

Diversidade de organismos zoospóricos heterotróficos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil: novas citações

Ana Lúcia de Jesus^{1,2}, Agostina Virginia Marano¹, Iracema Helena Schoenlein-Crusius¹ e
Carmen Lidia Amorim Pires-Zottarelli¹

Recebido: 24.09.2012; aceito: 8.02.2013

ABSTRACT - (Diversity of heterotrophic zoosporic organisms of Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, São Paulo State, Brazil: new citations). Water and submerged mixed litter samples were collected from June 2011 to April 2012 to study the diversity of zoosporic organisms (Blastocladiomycota, Chytridiomycota, and Oomycota) from the stream Pirarungaua located in Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. In the laboratory, they were placed in Petri dishes and processed by the multiple baiting technique using cellulosic, queratinic, and chitinic baits. Forty-two taxa have been isolated and identified, 27 of them being at species level. Seven are new records for Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: *Cladochytrium setigerum* Karling, *Diplophlyctis intestina* (Schenk) J. Schröt, *Myzocytiopsis humana* (Karling) M. W. Dick, *Nowakowskiella elongata* Karling, *Nowakowskiella multispora* Karling, *Plectospira myriandra* Drechsler, and *Pythium graminicola* Subramanian, which are described, commented and illustrated. *Myzocytiopsis humana* is reported for the first time in Brazil.

Key words: Atlantic rainforest, chytrids, oomycetes, zoosporic fungi

RESUMO - (Diversidade de organismos zoospóricos heterotróficos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil: novas citações). Visando o levantamento dos organismos zoospóricos heterotróficos pertencentes aos filos Blastocladiomycota, Chytridiomycota e Oomycota do Córrego Pirarungaua, situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil, foram coletadas amostras de água e folhedo misto, no período de junho/2011 a abril/2012. No laboratório, as amostras foram transferidas para placas-de-petri esterilizadas e tratadas pelo método de iscagem múltipla com substratos celulósicos, queratinosos e quitinosos. Foram identificados 42 táxons, sendo 27 deles ao nível específico. Sete espécies são novas citações para o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: *Cladochytrium setigerum* Karling, *Diplophlyctis intestina* (Schenk) J. Schröt, *Myzocytiopsis humana* (Karling) M.W. Dick, *Nowakowskiella elongata* Karling, *Nowakowskiella multispora* Karling, *Plectospira myriandra* Drechsler e *Pythium graminicola* Subramanian, as quais são descritas, comentadas e ilustradas. *Myzocytiopsis humana* é mencionada pela primeira vez no Brasil. **Palavras-chave:** fungos zoospóricos, Mata Atlântica, oomicetos, quitridias

Introdução

Blastocladiomycota e Chytridiomycota (Reino Fungi) e Oomycota (Reino Chromista) são filos que possuem representantes sapróbios e/ou parasitas nos ecossistemas aquáticos. Como organismos sapróbios, possuem ampla capacidade enzimática, com habilidade de degradar uma grande variedade de substratos de origem vegetal e animal, como celulose (algas e restos vegetais), queratina (ecdise de cobra, cabelo e pena), quitina (escama de peixes, insetos e exoesqueleto de crustáceos), lignina (tecidos de plantas lenhosas) e

esporopolenina (grãos de pólen) (Shearer *et al.* 2007, Marano *et al.* 2011). São organismos normalmente abundantes em material vegetal em decomposição, cuja ocorrência e frequência são subestimadas quando não utilizadas técnicas específicas para o estudo desses grupos. No entanto, estudos moleculares têm evidenciado a presença e a importante contribuição desses organismos no processo de sucessão fúngica em substratos foliares nos ecossistemas aquáticos lóticos e lênticos (Nickolcheva *et al.* 2003, Nickolcheva & Bärlocher 2004). Como parasitas, são encontrados nas algas, fungos, crustáceos, macrófitas, anfíbios,

1. Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Micologia, Caixa Postal 68041, CEP 04045-972 São Paulo, SP, Brasil

2. Autor para correspondência: analuciajesus@hotmail.com

invertebrados e oomicetos. Algumas espécies são capazes de regular o aumento de populações de algas (Alexopoulos *et al.* 1996, Shearer *et al.* 2007).

O conhecimento desses organismos no Brasil ainda é bastante reduzido, conhecendo-se apenas 17,5% dos táxons já registrados no mundo (Kirk *et al.* 2008, Steciow *et al.* 2012), fato este devido principalmente ao reduzido número de especialistas, demonstrando não só a necessidade de dar continuidade aos estudos taxonômicos, mas também a ampliação de recursos humanos. A maioria dos estudos existentes concentra-se no Estado de São Paulo (Beneke & Rogers 1962, Rogers *et al.* 1970, Milanez & Trufem 1981, 1984, Schoenlein-Crusius *et al.* 1992, Milanez *et al.* 1994a, b, 1996, 2003, Pires-Zottarelli *et al.* 1995, 1996a, b, Schoenlein-Crusius & Milanez 1998, Rocha & Pires-Zottarelli 2002, Gomes & Pires-Zottarelli 2006, Pires-Zottarelli & Gomes 2007, Nascimento & Pires-Zottarelli 2009, 2010, Nascimento *et al.* 2011, entre outros). Muitos deles foram desenvolvidos em áreas de Mata Atlântica do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), a maioria realizada na década de 1990, os quais muito contribuíram para o conhecimento da micota brasileira (Milanez *et al.* 1994b, 1996, 2003, Pires-Zottarelli *et al.* 1995, 1996a, b, Moreira 2006, Pires-Zottarelli & Rocha 2007).

O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade dos organismos zoospóricos heterotróficos pertencentes aos filos Blastocladiomycota, Chytridiomycota e Oomycota de amostras de água e de folheto misto do Córrego Pirarungaua, visando a ampliação do conhecimento desses organismos no PEFI e no Brasil.

Material e métodos

Este estudo foi realizado no Córrego Pirarungaua, importante corpo d'água lótico do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), localizado entre os paralelos 23°38'08"-23°40'18"S e os meridianos 46°36'48"-46°38'00"W, na região sudeste do Município de São Paulo, constituindo um dos mais significativos remanescentes de Mata Atlântica inserido em área urbana (Fernandes *et al.* 2002).

Para atingir os objetivos programados foram planejados dois experimentos, ambos com seis meses de duração no período de junho/2011 a abril/2012. Para o levantamento dos organismos zoospóricos heterotróficos foram realizadas um total de 12 coletas mensais de água e folheto misto, em seis pontos previamente estabelecidos. Houve coincidência de duas coletas em novembro/2011 pela sobreposição dos experimentos. Com um mês de antecedência da

primeira coleta de cada experimento, seis sacos de tela de náilon contendo cada um aproximadamente 10g de folheto misto (fração foliar de diversas espécies arbóreas que foram secas, por uma semana, em temperatura ambiente) de 10 × 10 cm e malha de 1 mm diâm., foram submersos a uma profundidade de 20 cm, tendo sido retirado um saco por mês para o isolamento dos organismos zoospóricos. As amostras de água foram coletadas em frascos Wheaton esterilizados com capacidade 100 mL. Uma quantidade de 20 mL de cada amostra de água e 5 g (peso úmido) de folheto misto com adição de 30 mL de água destilada e esterilizada foram transferidos para placas de Petri (100 × 20 mm). Em seguida, as amostras foram iscadas com substratos celulósicos (sementes de *Sorghum* sp. previamente fervidas, palha de milho, celofane, epiderme de cebola), queratinoso (ecdise de cobra) e quitinoso (exoesqueleto de camarão) conforme metodologia descrita em Milanez (1989). As placas foram incubadas em temperatura ambiente (20-22 °C) por aproximadamente 7 dias. Após esse período, cada um dos tipos de iscas e/ou material observado foi montado em água destilada e esterilizada entre lâmina e lamínula, com auxílio de uma pinça, para observação das estruturas dos organismos zoospóricos em microscópio óptico.

Os espécimes obtidos foram purificados em meios de culturas específicos para os grupos de organismos estudados: MP₅ (4 g de maltose, 1 g de peptona, 15 g de ágar e 1.000 mL de água destilada) e YpSs/4 (5 g de amido solúvel, 0,25 g de extrato de levedura, 0,25 de fosfato de potássio, 0,25 de sulfato de 5 g magnésio, 15 g de ágar e 1.000 mL de água destilada) para representantes de Saprolegniales (*Achlya*, *Aphanomyces*, *Dictyuchus*, *Plectospora* e *Saprolegnia*) e Myzocytiosidales (*Myzocytiosopsis*); CMA (17 g de cornmeal ágar e 1.000 mL de água destilada) para Pythiales (*Pythium* e *Pythiogeton*), PmTA (0,5 g de leite peptonizado, 0,5 g de triptona, 2,5 g de amido, 15 g de ágar e 1000 mL de água destilada) e PmTG (0,5 g de leite peptonizado, 0,5 g de triptona, 2,5 g de glicose, 15 g de ágar e 1000 mL de água destilada) para Blastocladiomycota e Chytridiomycota (*Chytriumyces*, *Cladochytrium*, *Diplophlyctis*, *Nowakowskiella* e *Rhizophlyctis*). Houve adição de 0,4 g de penicilina, 0,2 g de sulfato de estreptomicina e 0,04 g de vancomicina em todos os meios citados. Devido à dificuldade de crescimento em meio de cultura, alguns táxons destes filos foram purificados pela transferência múltipla para novos substratos.

Os táxons isolados foram identificados com auxílio de literatura específica (Frezzi 1956, Sparrow 1960, Karling 1977, Plaats-Niterink 1981, Watanabe 1987, entre outros), bem como, descrições originais das espécies. O esquema taxonômico utilizado foi o contido em Kirk *et al.* (2008) e a abreviação dos autores conforme o Index Fungorum. A documentação fotográfica de todas as espécies foi realizada por meio de equipamento óptico Leica DM LB2 acoplado ao sistema de captura de imagens Leica Qwin V3. Os espécimes que cresceram em meio de cultura foram incorporados à Coleção de Culturas de Algas, Fungos e Cianobactérias do Instituto de Botânica (CCIBt) em frascos Wheaton com água destilada e esterilizada (Milanez 1989), pelo método de Castellani (Figueiredo & Pimentel 1975) e em tubos de ensaio com meio de cultura específico inclinado. Lâminas semi-permanentes, com azul de algodão e lactofenol, foram confeccionadas para a maioria dos espécimes e incorporadas ao Herbário do Instituto de Botânica (SP).

A frequência de ocorrência dos táxons (%) foi calculada mediante a contagem do número de unidades amostrais colonizadas pelo táxon/número de unidades amostrais examinadas $\times 100$, onde cada ponto de coleta foi considerado uma unidade amostral.

Resultados e discussão

Do total de 144 amostras analisadas, 72 de água e 72 de folheto misto, foram efetuados 676 isolamentos, sendo 309 da água e 367 do folheto misto. Dessas amostras, foram identificados 42 táxons, com 27 deles ao nível específico, 16 pertencentes ao Reino Fungi (15 Chytridiomycota e um Blastocladiomycota) e 11 ao Reino Chromista (Oomycota) (tabelas 1 e 2).

Das espécies identificadas, sete são novas citações para o PEFI, sendo uma também para o Brasil, as quais estão descritas, comentadas e ilustradas.

REINO FUNGI

FILO CHYTRIDIOMYCOTA

CHYTRIDIALES

CLADOCHYTRIACEAE

Cladochytrium setigerum Karling, Bulletin of Torrey Botanical Club 78: 38-39. 1951.

Figuras 1-2

Talo eucárpico, policêntrico. Rizomicélio extensivo, delicado e ramificado, células turbinadas

intercalares alongadas. Zoosporângios hialinos, inoperculados, esféricos, 11-20 μm diâm., parede ornamentada em forma de setas simples. Zoósporos com uma única gotícula lipídica, liberados por meio de papila e/ou tubo. Esporos de resistência esféricos, 9-14 μm diâm., com ornamentações em forma de setas simples como nos zoosporângios.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 19-IX-2011, 24-X-2011, 27-II-2012 e 26-III-2012; e folheto misto, 20-VI-2011, 24-VIII-2011, 19-IX-2011, 24-X-2011 e 28-XI-2011; em epiderme de cebola e palha de milho; *A.L. Jesus s.n.* (SP 417045).

As características dos espécimes examinados concordam com as da descrição original de Karling (1951), apresentando zoosporângios pouco menores que os relatados pelo autor, que foram de 13,2-28,5 μm diâm. Apresentaram também esporos de resistência, os quais foram observados pela primeira vez por Nascimento & Pires-Zottarelli (2009), em isolados provenientes do Parque Estadual da Serra da Cantareira, Estado de São Paulo. Os espécimes cresceram somente em epiderme de cebola e palha de milho, não tendo se desenvolvido em meio de cultura.

Nowakowskiella multispora Karling, Sydowia 17: 314-315. 1964.

Figuras 3-4

Talo eucárpico, policêntrico. Rizomicélio hialino, extenso e ramificado. Zoosporângios hialinos, operculados, piriformes, com o tubo de descarga de 25-42 \times 16-37 μm , parede lisa. Zoósporos com uma gota lipídica. Esporos de resistência ovais intercalares no rizomicélio, 12-16 \times 10-17 μm , parede espessada, lisa.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 20-VI-2011, 19-IX-2011, 24-X-2011, 28-XI-2011, 28-XII-2011, 23-I-2012, 27-II-2012, 26-III-2012 e 23-IV-2012; e folheto misto, 20-VI-2011, 24-VIII-2011, 24-X-2011, 28-IX-2011, 26-III-2012 e 23-IV-2012; em celofane; *A.L. Jesus s.n.* (CCIBt 3864, SP 417047).

As características dos espécimes concordam com as descritas por Karling (1964), no entanto, apresentaram zoosporângios pouco maiores que os citados pelo autor que foram de 17-30 \times 10-15 μm . Os espécimes cresceram em celofane e posteriormente

Tabela 1. Organismos zoospóricos heterotróficos de amostras de água do Córrego Pirarungaua do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil. F: Frequência. * Primeira citação para o PEFI. ** Primeira citação para o Brasil.

Table 1. Heterotrophic zoosporic organisms from water samples of the stream Pirarungaua of Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. F: Frequency. * First record for the PEFI. ** First cited for Brazil.

Táxons/Coletas	jun/11	jul/11	ago/11	set/11	out/11	nov/11	nov/11	dez/12	jan/12	fev/12	mar/12	abr/12	F % total
REINO FUNGI													
FILO BLASTOCLADIOMYCOTA													
BLASTOCLADIALES													
<i>Catenophlyctis variabilis</i> (Karling) Karling	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	2	-	6,9
FILO CHYTRIDIOMYCOTA													
CHYTRIDIALES													
<i>Catenochytridium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	2	1	8,3
<i>Chytromyces appendiculatus</i> Karling	3	4	3	3	2	1	1	1	3	4	2	3	41,7
<i>C. aureus</i> Karling	-	1	3	3	1	1	1	1	-	-	-	-	15,3
<i>C. hyalinus</i> Karling	-	1	1	-	2	2	2	1	1	-	-	-	13,9
<i>Cladochytrium replicatum</i> Karling	4	2	3	3	4	3	3	4	2	4	4	3	54,2
<i>C. setigerum</i> Karling*	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	2	-	6,9
<i>Diplophlyctis intestina</i> (Schenk) J. Schröt.*	-	-	-	-	-	-	-	3	2	-	1	1	9,7
<i>D. sarcopoides</i> (H.E. Petersen) Dogma	-	-	-	-	2	4	4	3	3	4	3	2	34,7
<i>Entophlyctis</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	4,2
<i>Nowakowskiella elegans</i> (Nowak.) J. Schröt.	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	4,2
<i>N. elongata</i> Karling*	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1,4
<i>N. hemisphaerospora</i> Shanor	3	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2	1	9,7
<i>N. multispora</i> Karling*	2	-	-	1	2	2	2	2	1	1	3	2	25,0
<i>Phycochytrium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,4
<i>Rhizophlyctis rosea</i> (de Bary & Woronin) A. Fisch	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	5,6
<i>Septochytrium</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	4,2
REINO CHROMISTA													
FILO OOMYCOTA													
<i>Incertae sedis</i>													
<i>Cornomyces irregularis</i> (Const.) M.W. Dick	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,4

continua

Tabela 1 (continuação)

Táxons/Coletas	jun/11	jul/11	ago/11	set/11	out/11	nov/11	nov/11	dez/12	jan/12	fev/12	mar/12	abr/12	F % total
MYZOCYTIOPSISIALES													
<i>Myzocytopsis humana</i> (Karling) M.W. Dick **	-	-	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	5,6
OLPIDIOPSISIALES													
<i>Olpidiopsis</i> sp.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,4
PYTHIALES													
<i>Pythiogeton</i> spp.	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	1	6,9
<i>Pythium graminicola</i> Subraman.*	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,3
<i>Pythium torulosum</i> Coker & P. Patt.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,4
<i>Pythium</i> grupo F	-	3	3	-	-	3	3	-	-	-	2	-	19,4
<i>Pythium</i> grupo G	-	-	-	2	3	3	3	1	1	1	-	-	19,4
<i>Pythium</i> grupo T	3	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	6,9
SAPROLEGNIALES													
<i>Achlya flagellata</i> Coker	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	-	6,9
<i>Achlya proliferoides</i> Coker	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1,4
<i>Achlya</i> spp	2	1	-	-	2	-	-	-	-	1	2	1	12,5
<i>Aphanomyces euteiches</i> Drechsler	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4
<i>Aphanomyces helicoides</i> Minden	-	1	-	-	1	-	-	1	2	1	-	-	8,3
<i>Aphanomyces stellatus</i> de Bary	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	4,2
<i>Aphanomyces</i> spp	-	2	3	-	2	2	2	3	1	2	-	3	27,8
<i>Dictyuchus</i> spp	2	2	1	2	-	-	-	-	3	-	-	1	15,3
<i>Plectospira myriandra</i> Drechsler*	-	-	3	1	1	1	1	1	3	3	3	2	26,4
<i>Saprolegnia parasitica</i> Coker	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4
<i>Saprolegnia</i> spp	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	5,6
Total de ocorrências	24	23	29	21	24	24	24	28	27	28	32	25	309,0
Total de táxons	10	12	15	12	13	12	12	18	16	15	15	16	37,0

Tabela 2. Organismos zoospóricos heterotróficos de amostras de folheto misto do Córrego Pirarungaua do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil. F: Frequência. * Primeira citação para o PEFI. ** Primeira citação para o Brasil.

Table 2. Heterotrophic zoosporic organisms from mixed litter samples of the stream Pirarungaua of Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. F: Frequency. * First record for the PEFI. ** First cited for Brazil.

Táxons/Coletas	jun/11	jul/11	ago/11	set/11	out/11	nov/11	nov/11	dez/12	jan/12	fev/12	mar/12	abr/12	F % total
REINO FUNGI													
FILO BLASTOCLADIOMYCOTA													
BLASTOCLADIALES													
<i>Catenophlyctis variabilis</i> (Karling) Karling	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1,4
FILO CHYTRIDIOMYCOTA													
CHYTRIDIALES													
<i>Catenochytridium kevorikianii</i> Sparrow	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1,4
<i>Catenochytridium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	2,8
<i>Chytriumyces appendiculatus</i> Karling	3	6	2	4	3	2	4	1	3	4	6	4	58,3
<i>C. aureus</i> Karling	-	1	4	3	-	1	1	-	-	-	-	-	13,9
<i>C. hyalinus</i> Karling	-	-	1	-	2	2	-	-	-	-	-	1	8,3
<i>Cladochytrium replicatum</i> Karling	5	5	6	5	3	5	5	6	4	1	1	3	68,1
<i>C. setigerum</i> Karling*	1	-	2	1	1	-	1	-	-	-	-	-	8,3
<i>Diplophlyctis asteroidea</i> Dogma	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	3	9,7
<i>D. intestinalis</i> (Schenk) J. Schröt*	1	-	-	-	1	-	-	1	2	-	-	1	8,3
<i>D. sarcoptoides</i> (H.E. Petersen) Dogma	-	1	-	-	-	1	5	1	3	1	1	1	19,4
<i>Entophlyctis</i> sp.	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	4,2
<i>Karlingomyces dubius</i> Karling	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1,4
<i>Nowakowskiella elegans</i> (Nowak.) J. Schröt.	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	3	8,3
<i>N. elongata</i> Karling*	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	-	-	5,6
<i>N. hemisphaerospora</i> Shanor	1	-	-	-	-	-	3	1	-	-	1	-	8,3
<i>N. multispora</i> Karling*	1	-	1	-	-	3	2	2	-	-	3	1	18,1
<i>Phlyctochytrium</i> sp.	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4
<i>Rhizophlyctis rosea</i> (de Bary&Woronin) A.Fisch	1	-	-	1	-	2	-	3	3	1	1	3	20,8
<i>Septochytrium</i> sp.	-	-	-	1	1	-	-	-	1	-	1	-	5,6

continua

Tabela 2 (continuação)

Táxons/Coletas	jun/11	jul/11	ago/11	set/11	out/11	nov/11	nov/11	dez/12	jan/12	fev/12	mar/12	abr/12	F % total
MONBLEPHARIDALES													
<i>Gonapodya</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1,4
REINO CHROMISTA													
FILO OOMYCOTA													
MYZOCYTIOPSIDALES													
<i>Mycocystopsis humana</i> (Karling) M.W. Dick**	-	2	4	1	1	3	1	1	1	-	1	1	22,2
OLPIDIOPSIDALES													
<i>Olpidiopsis</i> sp. 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,4
PYTHIALES													
<i>Pythiogeton</i> sp.	-	1	-	1	3	1	-	-	-	2	1	-	12,5
<i>Pythium</i> grupo F	3	3	3	-	1	-	-	3	-	1	1	-	23,6
<i>Pythium</i> grupo G	3	3	3	-	1	-	-	3	-	1	1	-	23,6
SAPROLEGNIALES													
<i>Achlya flagellata</i> Coker	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	2,8
<i>Achlya</i> spp.	4	1	-	2	2	2	-	-	1	1	2	1	22,2
<i>Aphanomyces helicoides</i> de Bary	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	4,2
<i>Aphanomyces stellatus</i> de Bary	1	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,7
<i>Aphanomyces</i> spp.	1	1	-	1	4	4	-	1	1	3	-	-	22,2
<i>Dictyuchus</i> spp.	2	3	5	4	2	-	-	1	3	-	1	-	29,2
<i>Plectospira myriandra</i> Drechsler*	-	5	-	4	3	4	5	3	4	4	5	3	55,6
<i>Saprolegnia</i> spp.	-	1	2	-	1	-	-	-	1	-	3	-	11,1
Total de ocorrências	28	38	36	30	30	31	27	29	33	25	33	27	367,0
Total de táxons	14	14	14	13	16	13	9	15	17	14	19	14	34,0

desenvolveram-se em PmTA. A espécie foi relatada pela primeira vez no país por Schoenlein-Crusius *et al.* (2006) de amostras de água de Cubatão (SP).

Nowakowskiella elongata Karling, Bulletin of Torrey Botanical Club 71:375. 1944.

Figuras 5-6

Talo eucárpico, policêntrico. Rizomicélio extenso e ramificado. Zoosporângios hialinos, operculados, cilíndricos, $35 \times 17,5-25 \mu\text{m}$, com presença de porção estéril alongada, $47,5-70 \times 7,5-22,5 \mu\text{m}$, parede lisa. Zoósporos com uma gota lipídica. Esporos de resistência não observados.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 28-XII-2011; e folheto misto, 19-IX-2011 e 28-XII-2011; em epiderme de cebola; *A.L. Jesus s.n.* (SP 417717).

As características dos espécimes concordam com as descritas por Karling (1944), estes isolados em palha de milho e epiderme de cebola de amostras de solo e água dos Estados do Mato Grosso e Amazonas. Os espécimes aqui citados cresceram somente em epiderme de cebola, não tendo se desenvolvido em meio de cultura.

ENDOCHYTRIACEAE

Diplophlyctis intestina (Schenk) J. Schröt., Engler and Prantl, Natürlichen Pflanzenfam1: 78. 1892.

Basiônimo: *Rhizidium intestinum* Schenk

Figuras 7-9

Talo eucárpico, monocêntrico. Rizóide extensivo, ramificado, saindo da base da apófise. Zoosporângios hialinos, inoperculados, globosos, $20-52 \times 20-40 \mu\text{m}$, parede lisa, tubo de descarga único, geralmente longo, apófise subsférica, basal, $7-12 \times 7-15 \mu\text{m}$. Zoósporos com uma gota lipídica. Esporos de resistência castanhos, apofisados, esféricos, com pequenas ornamentações em forma de espinhos, $20-30 \mu\text{m}$ diâm., parede espessada.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 28-XII-2011, 23-I-2012, 26-III-2012 e 23-IV-2012; e folheto misto, 20-VI-2011, 24-X-2011, 28-XII-2011, 23-I-2012 e 23-IV-2012; em epiderme de cebola; *A.L. Jesus s.n.* (CCIBt3863, SP 417052).

As características dos espécimes estão de acordo com as mencionadas por Sparrow (1960). Apresentaram zoosporângios menores que os

relatados por Nascimento & Pires-Zottarelli (2009), as quais relataram de $17,5-75 \mu\text{m}$ diâm. Os espécimes cresceram em epiderme de cebola, palha de milho e posteriormente foram cultivados em PmTG.

REINO CHROMISTA

FILO OOMYCOTA

PYTHIALES

PYTHIACEAE

Pythium graminicola Subramaniam, Agricultural Research Institute Pusa Bulletin 177: 5. 1928.

Figuras 10-12

Micélio bem desenvolvido. Zoosporângios filamentosos inflados, formando complexos torulosos, terminais ou intercalares. Zoósporos encistados $6,25-10 \mu\text{m}$ diâm., diferenciados dentro de uma vesícula evanescente. Oogônios esféricos, lisos, $21-30 \mu\text{m}$ diâm., alguns amarelados. Anterídios monóclinos, alguns sésseis, 1-3 por oogônio, normalmente 2, com atração apical. Oósporos pleróticos, $17,5-22,5 \mu\text{m}$ diâm., 1 por oogônio.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 20-VI-2011 e 27-VII-2011, em semente de *Sorghum* sp., *A.L. Jesus s.n.* (CCIBt 3828).

As características dos espécimes examinados concordam com as descritas por Plaats-Niterink (1981), porém alguns oogônios apresentam coloração amarelada não descrita pela autora. No entanto, Frezzi (1956) e Baptista *et al.* (2004) relataram essa coloração em seus estudos. O espécime cresceu em semente de *Sorghum* sp. e posteriormente desenvolveu-se em CMA.

MYZOCYTIOPSISIDALES

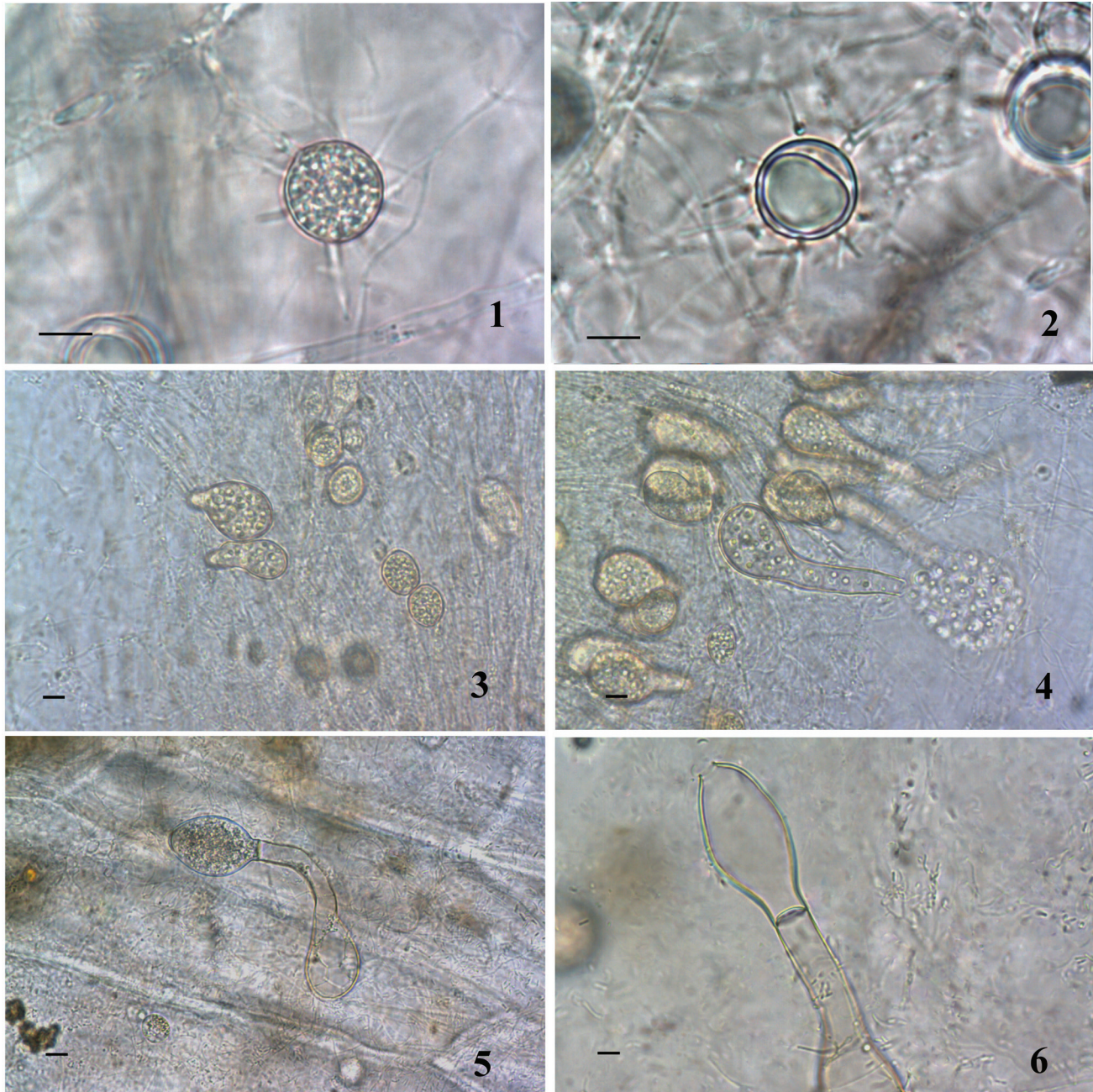
MYZOCYTIOPSISIDACEAE

Myzocytiopsis humana (Karling) M. W. Dick, Mycological Research 101: 879. 1997.

Basiônimo: *Lagenidium humanum* Karling

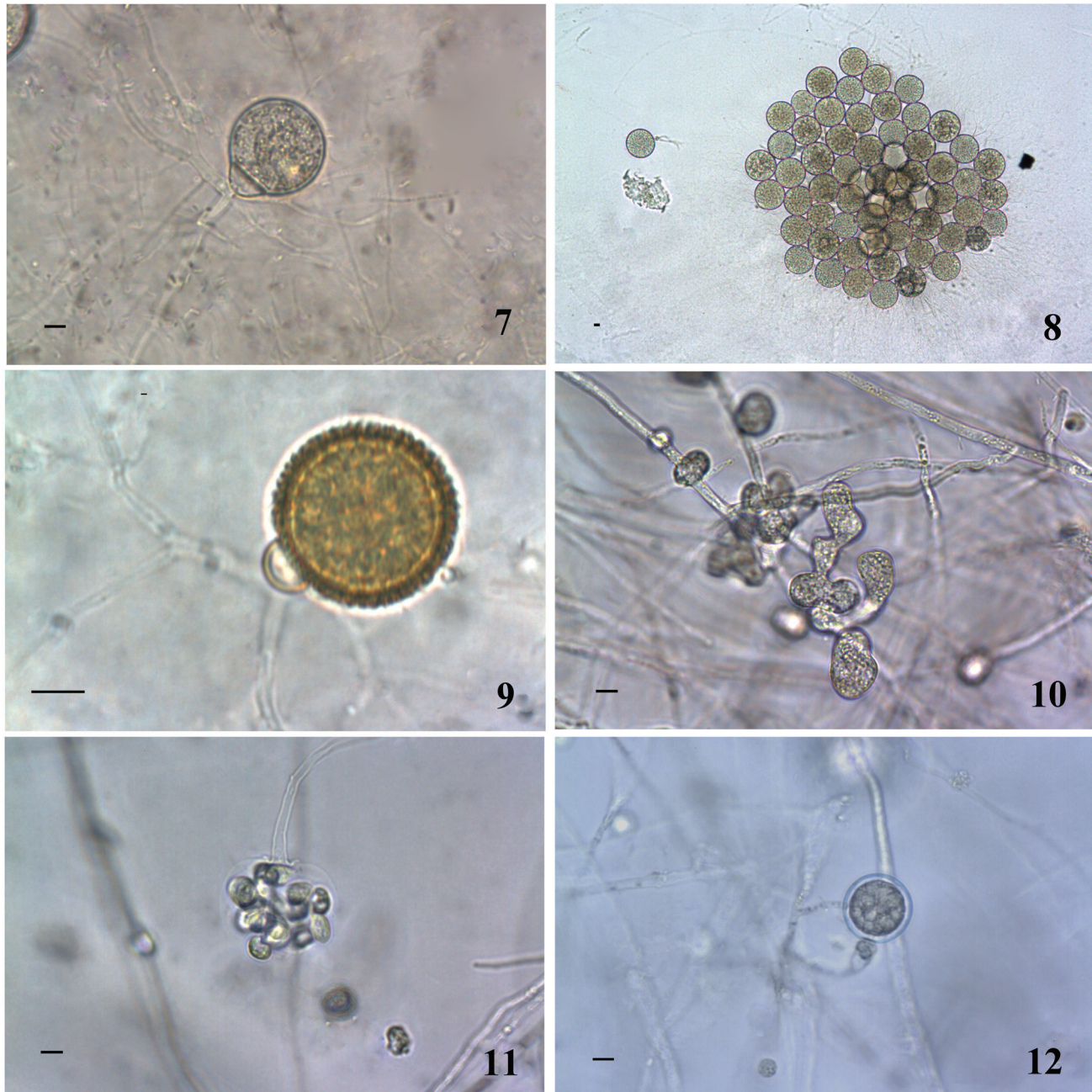
Figuras 13-15

Talo ramificado, septado, formando vários segmentos. Zoosporângios em ecdise de cobra, alongados, $60-200 \times 12,5-25 \mu\text{m}$, alguns irregulares, zoosporângio em meio de cultura alongados $60 \times 380 \mu\text{m}$. Zoósporos encistados, $9-11 \mu\text{m}$ diâm., liberação dos zoósporos por um tubo. Reprodução sexuada não observada.



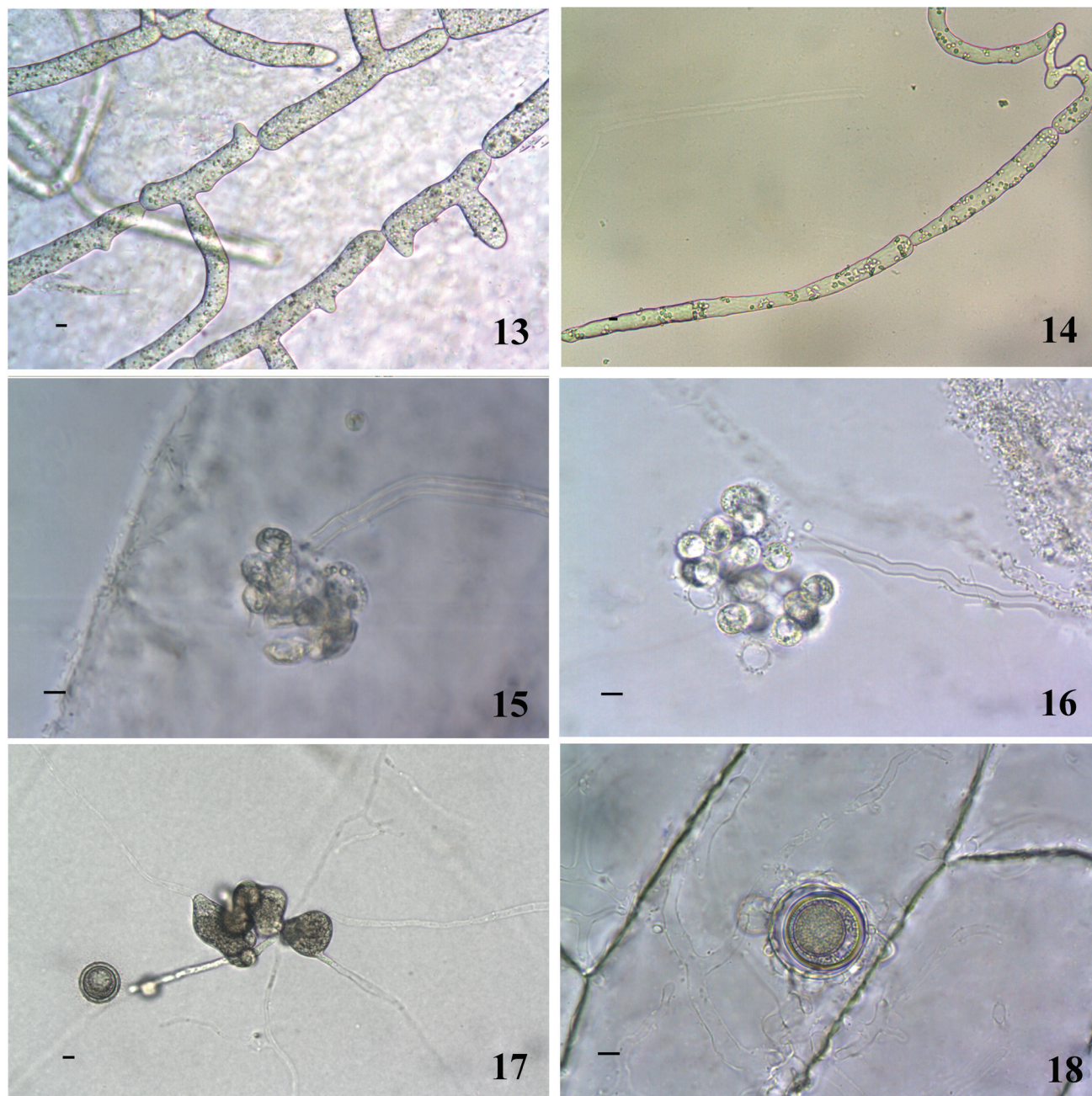
Figuras 1-6. Organismos zoospóricos heterotróficos do Córrego Pirarungaua do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) , São Paulo, SP, Brasil. 1-2. *Cladochytrium setigerum* Karling. 1. Zoosporângio com ornamentações em forma de setas. 2. Esporo de resistência ornamentado. 3-4. *Nowakowskiella multispora* Karling. 3. Zoosporângios e esporos de resistência. 4. Zoosporângios liberando zoósporos. 5-6. *Nowakowskiella elongata* Karling. 5. Zoosporângio operculado. 6. Zoosporângio vazio. Barra = 10 µm.

Figures 1-6. Heterotrophic zoospore organisms of the stream Pirarungaua located in Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. 1-2. *Cladochytrium setigerum* Karling. 1. Ornamented zoosporangium. 2. Ornamented resting spores. 3-4. *Nowakowskiella multispora* Karling. 3. Zoosporangia and resting spores. 4. Zoosporangia releasing zoospores. 5-6. *Nowakowskiella elongata* Karling. 5. Operculate zoosporangium. 6. Empty zoosporangium. Bar = 10 µm.



Figuras 7-12. Organismos zoospóricos heterotróficos do Córrego Pirarungaua do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil. 7-9. *Diplophlyctis intestina* (Schenk) J. Schröt. 7. Zoosporângio apofisado. 8. Zoosporângios em meio de cultura. 9. Esporo de resistência apofisado e ornamentado. 10-12. *Pythium graminicola* Subramaniam. 10. Zoosporângio filamentosso inflado. 11. Zoósporos em processo de liberação. 12. Oogônio com anterídio. Barra = 10 µm.

Figures 7-12. Heterotrophic zoospore organisms of the stream Pirarungaua located in Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. 7-9. *Diplophlyctis intestina* (Schenk) J. Schröt. 7. Apophysate zoosporangium. 8. Zoosporangia in culture medium. 9. Ornamented and apophysate resting spores. 10-12. *Pythium graminicola* Subramaniam. 10. Inflated filamentous zoosporangium. 11. Zoospore discharge. 12. Oogonium with antheridium. Bar = 10 µm.



Figuras 13-18. Organismos zoospóricos heterotróficos do Córrego Pirarungaua do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil. 13-15. *Myzocytiopsis humana* Karling (M. W. Dick). 13. Talo segmentado com zoosporângios formando tubos de liberação. 14. Zoosporângios em formação em meio de cultura. 15. Liberação de zoósporos. 16-18. *Plectospira myriandra* Drechsler. 16. Liberação dos zoósporos. 17. Oogônio e zoosporângio em meio de cultura. 18. Oogônio com oósporo subcêntrico com vários anterídios. Barra = 10 µm.

Figures 13-18. Heterotrophic zoospore organisms of the stream Pirarungaua located in Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, São Paulo State, Brazil. 13-15. *Myzocytiopsis humana* Karling (M. W. Dick). 13. Segmented thallus with zoosporangium forming discharge tube. 14. Zoosporangia in culture medium. 15. Zoospore discharge. 16-18. *Plectospira myriandra* Drechsler. 16. Zoospores discharge. 17. Oogonium and zoosporangium in culture medium. 18. Oogonium with subcentric oospore and antheridia. Bar = 10 µm.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 24-VIII-2011, 19-IX-2011 e 28-XI-2011; e folheto misto, 27-VII-2011, 24-VIII-2011, 19-IX-2011, 24-X-2011, 28-XI-2011, 28-XII-2011, 23-I-2012, 26-III-2012 e 23-IV-2012; em ecdise de cobra; *A.L. Jesus s.n.* (CCIBt 3855, SP 417453).

As características dos espécimes concordam com as da descrição de Karling (1947), apresentando zoosporângios maiores e tubo de liberação menor em meio de cultura. Os espécimes cresceram em ecdise de cobra e posteriormente desenvolveram-se em MP₅ e YpSs/4. Trata-se da primeira citação da espécie para o Brasil.

SAPROLEGNIALES

LEPTOLEGNIALEAE

Plectospira myriandra Drechsler, Journal of Agricultural Research 34: 294. 1927.

Figuras 16-18

Zoosporângios inflados, lobulados, formando complexos. Zoósporos encistados, 9-11 µm diâm., liberação aclióide. Oogônios esféricos, 20-25 µm diâm., parede lisa. Anterídios díclinos. Oósporos subcêntricos, amarelados, esféricos, 13,7-20 µm diâm., 1 por oogônio.

Material examinado: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, amostras de água, 24-VIII-2011, 19-IX-2011, 24-X-2011, 28-XI-2011, 28-XII-2011, 23-I-2012, 27-II-2012, 26-III-2012 e 23-IV-2012; folheto misto, 27-VII-2011, 19-IX-2011, 24-X-2011, 28-XI-2011, 28-XII-2011, 23-I-2012, 27-II-2012, 26-III-2012 e 23-IV-2012; em epiderme de cebola, palha de milho e sementes de *Sorghum* sp.; *A.L. Jesus s.n.* (CCIBt 3372, SP 417450).

As características dos espécimes concordam com as descritas por Drechsler (1927) e Watanabe (1987). Os espécimes cresceram em epiderme de cebola, palha de milho, sementes de *Sorghum* sp. e posteriormente desenvolveram-se em CMA e YpSs/4.

Das espécies identificadas no presente estudo, *Cladochytrium replicatum* e *Chytrium appendiculatus* apresentaram maior frequência de ocorrência na água e no folheto misto (54,2% e 41,7%, e 68,1% e 58,3%, respectivamente). *Achlya proliferoides*, *Aphanomyces euteiches*, *Cornomyces irregularis*, *Nowakowskiella elongata*, *Pythium*

torulosum e *Saprolegnia parasitica* foram menos frequentes em água; e *Catenochytridium kevorkianii*, *Catenophlyctis variabilis*, *Karlingiomyces dubius* em folheto misto (1,4%). *Achlya proliferoides*, *Aphanomyces euteiches*, *Cornomyces irregularis*, *Pythium graminicola*, *P. torulosum* e *Saprolegnia parasitica* ocorreram exclusivamente em água; enquanto que *Catenochytridium kevorkianii*, *Diplophlyctis asteroidea* e *Karlingiomyces dubius* foram exclusivas de folheto misto. Dos táxons registrados pela primeira vez no PEFI e no Brasil, apenas *Pythium graminicola* tem sido registrado em outros países sulamericanos, particularmente na Argentina (Frezzi 1956). Embora tenham sido realizados levantamentos anteriores em outras áreas do PEFI, nosso estudo contribui para a ampliação do conhecimento da ocorrência dos organismos zoospóricos heterotróficos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, no Brasil e na América do Sul.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela concessão de bolsa de Iniciação Científica à primeira Autora; ao Instituto de Botânica de São Paulo, pela infraestrutura oferecida para o desenvolvimento do trabalho.

Literatura Citada

- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. & Blackwell, M.M.** 1996. *Introductory Mycology*. 4ed. John Wiley & Sons, New York.
- Baptista, F.R., Pires-Zottarelli, C.L.A., Rocha M. & Milanez, A.I.** 2004. The genus *Pythium* Pringsheim from Brazilian cerrado areas, in the state of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 281-290.
- Beneke, E.S. & Rogers, L.** 1962. Aquatic Phycomycetes isolated in the states of Minas Gerais, São Paulo and Paraná, Brazil. *Rickia* 1: 181-193.
- Donadelli, J.L.** 2011. Diversity of zoosporic true fungi and heterotrophic straminipiles in Las Cañas stream (Buenos Aires, Argentina): assemblages colonizing baits. *Fundamental and Applied Limnology* 178: 203-218.
- Drechsler, C.** 1927. Two water molds causing tomato rootlet injury. *Journal of Agricultural Research* 34: 287-296.
- Fernandes, A.J., Reis, L.A.M. & Carvalho, A.** 2002. Caracterização do meio físico. In: D.C. Bicudo, M.C. Forti & C.E.M. Bicudo (eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização da São Paulo. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, pp. 51-62.

- Figueiredo, M.B. & Pimentel, C.P.V.** 1975. Métodos utilizados para conservação de fungos na Micoteca da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico. *Summa Phytopathologica* 1: 299-302.
- Frezzi, M.J.** 1956. Espécies de *Pythium* fitopatogênicas identificadas em la República Argentina. *Revista de Investigaciones Agrícolas* 10: 113-241.
- Gomes, A.L. & Pires-Zottarelli, C.L.A.** 2006. Diversidade de Oomycota da Reserva Biológica de Paranapiacaba, Santo André, SP: primeiras citações para o Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 569-567.
- Index Fungorum.** 2013. <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> acesso em 20/02/2012.
- Karling, J.S.** 1944. Brazilian chytrids. I. Species of *Nowakowskiella*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 71: 374-389.
- Karling, J.S.** 1947. *Lagenidium humanum*, a saprophyte isolated on dead human skin. *Mycologia* 39: 224-230.
- Karling, J.S.** 1951. *Cladochytrium setigerum* sp. nov. and *Septochytrium marilandicum* sp. nov. from Maryland. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 78: 38-43.
- Karling, J.S.** 1964. Indian Chytrids. IV. *Nowakowskiella multisporea* sp. nov. and other polycentric species. *Sydowia* 17: 314-319.
- Karling, J.S.** 1977. Chytridiomycetorum Iconographia. J. Cramer, Vaduz.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. & Stalpers, J.A.** 2008. *Dictionary of Fungi*. 10th ed. CABI Bioscience, Wallingford.
- Marano, A.V., Barrera, M.D., Steciow, M.M., Gleason, F.H., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I. & Trufem, S.B.F.** 1981. Fomicetos em frutos submersos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. *Rickia* 9: 7-15.
- Milanez, A.I.** 1989. Fungos de águas continentais. In: O. Fidalgo & V.L. Bononi, (coords.). *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. Série Documentos. Instituto de Botânica, São Paulo, pp. 17-20.
- Milanez, A.I. & Trufem, S.B.F.** 1984. Fungos zoospóricos em frutos submersos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. *Rickia* 11: 77-84.
- Milanez, A.I., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Schoenlein-Crusius, I.H.** 1994a. Fungos aquáticos da região de Mata Atlântica do Estado de São Paulo. *Academia de Ciências do Estado de São Paulo* 2: 142-149.
- Milanez, A.I., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Schoenlein-Crusius, I.H.** 1994b. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 1. Monoblepharidales. *Hoehnea* 21: 157-161.
- Milanez, A.I., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Schoenlein-Crusius, I.H.** 1996. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 5: Leptomitales (Rhipidiaceae). *Hoehnea* 23: 67-76.
- Milanez, A.I., Pires-Zottarelli, C.L.A., Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G.** 2003. Criptógamos do "Parque Estadual das Fontes do Ipiranga", São Paulo, SP. *Fungos*, 8: Blastocladales. *Hoehnea* 30: 21-29.
- Moreira, C.G.** 2006. Avaliação da diversidade e biomassa de fungos associados a folhas em decomposição de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas em reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP. São Paulo. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Nascimento, C.A. & Pires-Zottarelli, C.L.A.** 2009. Chytridiales (Chytridiomycota) do Parque Estadual da Serra da Cantareira, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 23: 459-473.
- Nascimento, C.A. & Pires-Zottarelli, C.L.A.** 2010. Blastocladales e Spizellomycetales do Parque Estadual da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 33: 693-704.
- Nascimento, C.A., Gomes, E.P.C. & Pires-Zottarelli, C.L.A.** 2011. Occurrence and distribution of zoosporic organisms in water bodies from Brazilian Cerrado areas. *Mycologia* 103: 261-272.
- Nikolcheva, L.G. & Bärlocher, F.** 2004. Taxon-specific fungal primers reveal unexpectedly high diversity during leaf decomposition in a stream. *Mycological Progress* 3: 41-49.
- Nikolcheva, L.G., Cockshutt, A.M. & Bärlocher, F.** 2003. Determining diversity of freshwater fungi on decaying leaves: comparison of traditional and molecular approaches. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2548-2554.
- Pires-Zottarelli, C.L.A. & Gomes, A.L.** 2007. Contribuição para o conhecimento de Chytridiomycota da "Reserva Biológica de Paranapiacaba", Santo André, SP, Brasil. *Biota Neotropica* 7: 309-329.
- Pires-Zottarelli, C.L.A. & Rocha, M.** 2007. Novas citações de Chytridiomycota e Oomycota para o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 21: 125-136.
- Pires-Zottarelli, C.L.A., Milanez, A.I., Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G.** 1995. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 3: Peronosporales (Pythiaceae). *Hoehnea* 22: 125-133.
- Pires-Zottarelli, C.L.A., Milanez, A.I., Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G.** 1996a. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 6: Chytridiales. *Hoehnea* 23: 77-90.
- Pires-Zottarelli, C.L.A., Milanez, A.I., Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G.** 1996b. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Fungos*, 4: Saprolegniales. *Hoehnea* 23: 39-66.

- Plaats-Niterink, A.J. Van der.** 1981. Monograph of genus *Pythium*. Studies in Mycology 21: 1-42.
- Rocha, M. & Pires-Zottarelli, C.L.A.** 2002. Chytridiomycota e Oomycota da "Represa do Guarapiranga", São Paulo, SP. Acta Botanica Brasilica 16: 287-309.
- Rogers, A.L., Milanez, A.I. & Beneke, E.S.** 1970. Additional aquatic fungi from São Paulo State. Rickia 5: 93-110.
- Schoenlein-Crusius, I.H. & Milanez, A.I.** 1998. Fungos zoospóricos (Mastigomycotina) da Mata Atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, SP. Revista Brasileira de Botânica 21: 177-181.
- Schoenlein-Crusius, I.H., Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I.** 1992. Aquatic fungi in leaves submerged in a stream in the Atlantic rainforest. Revista de Microbiologia 23: 167-171.
- Schoenlein-Crusius, I.H., Milanez, A.I., Trufem, S.F.B., Pires-Zottarelli, C.L.A., Grandi, R.A.P., Santos, M.L. & Giustra, K.C.** 2006. Microscopic fungi in the Atlantic rainforest in Cubatão, São Paulo, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 37: 244-252.
- Shearer, C.A., Descals, E., Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marvanova, L., Padgett, D., Porter, D., Raja, H.A., Schmit, J.P., Thorton, H.A. & Voglymayr, H.** 2007. Fungal biodiversity in aquatic habitats. Biodiversity and Conservation 16: 49-67.
- Sparrow Jr., F.K.** 1960. Aquatic Phycomycetes. 2 ed. University of Michigan Press, Ann Arbor.
- Steciow, M.M., Milanez, A.I., Pires-Zottarelli, C.L.A., Marano, A.V., Letcher, P.M. & Vêlez, C.G.** 2012. Zoosporic true fungi, heterotrophic straminipiles and plasmodiophorids: status of knowledge in South America. Darwiniana 50: 25-32.
- Watanabe, T.** 1987. *Plectospora myriandra*, a rediscovered water mold in Japanese soil. Mycologia 79: 77-81.