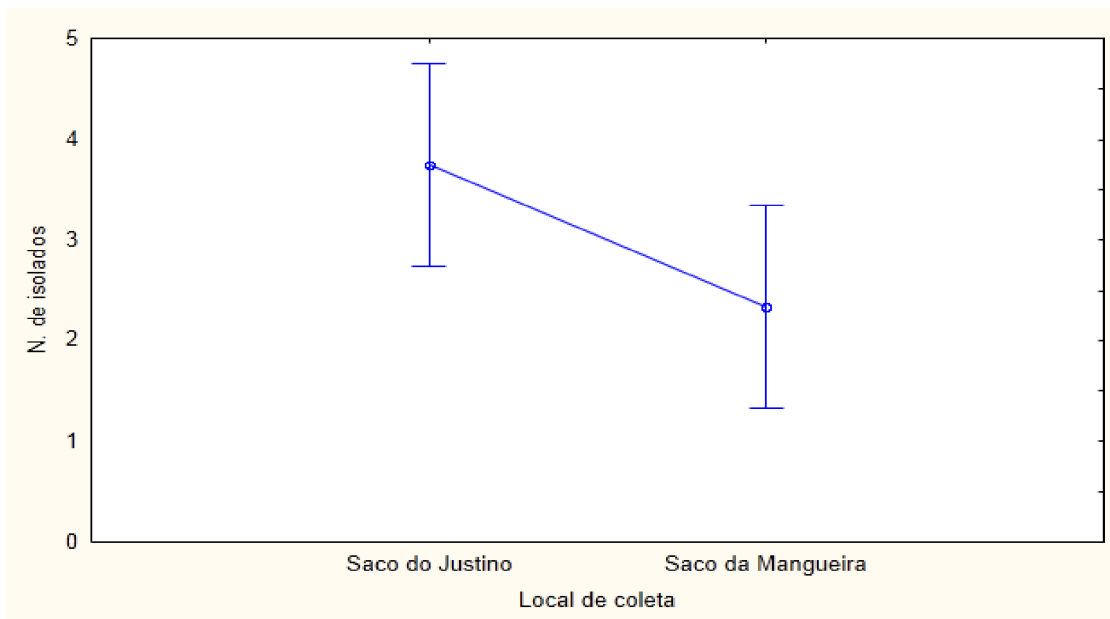
De acordo com os resultados da Análise de Variância (ANOVA) multifatorial, houve diferença significativa entre a distribuição dos isolados e as

estações do ano pesquisadas, com maiores valores no verão ( $p < 0,01$ ) (Figura 03).

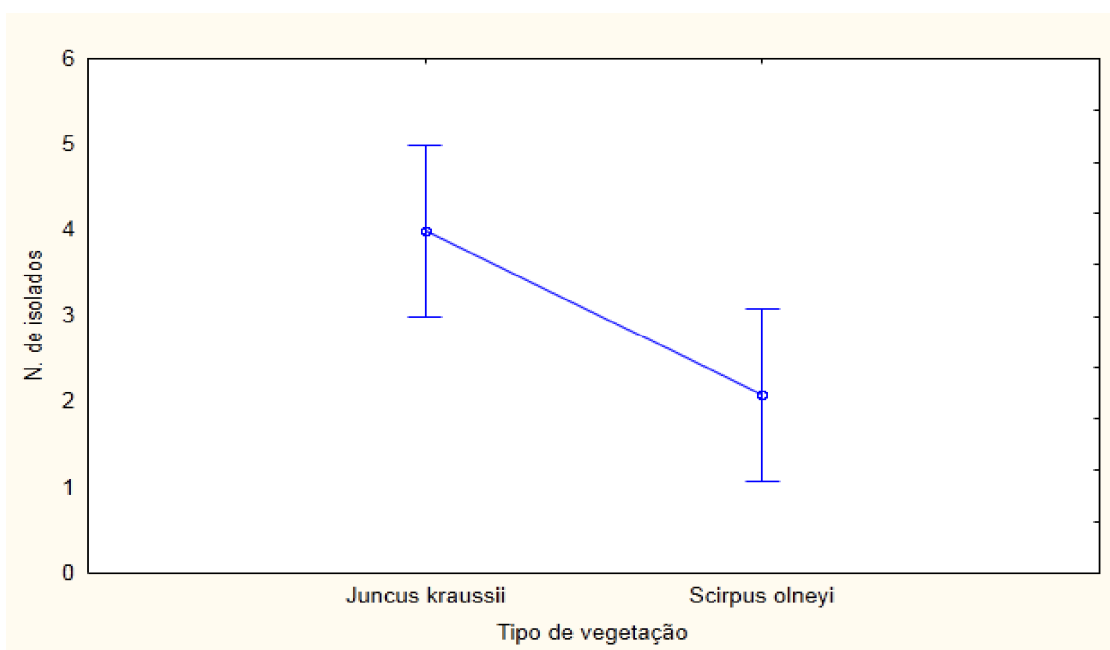
Com relação ao local de coleta, a análise demonstrou diferença significativa na distribuição das leveduras isoladas, com maiores valores no Saco do Justino ( $p= 0,05$ ) (Figura 04). No que diz respeito ao tipo de vegetação associada ao isolamento de leveduras, houve diferença significativa entre os isolados de leveduras e as macrófitas com maior número de isolados obtidos em marismas dominadas por *J. krausii* ( $p < 0,05$ ) (Figura 05).



**Figura 03:** Comparação entre as médias do número de colônias isoladas de leveduras em relação às estações do ano pesquisadas no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,01$ ).



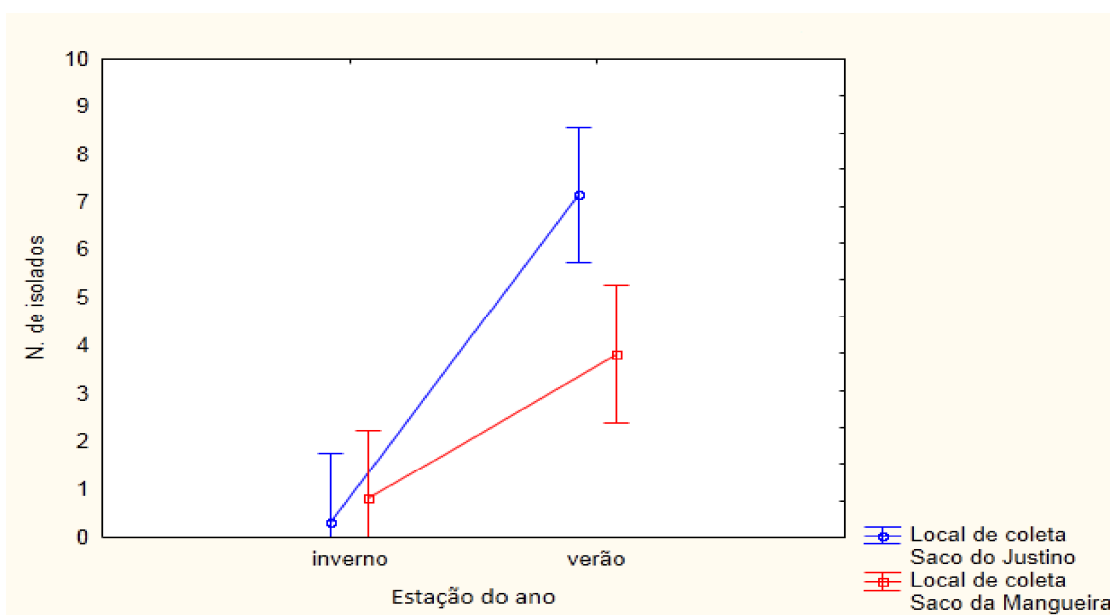
**Figura 04:** Comparação entre as médias do número de colônias isoladas de leveduras em relação aos locais de coleta pesquisadas no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p = 0,051$ ).



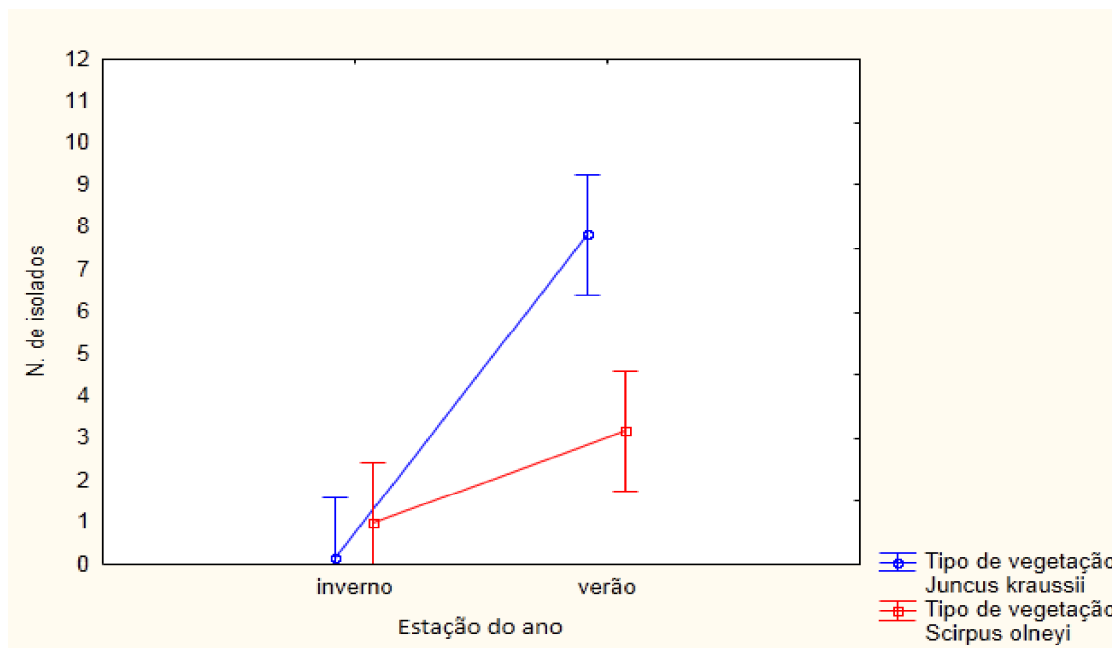
**Figura 05:** Comparação entre as médias do número de colônias isoladas de leveduras em relação ao tipo de vegetação estudada no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,05$ ).



Houve diferença estatística quando analisadas as interações entre as variáveis categóricas aos pares (estação do ano + local de coleta) com o número de isolados leveduriformes, demonstrando uma relação positiva à estação verão no local Saco do Justino ( $p < 0,05$ ) (Figura 06). Na interação dos fatores estação do ano e tipo de vegetação com o número de isolados, observaram-se valores significativos quanto às relações da estação do ano verão, e tipo de vegetação *J. kraussii* ( $p < 0,01$ ) (Figura 07).



**Figura 06:** Interação entre as variáveis: Estação do ano e Local de coleta na distribuição do número de colônias isoladas de leveduras no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,05$ ).



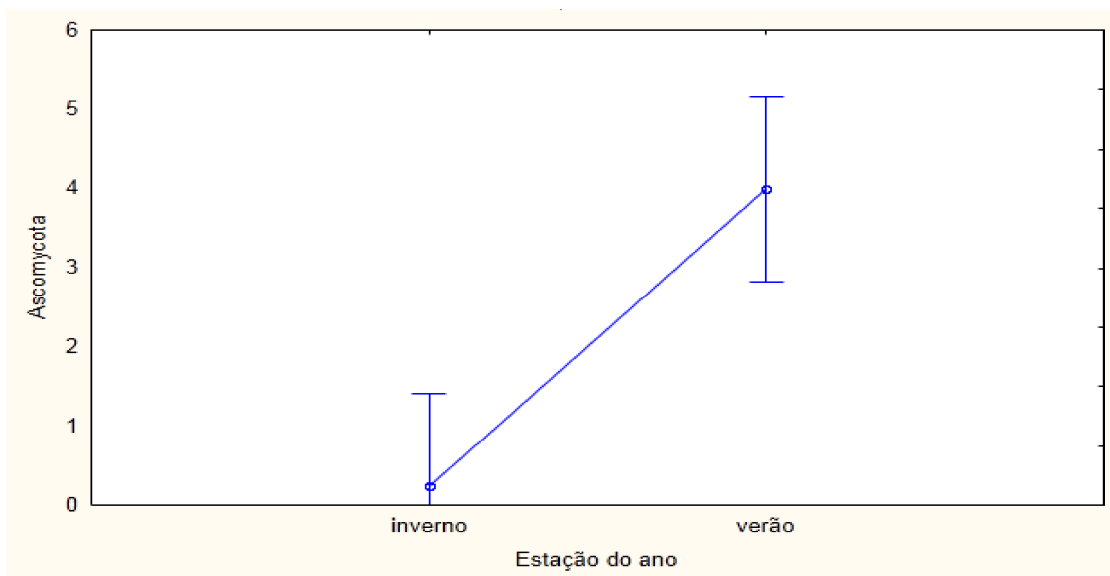
**Figura 07:** Interação entre as variáveis: Estação do ano e Tipo de vegetação na distribuição de leveduras no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,01$ ).

Foram contabilizados um total de 73 isolados, em 09 gêneros de leveduras, 02 isolados de leveduriformes do gênero *Prototheca*, além de 10 isolados não identificados. Dentre os gêneros de leveduras encontradas, houve um maior número de leveduras do gênero *Candida* (20 isolados), seguidos por *Rhodotorula* (14 isolados), *Yarrowia* (07 isolados), *Cryptococcus* (06 isolados), *Clavispora* (04 isolados), *Issatchenkia*, *Pichia* e *Torulaspota* (03 isolados cada) e *Kluyveromyces* (01 isolado) (Tabela 03).

**Tabela 03:** Número de colônias de leveduras isoladas de amostras de sedimento provenientes de duas áreas de marismas alagáveis no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

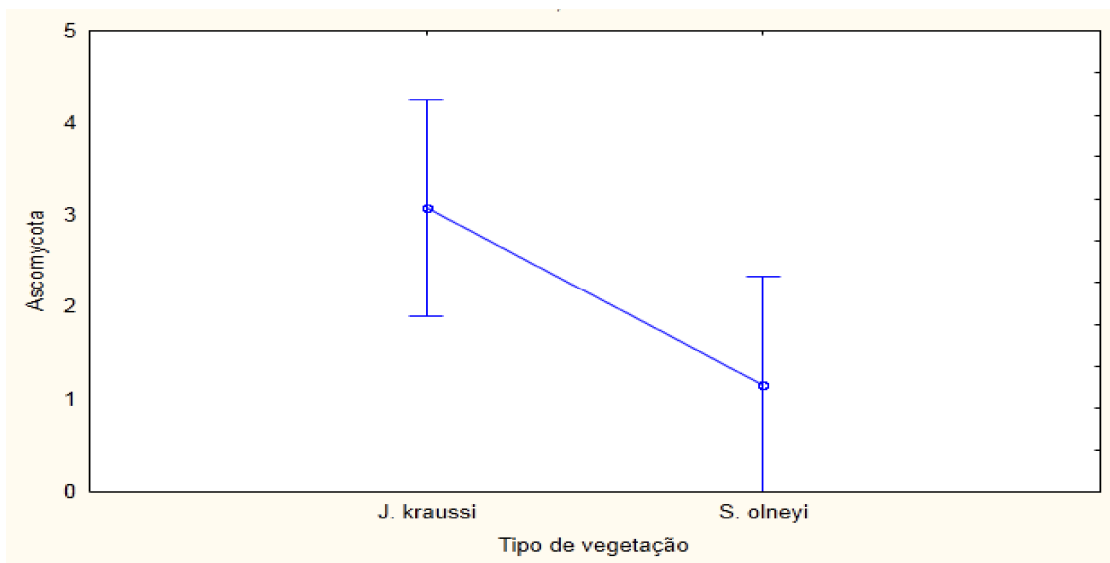
Leveduras	Classe	Saco do Justino				Saco da Mangueira			
		ago/09		fev/10		ago/09		fev/10	
		J. <i>kraussii</i>	S. <i>olneyi</i>	J. <i>kraussii</i>	S. <i>olneyi</i>	J. <i>kraussii</i>	S. <i>olneyi</i>	J. <i>kraussii</i>	S. <i>olneyi</i>
<i>Candida</i> sp. 01	<i>Ascomycota</i>	0	1	9	2	0	1	3	1
<i>Candida</i> sp. 02	<i>Ascomycota</i>	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Candida</i> sp. 03	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Candida</i> sp. 04	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Clavispora</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	1	0	1	1	1
<i>Torulasporea</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>Yarrowia</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	0	0	4	3	0	0	0	0
Isolados não identificados	<i>Ascomycota</i>	0	0	5	0	0	0	5	0
<i>Issatchenkia</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	0	0	1	0	0	0	2	0
<i>Kluyveromyces</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Pichia</i> sp. 01	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Pichia</i> sp. 02	<i>Ascomycota</i>	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Prototheca</i> sp. 01	<i>Chlorophyta</i>	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Prototheca</i> sp. 01	<i>Chlorophyta</i>	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i> sp. 01	<i>Basidiomycota</i>	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Cryptococcus</i> sp. 02	<i>Basidiomycota</i>	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i> sp. 03	<i>Basidiomycota</i>	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>Rhodotorula</i> sp. 01	<i>Basidiomycota</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Rhodotorula</i> sp. 02	<i>Basidiomycota</i>	0	1	2	4	1	2	3	0
Total de Isolados		0	2	27	16	1	4	20	3

Dentre os filos *Ascomycota* e *Basidiomycota*, houve uma maior presença de representantes do primeiro grupo, em todas as coletas realizadas (Tabela 03). Além disso, houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os períodos de amostragem, com preferência por parte de leveduras ascomicéticas por temperaturas mais elevadas no verão (Figura 08).

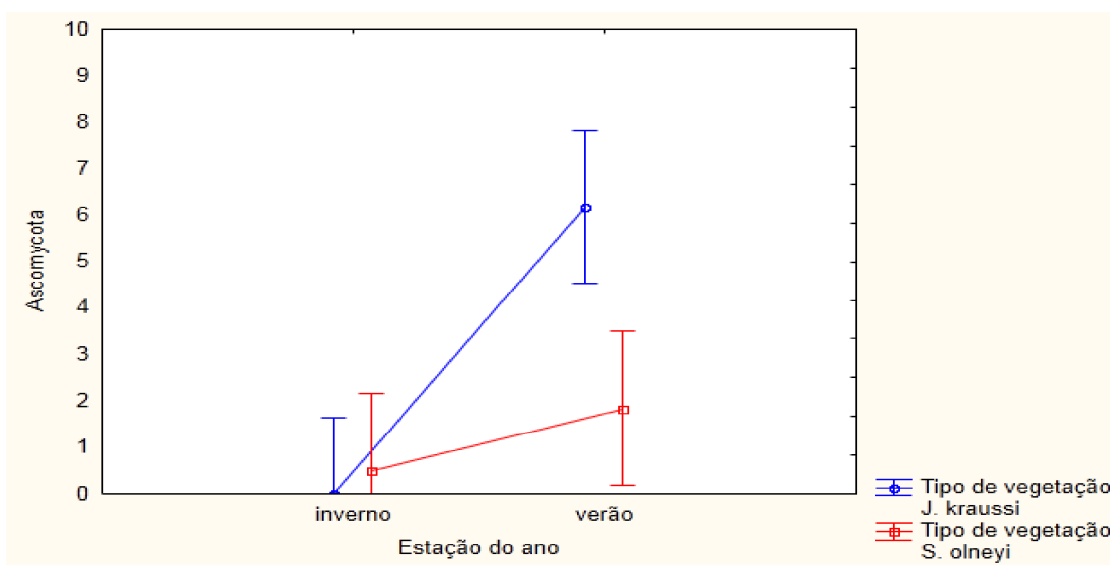


**Figura 08:** Distribuição de leveduras Ascomycota de acordo com a estação do ano no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,01$ ).

No que diz respeito ao tipo de vegetação, leveduras ascomicéticas demonstraram preferência por áreas vegetadas por *J. kraussii* (Tabela 03). Esta preferência por substrato foi também estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparada à *S. olneyi* (Figura 09) e quando observada a interação dos fatores estação do ano e tipo de vegetação ( $p < 0,01$ ), posteriormente (Figura 10).



**Figura 09:** Distribuição de leveduras Ascomycota de acordo com o tipo de vegetação no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,05$ ).



**Figura 10:** Distribuição de leveduras Ascomycota de acordo com a estação do ano e o tipo de vegetação no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil ( $p < 0,01$ ).

Dentre as leveduras Basidiomycota, não houve significância estatística entre as variáveis categóricas (estação do ano, local de coleta e tipo de vegetação) e o número de isolados.

As leveduras *Candida* sp 01 e *Clavispora* sp foram encontradas nos dois locais amostrados independentemente do tipo de vegetação. As demais leveduras *Candida* spp apresentaram uma maior prevalência no Saco do Justino durante o verão, com um maior número de isolados junto à *S. olneyi* (Tabela 03).

Já *Torulospora* sp apresentou ocorrência no verão nos dois locais de coleta. *Yarrowia* sp foi isolada apenas no Saco do Justino, durante o verão, nas duas vegetações. *Issatchenkia* sp foi encontrada apenas em sedimentos de marismas de *J. kraussii* no verão nos dois locais de coleta. *Kluyveromyces* sp e *Pichia* spp, foram encontradas em amostras do Saco da Mangueira, junto à *J. kraussii* durante as coletas do verão (Tabela 03).

Isolados de *Cryptococcus* sp 01 e *Cryptococcus* sp 02 ocorreram no Saco do Justino durante o verão, respectivamente, associados à *J. kraussii* e em ambos os tipos de vegetação no Saco do Justino (Tabela 03).

*Cryptococcus* sp 03 e *Rhodotorula* sp 01 foram isoladas somente em amostras de *S. olneyi* no Saco do Justino durante o verão. A levedura *Rhodotorula* sp 02 pode ser considerada comensal dos dois locais (Tabela 03).

Foram isoladas duas cepas de microalgas comumente denominadas “*yeast like fungi*” do gênero *Prototheca* associadas à *J. kraussii*, no Saco do Justino, durante o verão (Tabela 03).

A correlação linear entre os nutrientes e o número de colônias de isolados leveduriformes foi realizada de acordo com as áreas vegetadas por *J.kraussii* e *S.olneyi* nos locais de coleta, durante os períodos do inverno e verão.

No Saco do Justino, durante o inverno (08/2009), não foram identificadas correlações entre as concentrações de nutrientes e isolados de leveduras em áreas vegetadas por *J. kraussii*. Em áreas com a vegetação *S.olneyi* houve uma correlação positiva entre os nutrientes Amônio ( $r = 0,99$ ) e Nitrato ( $r = 0,79$ ) com número de leveduras isoladas (Tabela 04).

Em amostras oriundas do Saco do Justino, durante o verão (02/2010) em áreas vegetadas por *J.kraussii*, observou-se correlação linear inversa entre os valores de Amônio ( $r = 0,94$ ) e o número de leveduras encontradas (Tabela 04).

**Tabela 04:** Correlação linear ( $r$ ) entre o número de colônias de leveduras isoladas do sedimento e as concentrações de nutrientes em amostras de água intersticial provenientes de duas áreas de marismas alagáveis no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

	Leveduras Isoladas				Leveduras Isoladas			
	Saco do Justino				Saco da Mangueira			
	ago/09		fev/10		ago/09		fev/10	
	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J. kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>
<b>NH<sub>4</sub></b>	*	<b>r = 0,99</b>	<b>r = - 0,94</b>	r = 0,50	r = 0,08	<b>r = 0,86</b>	r = 0,11	r = 0,03
<b>NO<sub>2</sub></b>	*	*	*	r = 0,42	r = 0,50	*	r = 0,27	<b>r = - 0,94</b>
<b>NO<sub>3</sub></b>	*	<b>r = 0,79</b>	r = 0,64	r = 0,27	r = 0,66	<b>r = 0,99</b>	<b>r = - 0,99</b>	r = 0,27
<b>PO<sub>4</sub></b>	*	r = 0,50	r = 0,67	*	<b>r = 0,87</b>	<b>r = 1,00</b>	r = 0,36	r = 0,16

(\*)= não foi possível realizar correlação.

No Saco da Mangueira, durante o inverno (08/2009), em áreas de *J. kraussii* houve correlação linear positiva entre o número de leveduras isoladas e o teor de Fosfato na água intersticial ( $r= 0,87$ ). Em áreas de *S.olneyi*, houve correlação positiva entre os nutrientes: Amônio ( $r= 0,86$ ), Nitrato ( $r= 0,99$ ) e Fosfato ( $r=1,00$ ) e o número de leveduras isoladas (Tabela 04).

Em amostras oriundas do Saco da Mangueira, durante o verão (02/2010) em áreas vegetadas por *J.kraussii*, observou-se correlação linear inversa entre os valores de Nitrato ( $r= 0,99$ ) e o número de leveduras encontradas. Em áreas vegetadas por *S.olneyi*, houve correlação linear inversa entre Nitrito ( $r= 0,94$ ) e o número de leveduras isoladas (Tabela 04).

Os valores de carbono (C) em amostras de hastes de *J. kraussii* no Saco do Justino foram: 44,5% do peso seco (inverno) e 48,1% (verão). Para



nitrogênio (N) os teores no tecido foram de 1,3% (inverno) e 1,7% (verão). Para amostras desta mesma planta no Saco da Mangueira os valores de C foram: 45,5% (inverno) e 47,2% (verão). Para N os valores foram: 1,3% (inverno) e 1,9% (verão) (Tabela 05).

**Tabela 05:** Valores da quantificação de C, N e relação C/N em amostras de vegetação coletadas de duas áreas de marismas alagáveis no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

	C %		N %		C / N	
	Justino	Mangueira	Justino	Mangueira	Justino	Mangueira
<b><i>J. kraussii</i></b>						
ago/09	44,5	45,5	1,3	1,3	34	35
fev/10	48,1	47,2	1,7	1,9	28	24
<b><i>S. olneyi</i></b>						
ago/09	42,5	33,9	2,4	2,2	17	15
fev/10	45,2	43,9	1,2	1,1	37	39

De acordo com os dados apresentados, verifica-se que a relação C/N de *J. kraussii* apresentou seus maiores valores durante o período do inverno tanto no Saco do Justino (34), como no Saco da Mangueira (35). No período do verão, foram encontrados os menores valores desta relação, no Saco do Justino (28) bem como no Saco da Mangueira (24) respectivamente (Tabela 05).

Em amostras de hastes de *S. olneyi* no Saco do Justino as quantificações de C foram de 42,5% (inverno) e 45,2% (verão). Já o teor de N no tecido foi de 2,4% (inverno) e 1,2% (verão). No Saco da Mangueira, os

valores para C foram: 33,9% (inverno) e 43,9% (verão). Para N foram: 2,2% (inverno) e 1,14% (verão) (Tabela 05).

A relação C/N de *S. olneyi* apresentou valores médios mais elevados durante o período do verão tanto no Saco do Justino (37), como no Saco da Mangueira (39). No período do inverno, foram encontrados os menores valores deste tipo de relação, no Saco do Justino (17) bem como no Saco da Mangueira (15) (Tabela 05).

Nas amostras de sedimento das áreas de marismas vegetadas por *J. kraussii*, no Saco do Justino, conforme a época do ano foram encontradas concentrações de C de 7,41% (inverno) e 2,99% (verão). As concentrações de N seguiram o mesmo padrão, obtendo-se 0,65% e 0,44% no inverno e verão, respectivamente. No Saco da Mangueira as concentrações de C no sedimento de *J. kraussii* foram de 12,31% (inverno) e 4,83% (verão). Para N os valores foram de 0,97% (inverno) e 0,49% (verão) (Tabela 06).

**Tabela 06:** Valores da quantificação de C, N e relação C/N em amostras de sedimento coletadas de duas áreas de marismas alagáveis no Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande-RS, Brasil.

	C %		N %		C / N	
	Justino	Mangueira	Justino	Mangueira	Justino	Mangueira
<b><i>J. kraussii</i></b>						
ago/09	7,41	12,31	0,65	0,97	11	12
fev/10	2,99	4,83	0,44	0,49	6	9
<b><i>S. olneyi</i></b>						
ago/09	0,51	3,27	0,25	0,48	2	6
fev/10	1,63	15,2	0,32	1,06	5	14

Nas amostras de sedimento das áreas vegetadas por *S. olneyi* no Saco do Justino, conforme a época do ano foram medidas concentrações de C de 0,51% (inverno) e 1,63% (verão). As concentrações de N foram de 0,25% e 0,32% no inverno e verão, respectivamente. No Saco da Mangueira as concentrações de C foram de 3,27% (inverno) e 15,2% (verão) e os valores de N foram de 0,48% (inverno) e 1,06% (verão) (Tabela 06).

De acordo com os dados apresentados, verifica-se que a relação C/N de *J. kraussii* apresentou seus maiores valores durante o período do inverno tanto no Saco do Justino (11), como no Saco da Mangueira (12). No período do verão, foram encontrados os menores valores desta relação, no Saco do Justino (6) bem como no Saco da Mangueira (9) respectivamente (Tabela 06).

A relação C/N de *S. olneyi* apresentou valores médios mais elevados durante o período do verão tanto no Saco do Justino (5), como no Saco da Mangueira (14). No período do inverno, foram encontrados os menores valores deste tipo de relação, no Saco do Justino (2) bem como no Saco da Mangueira (6) (Tabela 06).

## Discussão

A diferença significativa no número total de isolados entre as duas estações do ano em que foram realizadas as coletas indica que a temperatura é um fator importante que atua como regulador da ocorrência de leveduras no ambiente de marisma do estuário da Lagoa dos Patos. A temperatura também foi considerada como fator controlador da presença de leveduras em outros ambientes aquáticos (Loureiro *et al*, 2005; Deak, 2006; Kutty & Phillip, 2008).

Neste estudo, o número total de isolados foi menor no período do inverno, mas com a ocorrência de leveduras basidiomicéticas em maior quantidade em ambos os locais. Este fato aponta para uma termotolerância de leveduras da classe Basidiomycota, no estuário da Lagoa dos Patos para baixas temperaturas. É sabido que em ambientes de clima frio, ou em temperaturas mais baixas, há uma maior prevalência de leveduras basidiomicéticas, especialmente dos gêneros *Cryptococcus* e *Rhodotorula* (Loque *et al.*, 2010).

Por outro lado, durante o período do verão, quando a temperatura da água apresentava-se acima de 20°C, houve uma maior riqueza de isolados, bem como uma maior abundância dos grupos de leveduras Ascomycota. Com isso confirma-se a idéia de que a regulação térmica no estuário favorece a sucessão de leveduras no sedimento de áreas de marismas, mas principalmente àquelas espécies com ótimo de crescimento entre 20 e 30°C.

O pH apresentou um decréscimo de seus valores, em especial durante o verão. Vale ressaltar que leveduras são organismos que possuem um plasticidade adaptativa em ambientes com variações deste índice, e muitos grupos sobrevivem a variações de pH entre 4,0 e 9,0 (Botha, 2011).

Ao se analisar o número de isolados de leveduras com relação ao tipo de vegetação, observa-se que houve um maior número de isolados junto ao sedimento dominado por *J. kraussii* do que no sedimento de *S. olneyi*. Este resultado indica uma clara preferência por substrato na relação planta-leveduras, inclusive com possíveis relações de mutualismo na rizosfera, o que merece atenção em futuras investigações. Sabe-se que as leveduras se beneficiam destas relações, favorecendo o desenvolvimento de simbioses da microbiota local, além de produzir substâncias nocivas á patógenos de raízes de plantas (Azeredo *et al.*, 1998; Poliakova *et al.*, 2001; Mushtaq & Hashmi, 2004; Botha, 2011).

Um fato a ser considerado que pode explicar esta diferença consiste na eficiência na relocação e fixação de C, N e P pelas macrófitas. Em estudo realizado com *J. kraussii*, Lymbery *et al.* (2006) concluíram que esta macrófita possui alta capacidade de remoção de N total e P total, quando comparado as outras plantas. Este processo é dependente da salinidade, devido ao carreamento de elementos do sedimento à coluna d'água. Além disso, *J. kraussii* é altamente resistente ao estresse salino, bem como ao alagamento (Lymbery *et al.*, 2006; Naidoo & Kift, 2006). Com relação a *Scirpus*, Sousa *et*

*al.*, (2010), pesquisaram os processos de relocação e assimilação de C, N e P e constataram que esta macrófita possui alta eficiência no sequestro de C e P, mas não tanto para N.

No Saco do Justino e no Saco da Mangueira os resultados obtidos da quantificação de C e N em amostras de vegetação foram similares para *J. kraussii* no inverno e verão apresentavam uma elevação nos níveis de C, de N e uma redução da relação C/N com aumento da temperatura. Em *S. olneyi*, houve elevação da concentração de C, no mesmo período, mas com uma redução dos níveis de N e aumento da relação C/N. Isto se deve aos períodos de floração e decaimento das macrófitas, quando ocorre acréscimo ou decréscimo da biomassa vegetal (Montanini *et al.*, 2006; Caçador *et al.*, 2007).

Tais resultados nos ajudam a entender como a qualidade do material vegetal destas macrófitas pode repercutir na comunidade fúngica quando do decaimento de suas estruturas vegetativas, disponibilizando à microbiota substratos de maior ou menor qualidade especialmente quanto à quantidade de nitrogênio em sua biomassa (Caçador *et al.*, 2004; 2007; Sampaio *et al.*, 2007; Cunha-Santino *et al.*, 2008). Além disso, a presença de leveduras no solo, bem como as relações com a vegetação, pode facilitar a assimilação e liberação de compostos mais simples de C, N, P e demais nutrientes, servindo de substrato para outros organismos (Gadano *et al.*, 2006; Botha, 2011).

A maior ocorrência de leveduras ascomicéticas em marismas deve-se ao grande aporte de matéria orgânica rica em compostos refratários (Sampaio *et*

al., 2007), como provavelmente ocorre no estuário da Lagoa dos Patos, justificando a elevada abundância e riqueza de Ascomycota em relação às Basidiomycota.

Como resultado de uma maior prevalência de leveduras ascomicéticas é possível que a mineralização e assimilação de compostos nitrogenados nos marismas seja mais acentuado devido a sua maior capacidade de decomposição de elementos vegetais, além de sobreviverem a situações de stress (Siverio, 2002; Almeida, 2005; Medeiros *et al.*, 2008).

O estado trófico ou de degradação do ambiente também é um fator a ser considerado quando se trata da presença e riqueza de leveduras. Em ambientes altamente eutrofizados, como o Saco da Mangueira, a disponibilidade de compostos de N, suas abruptas variações na coluna d'água e no sedimento influenciam a distribuição dos micro-organismos, quando comparados a locais menos impactados (Mendonça-Hagler, *et al.*, 2001; Baumgartem *et al.*, 2001).

Comparando-se os resultados obtidos nos dois ecossistemas verifica-se que a menor quantidade de leveduras isoladas no Saco da Mangueira pode ter resultado das altas concentrações de nutrientes e baixos níveis de oxigênio dissolvido, que caracterizam um processo de eutrofização acelerada deste local como já descrito por Baumgartem *et al.* (2001). Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores em ambientes eutrofizados, alguns dos quais inclusive, incluíram leveduras basidiomicéticas como indicadores de poluição

ambiental em ambientes aquáticos (Mendonça-Hagler, *et al.*, 2001; Arvanitidou *et al.*, 2005;).

Entretanto não existe uma unanimidade e outros estudos demonstraram que a eutrofização altera a microbiota presente, selecionando leveduras Ascomycota em detrimento às Basidiomycota. Esta seleção estaria relacionada com a capacidade das primeiras em sobreviver em níveis baixos de tensão de oxigênio, caracterizando-as como leveduras fermentativas (Almeida, 2005).

Por outro lado, leveduras basidiomicéticas são mais prevalentes em ambientes com maior disponibilidade de Oxigênio, com isso, pode-se inferir que a taxa de Oxigênio dissolvido da água pode representar um fator regulador secundário da diversidade de leveduras (Arvanitidou *et al.* 2005; Loureiro *et al.*, 2005) inclusive em marismas do estuário da Lagoa dos Patos, visto que a menor abundância das basidiomicéticas no Saco da Mangueira ocorreu em situações de menores níveis de tensão de oxigênio.

No que diz respeito às leveduras Basidiomicéticas, a baixa prevalência deste grupo está provavelmente associada a uma maior exigência nutricional e de demanda bioquímica de oxigênio, fazendo com que, em ambientes de costeiros, este grupo esteja mais bem representado na coluna d'água, ao invés do sedimento (Gadanho; Sampaio, 2004; Arvanitidou *et al.*, 2005; Loureiro *et al.*, 2005).



Leveduras do gênero *Candida* foram mais abundantes e frequentes nas amostras das marismas do estuário da Lagoa dos Patos. Estas leveduras são comuns em estudos realizados em ambientes costeiros, marismas, mangues, praias, estuários, rios, região oceânica, superfícies de plantas, animais e inclusive em sedimentos de fundo oceânico, demonstrando sua capacidade adaptativa á diversos nichos ecológicos (Almeida, 2005; Sampaio *et al.*, 2007; Botha, 2011).

A levedura *Clavispora* sp. foi isolada das amostras de sedimento dos dois locais de estudo, mas apenas no Saco da Mangueira nas duas estações do ano. Uma espécie deste gênero foi isolada de plantas de marismas e a partir de amostras de solo de floresta (Vital, *et al.*, 2002; Almeida *et al.*, 2005).

O gênero *Torulaspota* foi isolado somente de amostras do verão, indicando uma possível restrição às variações térmicas do estuário. Espécies pertencentes a este gênero foram isoladas de solo de florestas equatoriais e associadas à raiz de plantações de cana-de-açúcar (Polyakova, *et al.*, 2001; Vital, *et al.*, 2002). Corroborando a hipótese de que podem estar também associada à rizosfera das plantas da marisma, neste caso de *J. kraussii*.

*Yarrowia* sp. foi isolada neste estudo em amostras de sedimento das marismas, independentemente do tipo de vegetação, mas demonstrando sua relação com o estado trófico do ambiente. Indivíduos deste grupo foram descritos em amostras de solo, onde colaboram com a assimilação de compostos fosfatados para a planta, além de terem sido encontrados na água

de regiões estuarinas e de ambientes hipersalinos e de sedimento de estuários (Butinar *et al.*, 2005; Medeiros *et al.*, 2008; Botha, 2011).

A levedura *Issatchenkia* sp. é um micro-organismo oportunista e neste estudo foi isolada nos dois ambientes estudados, durante o verão, associada às áreas de *J. kraussii*. Foi igualmente isolada de amostras de solo da floresta amazônica e possui alta capacidade micocinogênica (Vital, *et al.*, 2002).

*Kluyveromyces* sp. foi isolada a partir de amostras oriundas do Saco da Mangueira, em áreas de *J. kraussii* durante o verão. Constitui-se de uma levedura Ascomycota fermentadora, utilizada para diversos fins na indústria. Em estudos anteriores, existem relatos de isolamento em amostras de água de estuário e associada à invertebrados marinhos em manguezais (Araújo, *et al.*, 1995).

Diversas espécies do gênero *Pichia* foram isoladas em sedimentos oriundos de áreas de *J. kraussii*, durante o verão no Saco da Mangueira. Em estudos realizados em estuários, leveduras do gênero *Pichia* foram isoladas, inclusive com alta incidência, também de ambientes poluídos, solo alagado e de manguezais, em raízes de plantações, associadas à secreção de moluscos (Almeida, 2005; Sampaio *et al.*, 2007; Medeiros *et al.*, 2008).

Quanto à riqueza de leveduras basidiomicéticas, foram encontrados três isolados do gênero de *Cryptococcus* no Saco do Justino, confirmando a predileção por parte destas leveduras por ambientes menos impactados.

Leveduras deste gênero são comuns em estuários oligotróficos, rios, solo de cultivo e de florestas (Mendonça-Hagler *et al.*, 2001; Vital *et al.*, 2002; Mushtaq *et al.*, 2004; Loque, *et al.*, 2010).

O isolado *Rhodotorula* sp. 01 foi apenas encontrada em sedimento de *S. olneyi* do Saco do Justino, enquanto que o isolado *Rhodotorula* sp. 02 ocorreu nos dois locais. Estas leveduras foram isoladas em outros ambientes estuarinos possuem habilidades de assimilar compostos oriundos de macroalgas. Além disso, a halotolerância e resistência à pressão osmótica devido à produção de cápsula por este grupo, fato este que explica sua plasticidade adaptativa aos dois locais estudados. Podem ocorrer em solo, regiões alagadas e regiões de marismas, estuários em diferentes níveis tróficos (Gadanhó; Sampaio, 2005; Butinar *et al.*, 2005; Loque *et al.*, 2010; Botha, 2011).

Além destes gêneros de leveduras, foram encontrados também organismos similares a leveduras (leveduriformes – “yeast-like organisms”). Dentre estes, destaca-se a microalga patogênica do gênero *Prototheca*. Seu desenvolvimento ocorre em áreas onde haja a decomposição de matéria orgânica, devido à disponibilidade de compostos facilmente assimiláveis. Áreas de marismas, caracterizada pela sua alta produtividade orgânica em ambientes estuarinos, são locais propícios para a proliferação destes organismos (Leiman *et al.*, 2004; Pascual *et al.*, 2004; Marangoni & Costa, 2008).

Espécies de *Prototheca* apresentam reprodução assexuada com formação de células-filhas através de autósporos. Quando em infestações em outros organismos, através de lesões teciduais em especial, promove infecções notoriamente reconhecidas através de granulomas, que levam a importantes perdas econômicas em bacias de gado leiteiro, especialmente devido à ocorrência de mastite bovina (Pore, 1998; Bexiga *et al.*, 2003).

Em um levantamento de impactos ambientais em marismas, detectou-se o uso e avanço das atividades agropastoris sobre áreas de marismas junto ao estuário da Lagoa dos Patos (Marangoni & Costa, 2008). Este fato aumenta a problemática do manejo integrado destes ecossistemas e, conforme foi detectado no presente estudo, expõe os criadores e exemplares de gado a uma potencial infecção por este tipo de patógeno (Bueno *et al.*, 2006).

**Conclusões:**

A sazonalidade, em especial da temperatura da água, parece ser o principal fator controlador da distribuição das leveduras e fungos leveduriformes no sedimento das marismas no estuário da Lagoa dos Patos.

Em menor grau a qualidade do substrato proveniente de diferentes plantas das marismas e a qualidade ambiental (um menor número de isolados ocorreu na região mais eutrofizada) são fatores que afetam de forma menos acentuada a ocorrência e a abundância das leveduras e fungos leveduriformes nestes locais.

Leveduras ascomicéticas apresentam-se mais frequentes nas marismas estudadas no Estuário da Lagoa dos Patos, com maior ocorrência durante o verão e associadas à *J. kraussii*.

### Literatura Citada

ABREU, P.C., C. COSTA, C. BEMVENUTI, C. ODEBRECHT, W. GRANÉLI & A. ANÉSIO. 2006. Eutrophication processes and trophic interactions in a shallow estuary: Preliminary results based on stable isotope analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ). *Estuaries and Coasts*. 29(2) 277-285.

ALMEIDA, J. 2005. Yeast community survey in the Tagus estuary. *FEMS Microb. Ecol.* 53(2): 295-303.

ARAÚJO, F.V., C. SOARES, A. HAGLER & L. MENDONÇA-HAGLER. 1995. Ascomycetous yeast communities of marine invertebrates in a southeast brazilian mangrove ecosystem. *Anton. Van Leeuw.* 68:91-99.

ARVANITIDOU, M, KANELLOU & D. VAGIONA. 2005. Diversity of *Salmonella* spp and fungi in northern greek rivers and their correlations to fecal pollution indicators. *Environ. Res.* 99: 278-284.

ARVANITIDOU, M. KANELLOU, V. KATSOUYANNOPOULOS & A. TSAKRIS. 2002. Occurrence and densities of fungi from northern greek coastal bathing waters and their relation with faecal pollution indicators. *Water Res.*, 36:5127-5131.

AZEREDO, L., E. GOMES, L. MENDONÇA-HAGLER, N. HAGLER. 1998. Yeast communities associated with sugarcane in Campos, Rio de Janeiro, Brazil. *Inter. Microb.* 1:205-208.

BAUMGARTEN, M.G.Z., L.F.H. NIENCHESKI, K.N. KUROSHIMA. 1995. Qualidade das águas estuarinas que margeiam o município do Rio Grande (RS, Brasil): Nutrientes e detergente dissolvidos. *Atlântica*, Rio Grande. 17: 17-34.

BAUMGARTEM, MGZ, LFH NIENCHESKI & L VEEK. 2001. Nutrientes na coluna d'água e na água intersticial de sedimentos de uma enseada rasa estuarina com aportes de origem antrópica. *Atlântica*, 23: 101-116.

BEXIGA, RL, L, CAVACO & CL, VILELA. 2003. Isolamento de *Prototheca zopffii* a partir de leite bovino. *Rev.Port.Ciên.*, 98: 33-37.

BOTHA, A. 2011. The importance and ecology of yeast in soil. *Soil Biol. & Biochem.* 43: 1-8.

BUCHAN, A, SY, NEWELL, M, BUTLER, EJ, BIERS, JT, HOLLIBAUG & MA, MORAN. 2003. Dynamics of bacterial and fungal communities on decaying salt marsh grass. *Appl. Environ. Micro.* 69:6676–6687

BUENO, V, A, MESQUITA, R, NEVES, M, SOUZA, A, RIBEIRO, E, NICOLAU & J, OLIVEIRA. 2006. Epidemiological and clinical aspects of the first outbreak of bovine mastitis caused by *Prototheca zopffii* in Goiás State, Brasil. *Mycopath.* 161 (3): 141-145.

BUTINAR, L, S, SANTOS, I, SPENCER-MARTINS, A, OREN & N, GUNDE-CIMERMAN. 2005. Yeast diversity in hypersaline habitats. *FEMS Microb. Letters*, 244, 229-234.

CAÇADOR, I, AL, COSTA & C, VALE. 2004. Carbon storage in Tagus salt marsh sediments. *Water and Soil Poll.: Focus*. 4: 704-714.

CAÇADOR, I, AL, COSTA & C, VALE. 2007. Nitrogen sequestration capacity of two salt marshes from the Tagus estuary. *Hidrobiol.*, 587: 137-145.

COSTA, N.R., R. KANTIN, L.F. NIENCHESKI, J.R. BAPTISTA, M.G.Z. BAUMGARTEN. 1982. Estudo da poluição orgânica nas águas que rodeiam a cidade de Rio Grande. *Engenharia Sanitária*. 21(2): 222-231. abr/jun.

COSTA, CSB, U, SEELIGER, CPL, OLIVEIRA & AMM, MAZO. 1997. Distribuição, funções e valores das marismas e pradarias submersas no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *Atlântica* 19: 67–85.

COSTA, AL, SM, PAIXÃO, I, CAÇADOR & M, CAROLINO. 2007. CLPP and EEA profiles of microbial communities in salt marsh sediments. *Journ. of Soils and Sed.* 7(6): 418-425.

CROUS, PW, JAW, GAMS, VR, STALPERS & G, STEGEHUIS. 2004. MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century. *Stud. in Mycol.*, 50: 19–22.



CUNHA-SANTINO, MB, L, SCIESSERE & I, BIANCHINI JUNIOR. 2008. As atividades das enzimas na decomposição da matéria orgânica particulada em ambientes aquáticos continentais. *Oecol. Australis*. 12 (1): 30-41, 2008.

DEAK, T. 2006. Environmental factors influencing yeasts. In: ROSA, C, & G, PÉTER (eds). *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Berlin: Springer-Verlag, 155-174pp.

GADANHO, M, D, LIBKIND & JP, SAMPAIO. 2006. Yeast diversity in the extreme acidic environments of the Iberian Pyrite Belt. *Micro. Ecol.*, 52: 552-563.

GADANHO, M & JP, SAMPAIO. 2004. Applications of temperature gradient gel electrophoresis to the study of yeast diversity in the estuary of the Tagus River, Portugal. *FEMS Yeast Res.* 5: 253-261.

GIAMBRA, M. 2005. Application of ion chromatography to qualitative and quantitative determination of the main inorganic ionic components of samples from a production process of potassium sulfate. *Anal. Chim. Acta*. 530(1): 41-48.

HICKENBICK, GR, AL, FERRO & PC, ABREU. 2004. Produção de detritos de macrófitas emergentes em uma marisma do estuário da Lagoa dos Patos: taxas de decomposição dinâmica microbiana. *Atlântica*. 26 (1): 61-75.

HOFFMAN, P. 1991. Cryopreservation of fungi. *W. Jour. of Microb. And Biotechn.* 7 (1): 92-94.

KANTIN, R & MGZ BAUMGARTEN. 1982. Observações hidrológicas no estuário da Lagoa dos Patos: os elementos nutrientes dissolvidos. *Atlântica*, 5 (1 ):76-92.

KUTTY, S, R, PHILLIP. 2008. Marine Yeast – a review. *Yeast*. 25: 465-483.

LEIMANN, BC, PC, MONTEIRO, M, LAZERA, ER, CANDONOZA & B, WANKE. 2004. Protothecosis. *Med. Mycol.* 42:95–106.

LOQUE, CP, AO, MEDEIROS, FM PELLIZARI, EC, OLIVEIRA, CA, ROSA & LH, ROSA. 2010. Fungal community associated with marine macroalgae from Antarctica. *Pol. Biol.*, 33: 641-648.

LOUREIRO, STA, MAQ, CAVALCANTI, RP, NEVES & JZO, PASSAVANTE. 2005. Yeast isolated from sand and sea water in beaches of Olinda, Pernambuco State, Brazil. *Bra. Journ. of Micro.* 36: 333-337.

LYMBERY, AJ, RG, DOUPÉ, T, BENNET & MR, STARCEVICH. 2006. Efficacy of a subsurface-flow wetland using the estuarine sedge *Juncus kraussii* to treat effluent from inland saline aquaculture. *Aquac. Eng.* 34: 1-7.

MARANGONI, JC, & CSB, COSTA. 2008. Diagnóstico Ambiental das Marismas no Estuário da Lagoa dos Patos-RS. *Atlântica* 31(1): 85-98.

MEDEIROS, AO, LM, KOHLER, JS, HAMDAN, BS, MISSAGIA, FAR, BARBOSA & CA, ROSA. 2008. Diversity and antifungal susceptibility of yeast from tropical fresh water environments in southeastern Brazil. *Water Res.*, 42: 3921-3929.

MENDONÇA, PT & CSB, COSTA. 2008. Efeito da disponibilidade de nitrogênio e fósforo no estabelecimento de *Spartina alterniflora* em um plano entremarés irregularmente alagado. *Neotrop. Biol. and Conserv.*, 3 (3): 135-148.

MENDONÇA-HAGLER,LC, RHSF, VIEIRA & AN, HAGLER. 2001. Microbial quality of water, sediment, fish and shellfish in some Brazilian coastal regions. pp. 197-216 In: FARIAS, BM, VF, FARJALLA & FA, ESTEVES (eds). Aquatic Microbial Ecology in Brazil. Series *Oecol. Bras.*. Vol. IX PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brazil.

MONTANINI, B, A R, VISCOMI, A, BOLCHI,Y, MARTIN, J M, SIVERIO, R, BALESTRINI,P, BONFANTE & S, OTTONELLO. 2006. Functional properties and differential mode of regulation of the nitrate transporter from a plant symbiotic ascomycete. *Biochem. J.*, 394 (1): 125–134.

MUSHTAQ, M S & MH, HASHMI. 2004. Isolation and identification of yeast flora from soil of Karachi, Pakistan. *Pak. Jour. of Bot.*36: 173-180.

NAIDOO, G & J,KIFF. 2006. Responses of the salt marsh rush *Juncus kraussii* to salinity and waterlogging. *Aquat. Bot.* 84: 217-225.

NEWELL, SY. 2001. Spore-expulsion rates and extents of blade occupation by ascomycetes of the smooth-cordgrass standing decay system. *Bot.Mar.* 44:277–285.

ORENGA,S , AL, JAMES, M, MANAFI, JD, PERRY & DH PINCUS. 2009. Enzymatic Substrates in microbiology. *Journ. of Micro. Meth.* 79: 139-155.

PASCUAL, JS, LL, BALOS & AN, BAER. 2004. Disseminated *Prototheca wickerhamii* infection with arthritis and tenosynovitis. *Jour. Rheumatol.* 31: 1861–65.

POLYAKOVA, AV, IY, CHERNOV & NS, PANIKOV. 2001. Yeast diversity in hidromorphic soils with reference to a grass-sphognum wetland in Western Siberia and a Hummocky Tundra Region at Cape Barrow(Alaska). *Micro.* 70: 617-622.

PORE, RS. 1998. *Prototheca* and *Chlorella*. In: AJELLO, L., HAY, R.J. (Eds.), TOPLEY & WILSON'S. *Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed., vol. 4. Arnold Publ.,London, p. 631–643.

SAMPAIO, A, JP, SAMPAIO & C, LEÃO. 2007. Dynamics of yeast populations recovered from decaying leaves in a nonpolluted stream: a 2-year study on the effects of leaf litter type and decomposition time. *FEMS Yeast Res.*7 (4): 595-603.

SASSI, R. M. ; COSTA, C. F. S. ; SCAINI, C. J. ; SILVA, P. E. A. ; GATTI, F. A. A. ; SILVEIRA, E. S. ; MATA, M. M. ; HALLAL, E. ; GIOIA, C. C. ; RAMOS, D. F. ; FALCHI, R. L. R. ; KERSANACH, R. ; GUIMARAES, F. M. ; RAMOS, T. ; SOUZA, D. M. ; LOBATO, R. C. ; SOUZA, N. C. ; MARTINEZ, A. M. B.(no prelo) . Human Pathogenic Microorganisms Isolated from Water Samples of a Brazilian Port: a Public Health Problem. *Vittale* (FURG).

SEELIGER, U, C, ODEBRECHT & JP, CASTELLO. 1998. Os ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia,341 pp.

SIVERIO, J M. 2002. Assimilation of the nitrate by yeast. *FEMS Micro. Rev.* 26: 277-284.

SOUSA, AI, AI, LILLEBO, MA, PARDAL & I, CAÇADOR. 2010. Productivity and nutrient cycling in salt marshes: Contribution to ecosystem health. *Estuar. Coast. and Shelf Scie.* 87: 640-646.

TRIOLA, M. 2009. Introdução à Estatística. 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 656 pp.

UNESCO.1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission. Manual and Guides 12, 337 pp.

UENO, R, N, URANO & M, SUZUKI. 2003. Phylogeny of the non-photosynthetic green micro-algal genus *Prototheca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) and related taxa inferred from SSU and LSU ribosomal DNA partial sequence data. *Microbiol. Lett.* 223:275–280.

VITAL, MDS, J, ABRANCHES, AN, HAGLER, LC, MENDONÇA-HAGLER. 2002. Mycocinogenic yeast isolated from amazon soils of the Maracá Ecological Station, Roraima-Brazil. *Bra. Jour. of Micro.*, 33: 230-235.

WALLNER-KERSANACH, M. RIBEIRO, A. R. L. & MACHADO, E. C. 2010. Análise Instrumental - Analisador Elementar CHNS/O. In: BAUMGARTEN, M. G. Z.; WALLNER-KERSANACH, M. & NIENCHESKI, L. F. H. Manual de Análises em Oceanografia Química. Editora da FURG, pp. 145-166.

**Apêndice 01: Caracterização fenotípica das leveduras isoladas.**

**Tabela 07:** Caracteres fenotípicos utilizados para a identificação das leveduras isoladas no sedimento das marismas do Estuário da Lagoa dos Patos-RS.

Fatores Analisados	001	002	003	004	005	006	007	008	009	010	011
Local de coleta	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	branca	branca	rosa	branca	branca	creme	branca	branca	branca	branca
Aspecto da colônia	cremosa	butirosa	cremosa	mucóide	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	butirosa	cremosa	cremosa
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	ovóide	globoso	ovóide	globoso	ovóide	ovóide	globoso	ovóide	globoso	ovóide	ovóide
Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	ausente
Produção de pseudo-hifa	ausente	ausente	ausente	ausente	variável	variável	ausente	variável	ausente	ausente	presente
Gênero Sugerido	N.ID.	<i>Prototheca</i>	<i>Yarrowia</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Candida</i>	<i>Prototheca</i>	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>
N. ID.: não identificado											
Fatores Analisados	012	013	014	015	016	017	018	020	021	022	023
Local de coleta	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	rosa
Aspecto da colônia	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	mucóide
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	esférico	ovóide	esférico	esférico	esférico	ovóide	ovóide	ovóide	ovóide	esférico	globoso
Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Produção de pseudo-hifa	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	variável	ausente

Gênero Sugerido	N.ID.	N.ID.	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>	N.ID.	<i>Yarrowia</i>	<i>Candida</i>	<i>Yarrowia</i>	N.ID.	<i>Rhodotorula</i>
N. ID.: não identificado											
Fatores Analisados	024	025	026	027	028	029	030	031	032	033	034
Local de coleta	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	branca	branca	creme	branca	creme	rosa	coral	branca	branca	creme
Aspecto da colônia	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	mucóide	butirosa	cremosa	cremosa	cremosa
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	rugosa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	ovóide	ovóide	ovóide	globoso	ovóide	globoso	globoso	globoso	ovóide	ovóide	globoso
Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	variável
Produção de pseudo-hifa	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Gênero Sugerido	<i>Torulaspota</i>	<i>Candida</i>	<i>Yarrowia</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Issatchenkia</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Yarrowia</i>	<i>Candida</i>	<i>Cryptococcus</i>
N. ID.: não identificado											
Fatores Analisados	035	036	037	038	039	040	041	042	043	044	045
Local de coleta	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Justino	Mangueira
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>S.olneyi</i>	<i>J.kraussii</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	rosa	rosa	rosa	branca	branca	branca	creme	branca	branca	branca	branca
Aspecto da colônia	mucóide	mucóide	mucóide	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	globoso	globoso	globoso	ovóide	globoso	esférico	globoso	esférico	esférico	esférico	globoso
Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	variável	variável	variável	ausente	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	ausente



Produção de pseudo-hifa	ausente	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Gênero Sugerido	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>	<i>Yarrowia</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Candida</i>	<i>Yarrowia</i>	<i>Yarrowia</i>	N.ID.

N. ID.: não identificado

Fatores Analisados	046	047	048	049	050	051	052	053	054	055	056
Local de coleta	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	branca	branca	branca	rosa	branca	branca	rosa	creme	branca	rosa
Aspecto da colônia	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	mucóide	cremosa	cremosa	mucóide	cremosa	cremosa	mucóide
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	ovóide	ovóide	ovóide	esférico	globoso	esférico	esférico	globoso	globoso	esférico	globoso
Tube germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Produção de pseudo-hifa	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Gênero Sugerido	<i>Issatchenkia</i>	N.ID.	<i>Candida</i>	<i>Torulaspota</i>	<i>Rhodotorula</i>	N.ID.	N.ID.	<i>Rhodotorula</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Kluyveromyces</i>	<i>Rhodotorula</i>

N. ID.: não identificado

Fatores Analisados	057	058	059	060	061	062	063	064	065	066	067
Local de coleta	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca	branca
Aspecto da colônia	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa	cremosa
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Padrão celular	globoso	esférico	esférico	ovóide	esférico	ovóide	globoso	ovóide	ovóide	esférico	ovóide

Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Produção de pseudo-hifa	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	variável	ausente	ausente	ausente	ausente	variável
Gênero Sugerido	N.ID.	<i>Pichia</i>	<i>Pichia</i>	<i>Issatchenkia</i>	<i>Clavispora</i>	<i>Candida</i>	<i>Candida</i>	<i>Pichia</i>	<i>Clavispora</i>	<i>Candida</i>	<i>Torulaspota</i>

N. ID.: não identificado

<b>Fatores Analisados</b>	068	069	070	071	072	073	074
Local de coleta	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira	Mangueira
Coleta	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010	fev/2010
Tipo de vegetação	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>J.kraussii</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>	<i>S. olneyi</i>
Pigmento no meio de cultivo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Margem da colônia	regular	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Cor da colônia	branca	rosa	rosa	rosa	coral	branca	branca
Aspecto da colônia	cremosa	mucóide	mucóide	mucóide	butirosa	cremosa	cremosa
Textura da colônia	lisa	lisa	lisa	lisa	rugosa	lisa	lisa
Padrão celular	ovóide	globoso	globoso	globoso	globoso	esférico	ovóide
Tubo germinativo	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cápsula	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Produção de pseudo-hifa	variável	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	variável
Gênero Sugerido	<i>Candida</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Clavispora</i>	<i>Candida</i>

N. ID.: não identificado

**Apêndice 02: Perfil Bioquímico das leveduras isoladas através do Sistema Vitek II.**

**Tabela 08:** Descrição dos substratos utilizados para a identificação de leveduras através do Sistema Vitek II da Biomerieux.

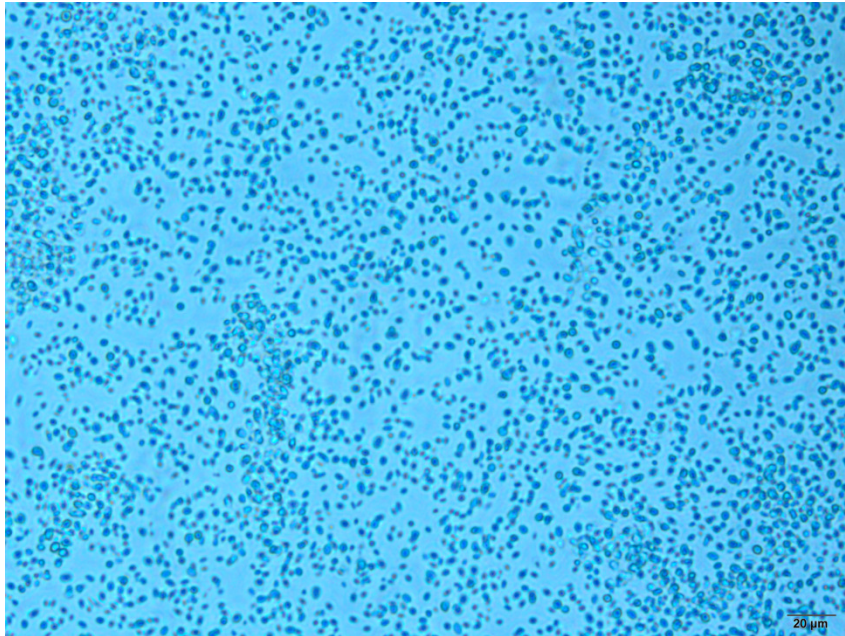
Código	Tipo de Substrato	Código	Tipo de Substrato
<b>LysA</b>	L-LISINA	<b>IRHAa</b>	L-RAMNOSE
<b>IMLTa</b>	L-MALATO	<b>XLTa</b>	XILITOL
<b>LeuA</b>	LEUCINA	<b>dSORa</b>	D-SORBITOL
<b>ARG</b>	ARGININA	<b>SACa</b>	SACAROSE
<b>ERYa</b>	ERITRITOL	<b>URE</b>	UREASE
<b>GLYLa</b>	GLICEROL	<b>AGLU</b>	A-GLUCOSIDASE
<b>TyrA</b>	TIROSINA	<b>dTURa</b>	D-TURANOSE
<b>BNAG</b>	B-N-ACETIL- GLUCOSAMINIDASE	<b>dTREa</b>	D-TREALOSE
<b>ARBa</b>	ARBUTINA	<b>NO3a</b>	NITRATO
<b>AMYa</b>	AMIGDALINA	<b>IARa</b>	L-ARABINOSE
<b>dGALa</b>	D-GALACTOSE	<b>dGATa</b>	D-GALACTURONATO
<b>GENa</b>	GENTIOBIOSE	<b>ESC</b>	ESCULINA
<b>dGLUa</b>	D-GLUCOSE	<b>IGLTa</b>	L-GLUTAMATO
<b>LACa</b>	LACTOSE	<b>dXYLa</b>	D-XILOSE
<b>MAdGa</b>	METIL-A-D- GLUCOPIRANOSÍDEO	<b>LATa</b>	DL-LACTATO
<b>dCELa</b>	D-CELOBIOSE	<b>ACEa</b>	ACETATO
<b>GGT</b>	G-GLUTAMIL-TRANSFERASE	<b>CITa</b>	CITRATO
<b>dMALa</b>	D-MALTOSE	<b>GRTas</b>	GLUCURONATO
<b>dRAFa</b>	D-RAFINOSE	<b>IPROa</b>	L-PROLINA
<b>NAGA1</b>	N-ACETIL- GALACTOSAMINIDASE	<b>2KGa</b>	2-KETO-D-GLUCONATO
<b>dMNEa</b>	D-MANOSE	<b>NAGa</b>	N-ACETIL-GLUCOSAMINA
<b>dMELa</b>	D-MELIBIOSE	<b>dGNTa</b>	D-GLUCONATO
<b>dMLZa</b>	D-MELEZITOSE		
<b>ISBEa</b>	L-SORBOSE		

**Tabela 09:** Perfil Bioquímico de assimilação de compostos de carbono e nitrogênio das leveduras isoladas através do Sistema Vitek II da Biomerieux

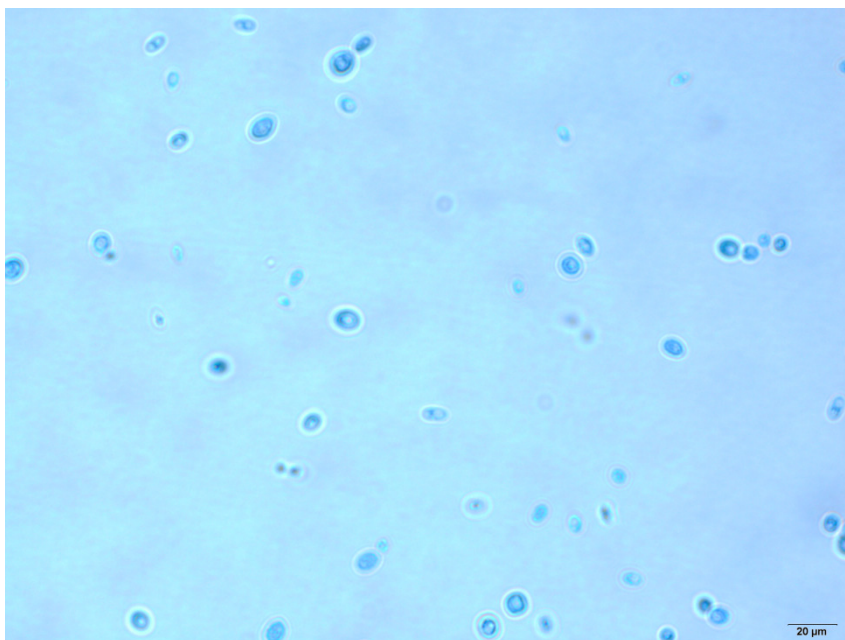
The table displays a comprehensive biochemical profile for yeast isolates. It consists of a grid where each row represents a specific yeast isolate and each column represents a different biochemical test. The tests include various carbon and nitrogen sources, such as glucose, sucrose, and urea, along with other metabolic indicators. The results are recorded as numerical values (0-5) or symbols like '(+)', indicating the degree of assimilation or a specific reaction for each isolate across all tested parameters.

**Apêndice 03: Imagens das leveduras isoladas no Estuário da Lagoa dos Patos-RS**

(a)

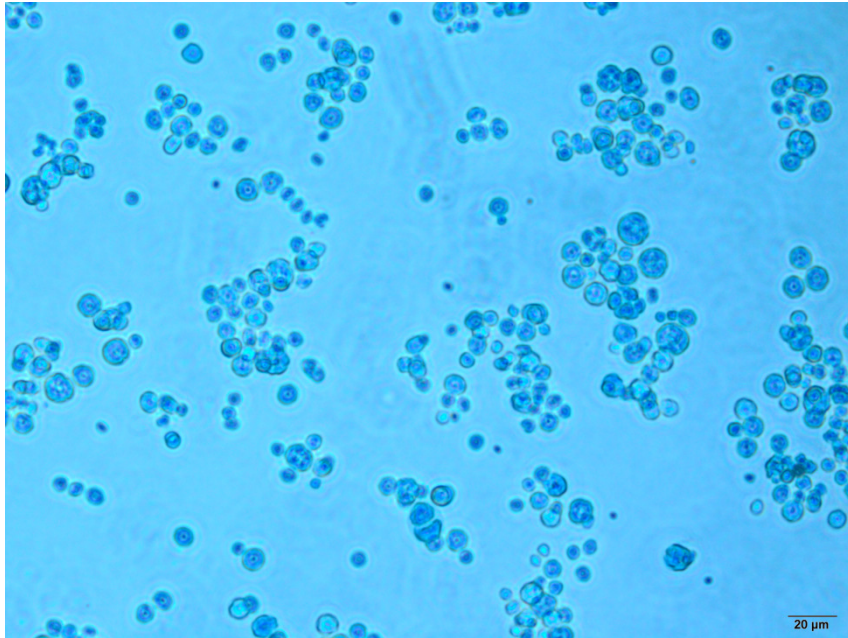


(b)

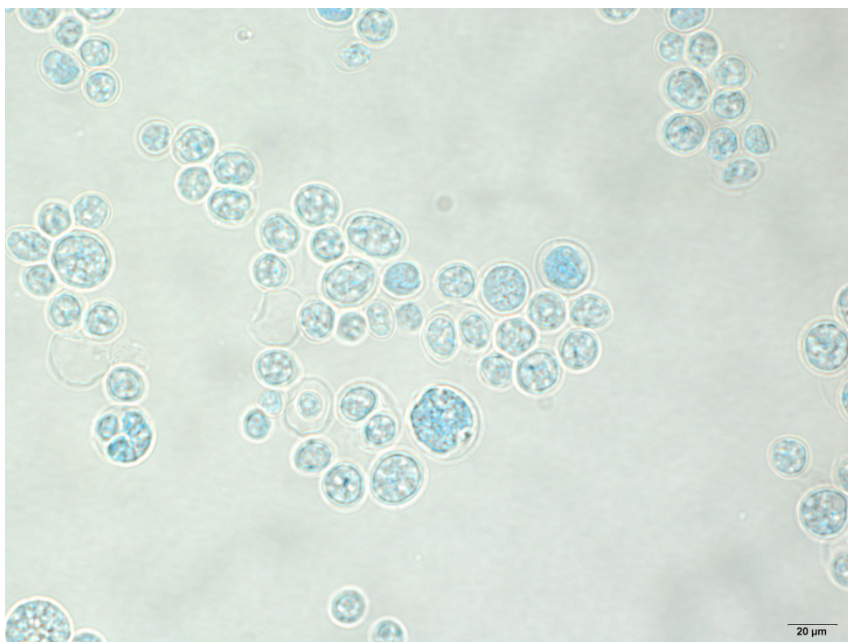


**Figura 11:** Imagens do isolado 001 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



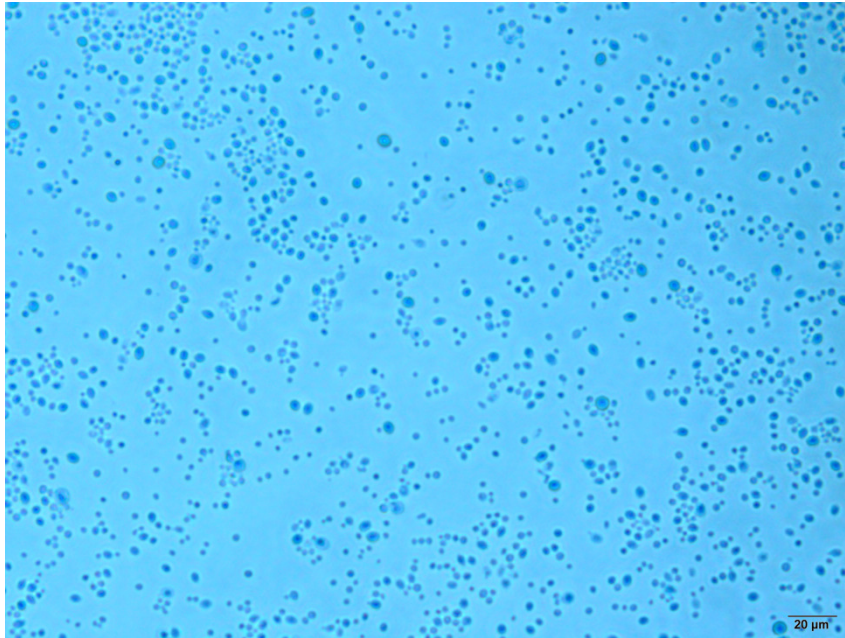
(b)



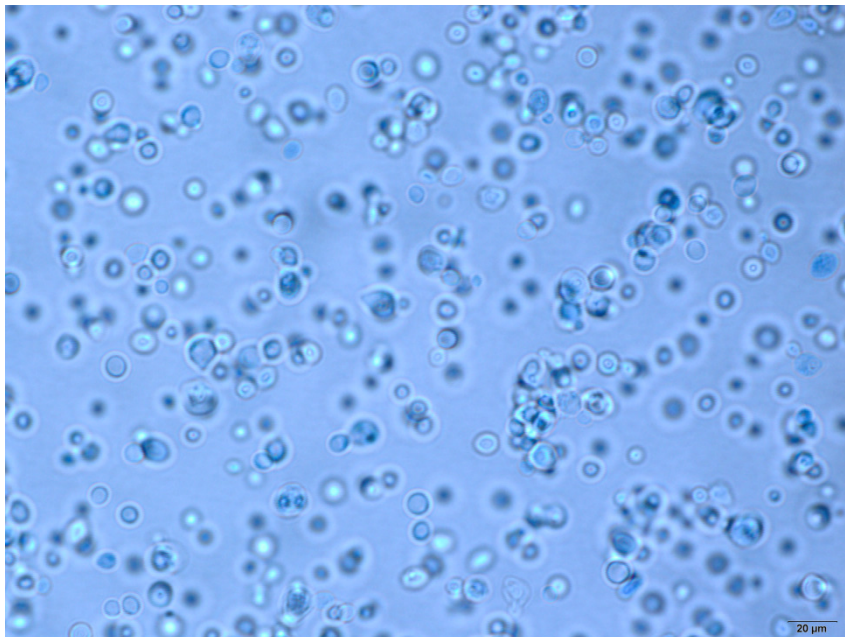
**Figura 12:** Imagens do isolado 002 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

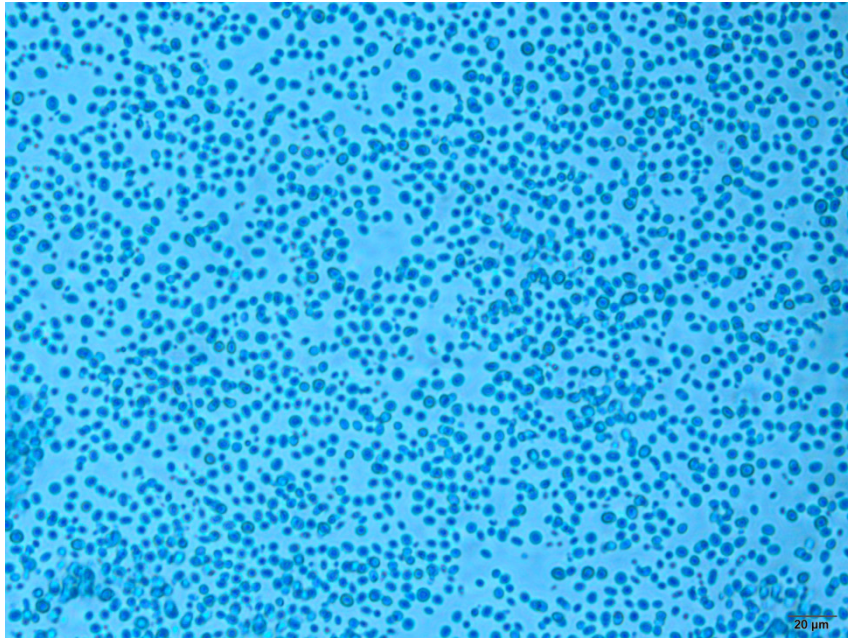


(b)

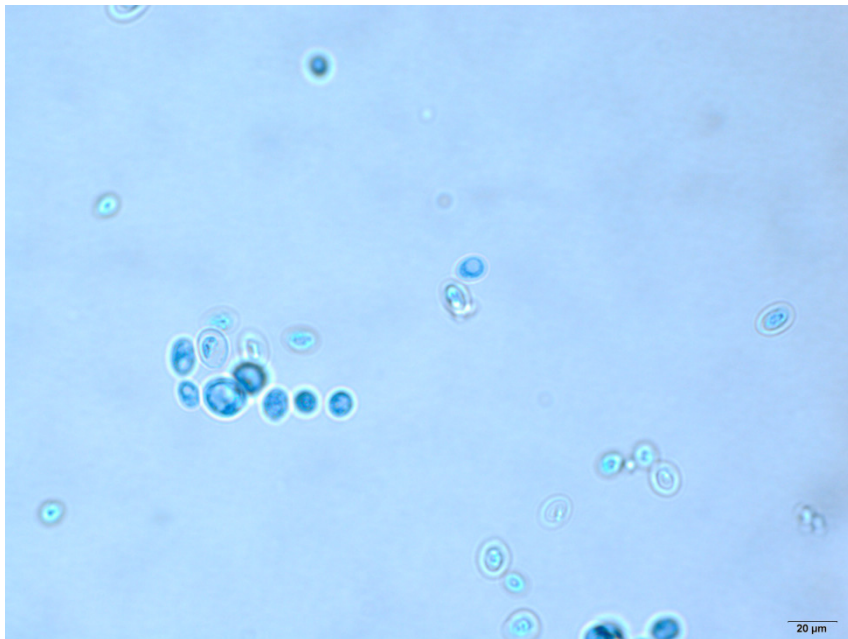


**Figura 13:** Imagens do isolado 003 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

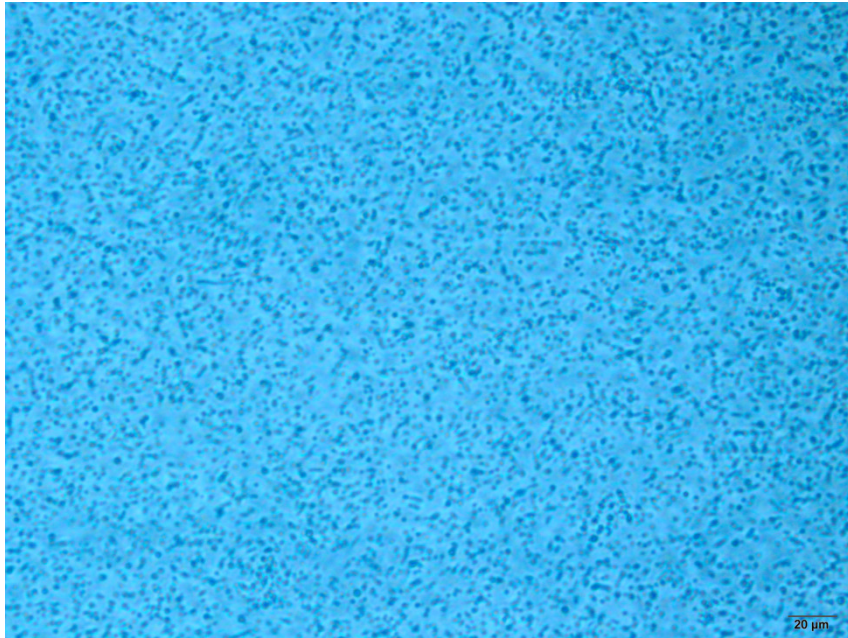


(b)

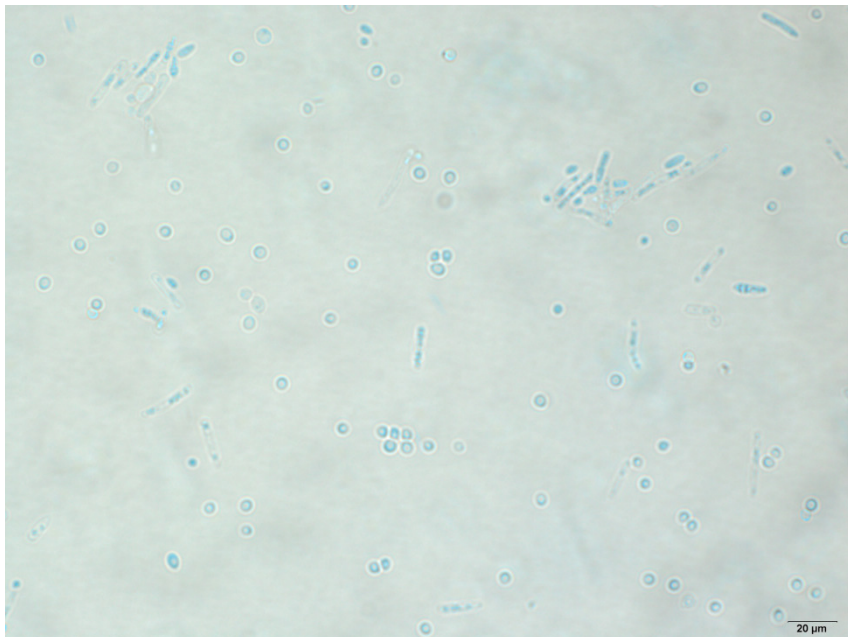


**Figura 14:** Imagens do isolado 004 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

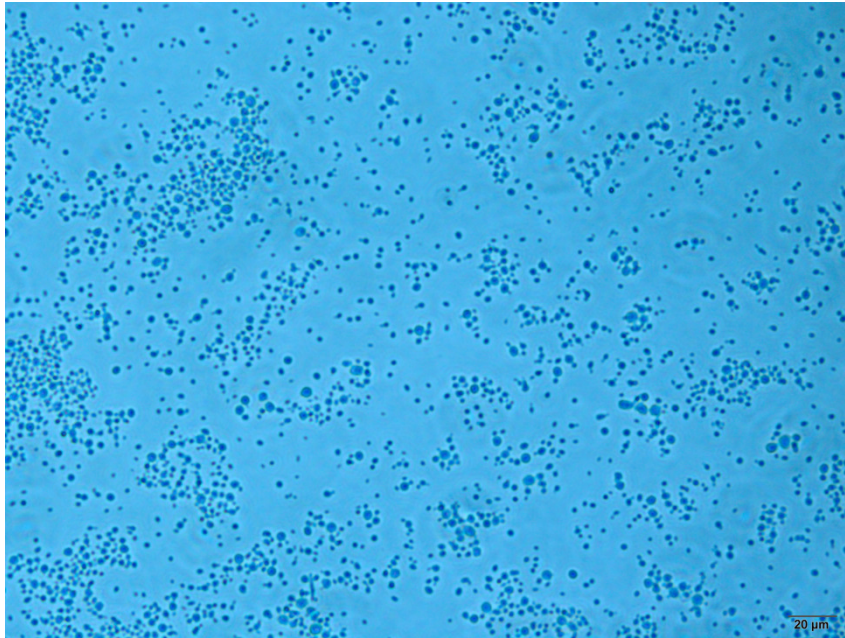


(b)

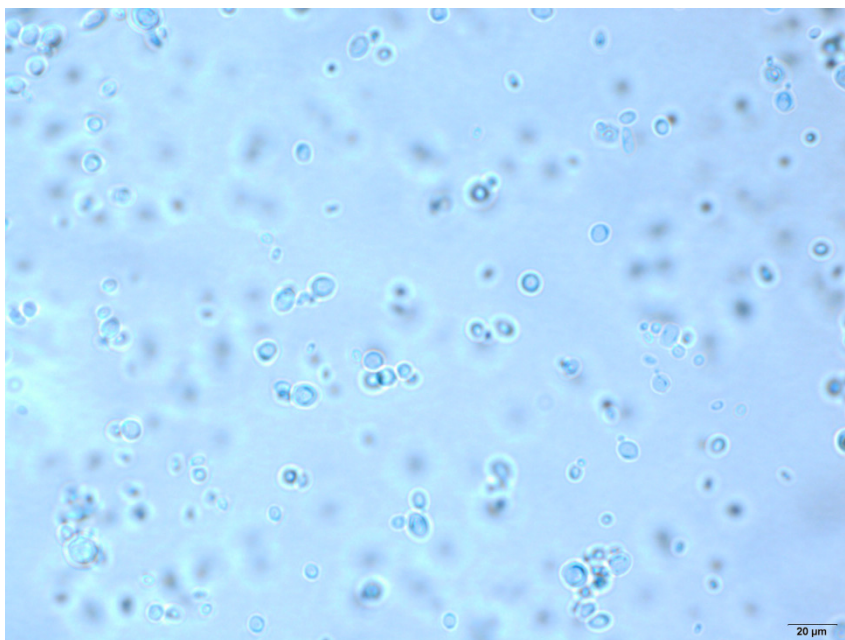


**Figura 15:** Imagens do isolado 005 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

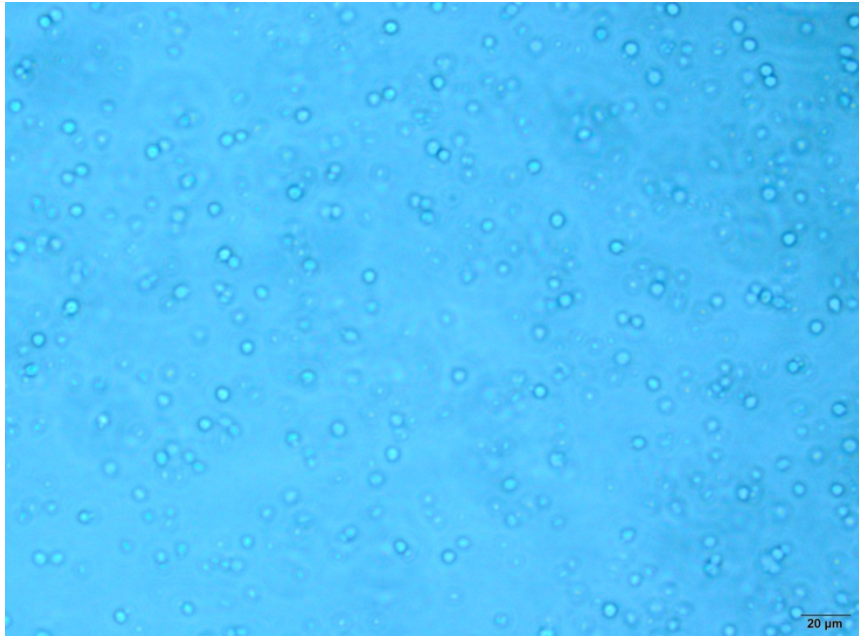


(b)

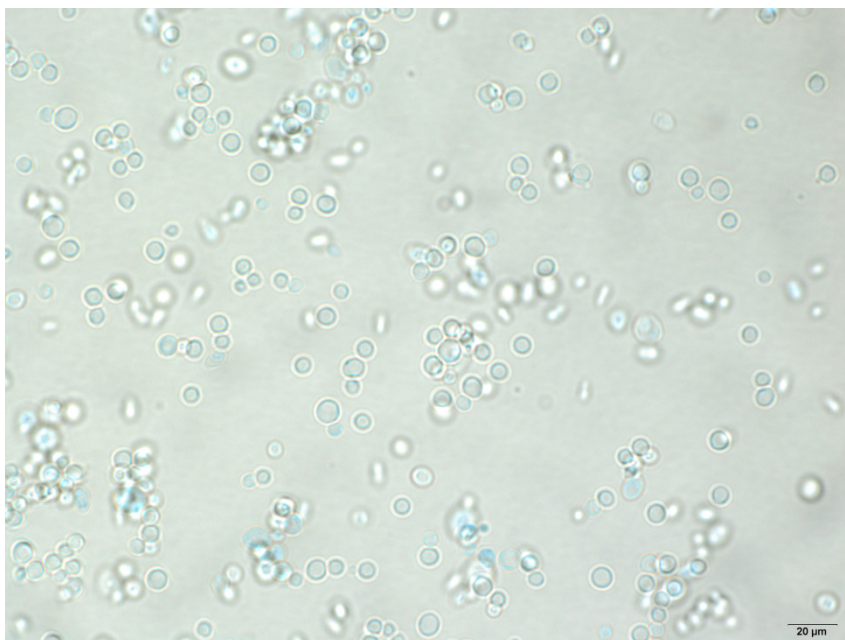


**Figura 16:** Imagens do isolado 006 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

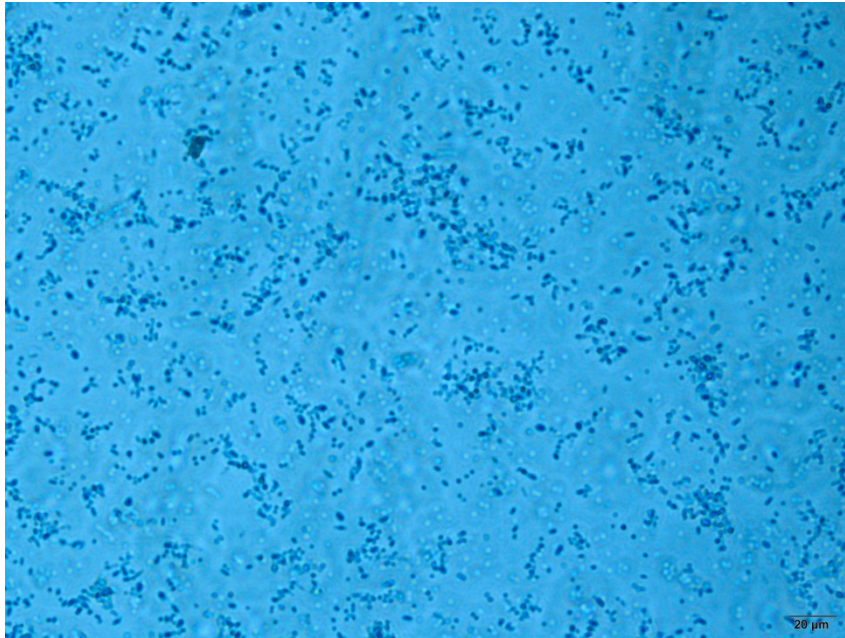


(b)

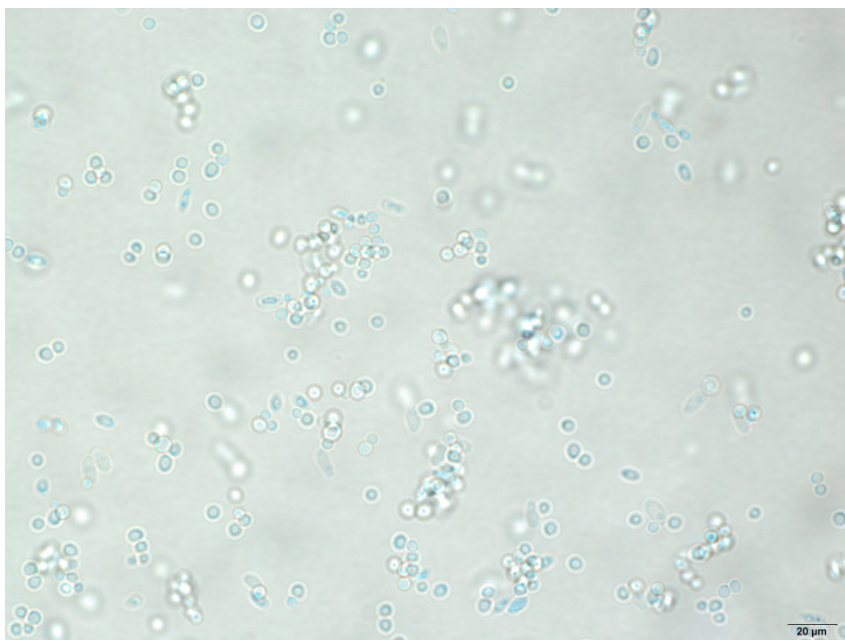


**Figura 17:** Imagens do isolado 007 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

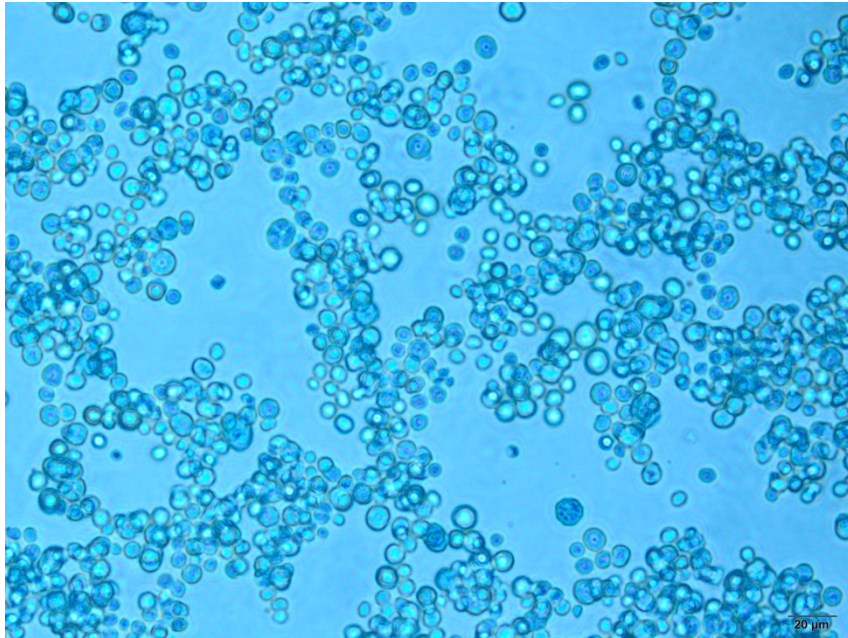


(b)

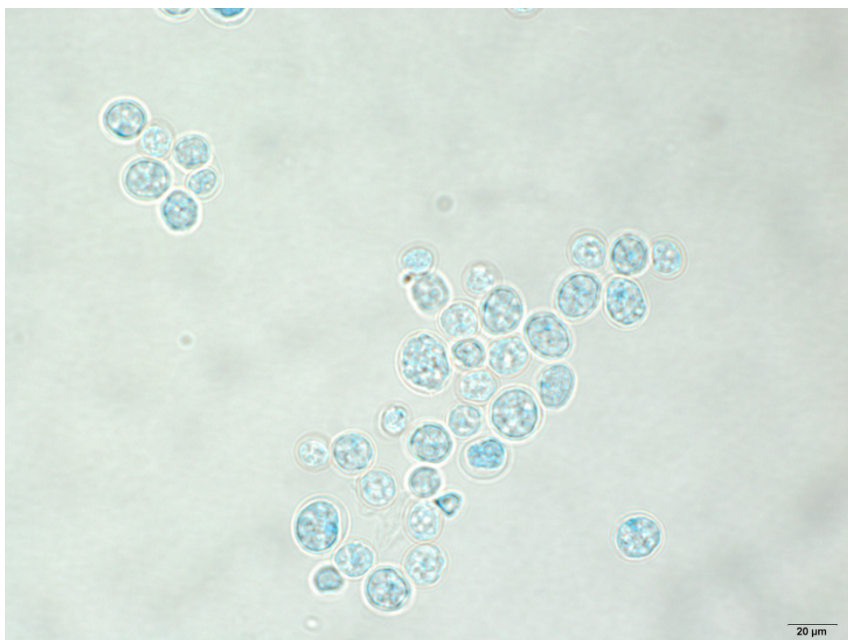


**Figura 18:** Imagens do isolado 008 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

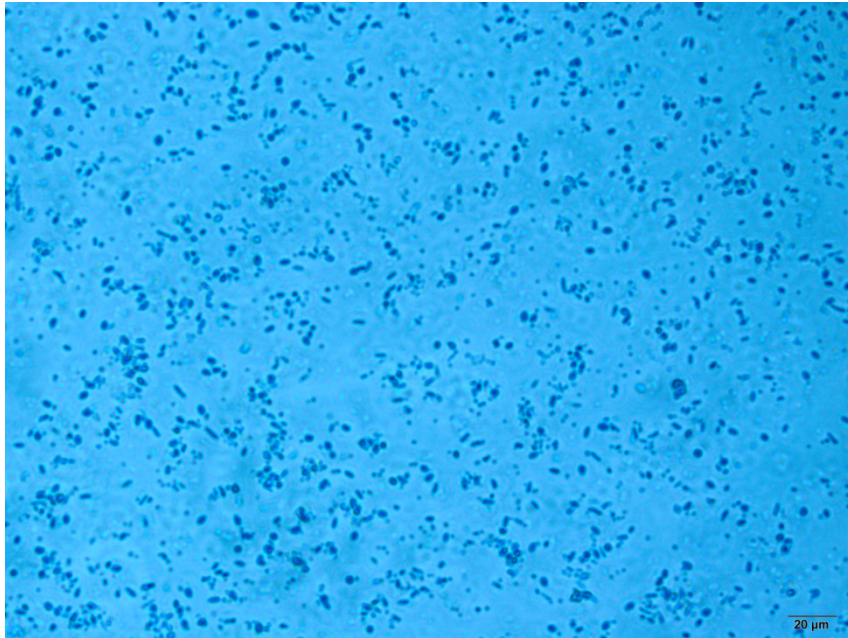


(b)

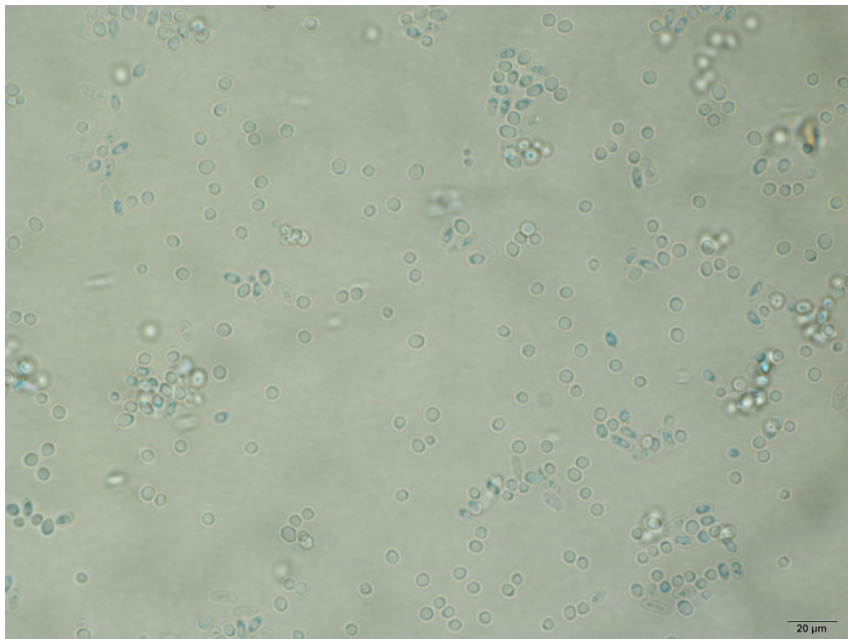


**Figura 19:** Imagens do isolado 009 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



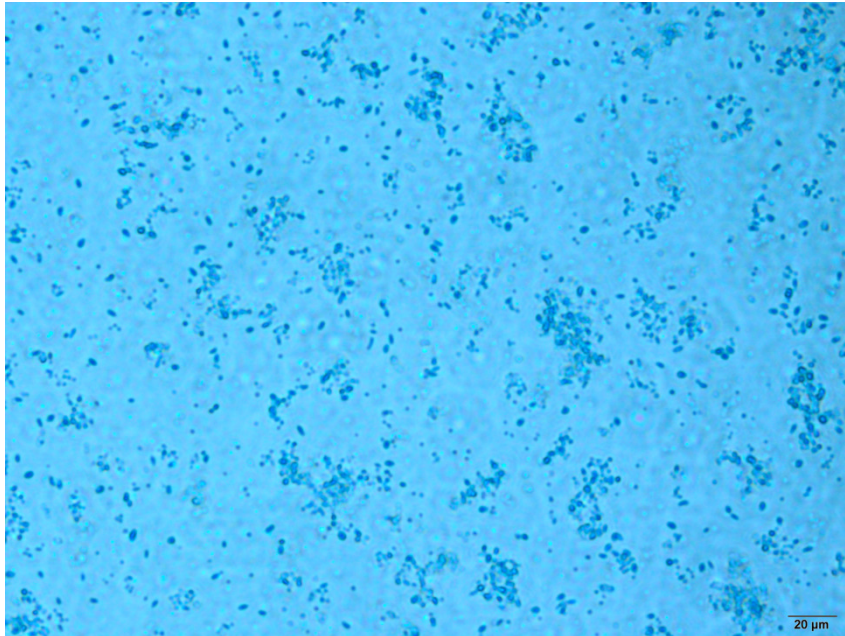
(b)



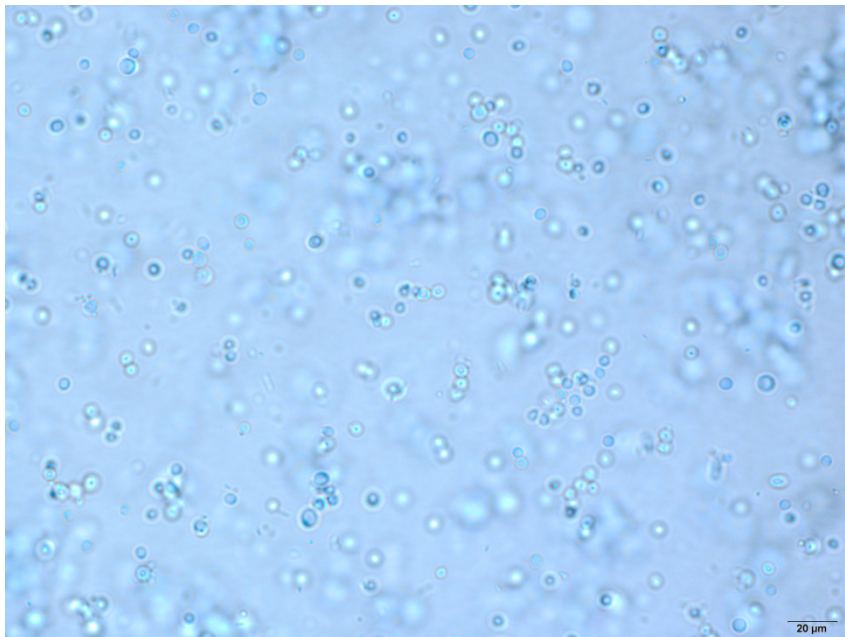
**Figura 20:** Imagens do isolado 010 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

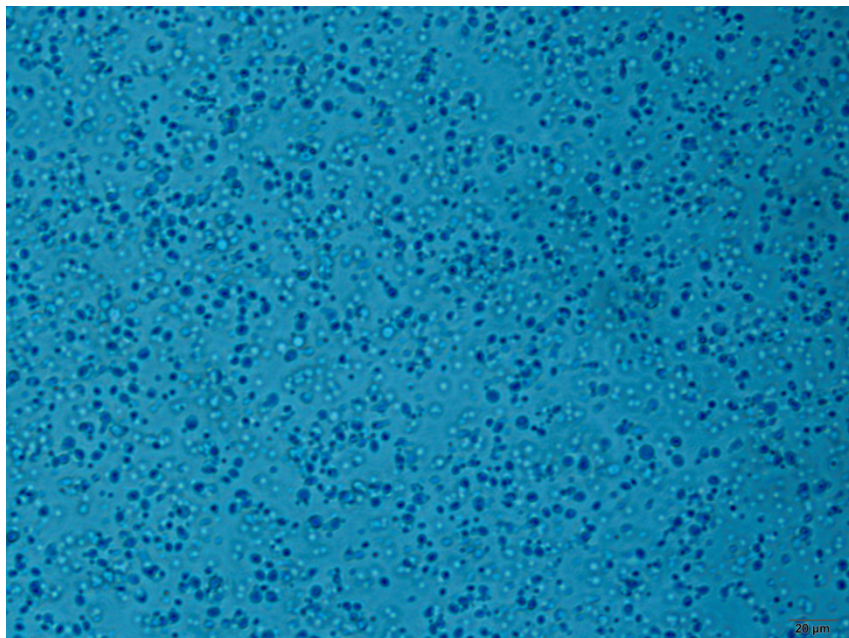


(b)

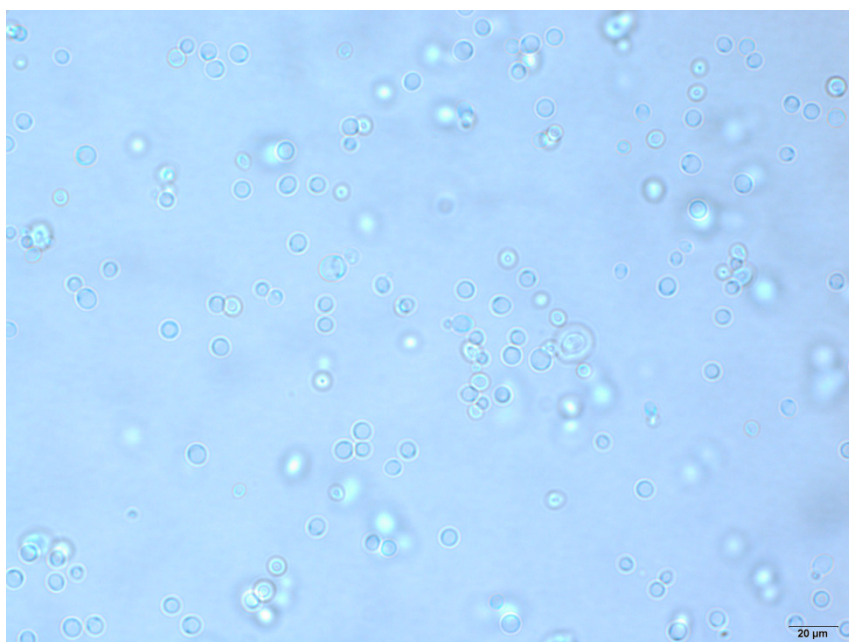


**Figura 21:** Imagens do isolado 011 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

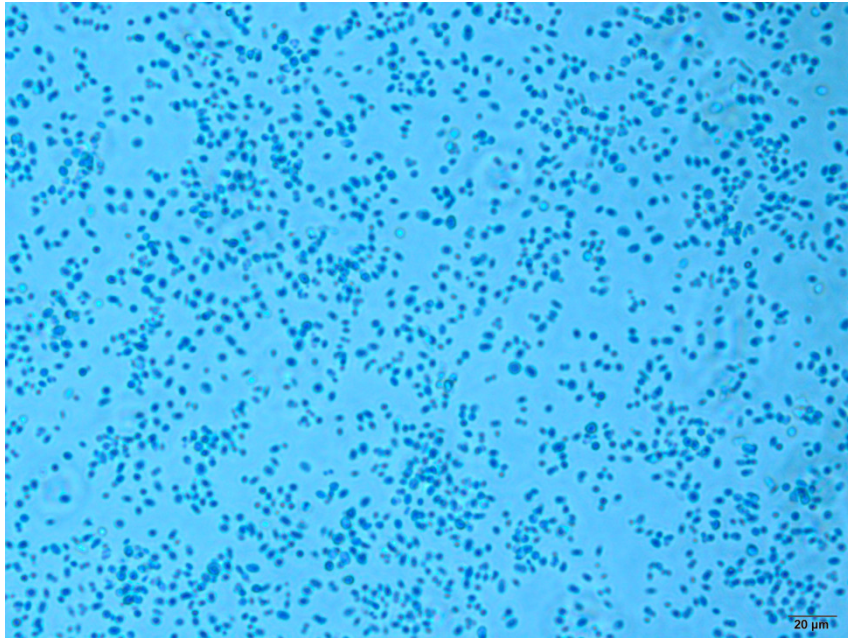


(b)

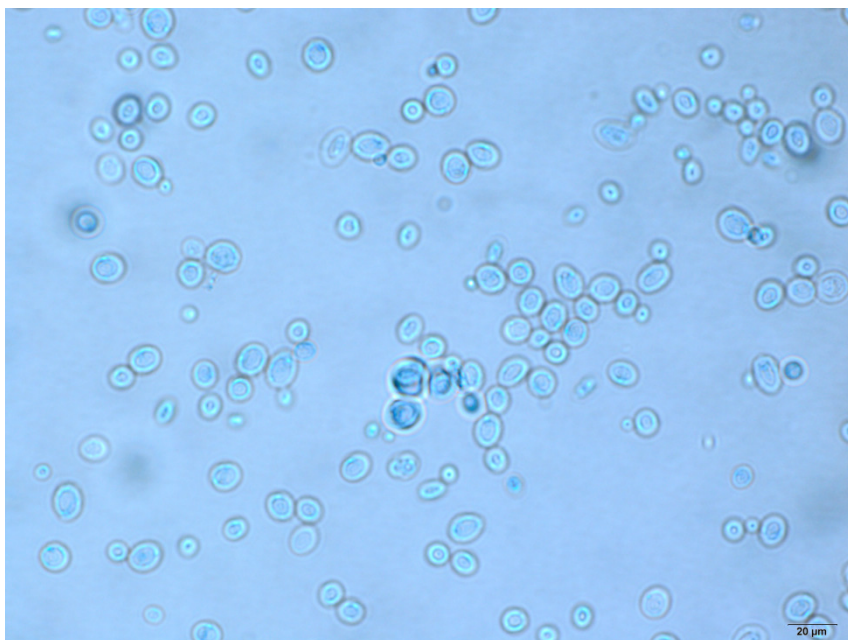


**Figura 22:** Imagens do isolado 012 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

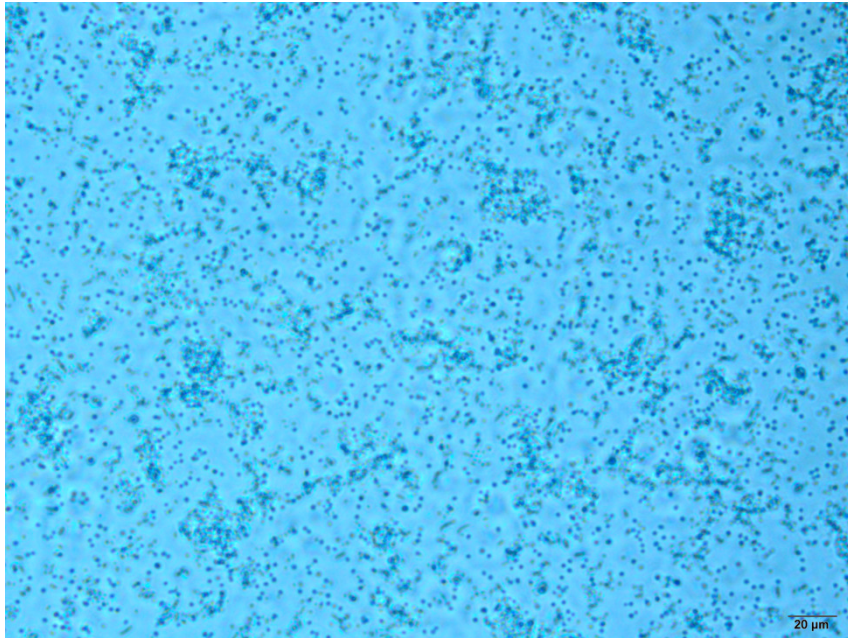


(b)

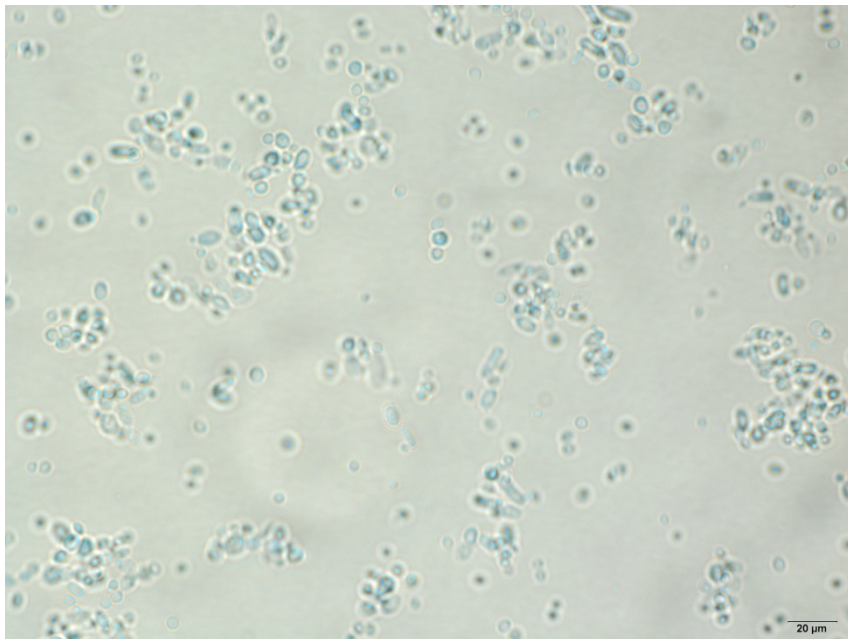


**Figura 23:** Imagens do isolado 013 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

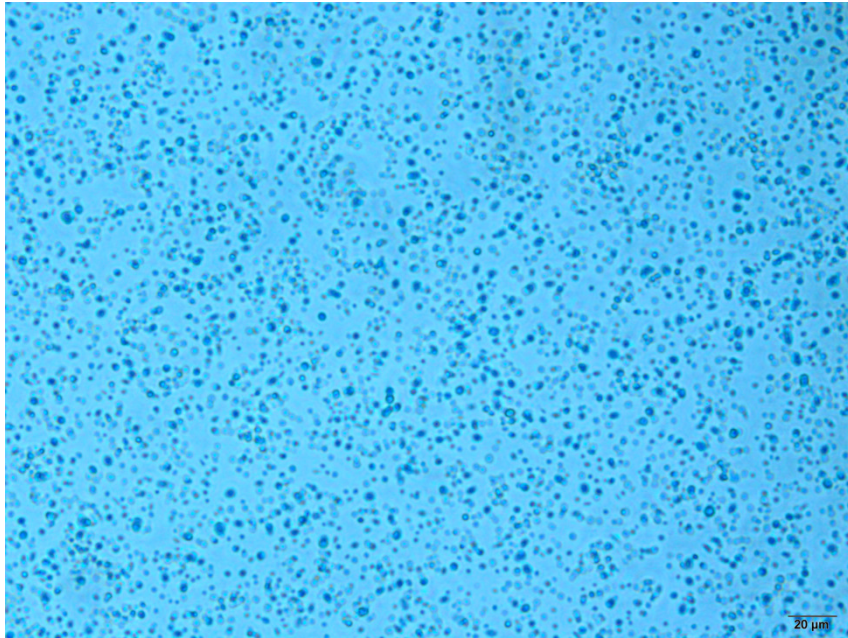


(b)

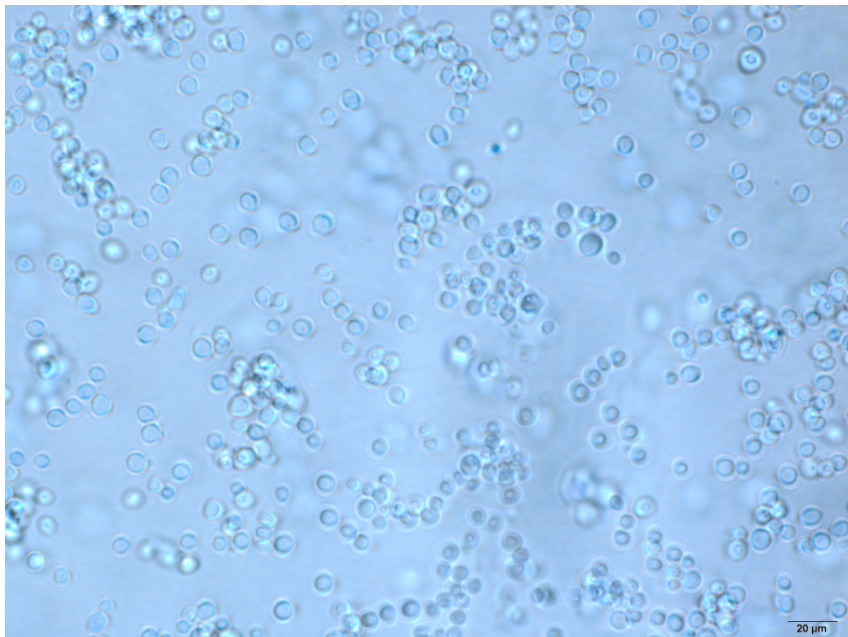


**Figura 24:** Imagens do isolado 014 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

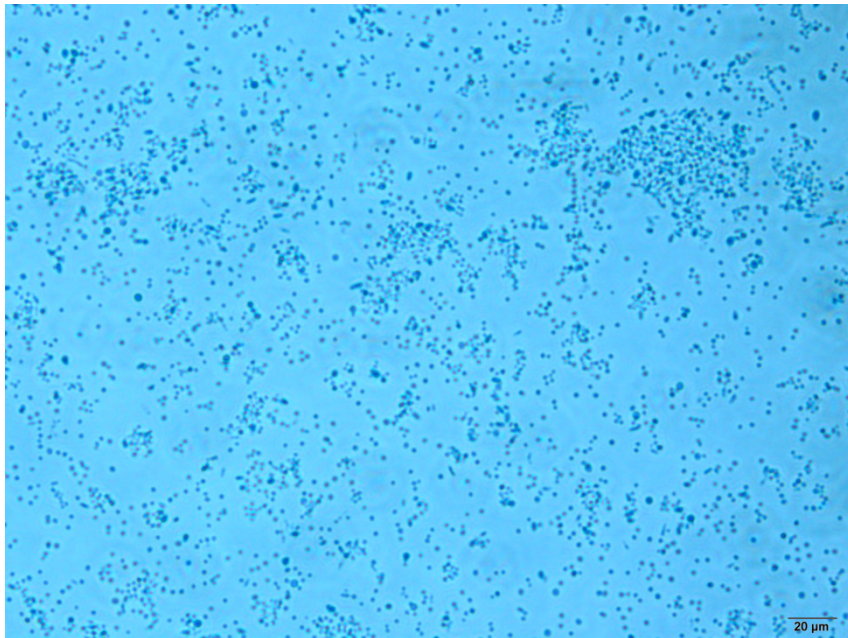


(b)

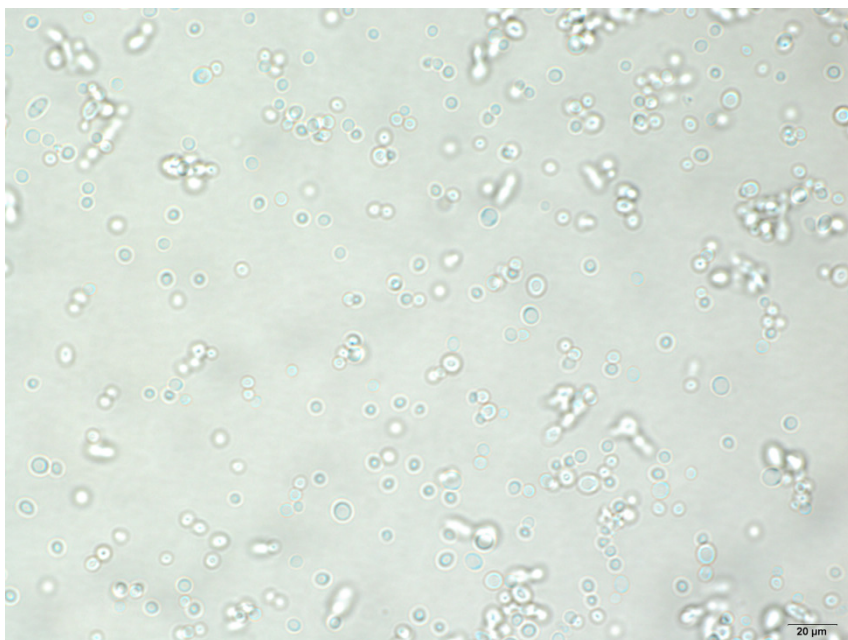


**Figura 25:** Imagens do isolado 015 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

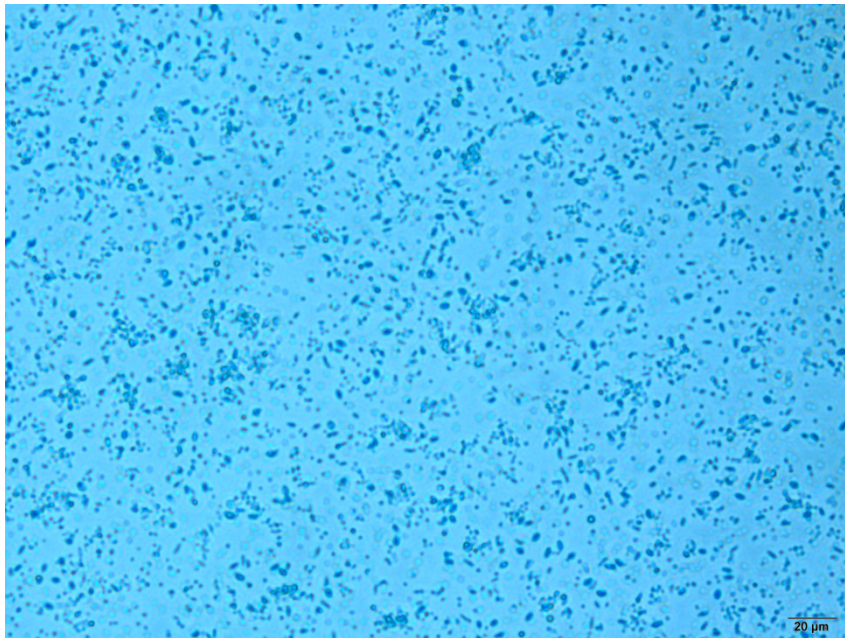


(b)

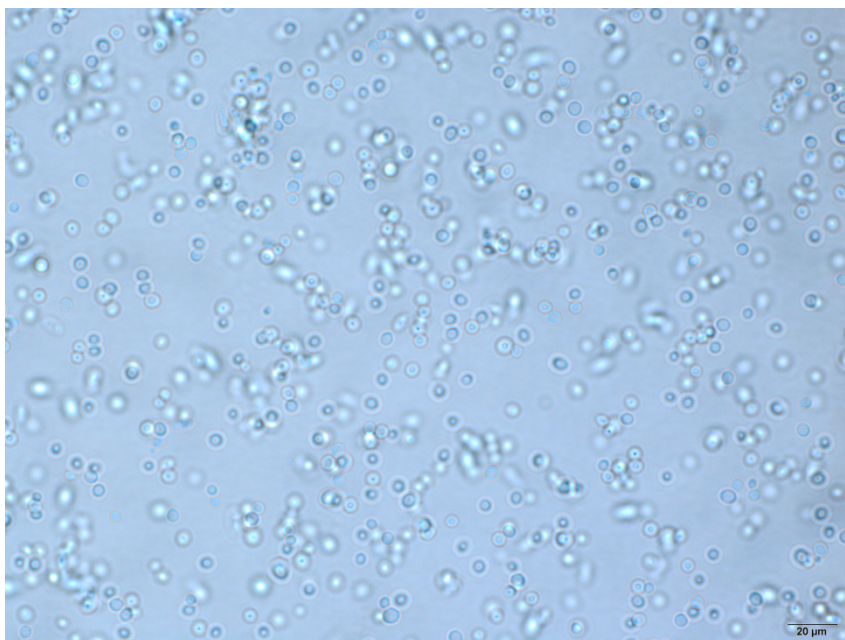


**Figura 26:** Imagens do isolado 016 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

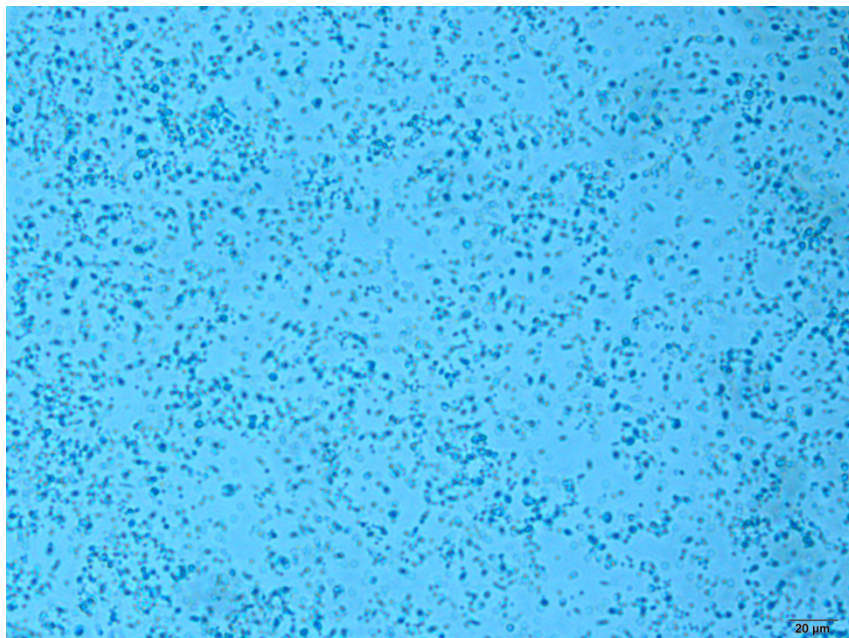


(b)

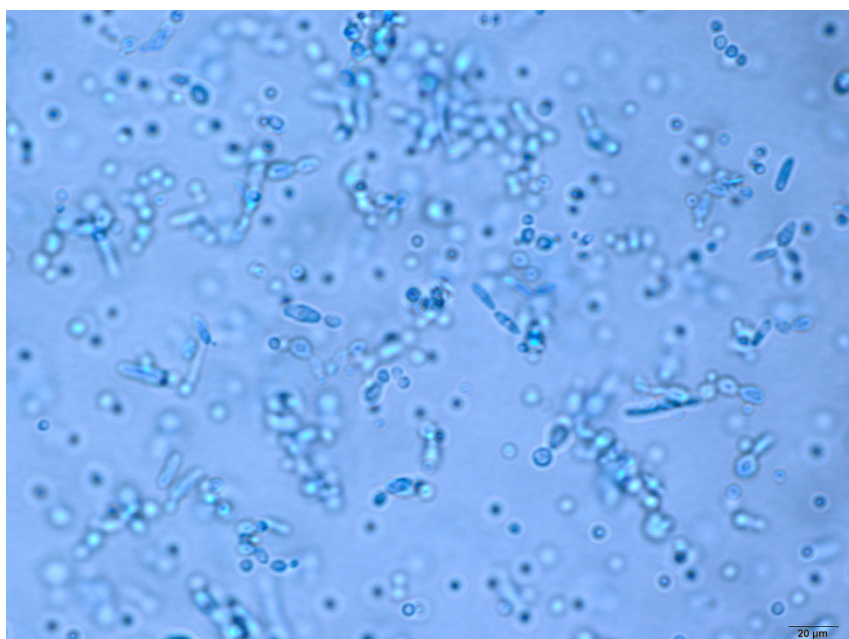


**Figura 27:** Imagens do isolado 017 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



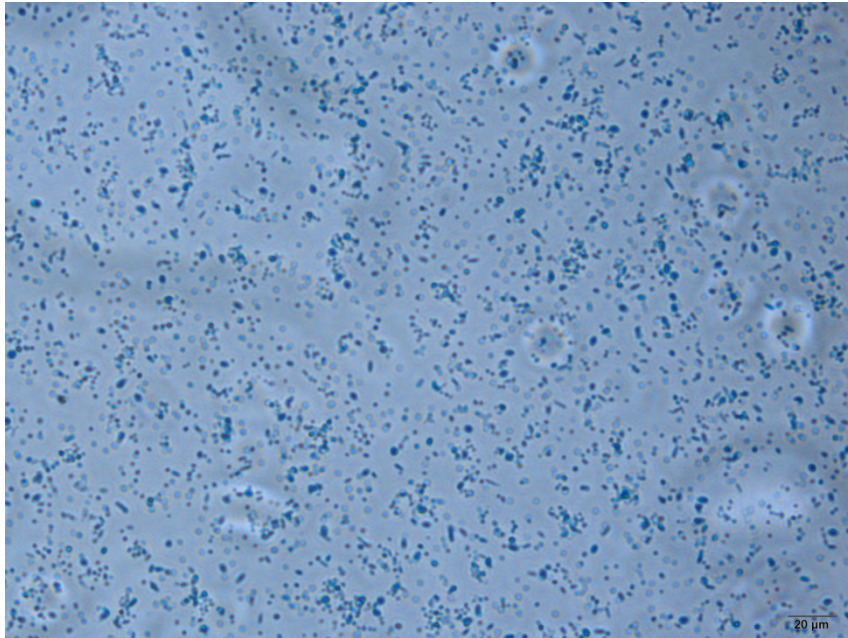
(b)



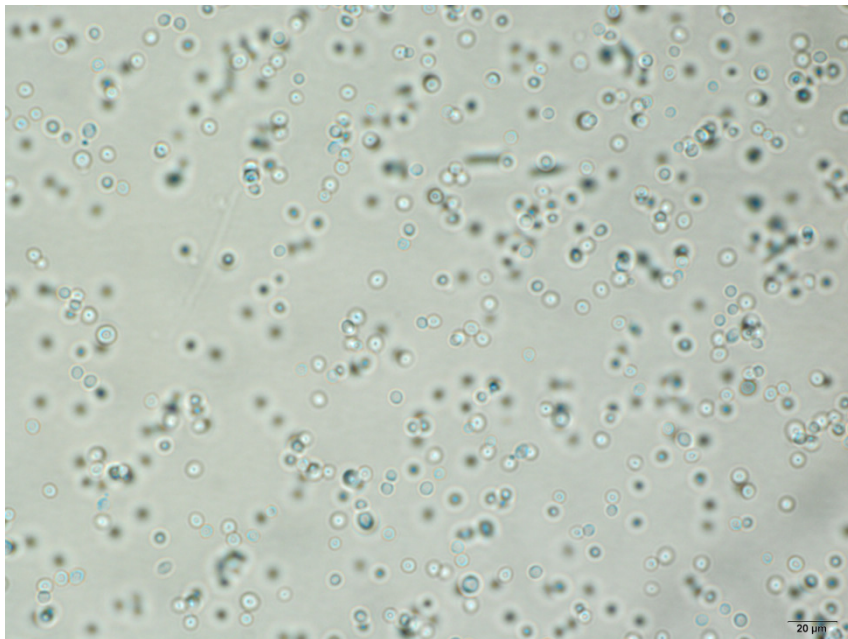
**Figura 28:** Imagens do isolado 018 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

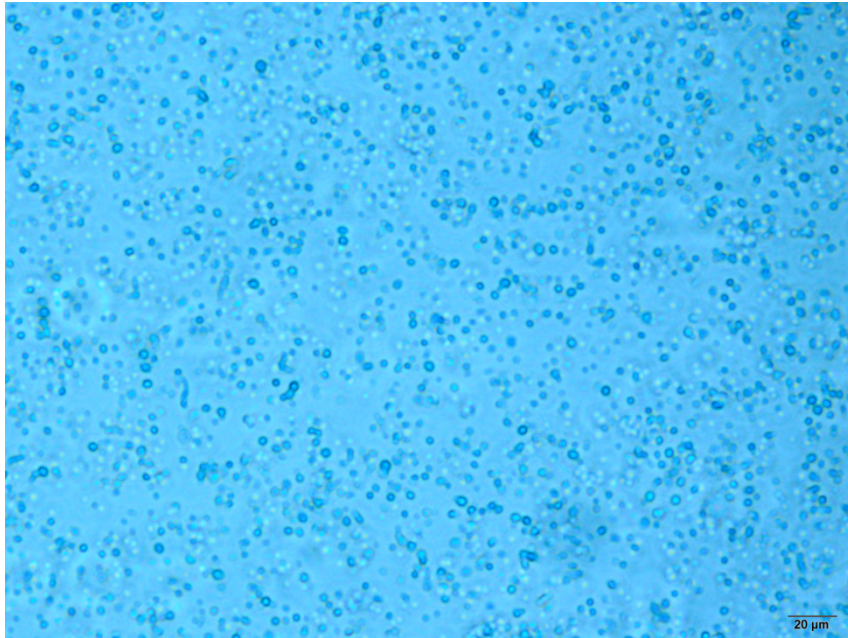


(b)

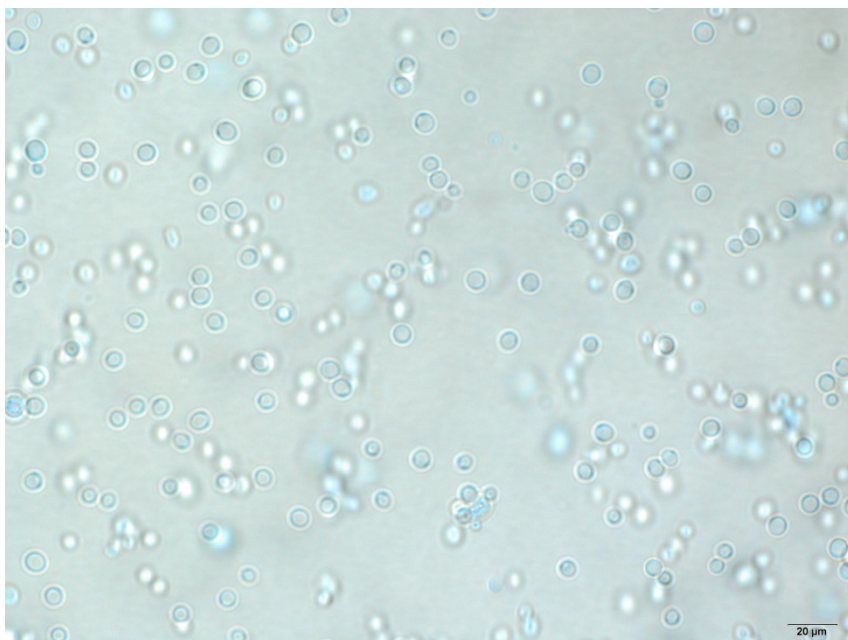


**Figura 29:** Imagens do isolado 020 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

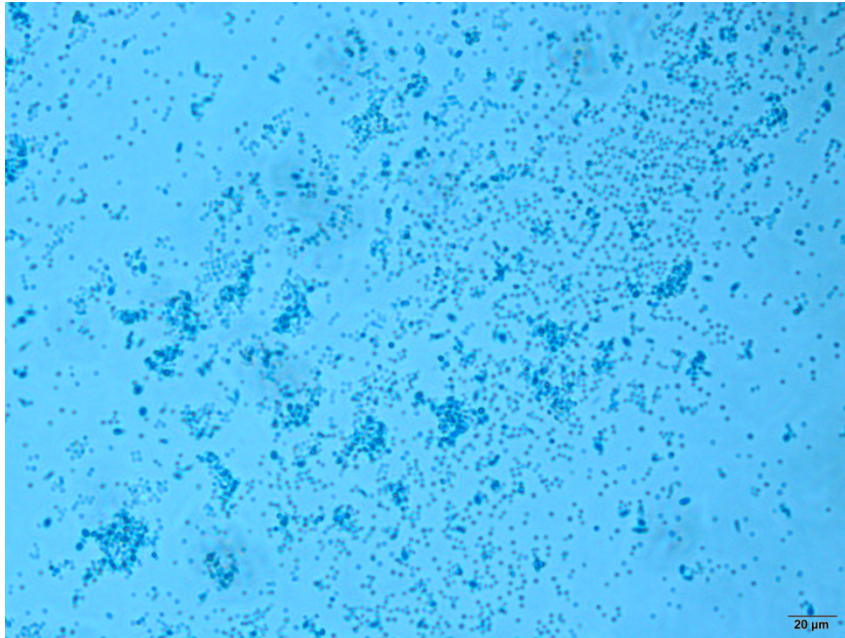


(b)

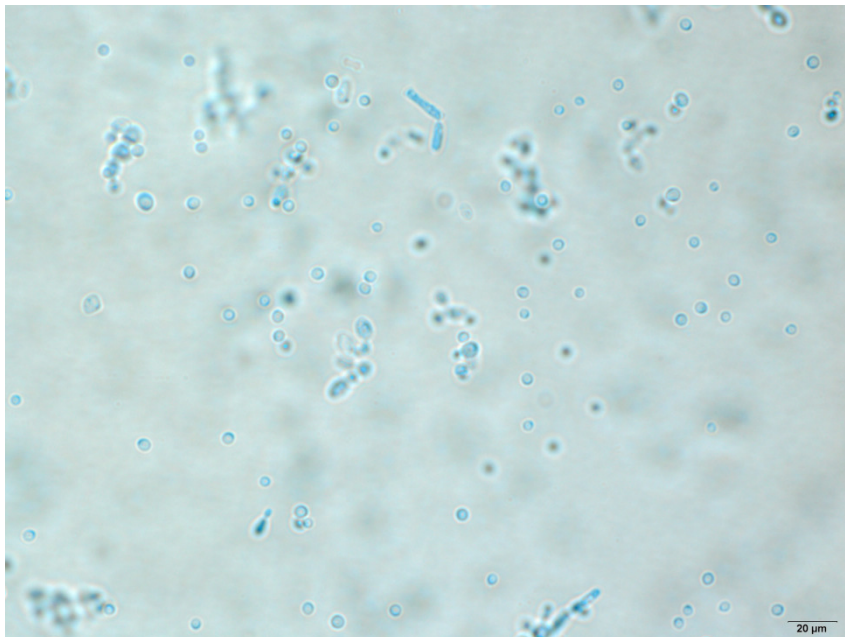


**Figura 30:** Imagens do isolado 021 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

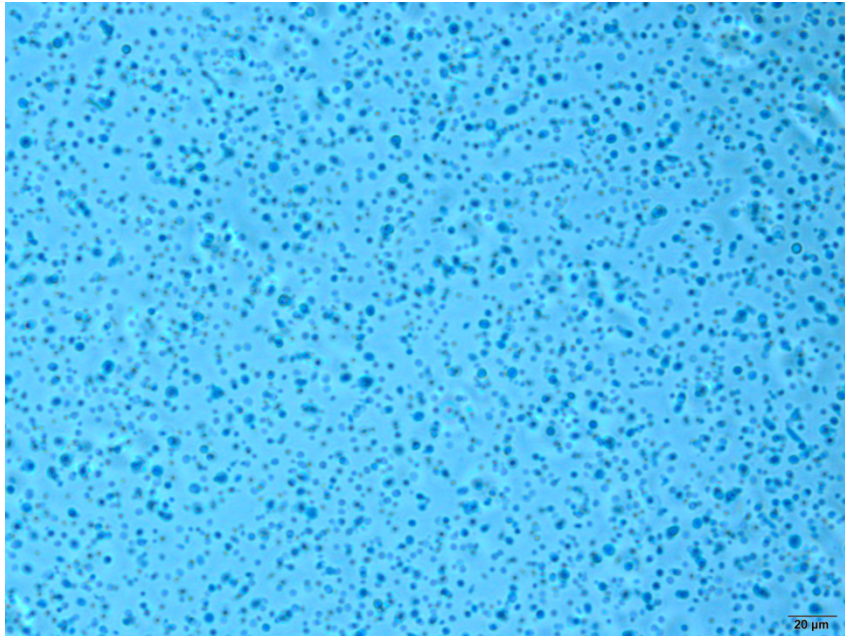


(b)

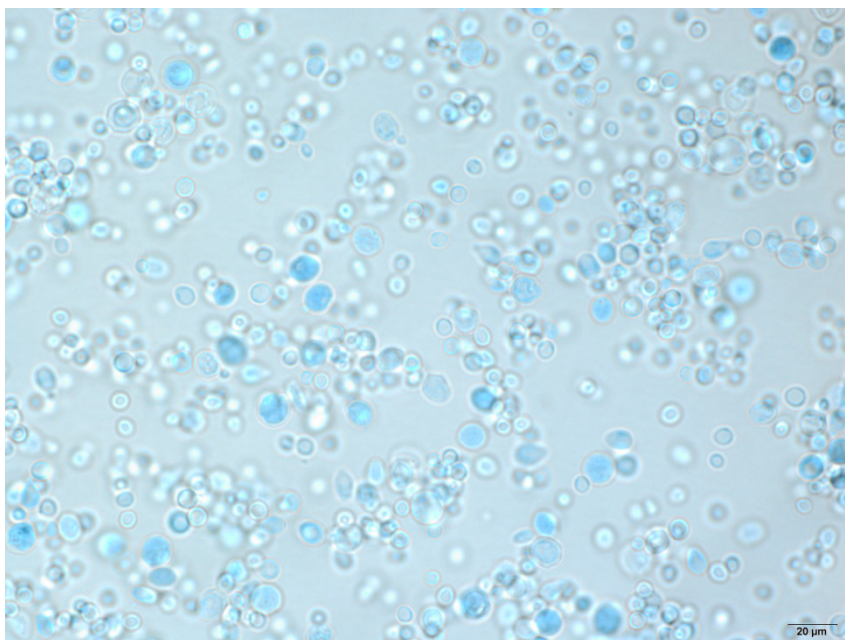


**Figura 31:** Imagens do isolado 022 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

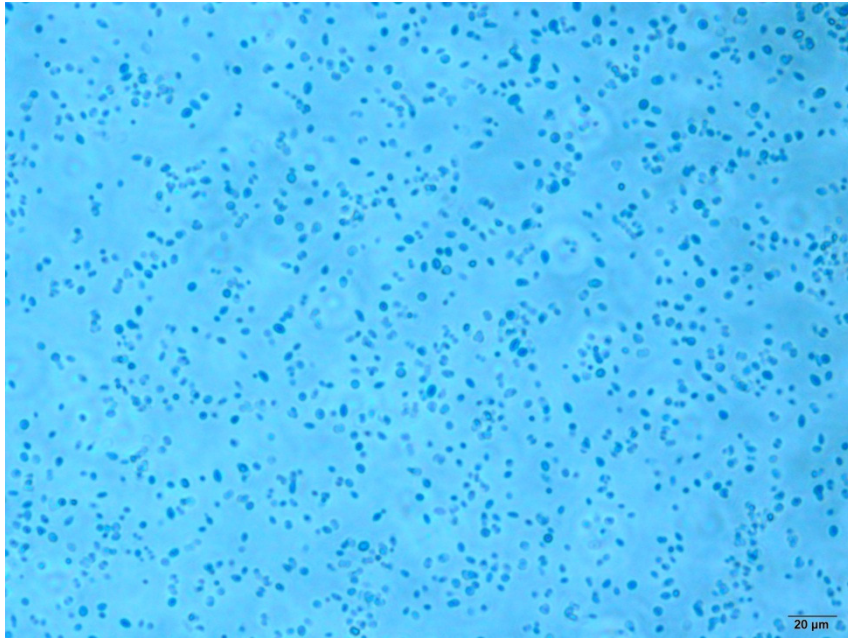


(b)

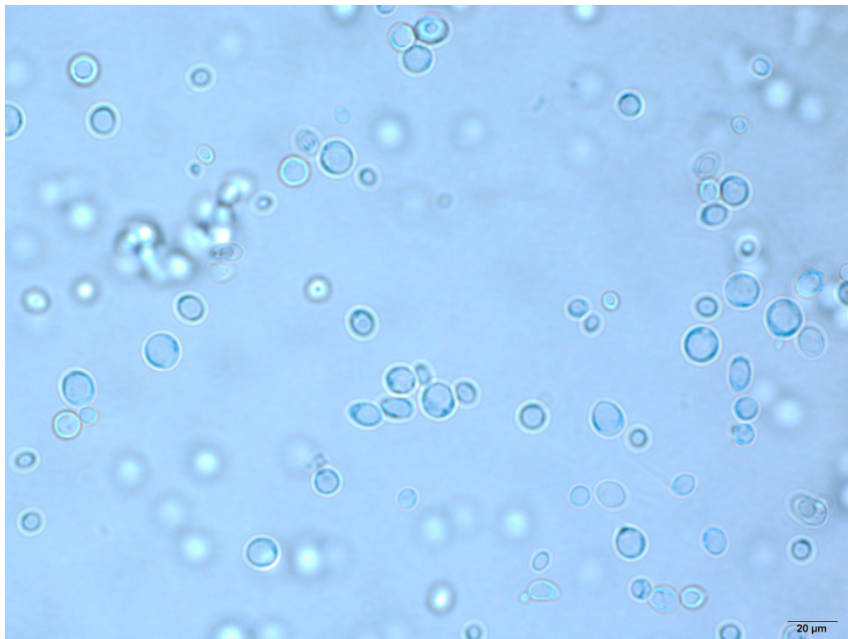


**Figura 32:** Imagens do isolado 023 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

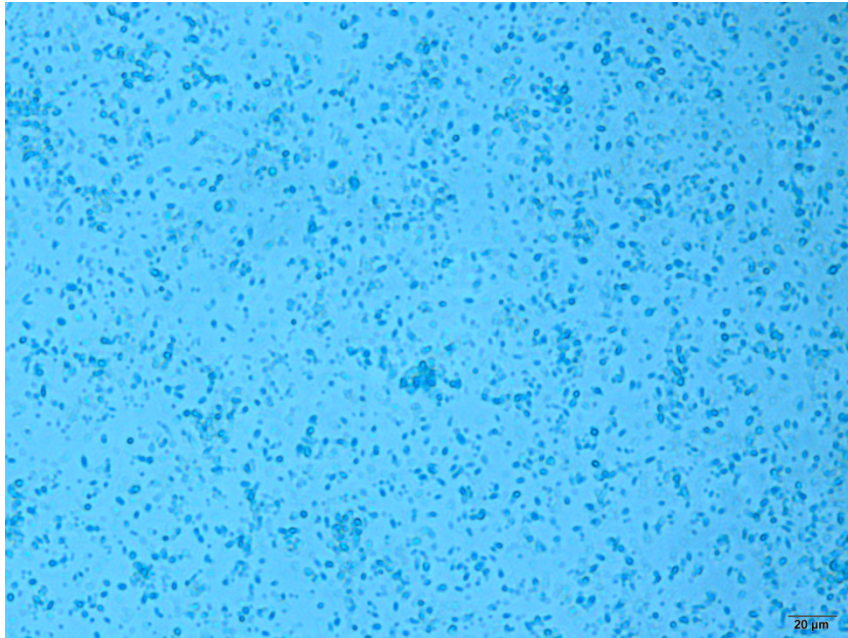


(b)

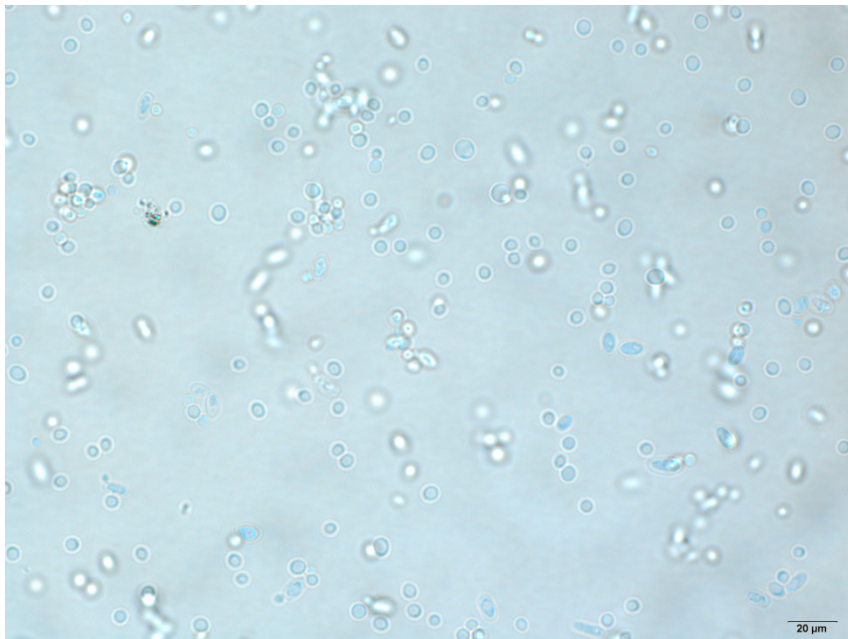


**Figura 33:** Imagens do isolado 024 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

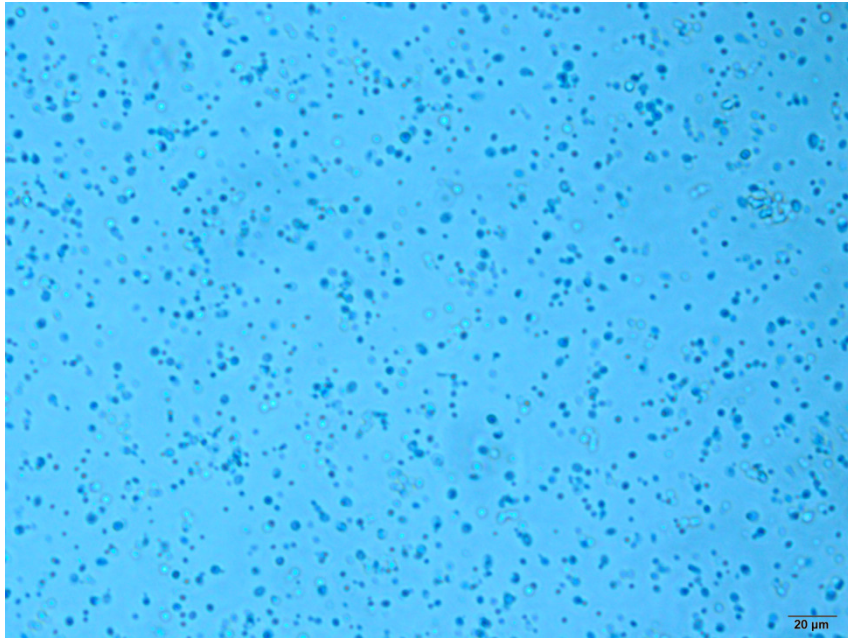


(b)

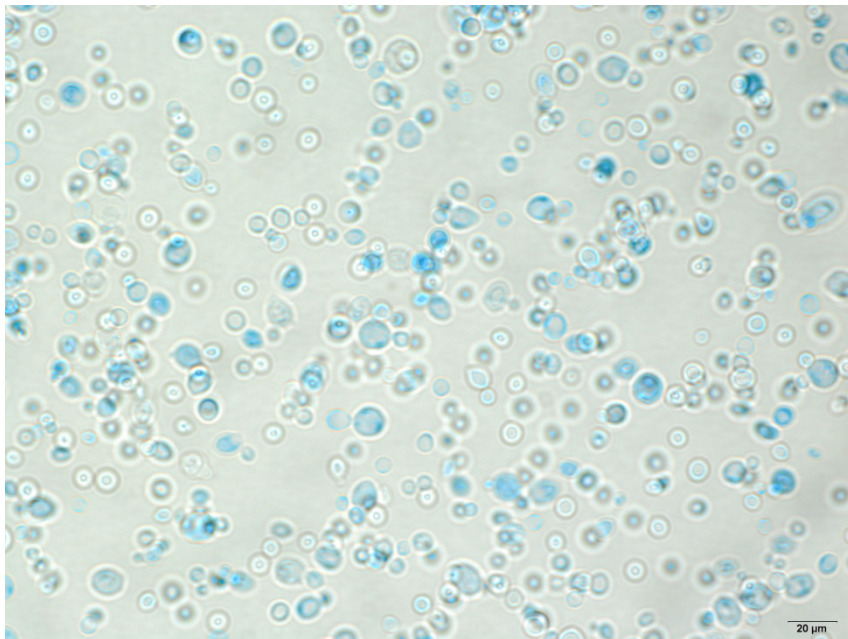


**Figura 34:** Imagens do isolado 025 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

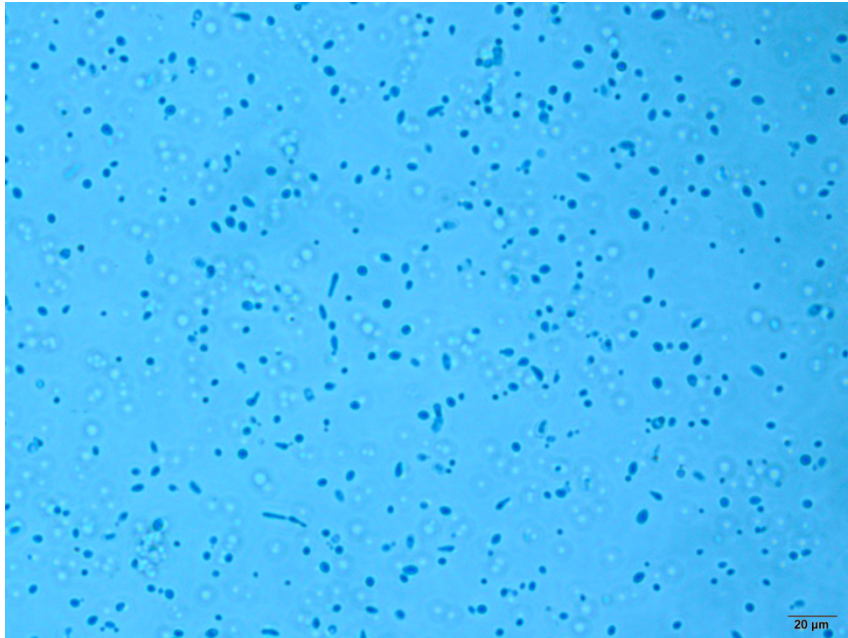


(b)

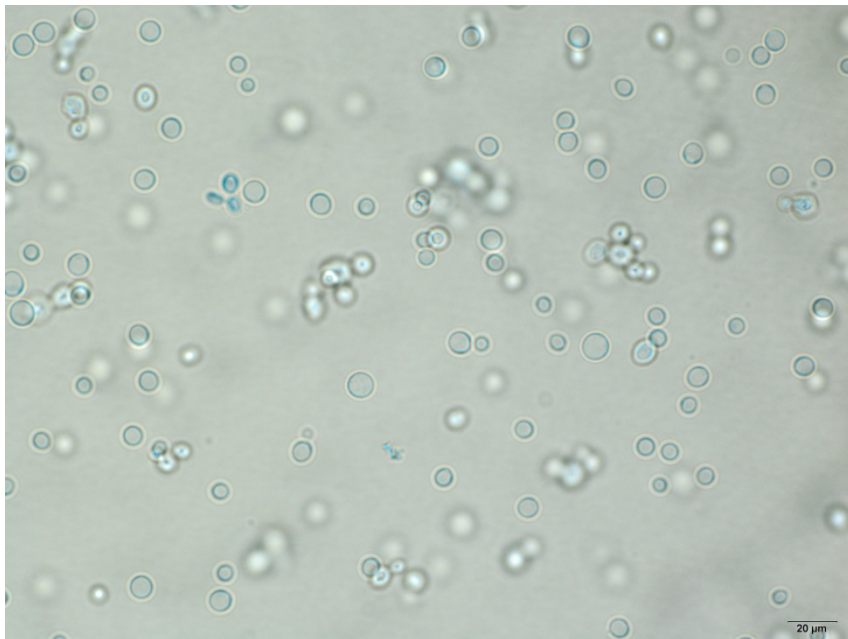


**Figura 35:** Imagens do isolado 026 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



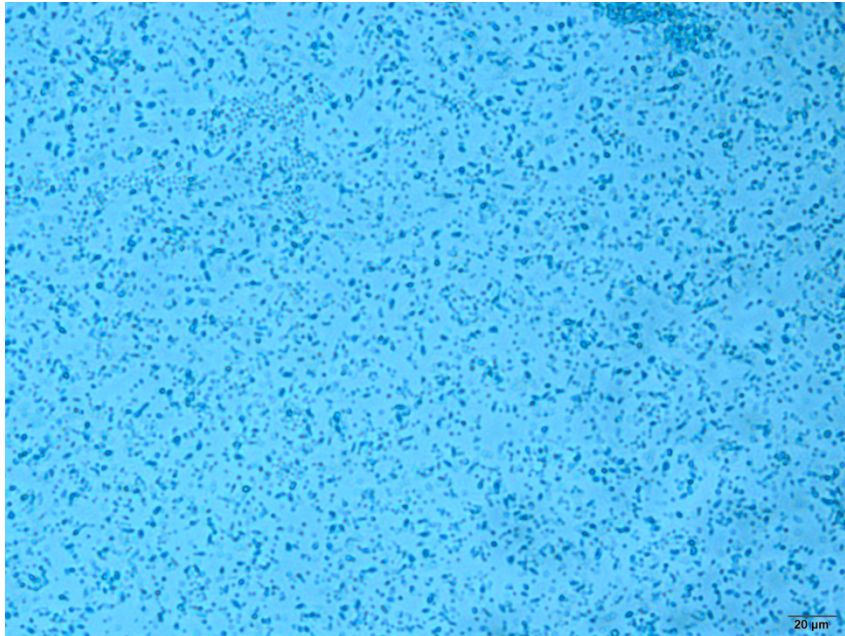
(b)



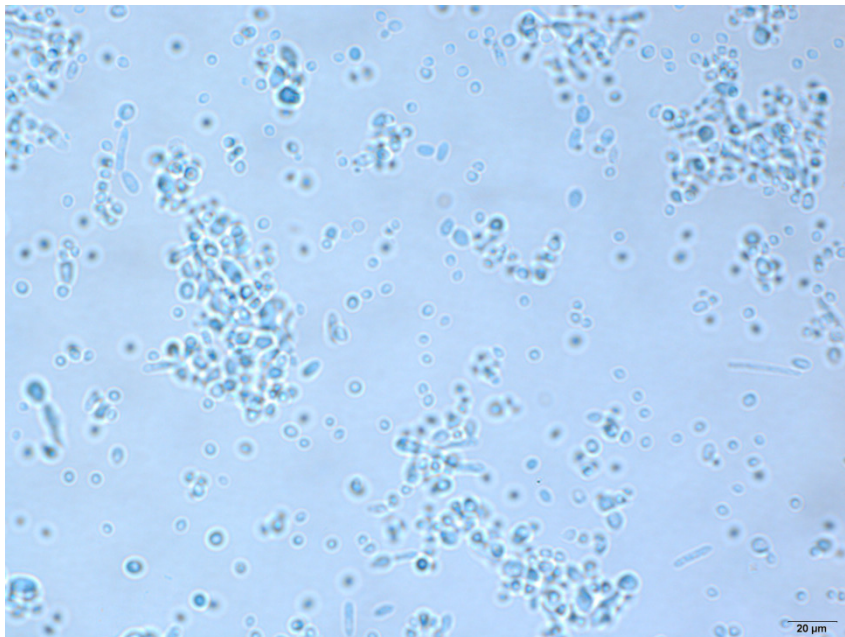
**Figura 36:** Imagens do isolado 027 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

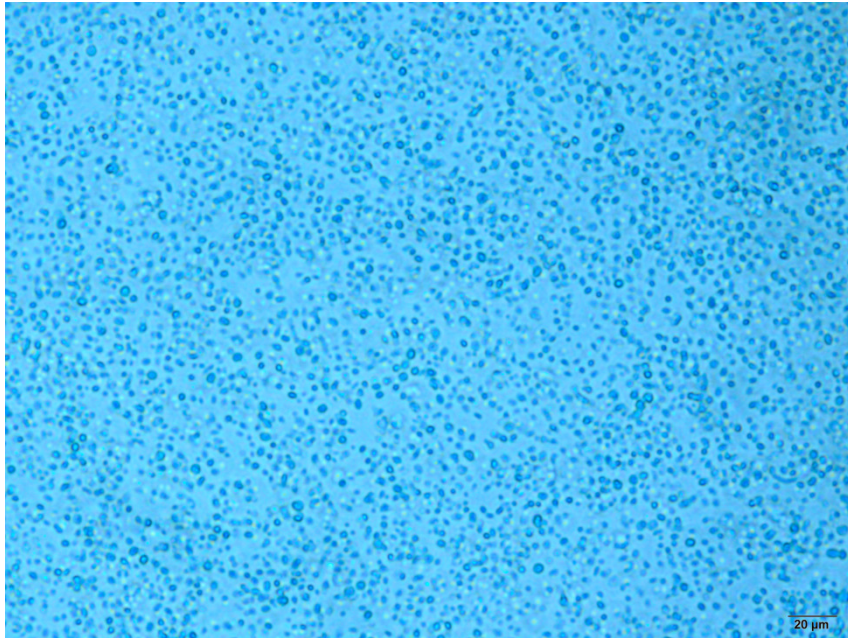


(b)

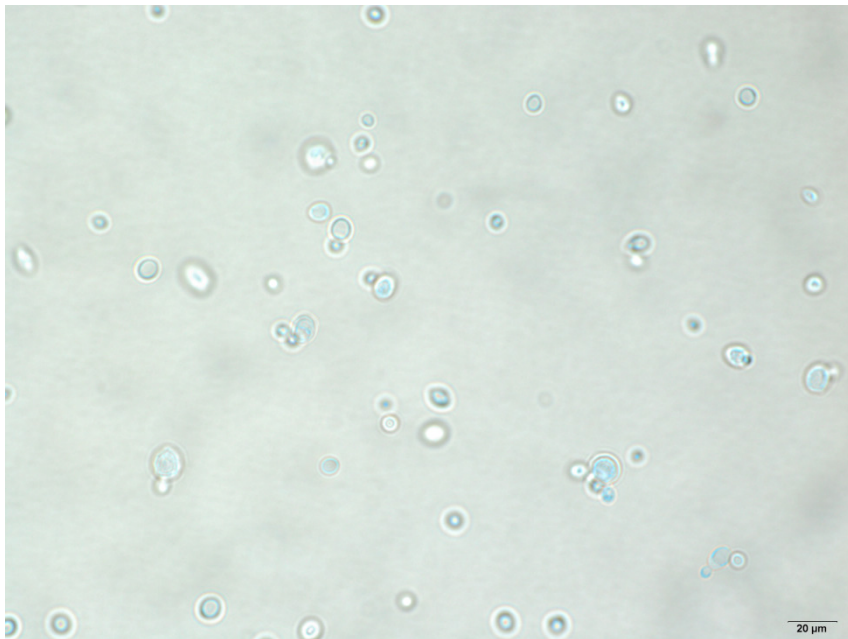


**Figura 37:** Imagens do isolado 028 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

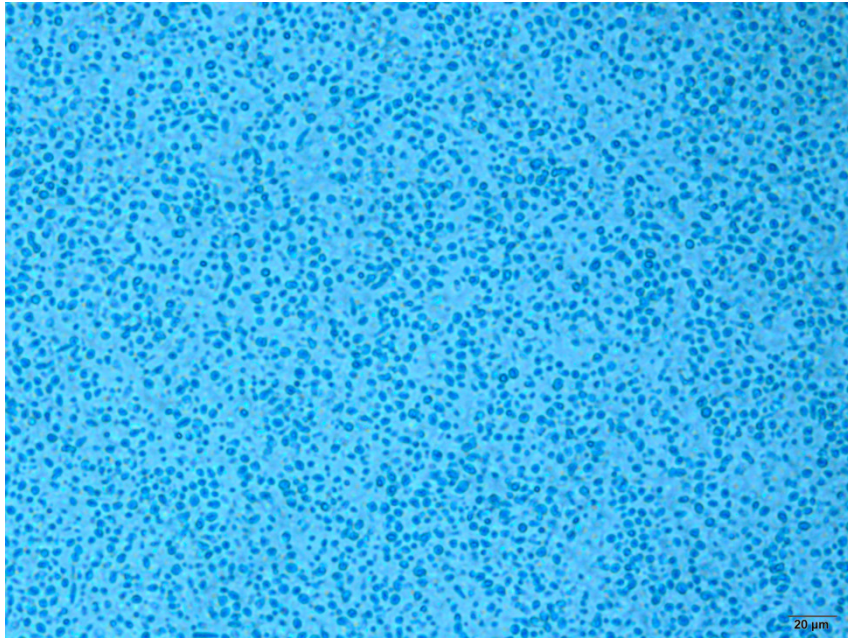


(b)

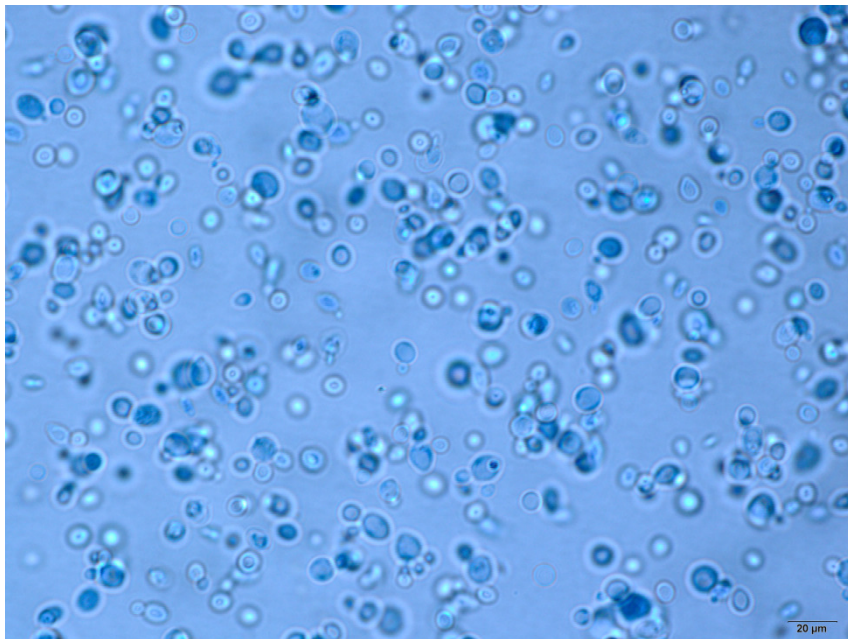


**Figura 38:** Imagens do isolado 029 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

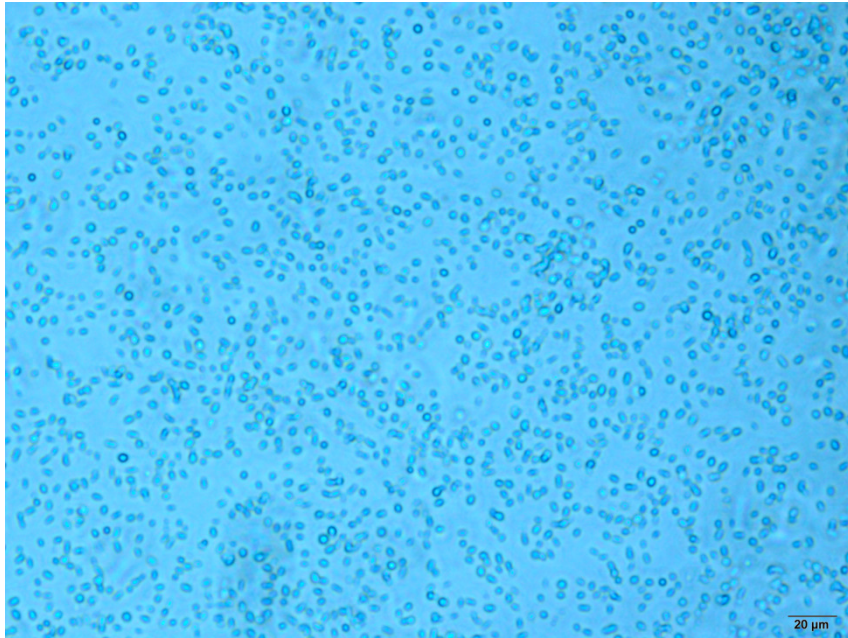


(b)

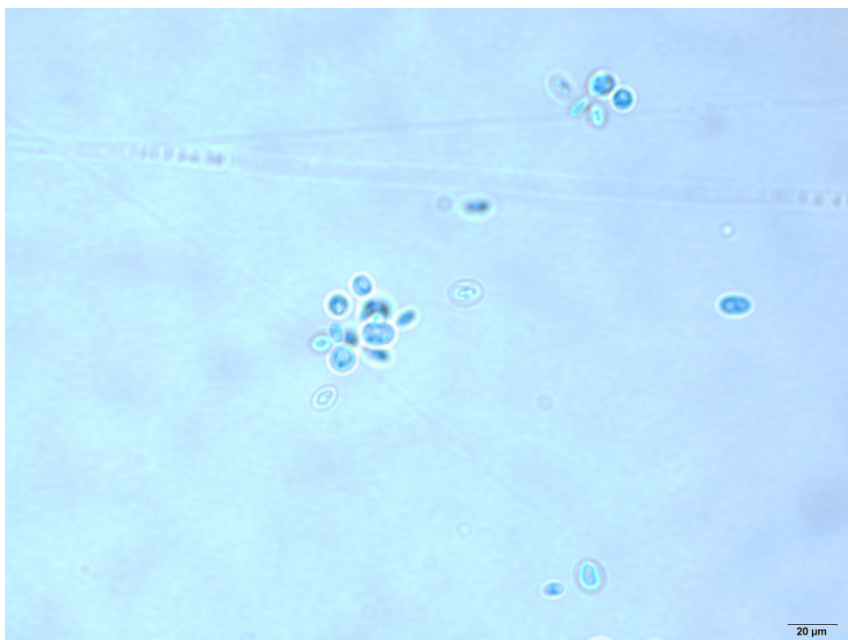


**Figura 39:** Imagens do isolado 030 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

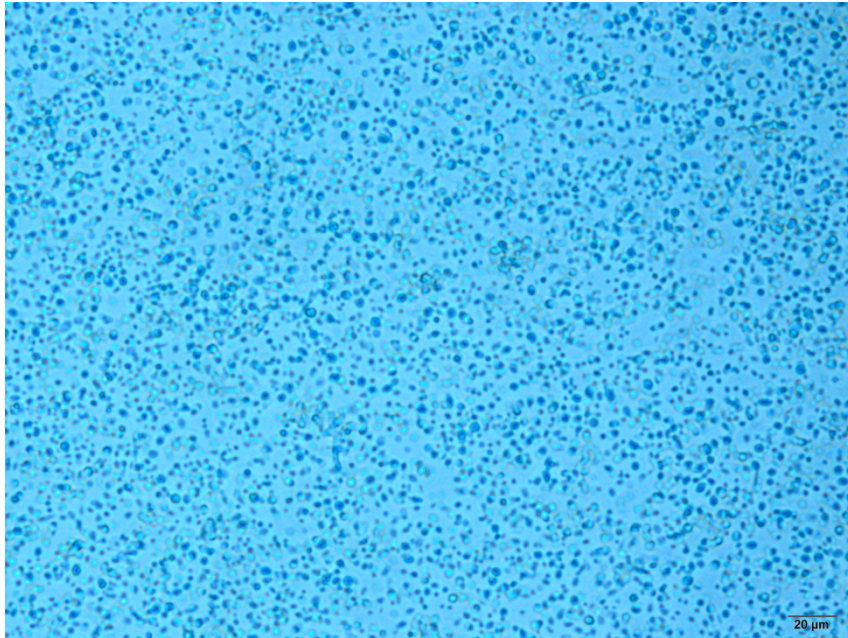


(b)

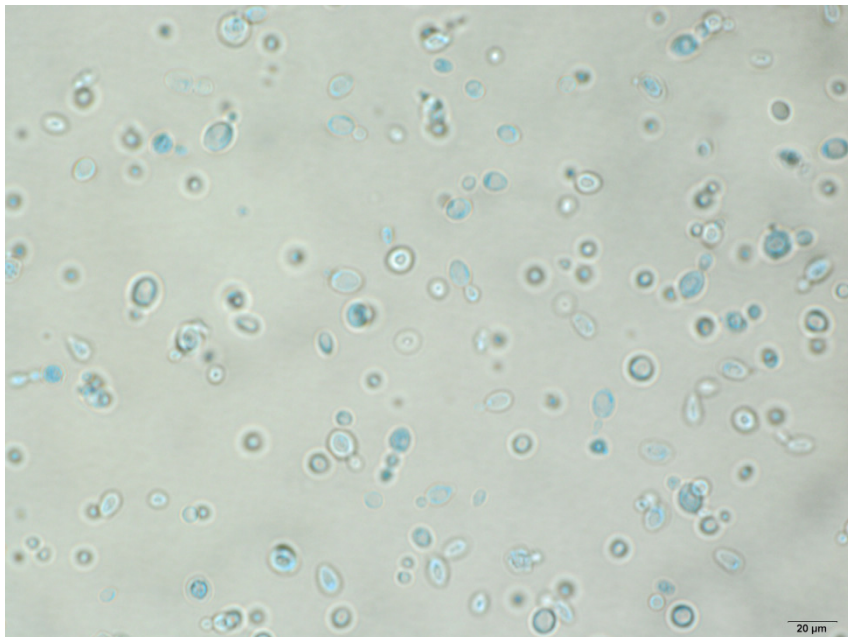


**Figura 40:** Imagens do isolado 031 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

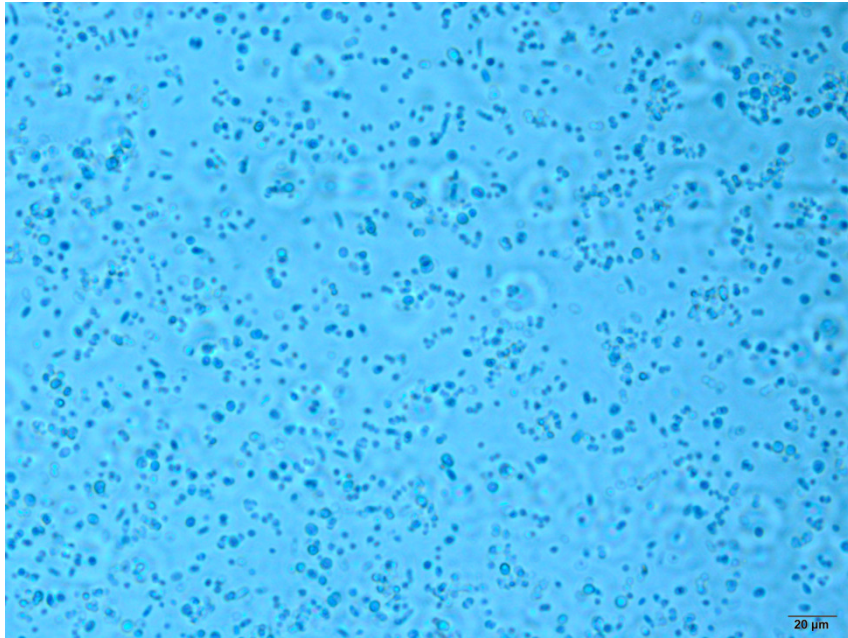


(b)

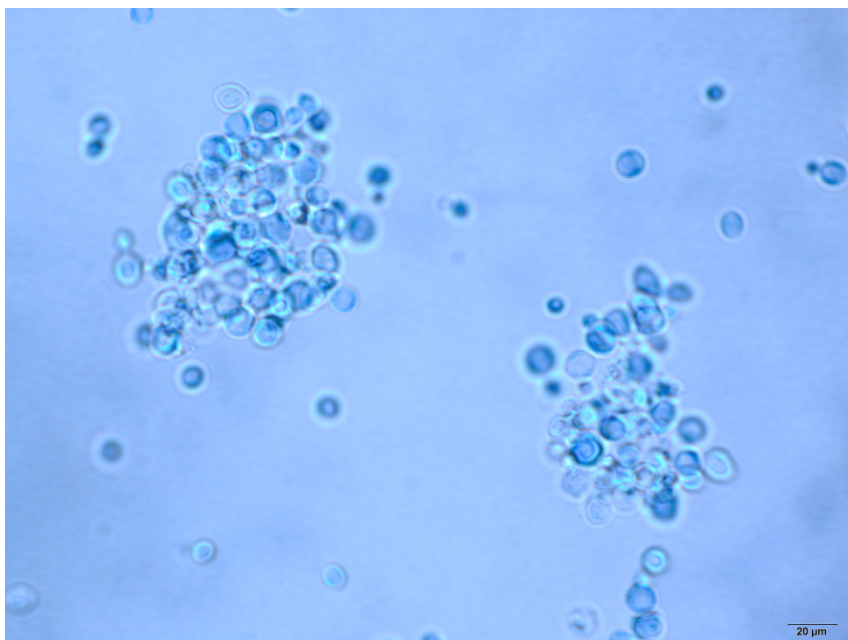


**Figura 41:** Imagens do isolado 032 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

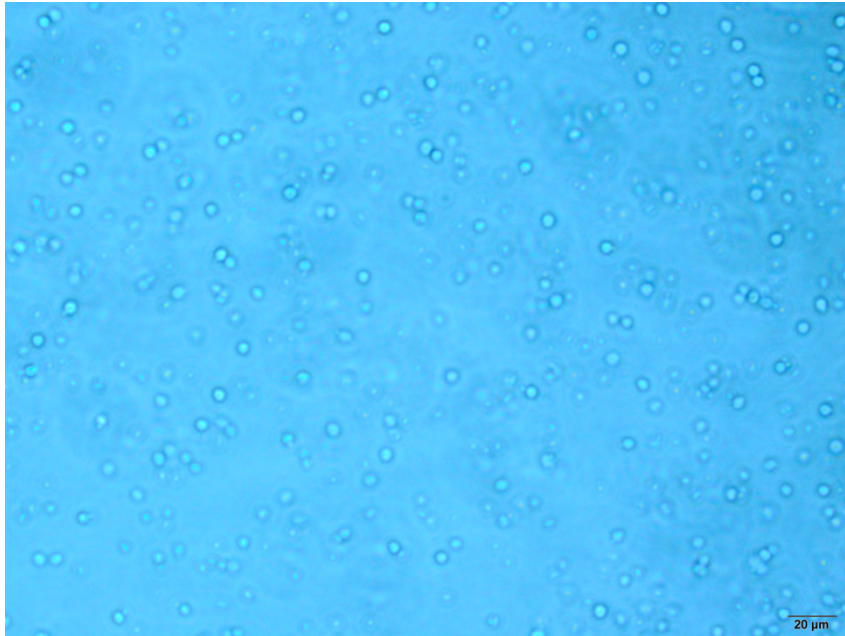


(b)

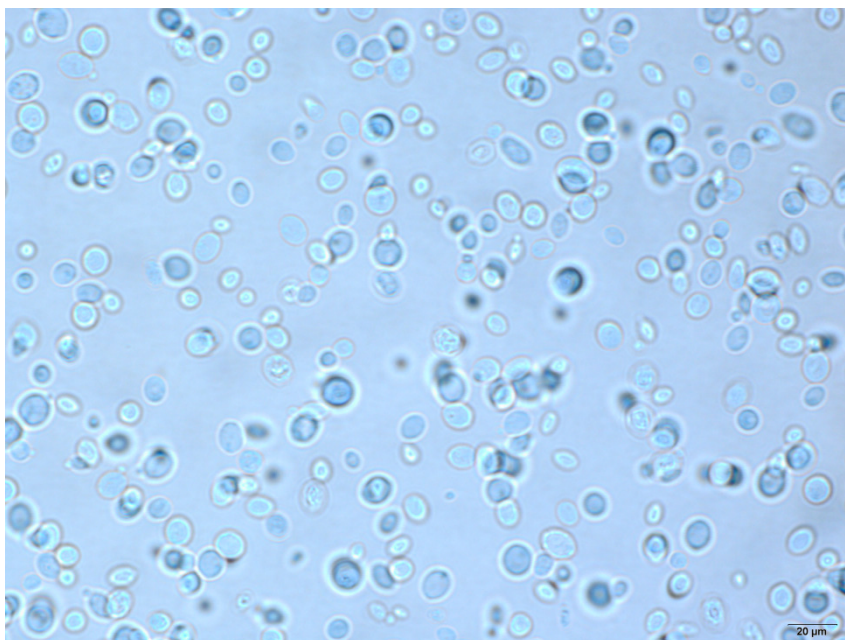


**Figura 42:** Imagens do isolado 033 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

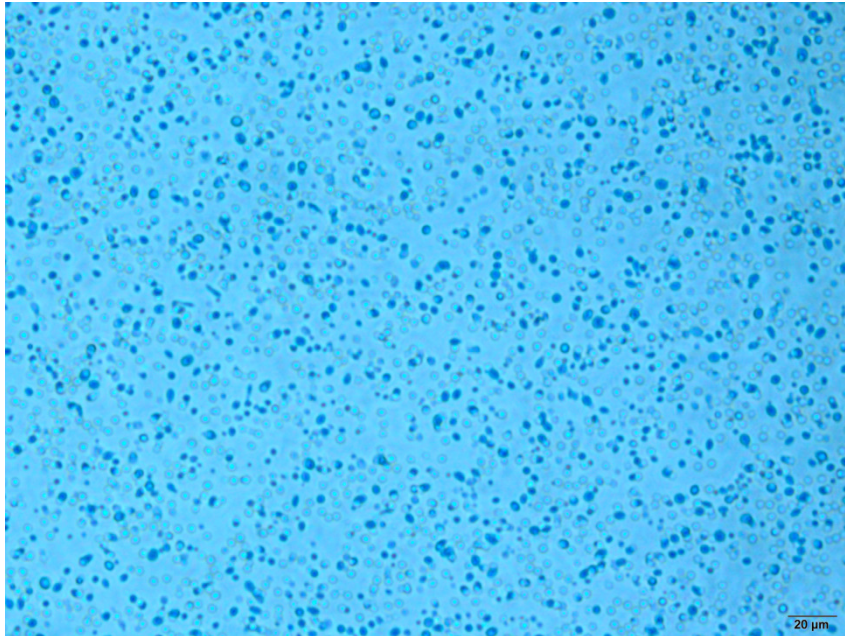


(b)

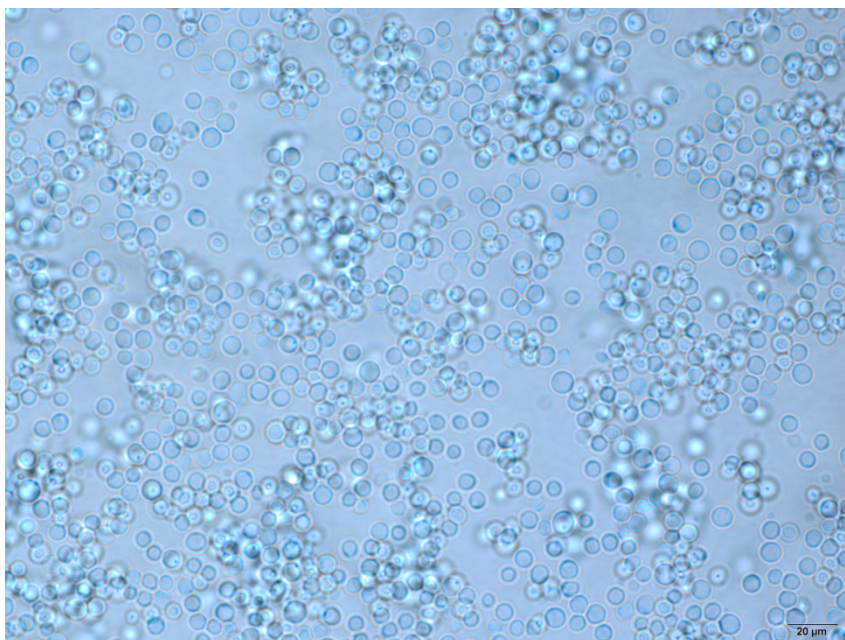


**Figura 43:** Imagens do isolado 034 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



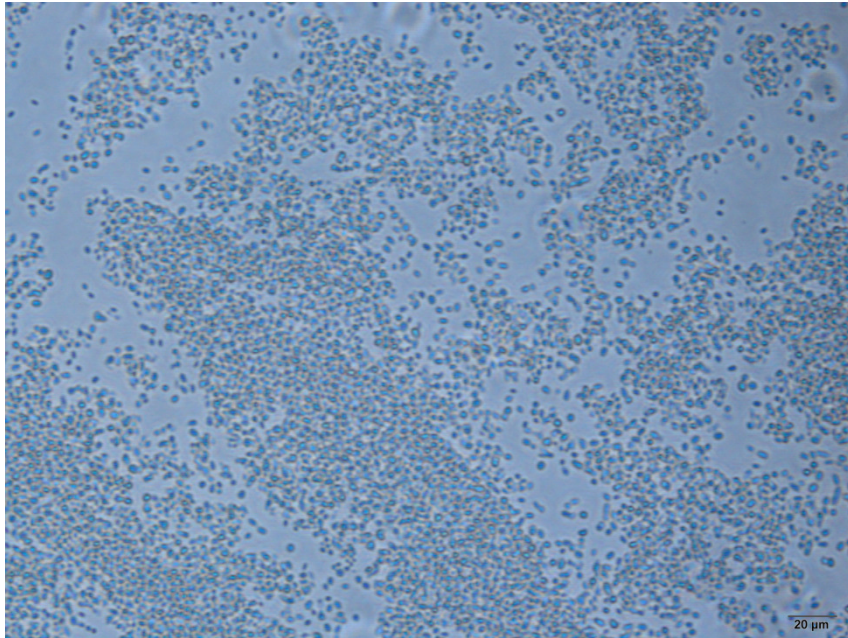
(b)



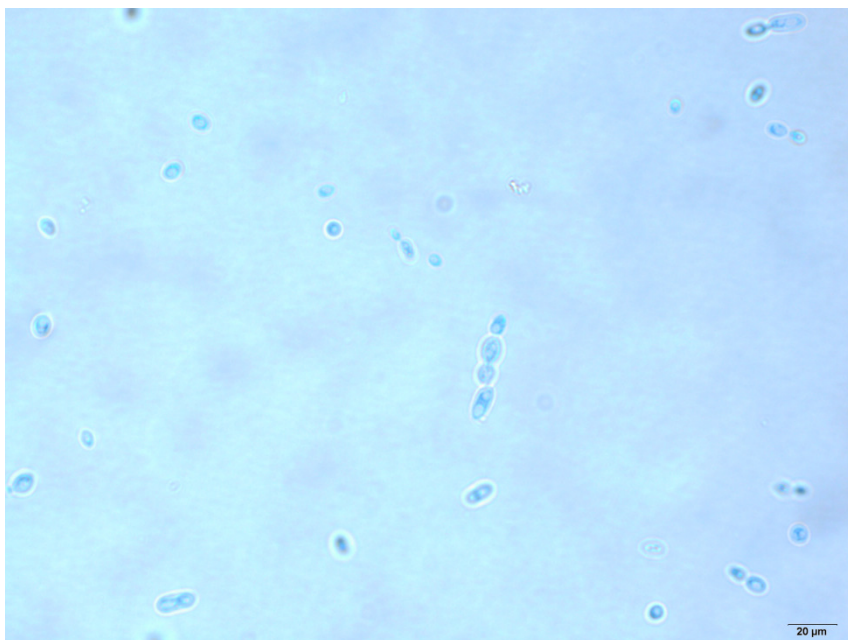
**Figura 44:** Imagens do isolado 035 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

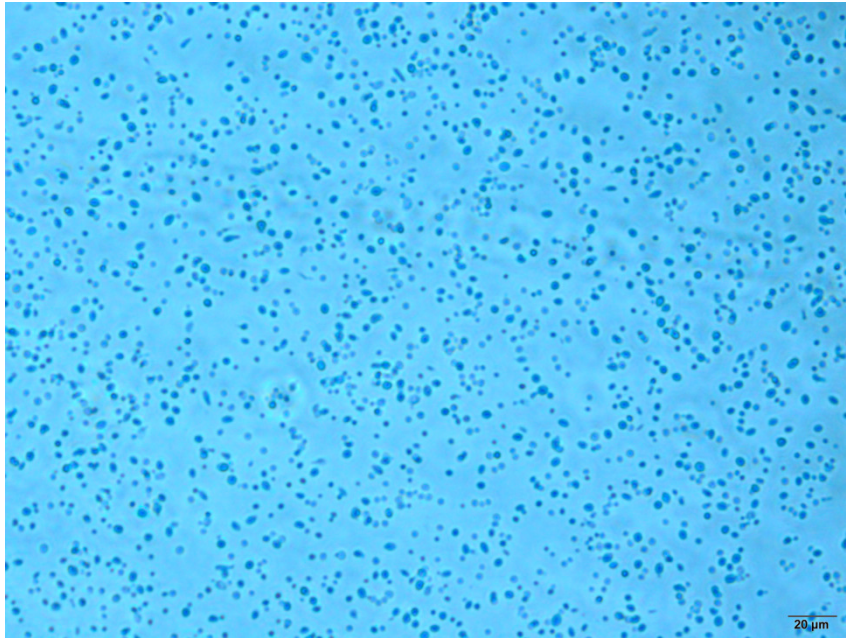


(b)

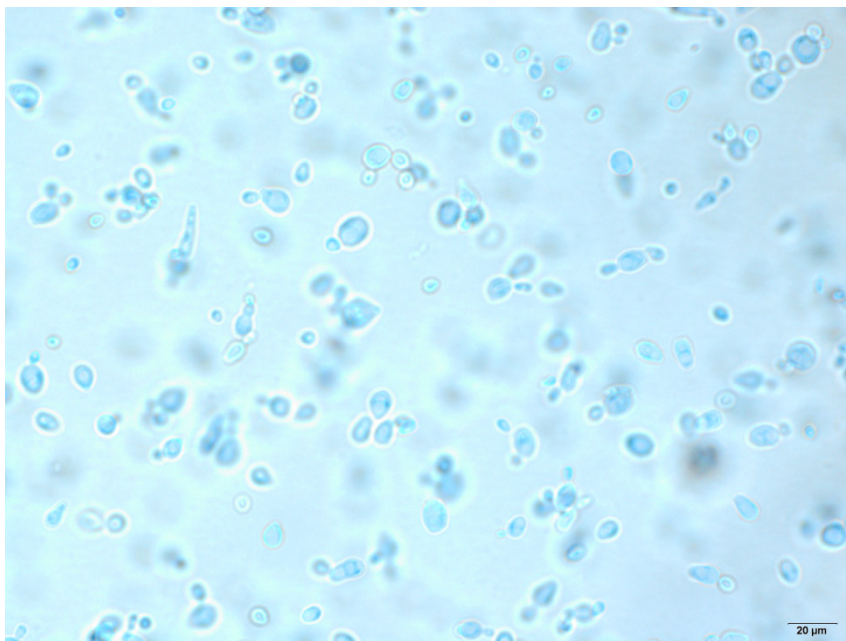


**Figura 45:** Imagens do isolado 036 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

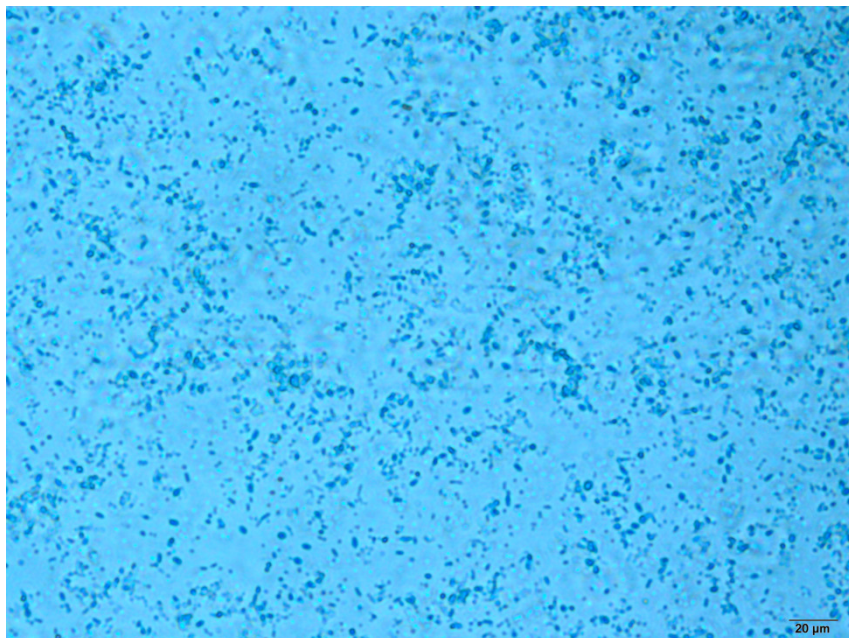


(b)

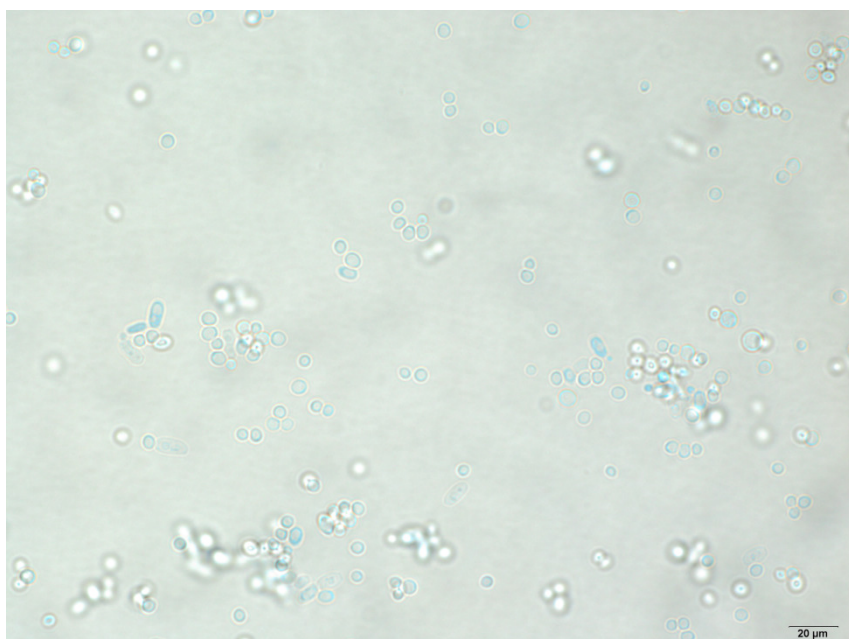


**Figura 46:** Imagens do isolado 037 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

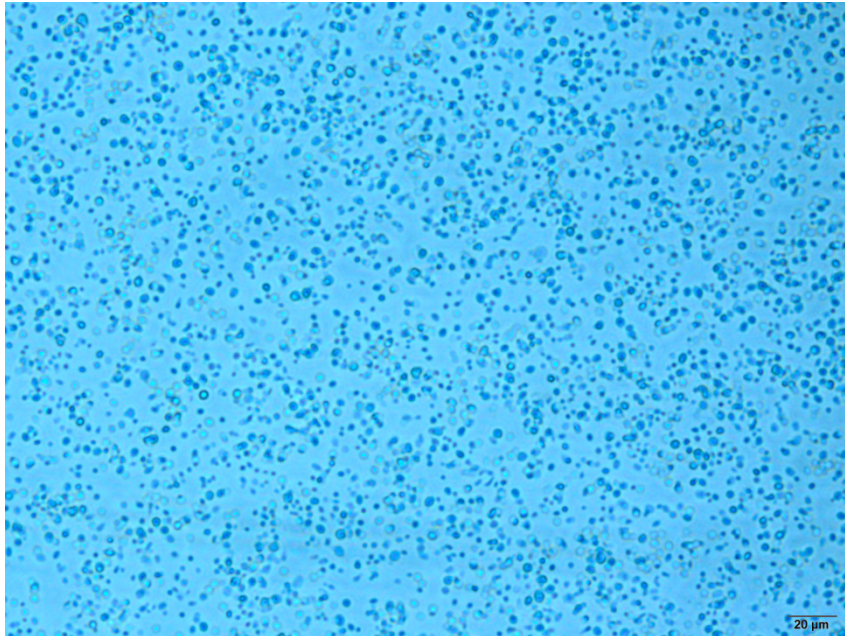


(b)

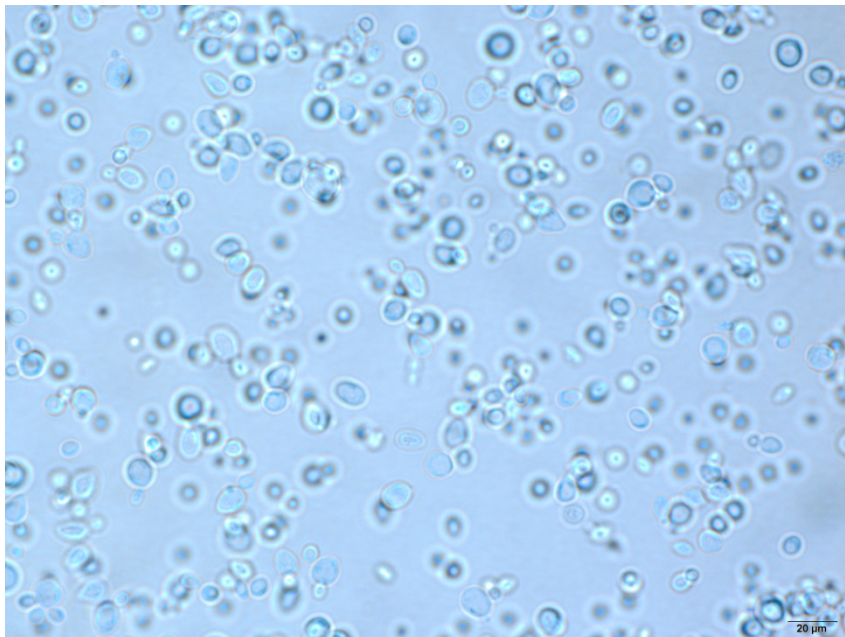


**Figura 47:** Imagens do isolado 038 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

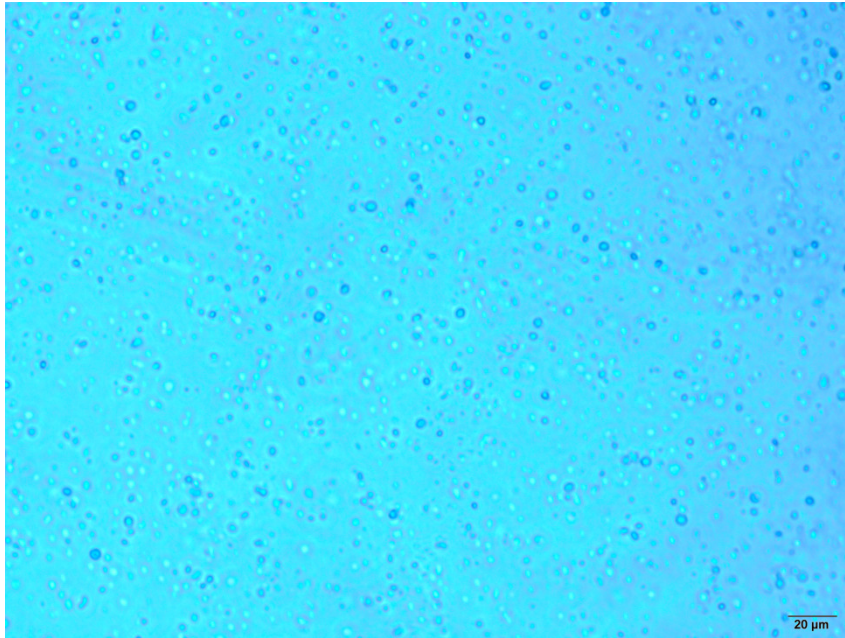


(b)

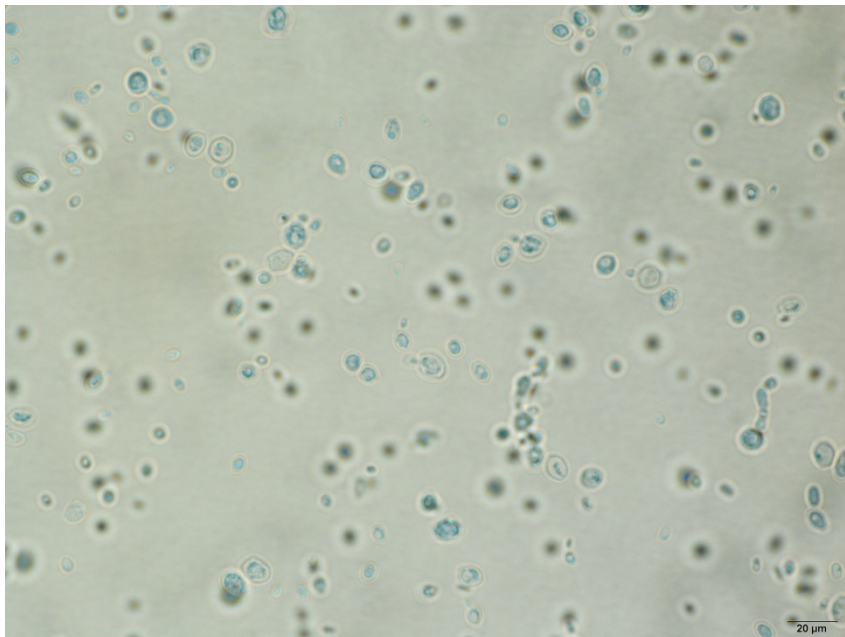


**Figura 48:** Imagens do isolado 039 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

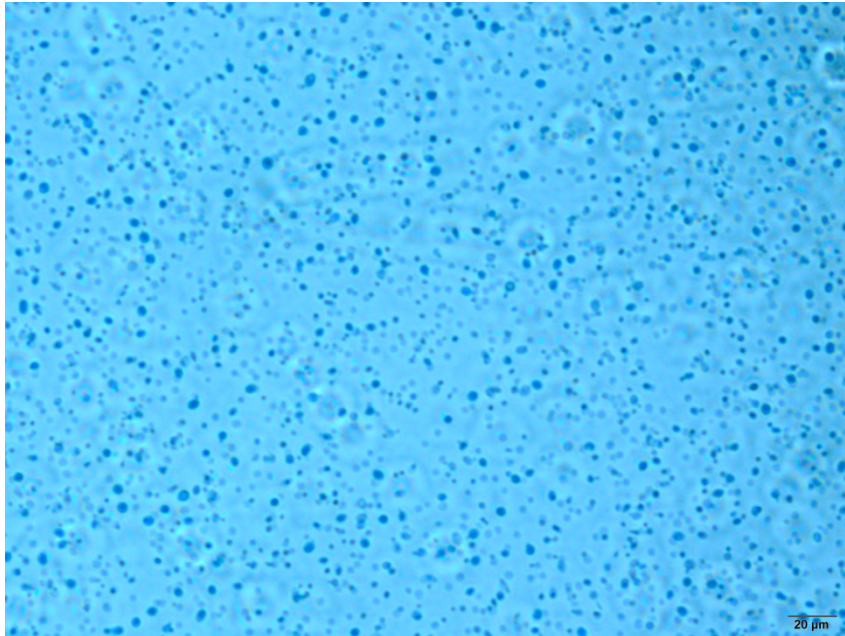


(b)

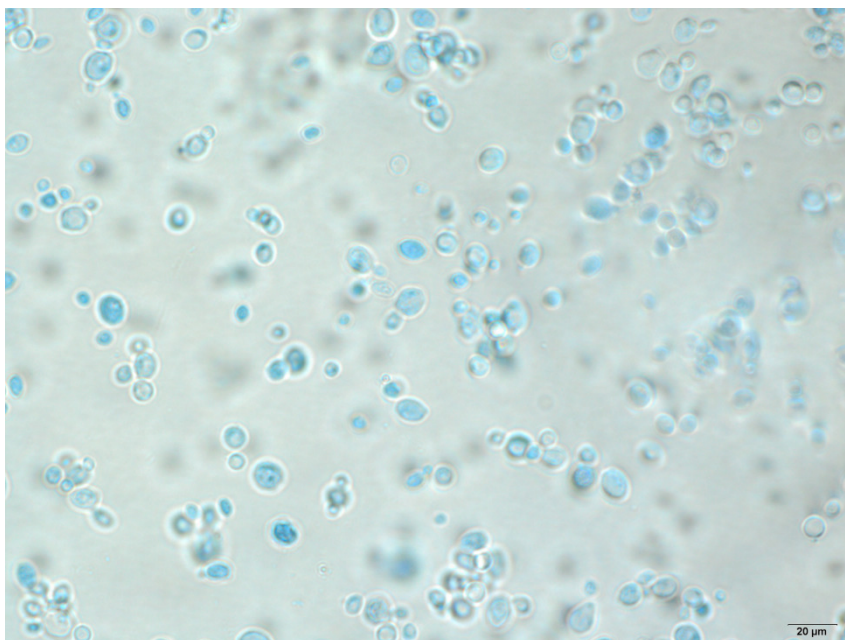


**Figura 49:** Imagens do isolado 040 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

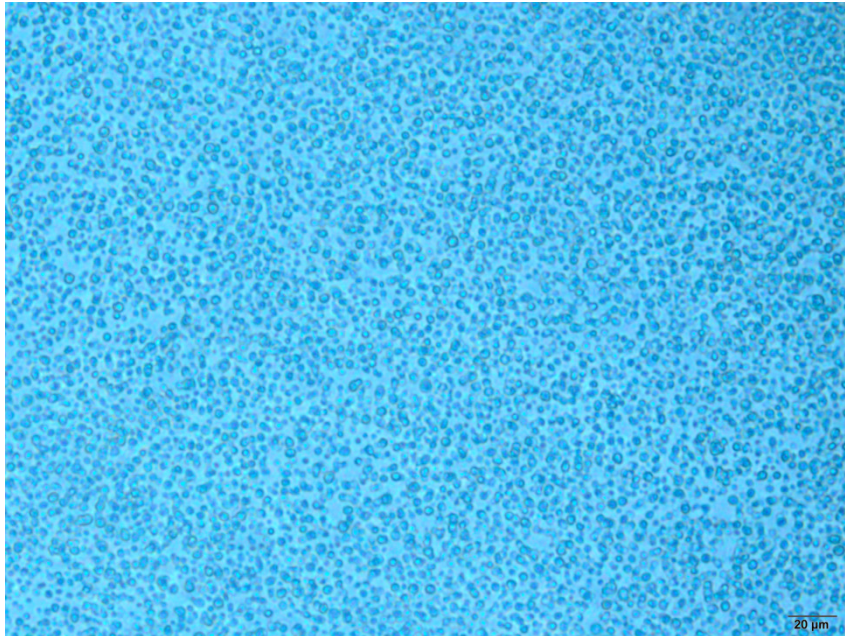


(b)

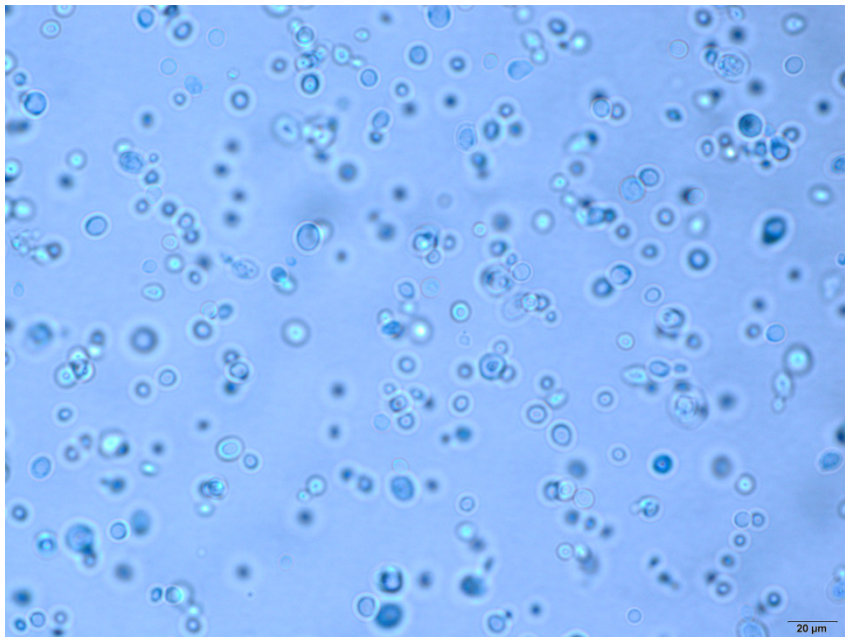


**Figura 50:** Imagens do isolado 041 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

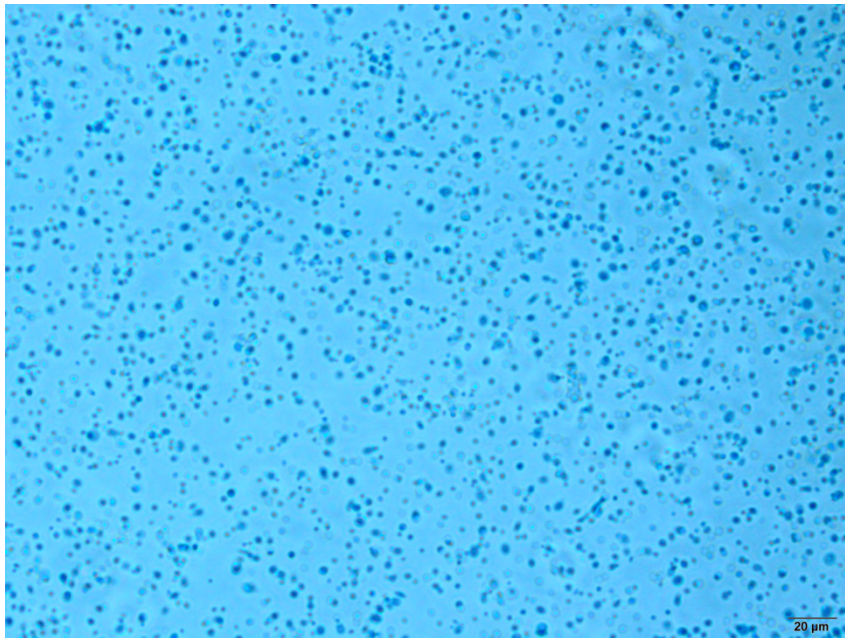


(b)

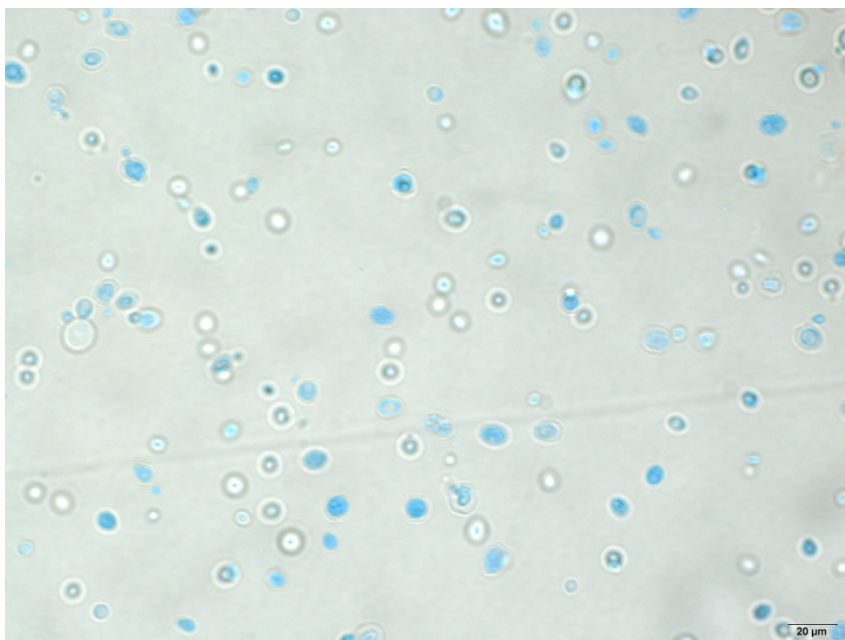


**Figura 51:** Imagens do isolado 042 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



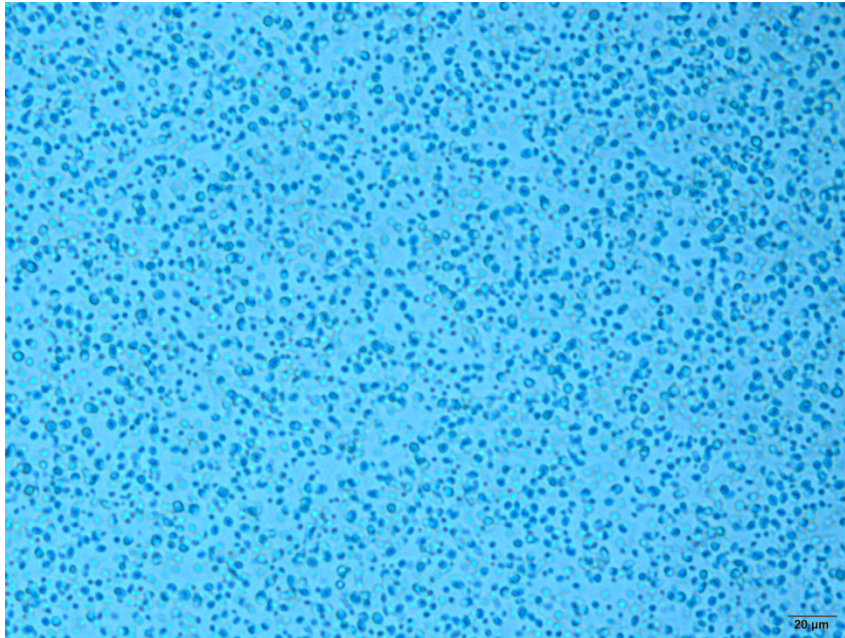
(b)



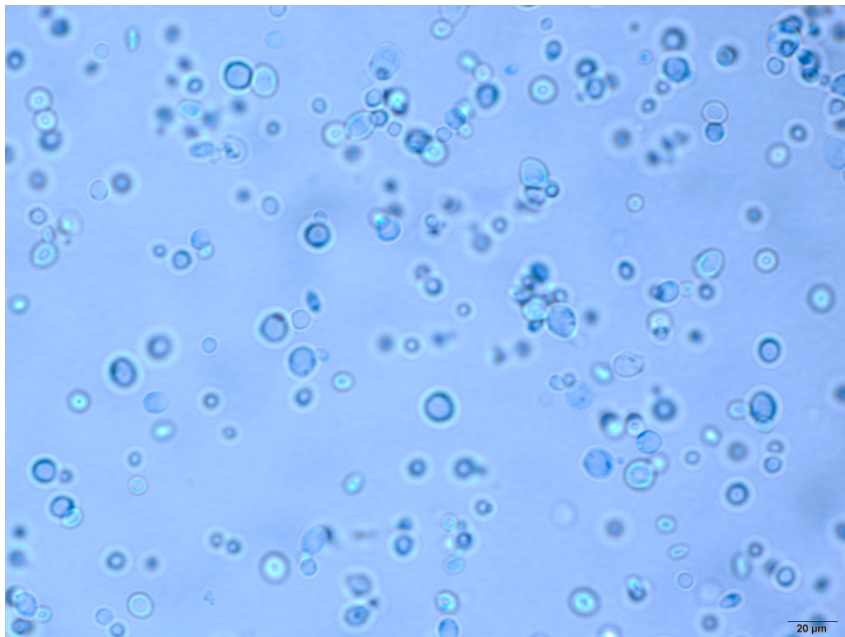
**Figura 52:** Imagens do isolado 043 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

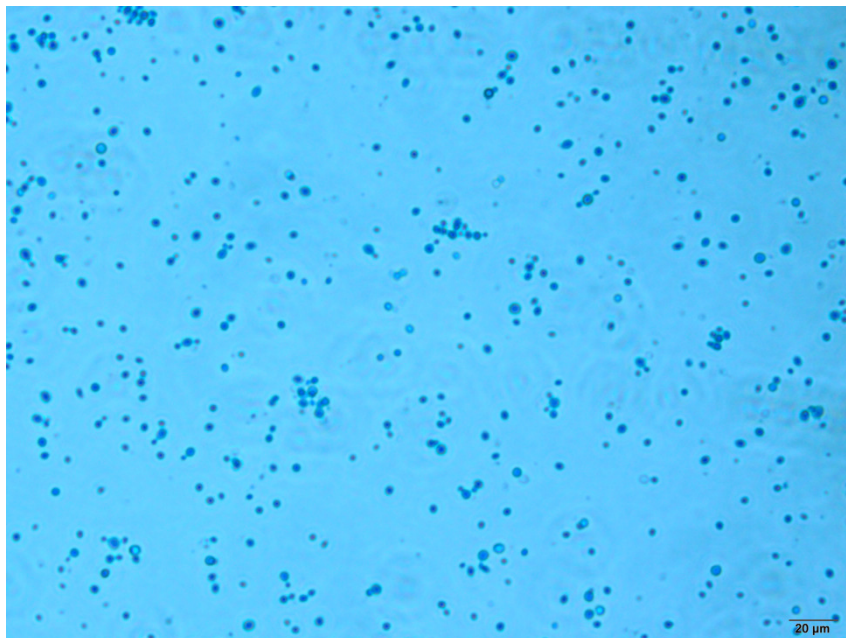


(b)

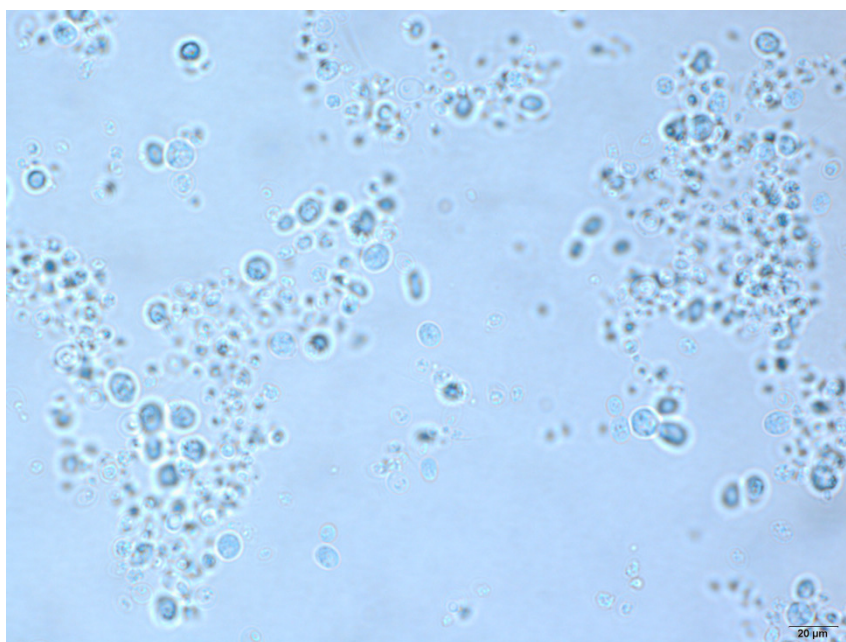


**Figura 53:** Imagens do isolado 044 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

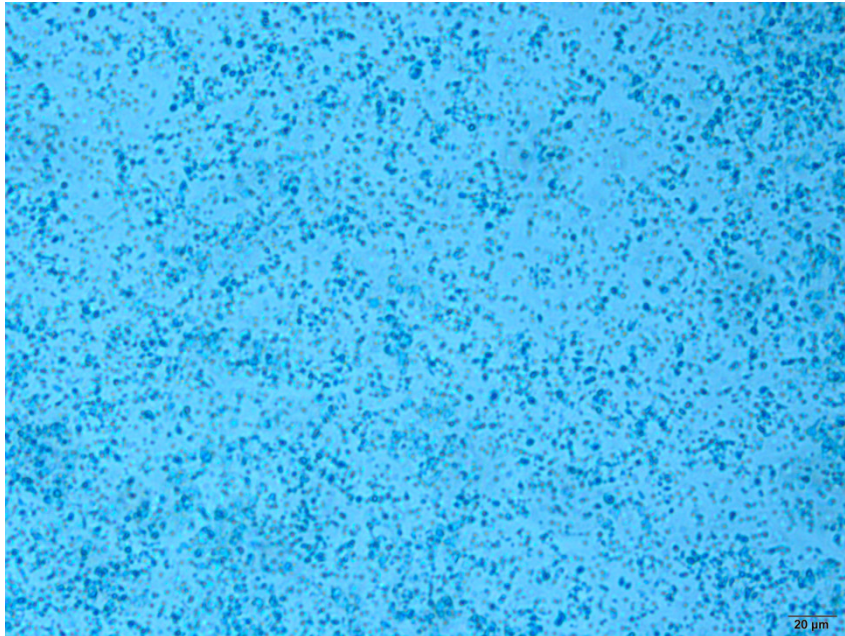


(b)

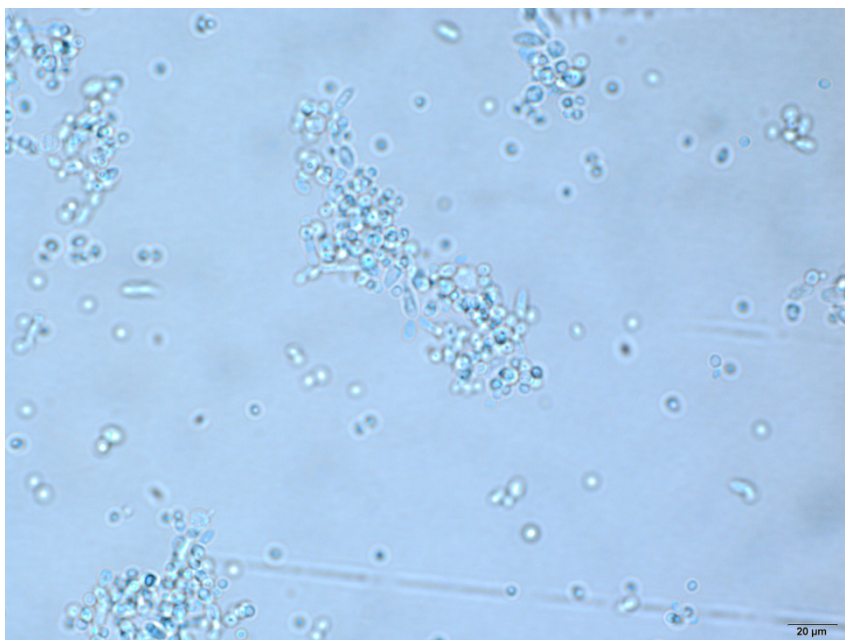


**Figura 54:** Imagens do isolado 045 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

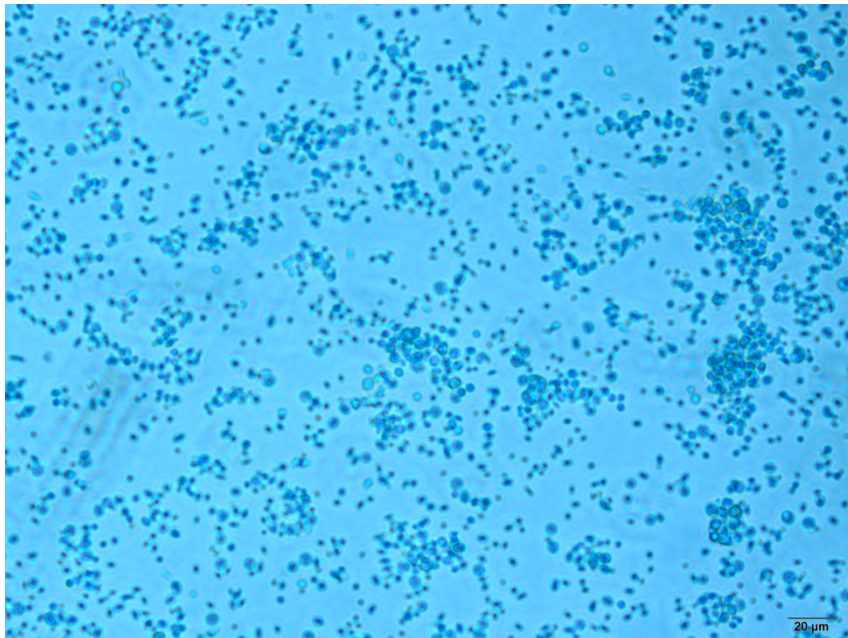


(b)

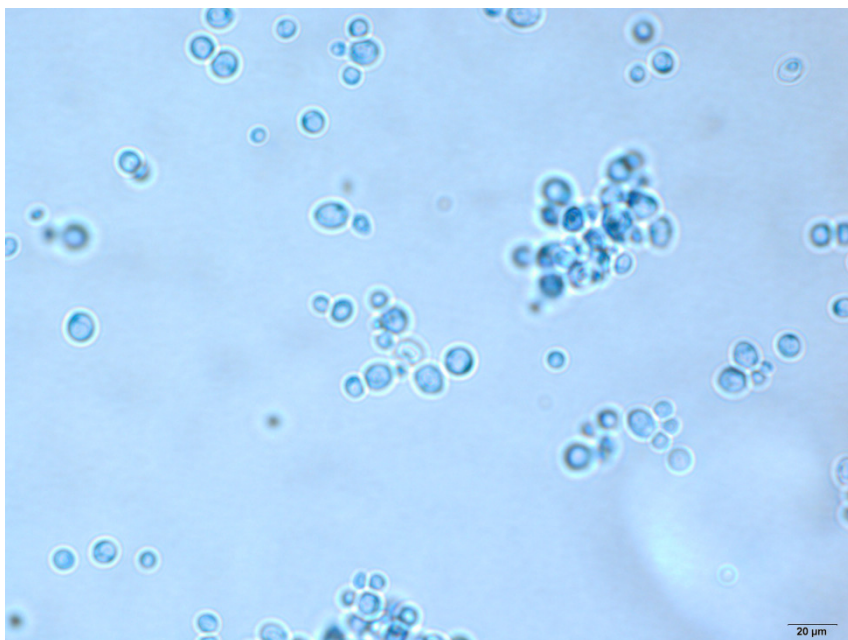


**Figura 55:** Imagens do isolado 046 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

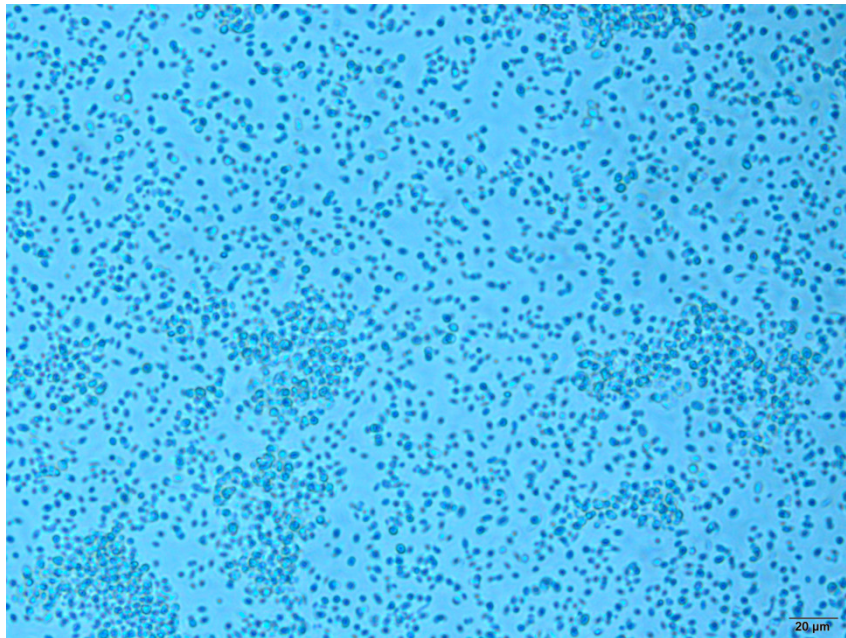


(b)

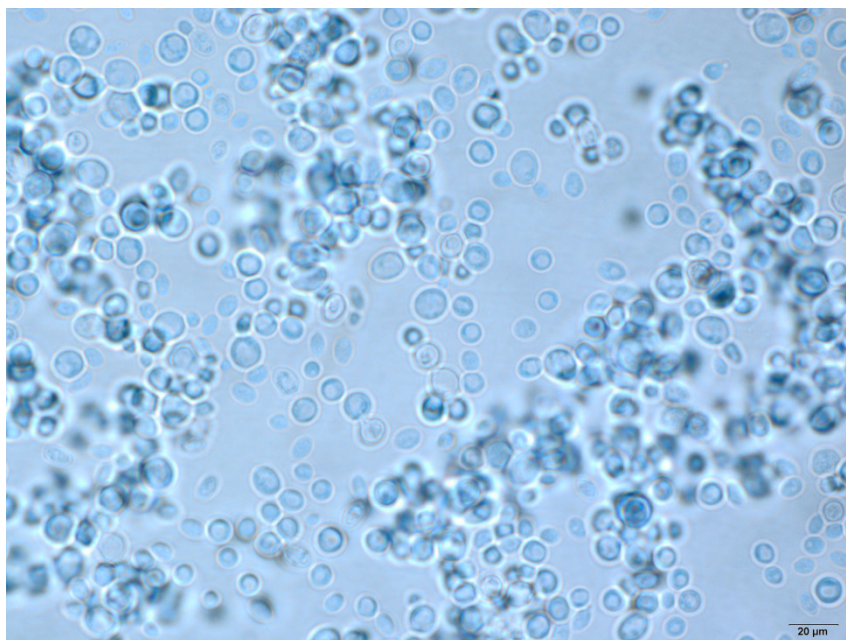


**Figura 56:** Imagens do isolado 047 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

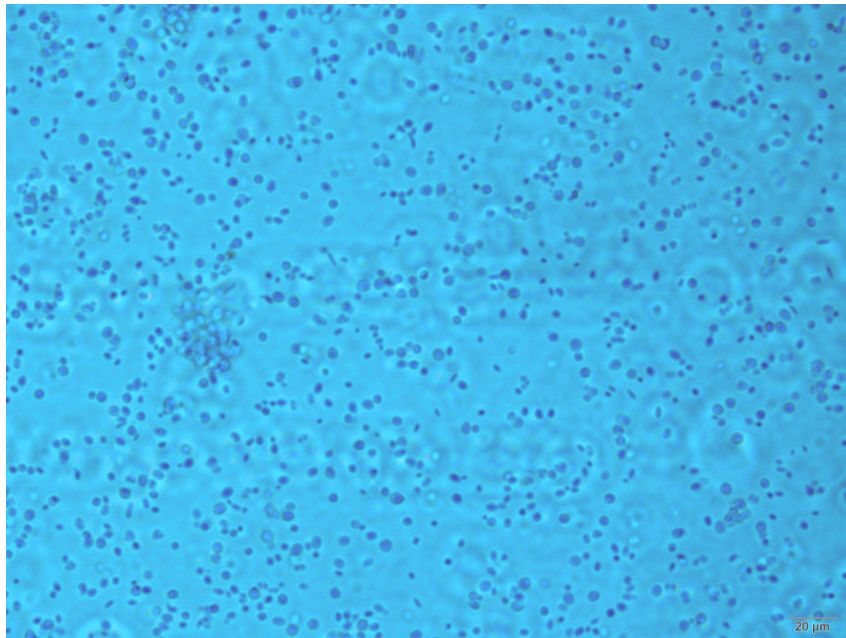


(b)

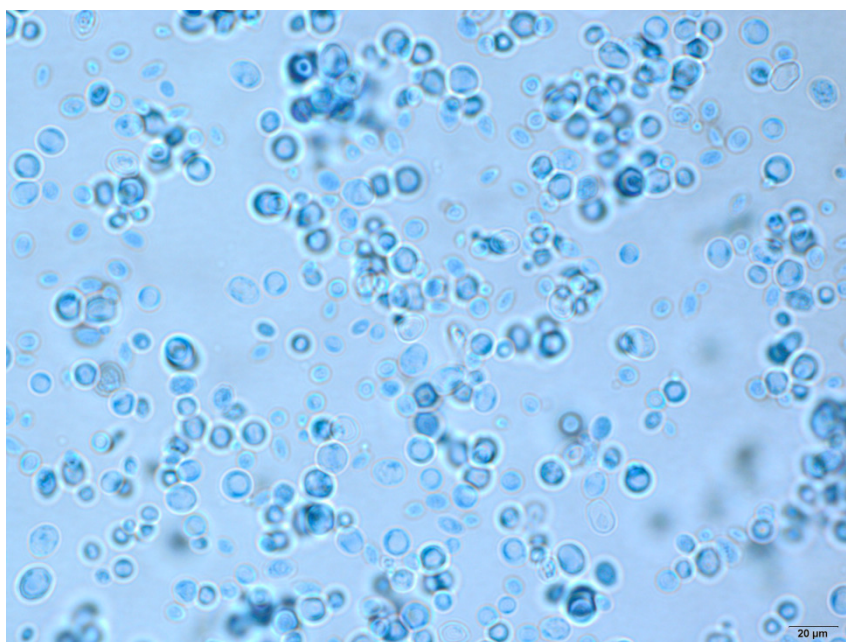


**Figura 57:** Imagens do isolado 048 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

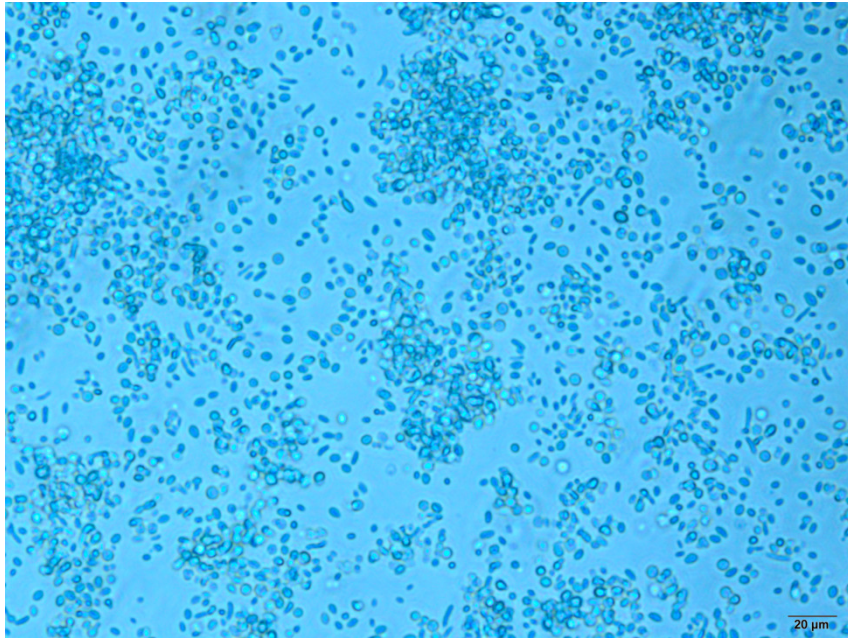


(b)

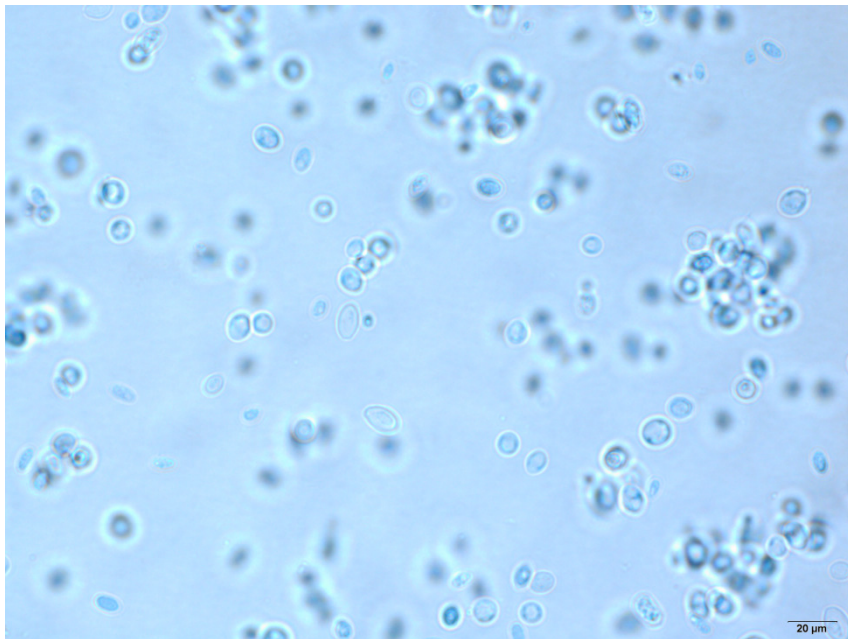


**Figura 58:** Imagens do isolado 049 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

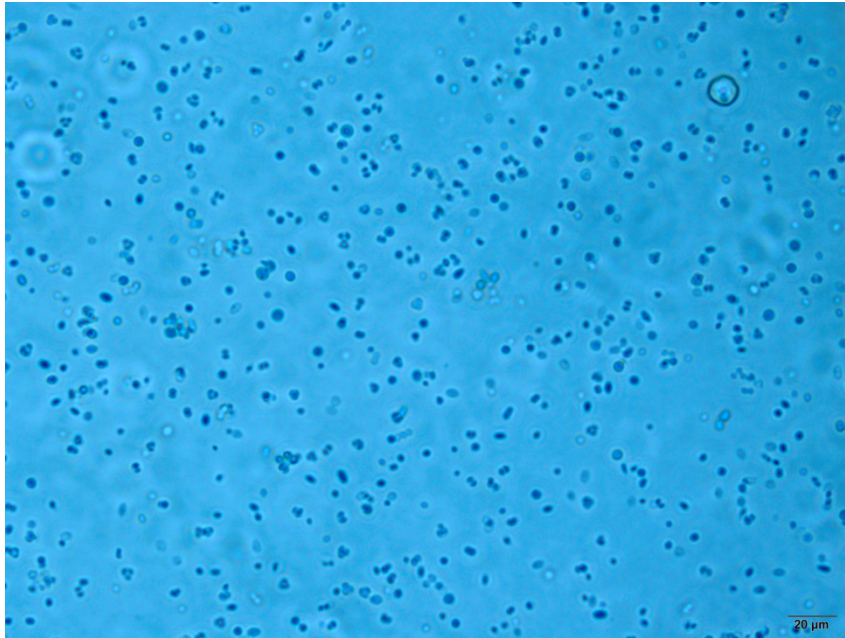


(b)

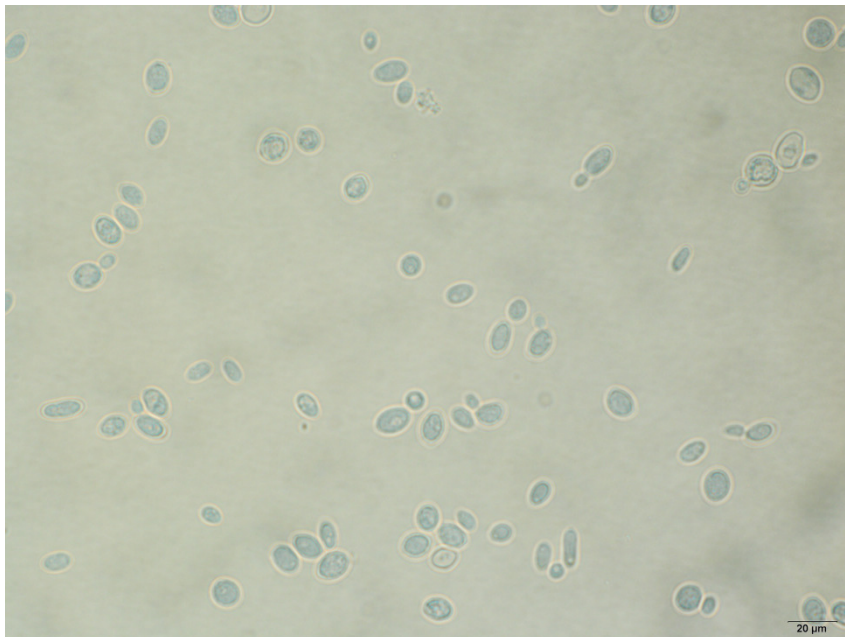


**Figura 59:** Imagens do isolado 050 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



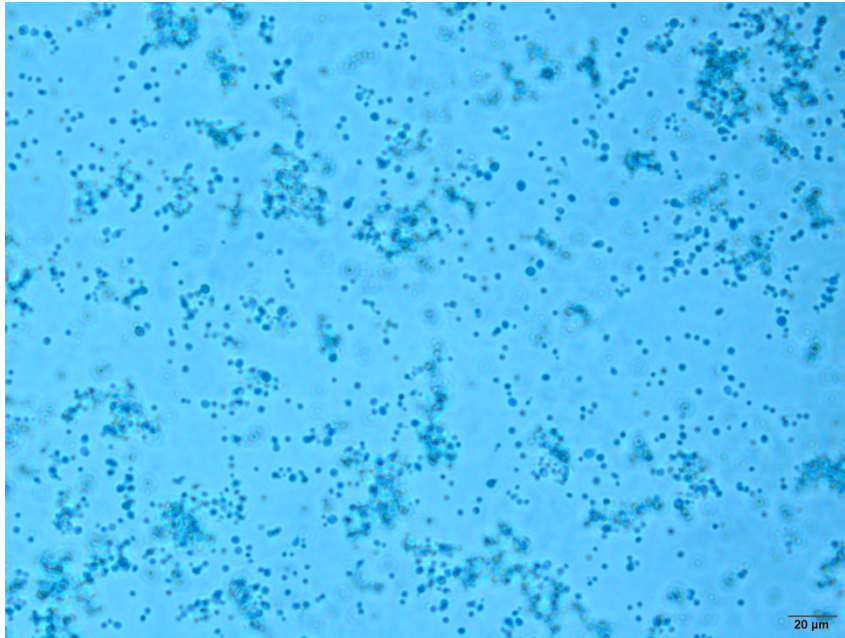
(b)



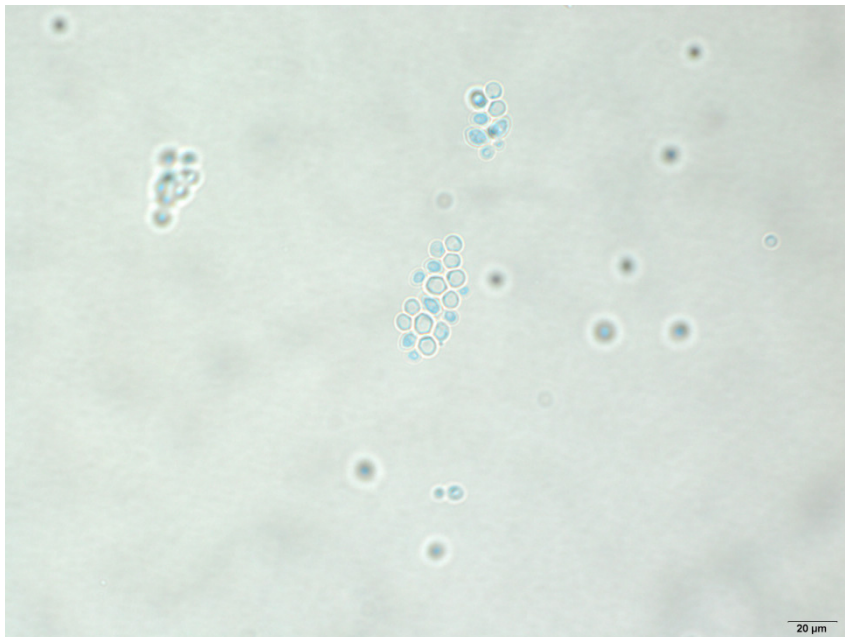
**Figura 60:** Imagens do isolado 051 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

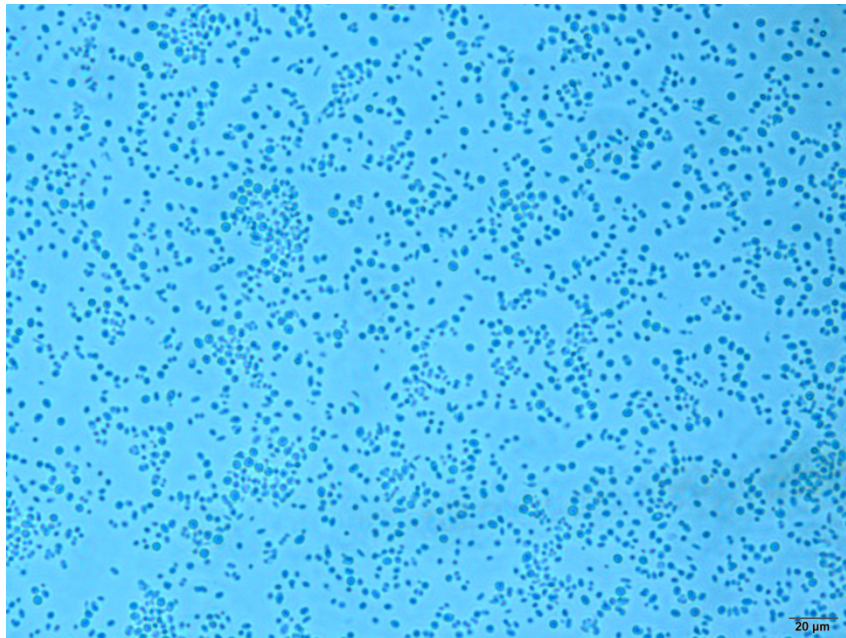


(b)

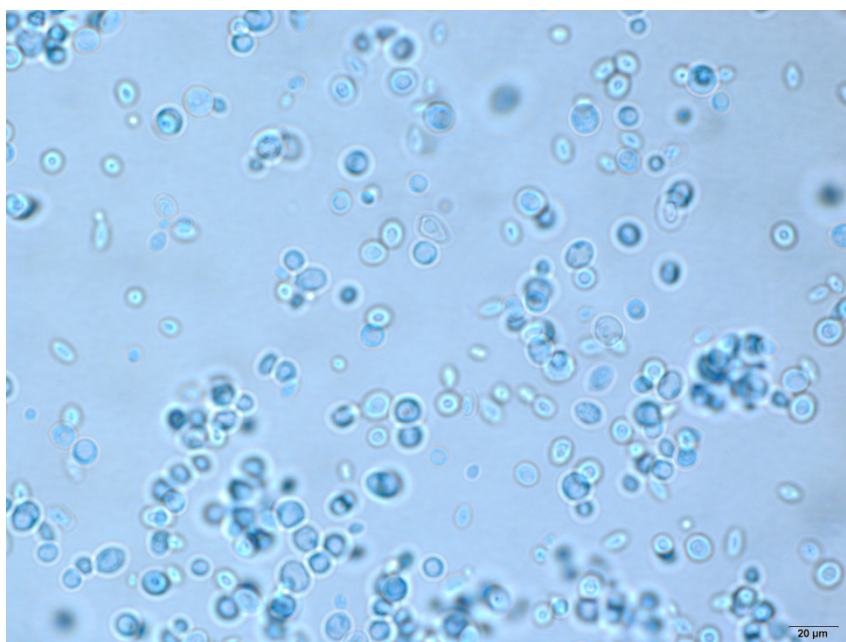


**Figura 61:** Imagens do isolado 052 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

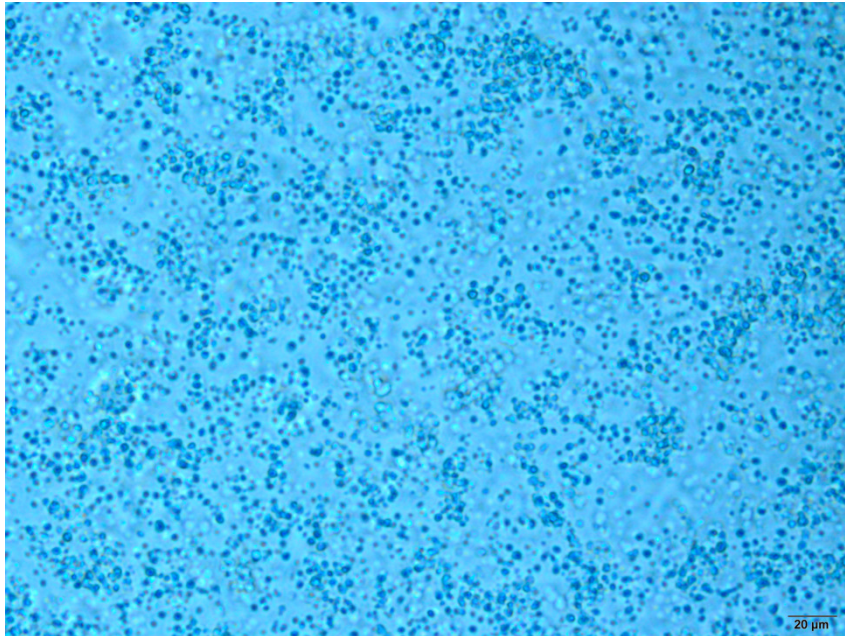


(b)

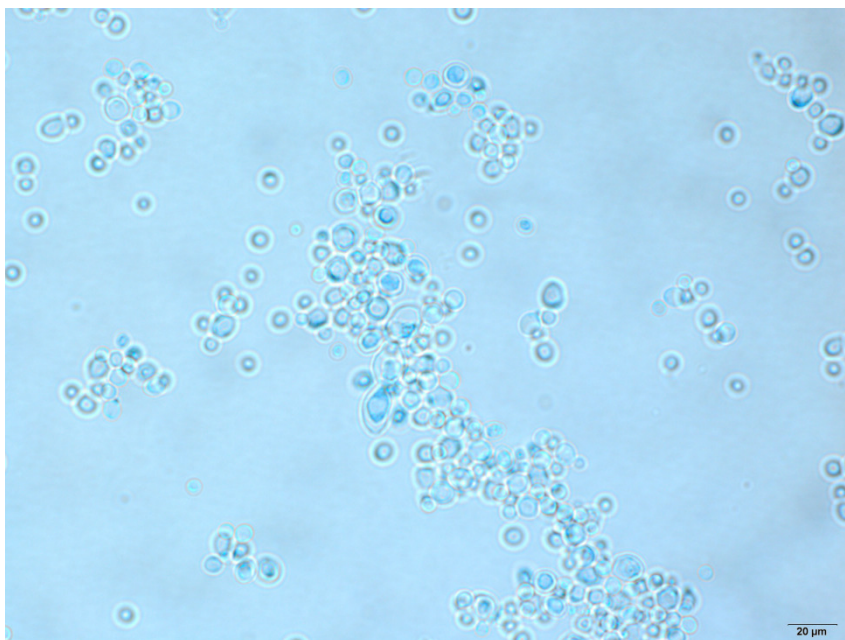


**Figura 62:** Imagens do isolado 053 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

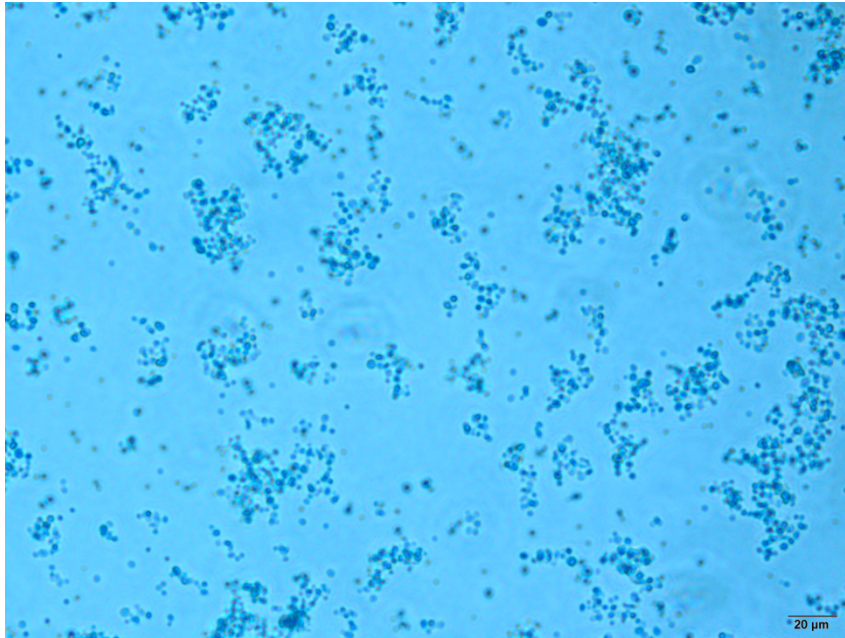


(b)

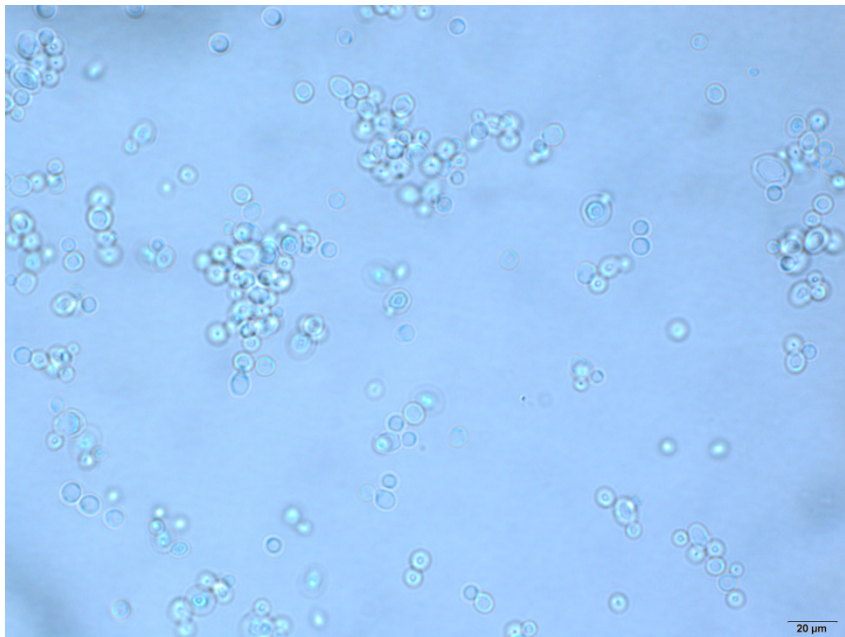


**Figura 63:** Imagens do isolado 054 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

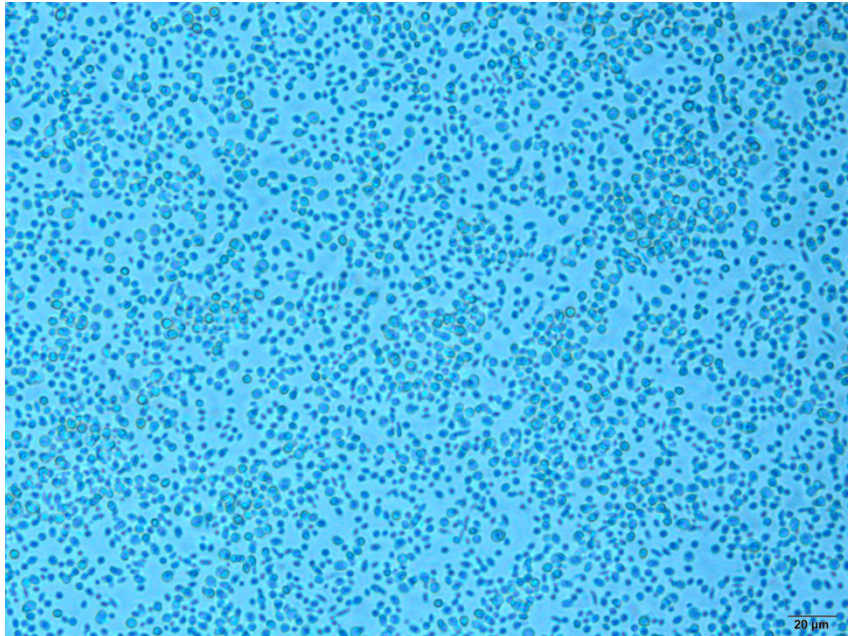


(b)

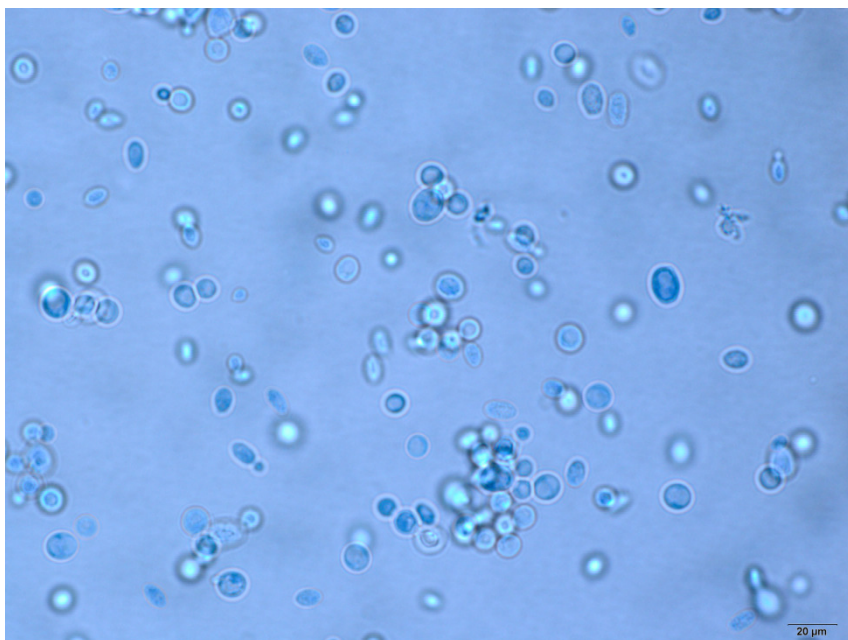


**Figura 64:** Imagens do isolado 055 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

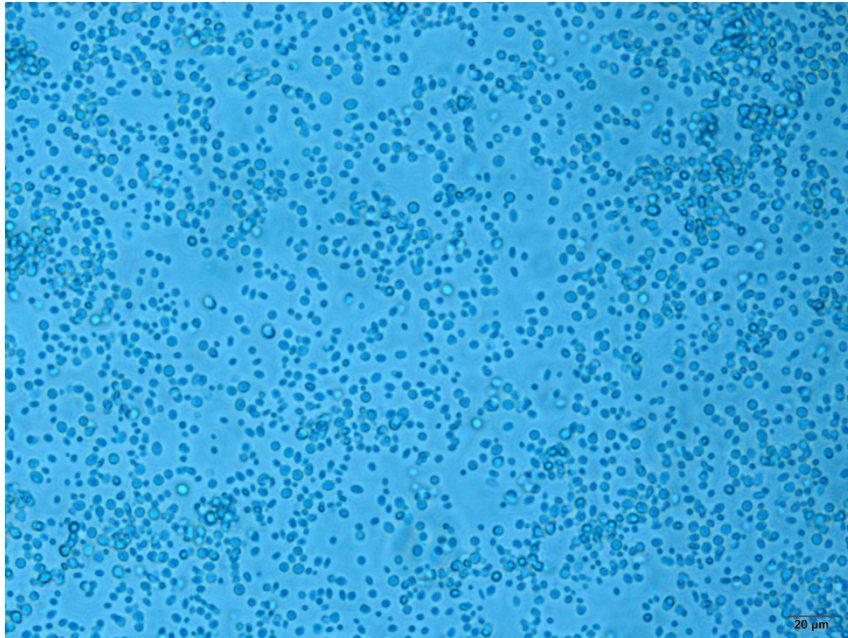


(b)

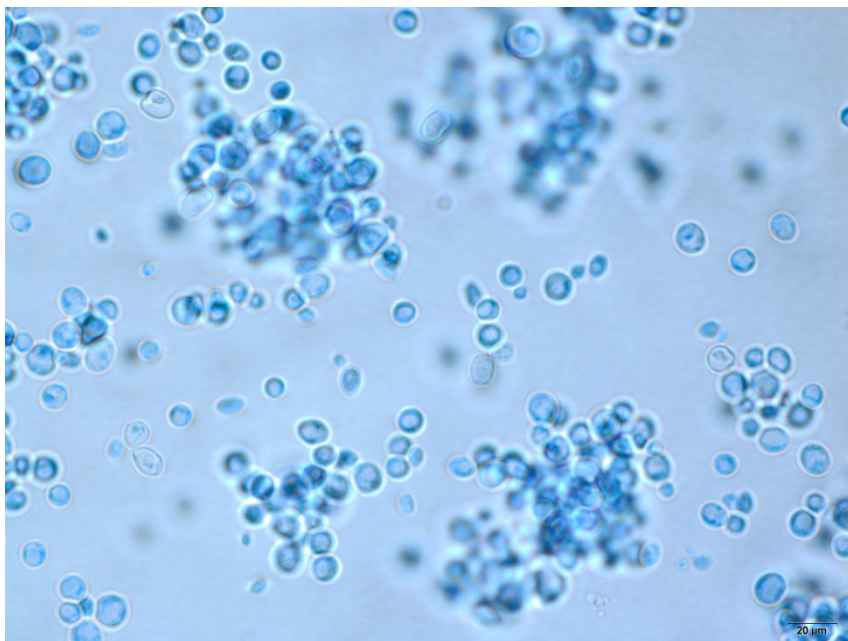


**Figura 65:** Imagens do isolado 056 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

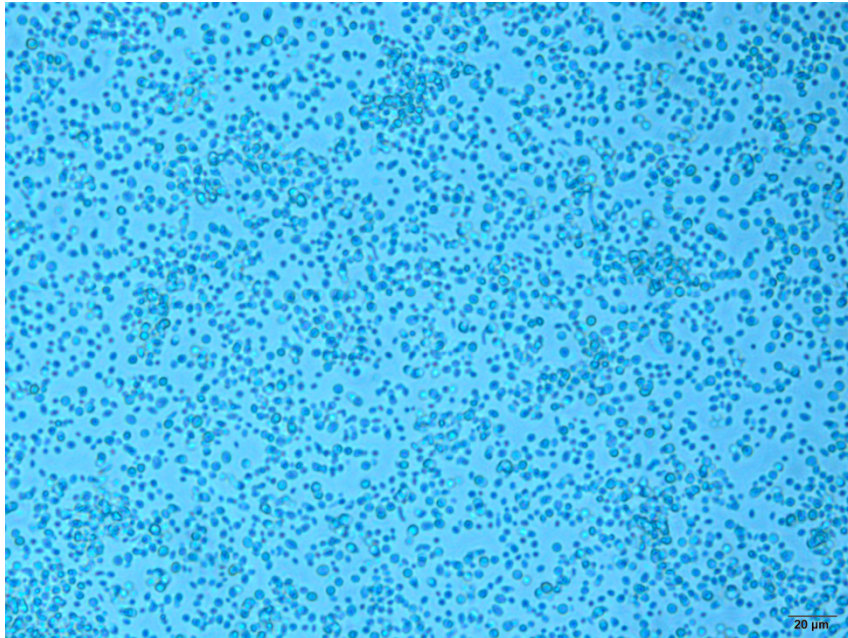


(b)

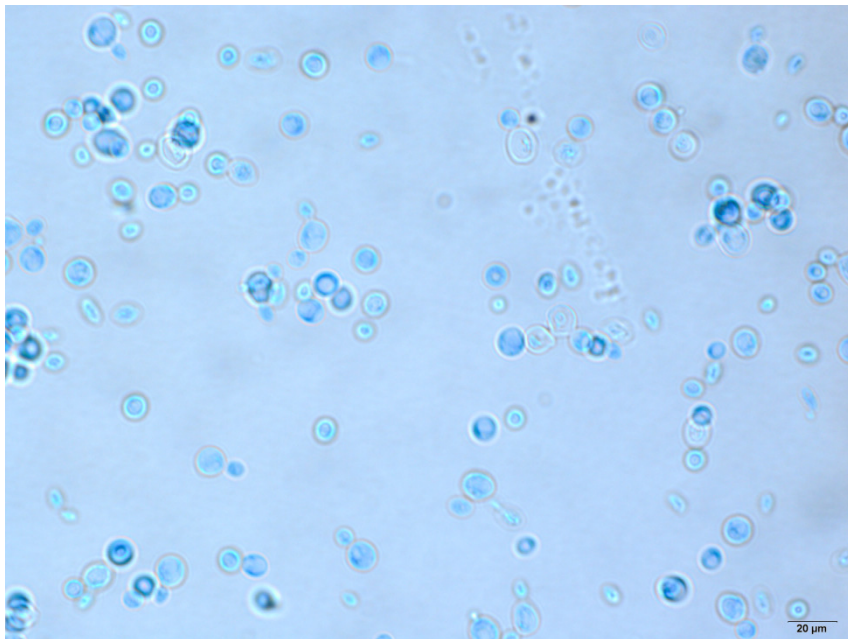


**Figura 66:** Imagens do isolado 057 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

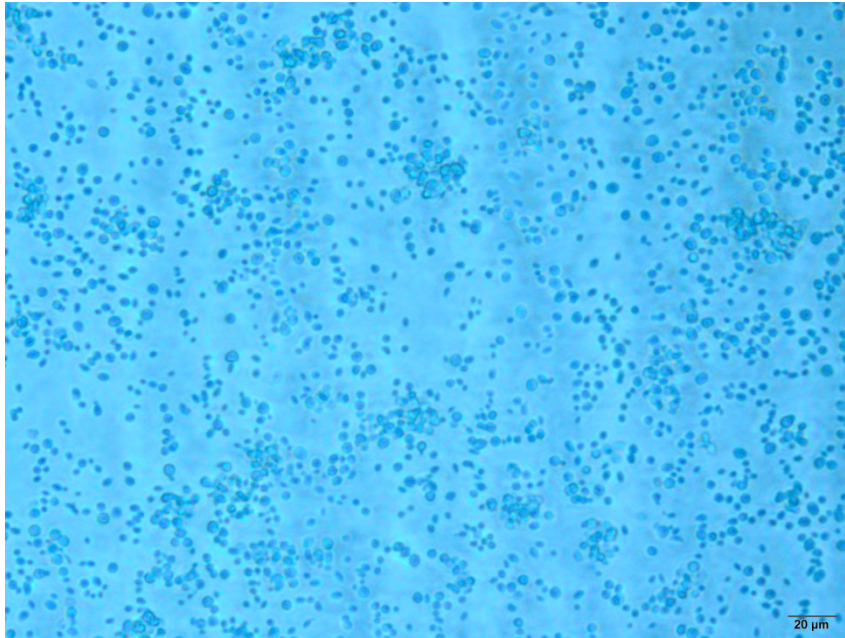


(b)

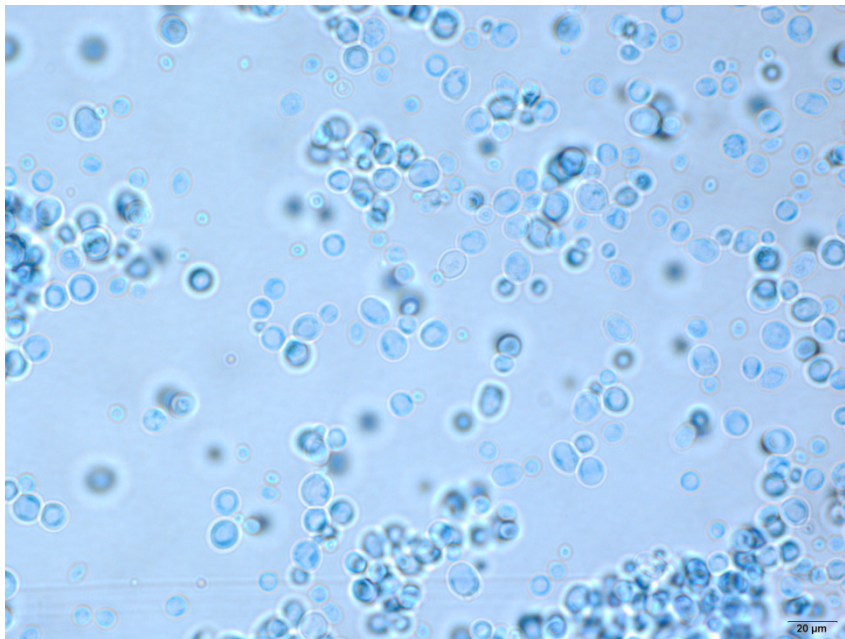


**Figura 67:** Imagens do isolado 058 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



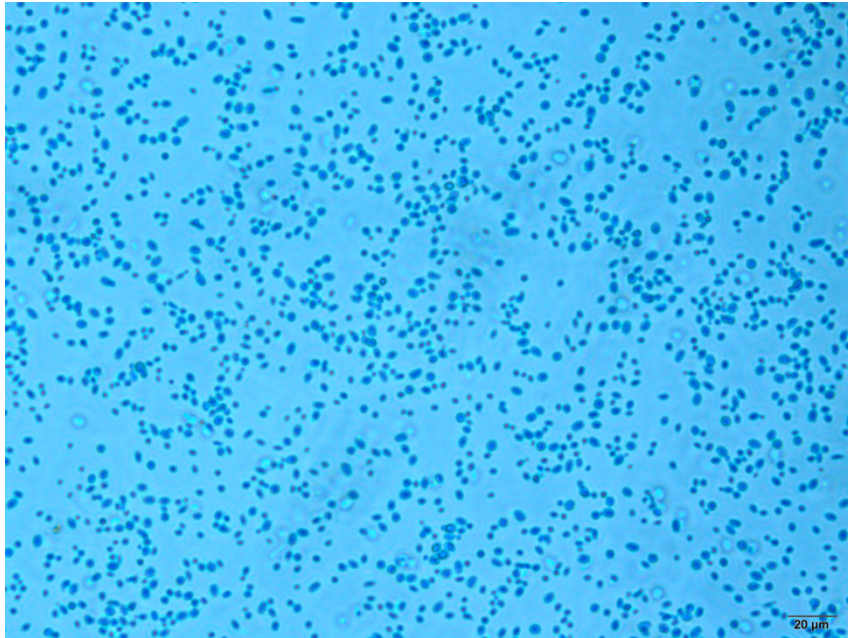
(b)



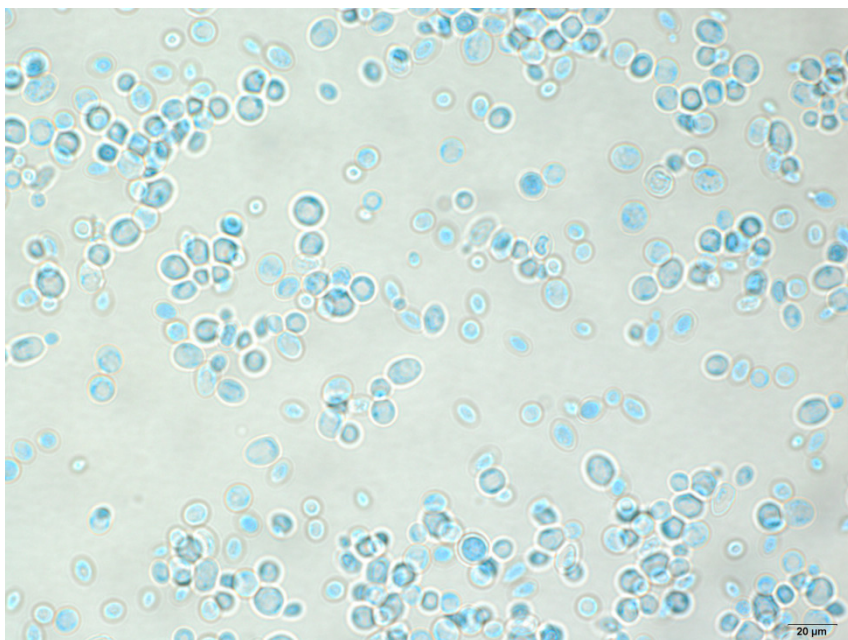
**Figura 68:** Imagens do isolado 059 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

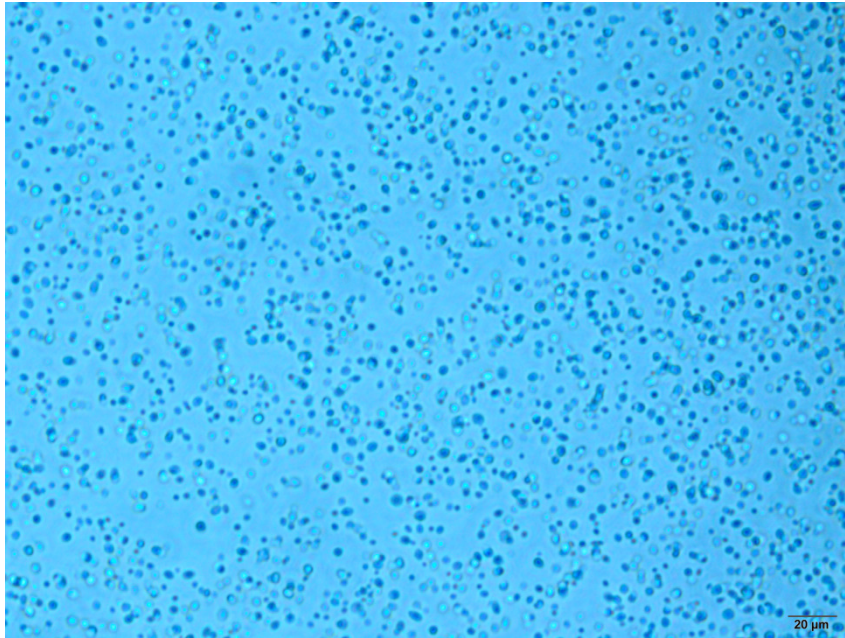


(b)

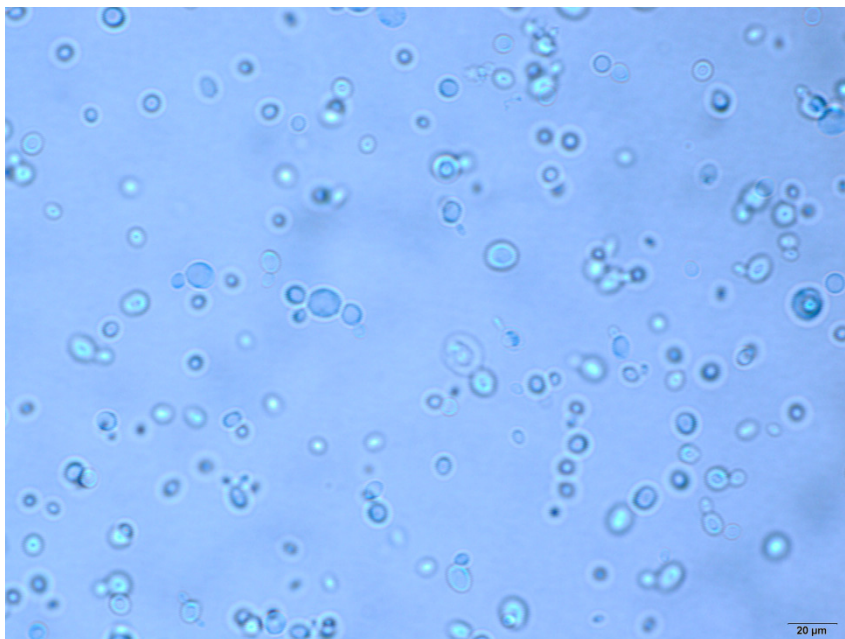


**Figura 69:** Imagens do isolado 060 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

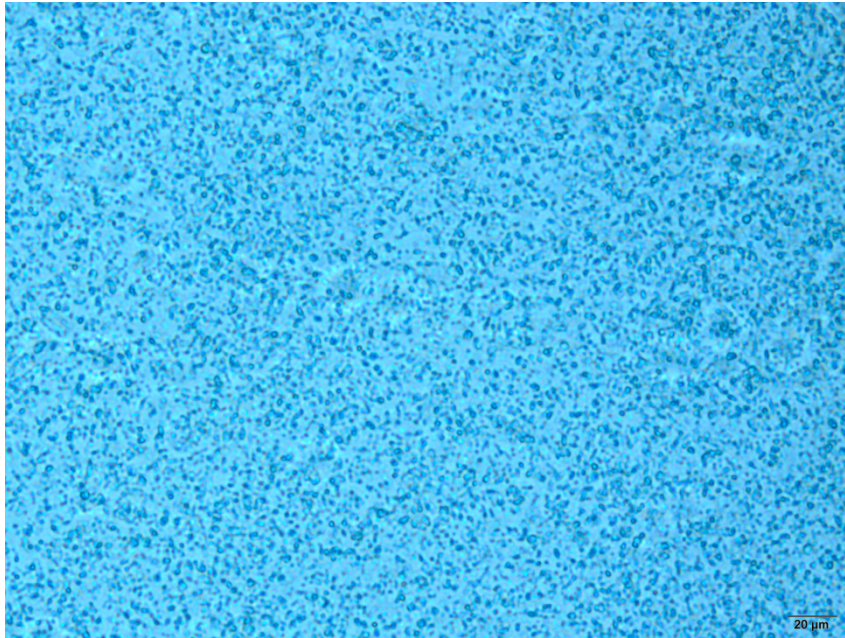


(b)

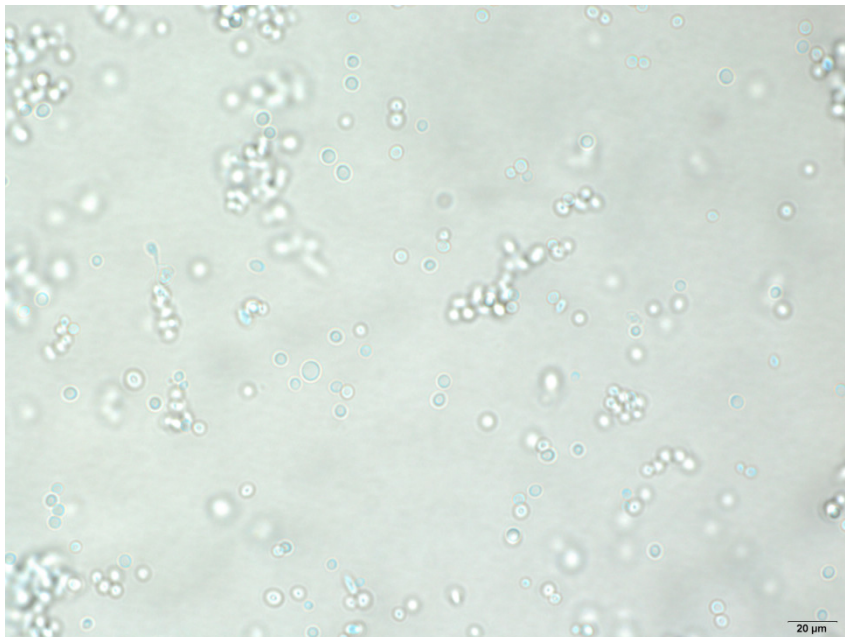


**Figura 70:** Imagens do isolado 061 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

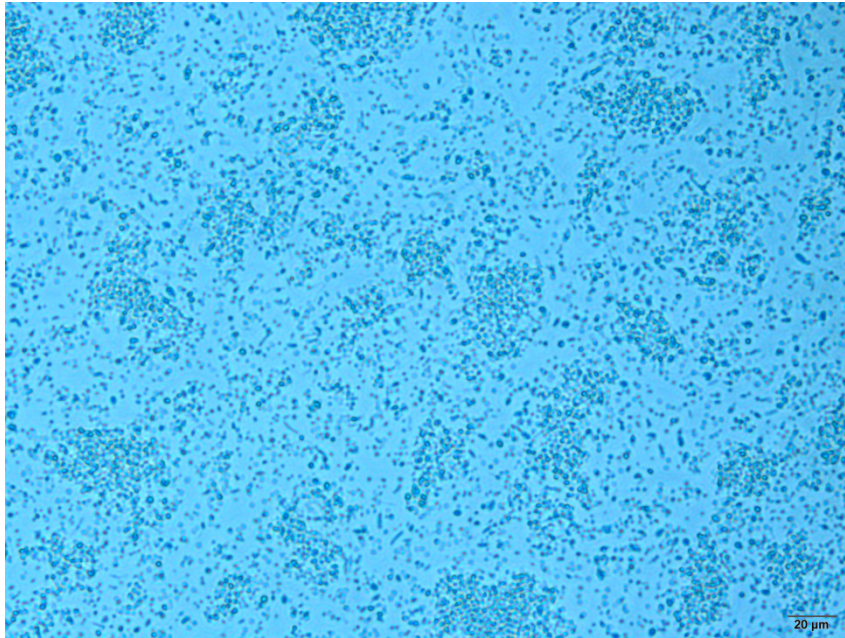


(b)

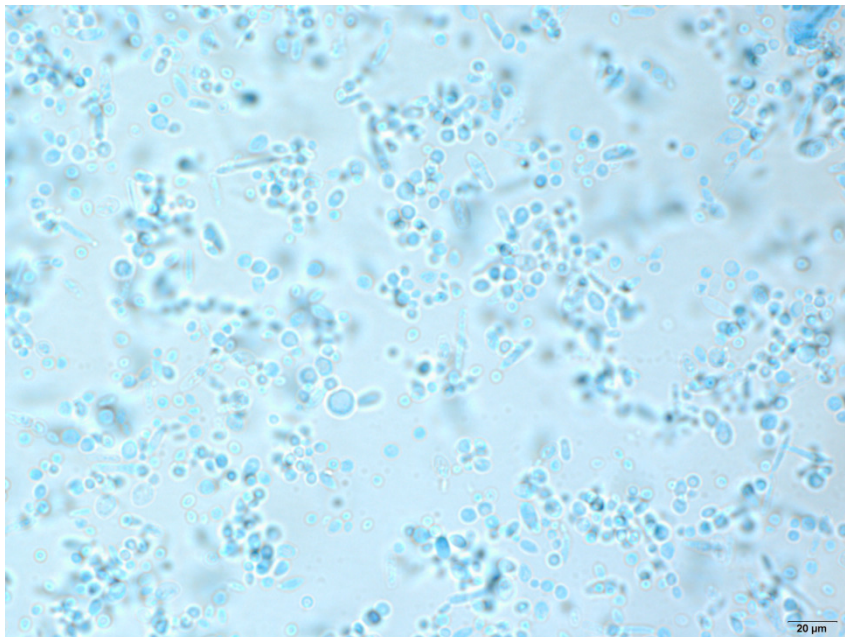


**Figura 71:** Imagens do isolado 062 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

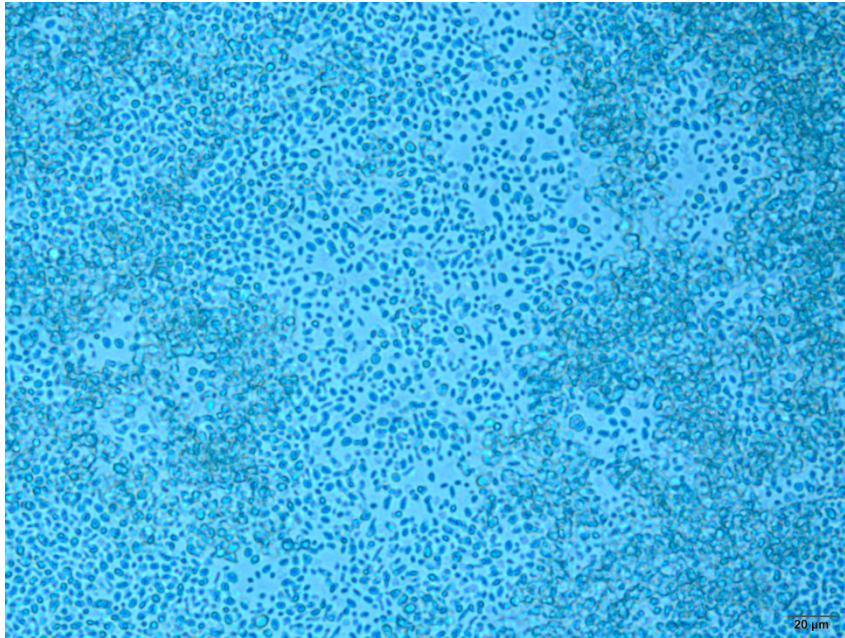


(b)

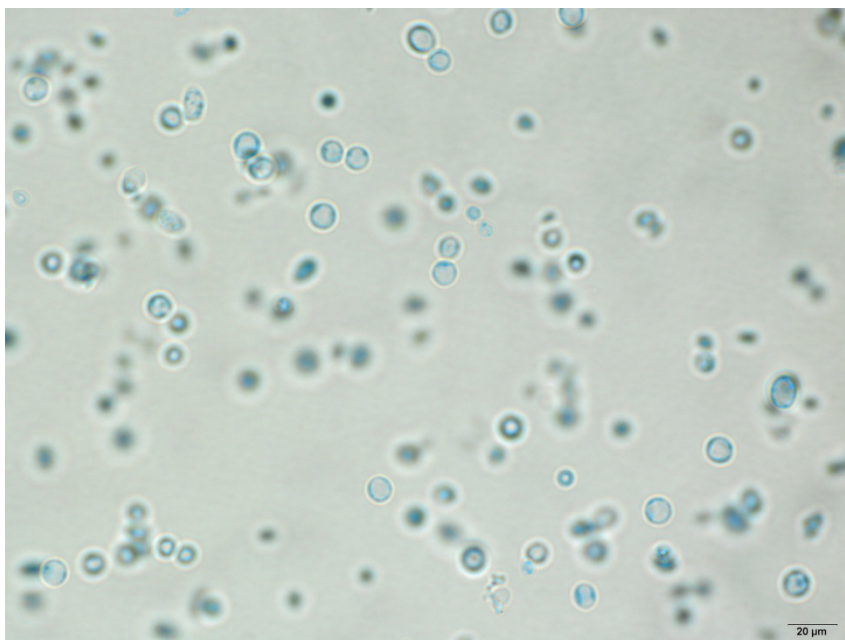


**Figura 72:** Imagens do isolado 063 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

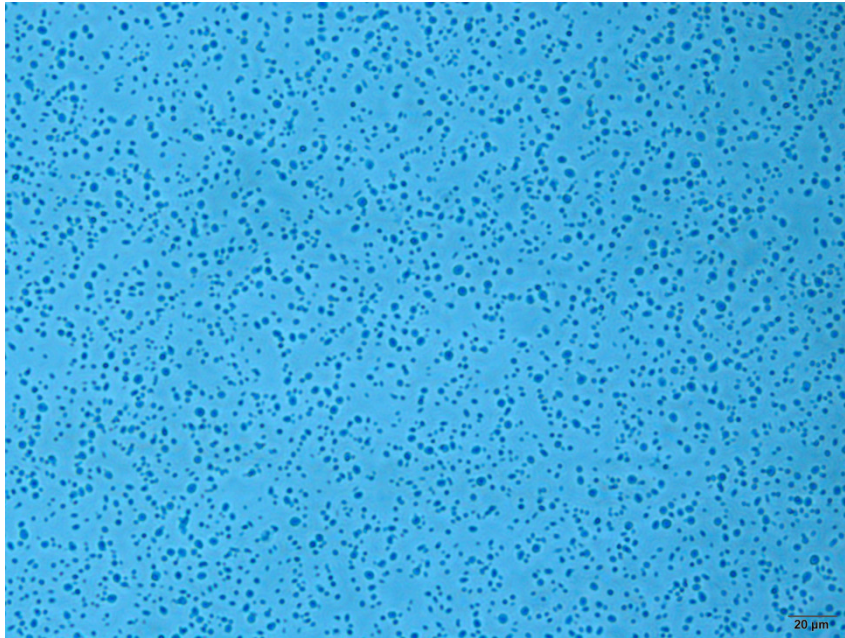


(b)

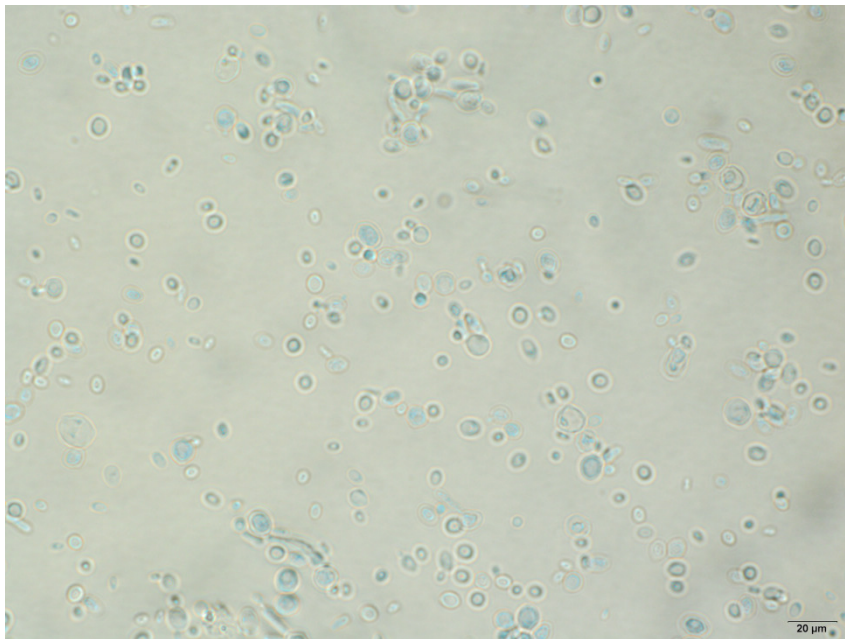


**Figura 73:** Imagens do isolado 064 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

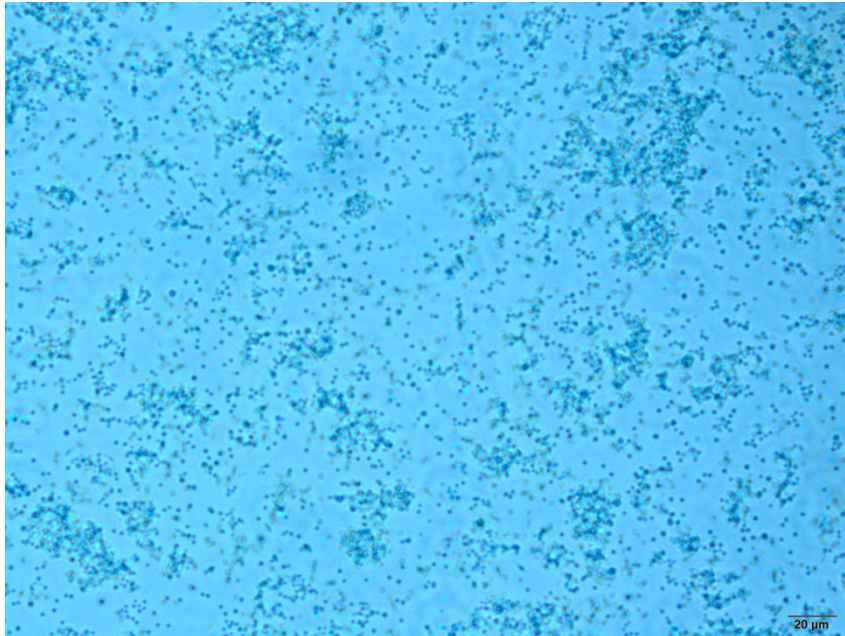


(b)

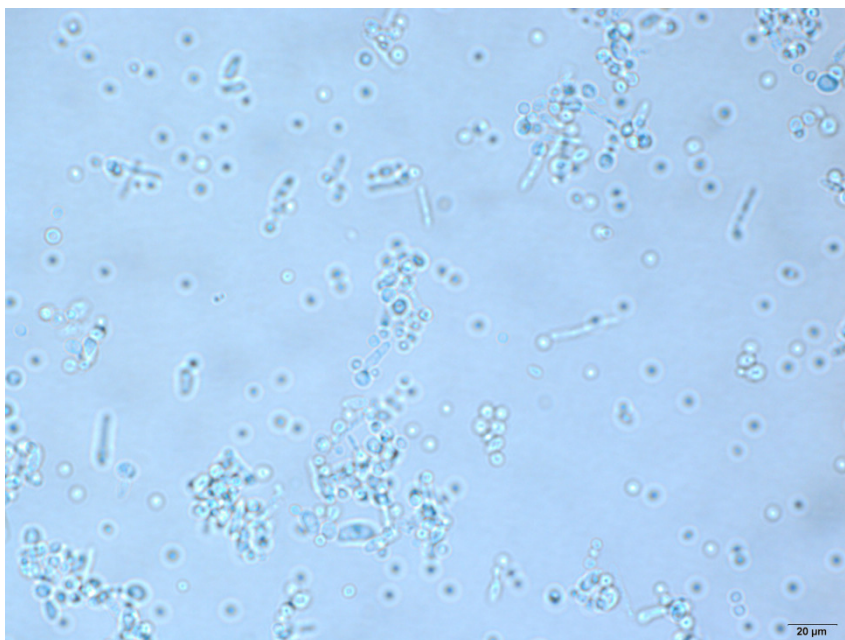


**Figura 74:** Imagens do isolado 065 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

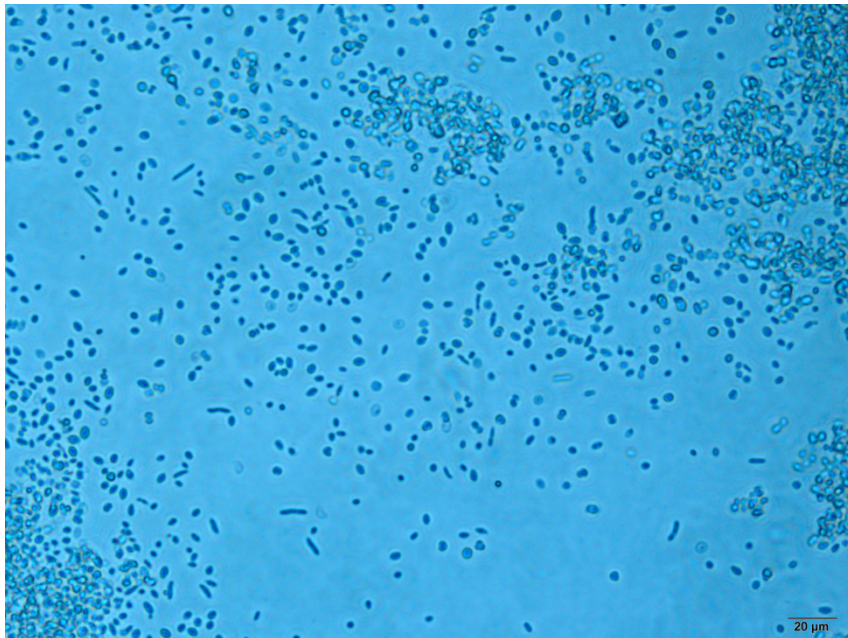


(b)

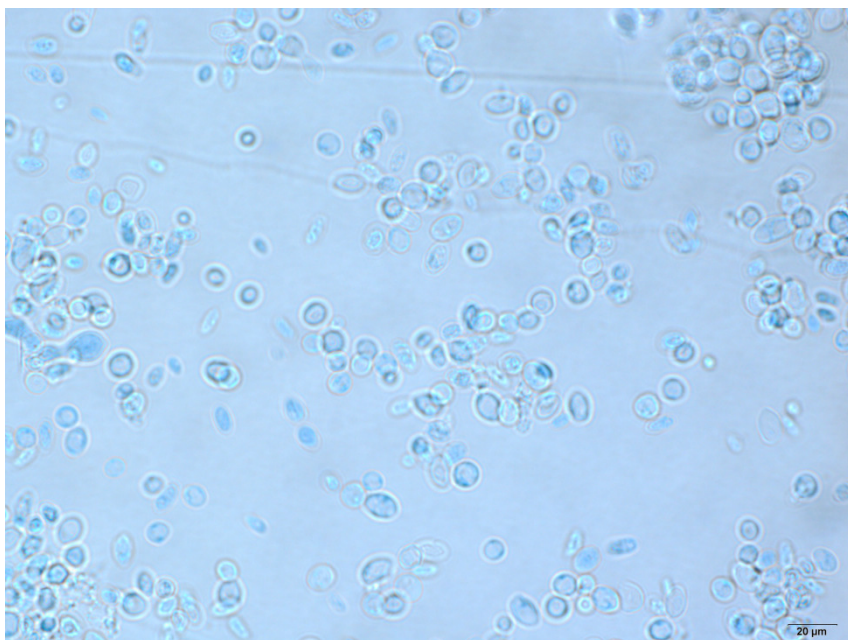


**Figura 75:** Imagens do isolado 066 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



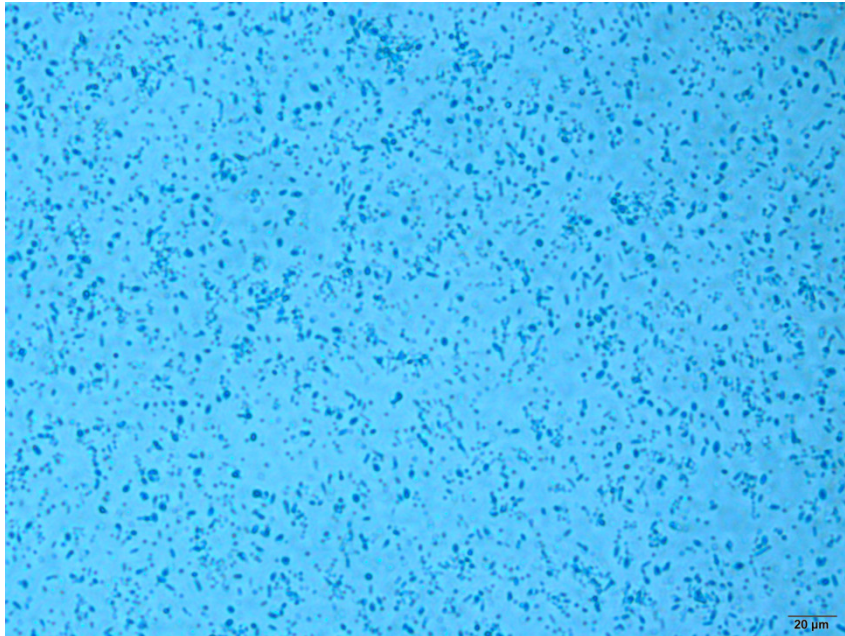
(b)



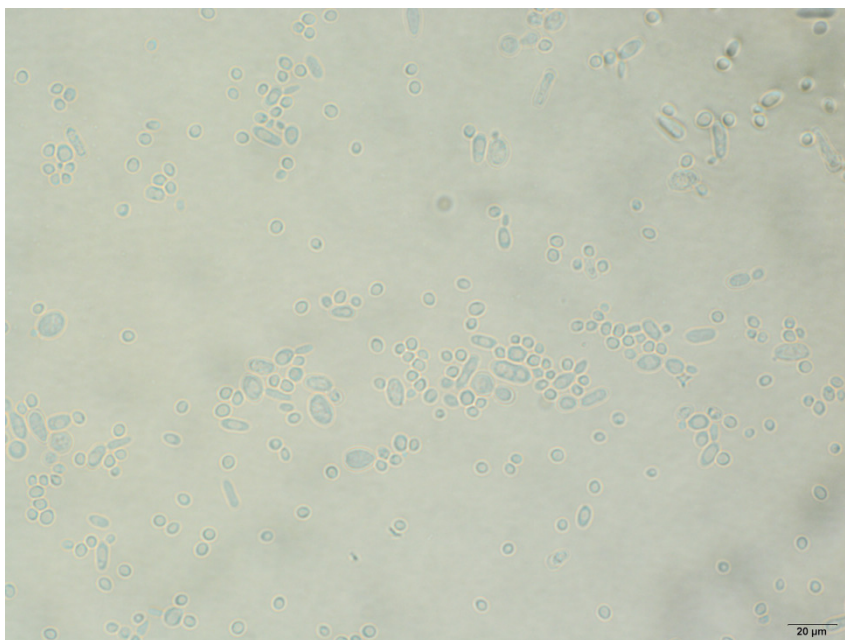
**Figura 76:** Imagens do isolado 067 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.



(a)

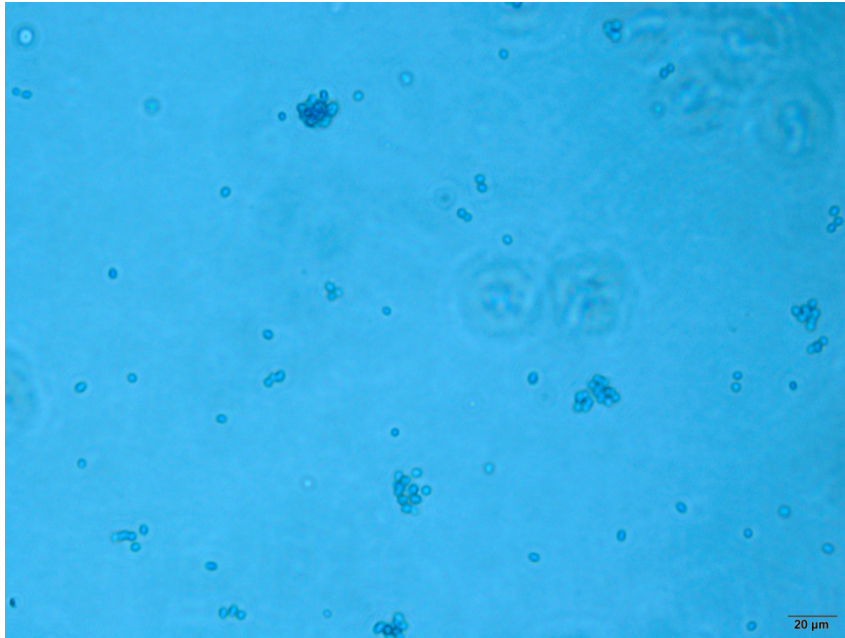


(b)

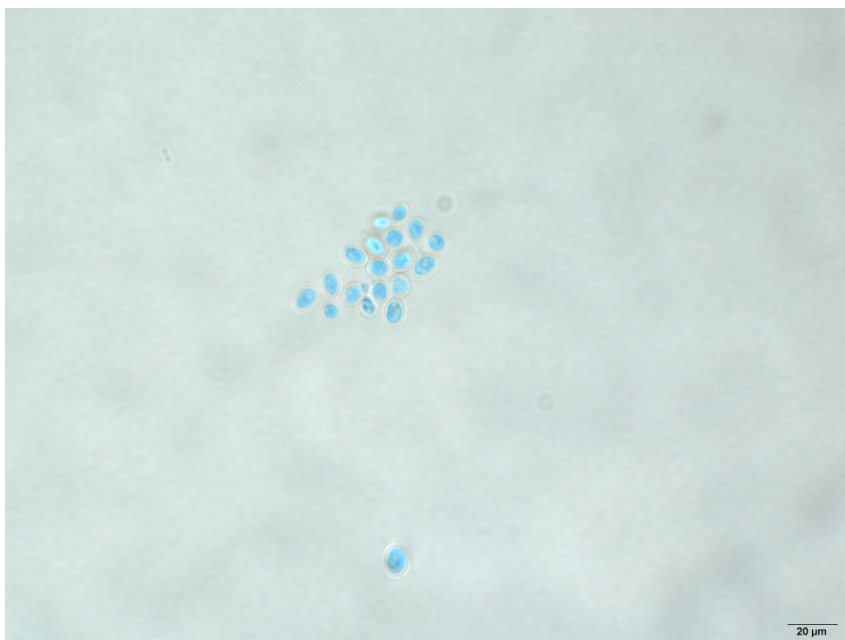


**Figura 77:** Imagens do isolado 068 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

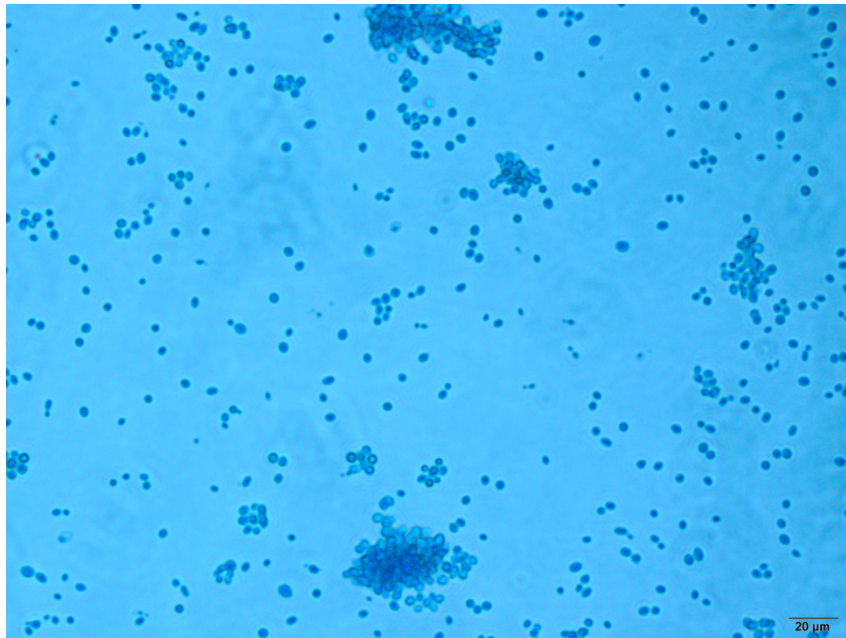


(b)

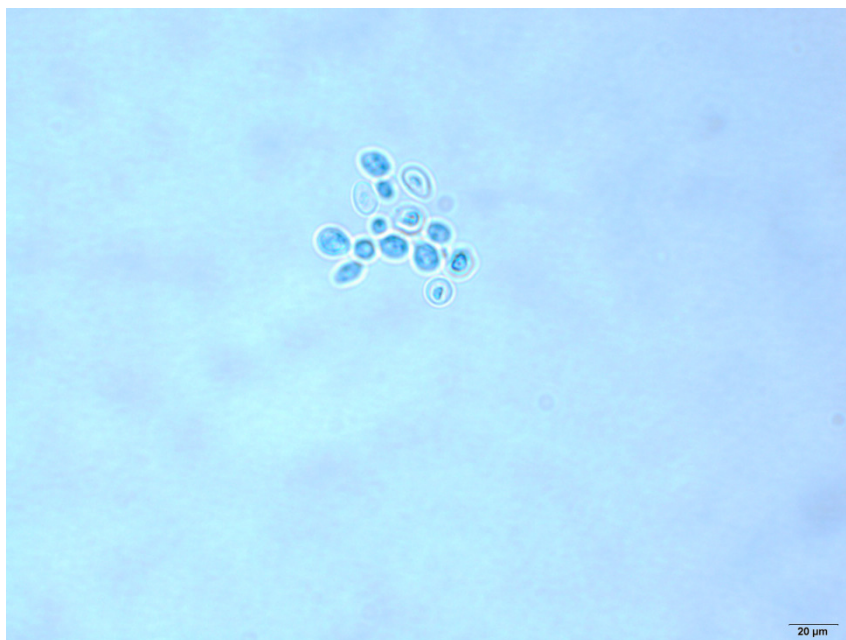


**Figura 78:** Imagens do isolado 069 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

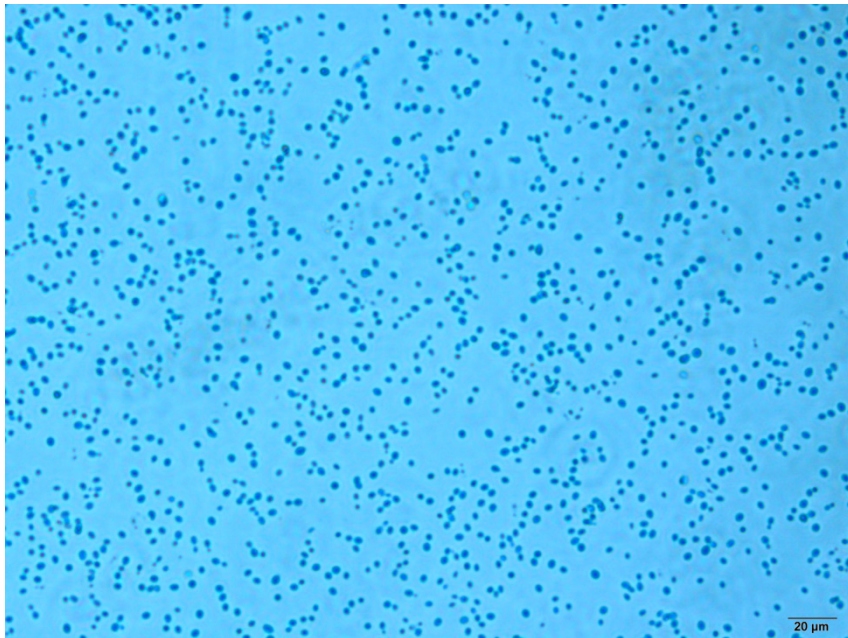


(b)

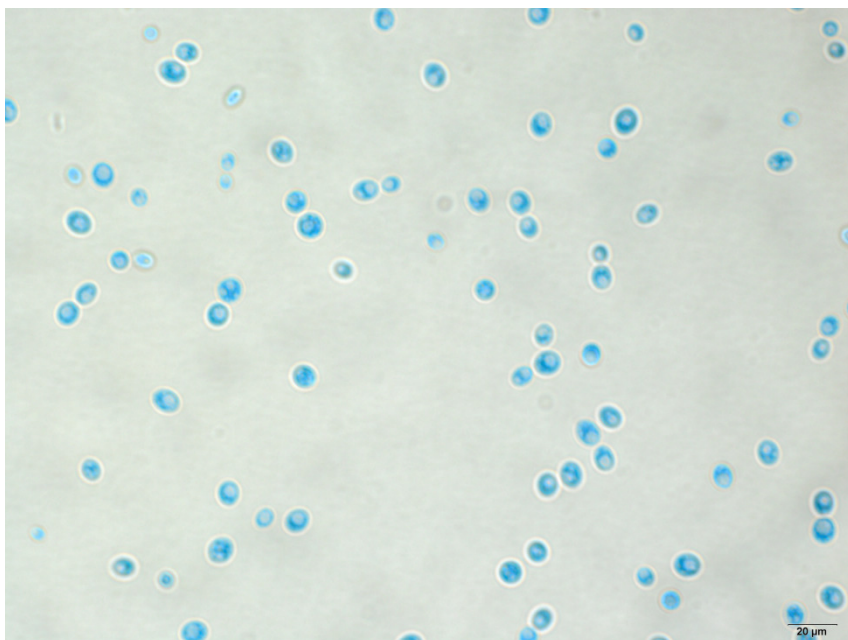


**Figura 79:** Imagens do isolado 070 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

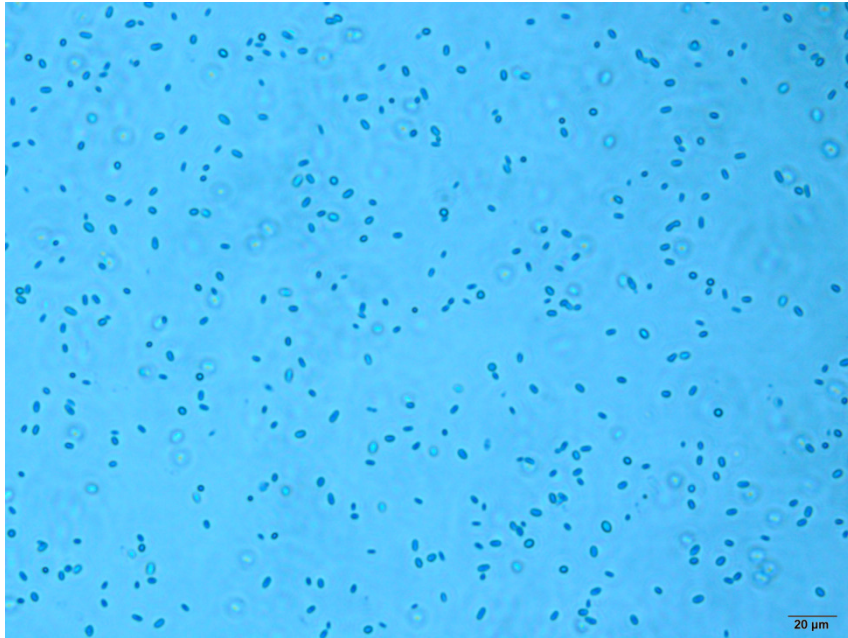


(b)

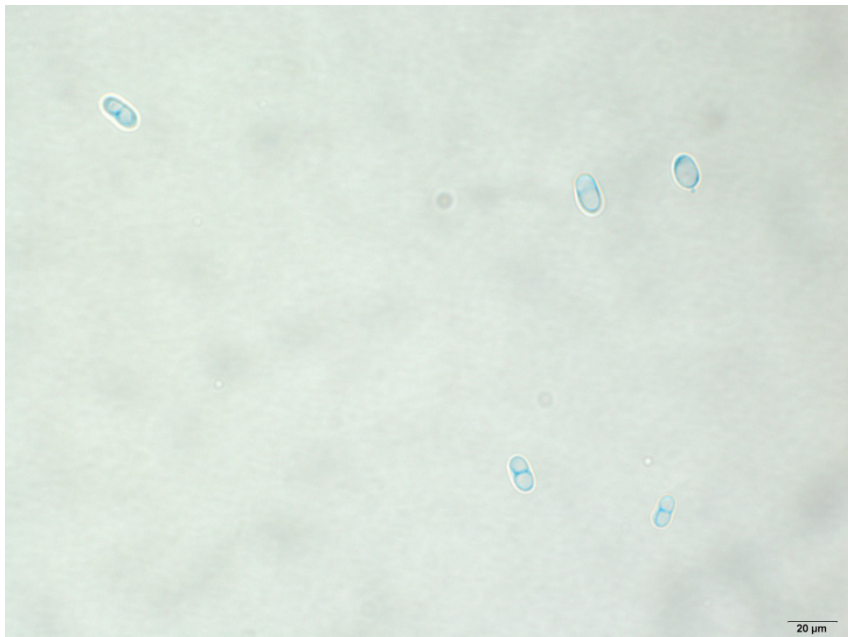


**Figura 80:** Imagens do isolado 071 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

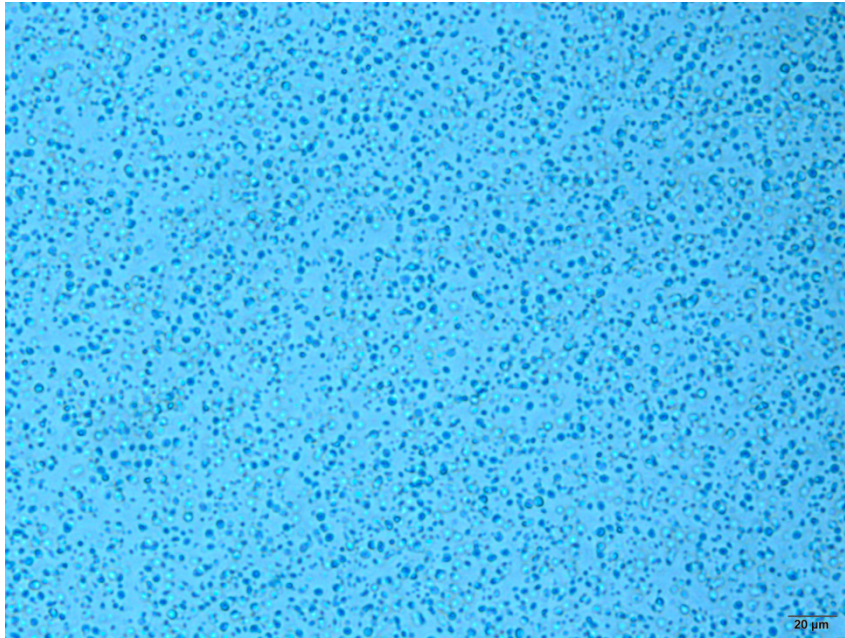


(b)

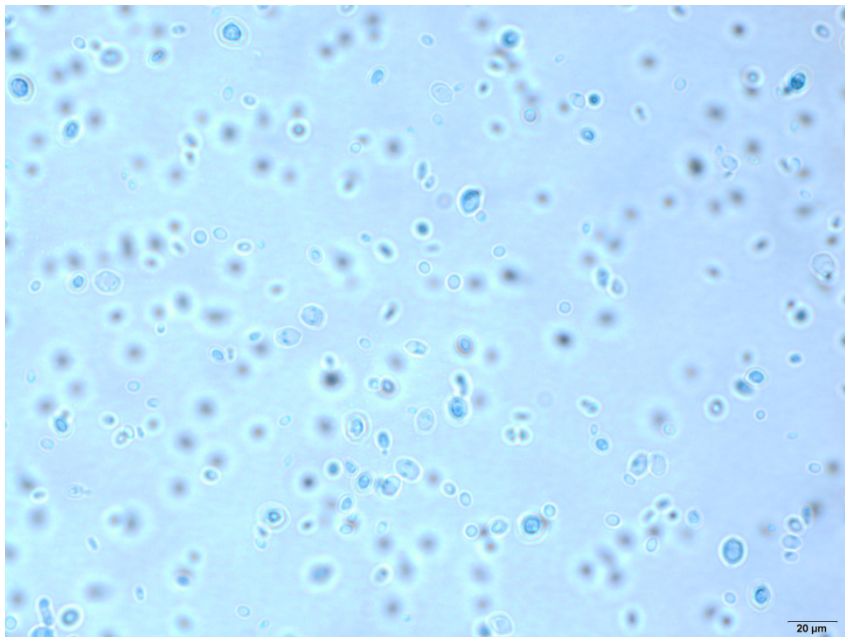


**Figura 81:** Imagens do isolado 072 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)

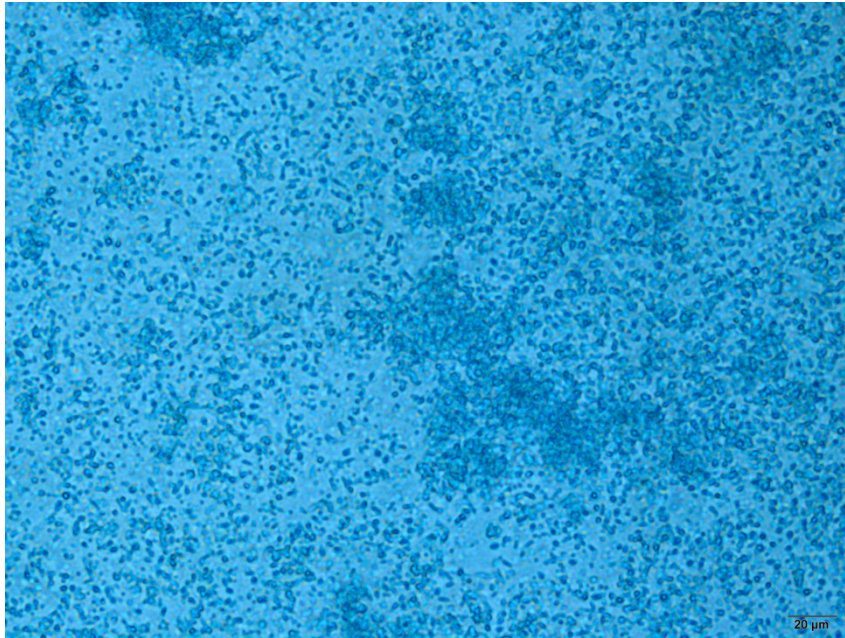


(b)

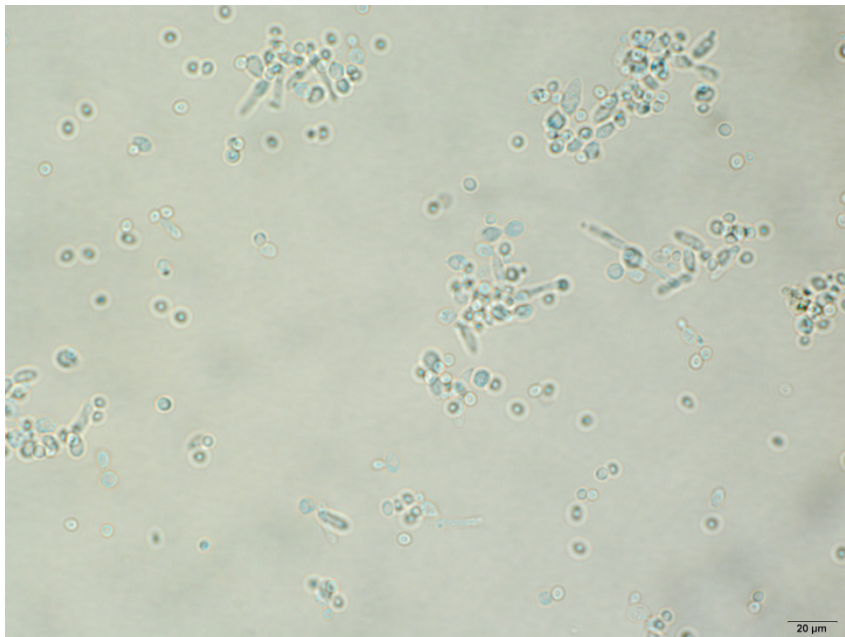


**Figura 82:** Imagens do isolado 073 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.

(a)



(b)



**Figura 83:** Imagens do isolado 074 em aumentos de 40x10 (a) e 100 x 10 (b) vezes fotografadas no microscópio Olympus IX51.