

**Universidade de São Paulo
Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Estudo da assembléia de macroinvertebrados em riachos da
Mata Atlântica, utilizando a técnica isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$**

Maurício Tassoni Filho

**Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Ciências. Área de
concentração: Ecologia Aplicada**

**Piracicaba
2010**

Maurício Tassoni Filho
Bacharel em Ciências Biológicas

Estudo da assembléia de macroinvertebrados em riachos da Mata Atlântica, utilizando a técnica isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

Orientador:
Dr. PLÍNIO BARBOSA DE CAMARGO

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ecologia Aplicada

Piracicaba
2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Tassoni Filho, Maurício

Estudo da assembléia de macroinvertebrados em riachos da Mata Atlântica, utilizando a técnica isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ / Maurício Tassoni Filho. - - Piracicaba, 2010.
79 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2010.
Bibliografia.

1. Bentos de água doce 2. Cobertura do solo 3. Invertebrados de água doce 4. Isótopos estáveis 5. Padrão alimentar para animal I. Título

CDD 574.52632
T215e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

**O ONTEM É HISTÓRIA.
O AMANHÃ É UM MISTÉRIO.
E O HOJE É UMA DÁDIVA.
É POR ISSO QUE SE CHAMA PRESENTE.**

Mestre Oogway

**DEDICO ESTE TRABALHO AOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS,
AOS MARAVILHOSOS INSETOS AQUÁTICOS,
E A MATA ATLÂNTICA, POR BRAVAMENTE AINDA EXISTIR.
MUITO OBRIGADO**

AGRADECIMENTOS

Ao orientador e amigo Plínio Barbosa de Camargo, por receber a mim e minhas idéias “malucas”, durante a iniciação científica. Por continuar acreditando em mim no mestrado. Por todo o apoio, todas as ótimas conversas e conselhos. E por realmente se importar.

Ao amigo Prof. Alexandre Leandro Pereira, pelo apoio no desenvolvimento desse mestrado. Pela grande ajuda nos intermináveis dias de campo. Por me apresentar o Isosource. E por todas as conversas, acadêmicas ou não.

Ao amigo Dr. Anderson Ferreira por sempre estar disposto a ouvir e apoiar minhas idéias. Pela ajuda no campo. E por descontrair o ambiente nos momentos de tensão.

Às técnicas Fabiana Cristina Fracassi e Maria Antonia Peres (Laboratório de Ecologia Isotópica-CENA) por toda a ajuda. E por agüentarem todos os meus pedidos de última hora.

A Neliton Ricardo Freitas de Lara, Fernanda Gáudio Augusto, Filipe Rafael Salvetti Nunes e Leonardo Martinelli, por toda ajuda no campo e no laboratório. Sem vocês eu ainda estaria triando amostras.

A minha esposa Carolina Corrêa Teracine, por todos os finais de semana e madrugadas triando, pesando e preparando amostras. E principalmente por não desistir de mim depois de tudo isso.

Aos meus pais, minha sogra e toda minha família, por sempre estarem do meu lado.

A todos os irmãos da Gloriosa Mansão Biosfera, principalmente aos velhos decreptos do meu ano (Netão, você também é do meu ano!), pelo apoio e amizade.

A todos do laboratório de Ecologia Isotópica (CENA-USP)

Ao Prof. Dr. Carlos A. Joly e Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli, coordenadores do Projeto Temático Biota Gradiente Funcional e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro para realização deste trabalho e concessão da bolsa.

Ao Ministério do Meio Ambiente (MMA), ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), pela autorização de coleta nº 16436-1.

Ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Ecologia Aplicada (ESALQ/CENA–USP).

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	15
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Objetivos.....	20
1.2 Hipóteses.....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Cadeias alimentares em riachos.....	21
2.2 Técnica isotópica.....	22
2.3 Os isótopos e as cadeias alimentares em riachos.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Área de Estudo.....	27
3.1.1 Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba.....	30
3.1.2 Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virginia.....	31
3.1.3 Ambientes Alterados.....	32
3.2 Coleta de material.....	33
3.2.1 Macroinvertebrados.....	34
3.2.2 Matéria orgânica particulada.....	35
3.2.3 Perifiton.....	36
3.2.4 Material vegetal.....	37
3.2.5 Variáveis abióticas.....	37
3.3 Análise isotópica.....	38
3.4 Análise dos resultados.....	38
3.4.1 Análise comparativa entre os organismos coletados nas florestas localizadas em diferentes altitudes.....	39
3.4.2 Análise comparativa entre os morfotipos coletados nas diferentes matrizes de uso do solo.....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Diferentes altitudes.....	44

4.1.1 Caracterização da assembléia e análises gerais	44
4.1.2 Análise de contribuição nos macroinvertebrados	46
4.1.3 Discussão	50
4.2 Uso do solo	52
4.2.1 Caracterização da assembléia e análises gerais	52
4.2.2 Análise de contribuição nos macroinvertebrados	54
4.2.3 Análise da origem e composição das fontes.....	58
4.2.4 Discussão	62
5 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	69

RESUMO

Estudo da assembléia de macroinvertebrados em riachos da Mata Atlântica, utilizando a técnica isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

Diversos estudos apontam uma forte influência do ambiente terrestre sobre os corpos d'água nele inseridos. No caso de riachos de cabeceira esta relação não se resume a variáveis químicas e físicas, mas também está ligada diretamente ao que chamamos de metabolismo do riacho, regulando o aporte direto de nutrientes em forma de folhíço e material particulado e a produtividade interna, através de incidência de luz. Estes são fatores que estão intrinsecamente ligados a manutenção deste metabolismo e por conseqüência da biodiversidade que existe nestes riachos. Este estudo, através da técnica isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e índices ecológicos (riqueza, abundância, diversidade, EPT e EPTC) comparou riachos de Mata Atlântica inseridos em ambientes com diferentes características. Primeiramente com relação à altitude, foram comparados riachos inseridos em matriz de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (5 a 50 m), sopé da Serra do Mar e de Floresta Ombrófila Densa Montana (500 a 1.200 m), topo da serra. E em um segundo momento, riachos em diferentes usos do solo, inseridos em matriz de floresta, eucalipto e pastagem. Foram encontradas diferenças não só relacionadas aos índices ecológicos, mas principalmente com relação as variáveis isotópicas, que apontaram mudanças nos padrões alimentares. Os riachos de terras baixas apresentaram um alto consumo de perifiton que foi substituído pelo consumo de material particulado nos riachos de altitude. O consumo de folhíço foi importante em ambas as altitudes e se manteve estável temporalmente. No caso de uso do solo, os riachos inseridos em plantações de eucalipto, seguiram um padrão muito próximo aos riachos florestados. Os padrões encontrados nos riachos de pastagem diferiram de ambas as fisionomias florestais apresentando um baixo consumo de folhíço e influência de plantas C4 na dieta de alguns invertebrados, além de uma grande variação interna explicada pela composição do folhíço e material particulado encontrados nestes riachos.

Palavras-chave: Isótopos estáveis; Padrão alimentar; Cobertura do solo; Variação altitudinal

ABSTRACT

Study of the assemblage of macroinvertebrates in streams of Mata Atlântica, using the isotope technique of $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

Several studies show a strong influence of terrestrial environment on streams contained therein. On headwater streams that influence is not just related to chemical and physical variables, but also is directly linked to what the stream metabolism, regulating the direct input of nutrients in the form of litter and particulate matter and internal productivity through light incidence. Factors that are inextricably linked to maintenance of these metabolism and consequently to the biodiversity that exists in these streams. This study, using the isotopic technique of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and ecological indexes (richness, abundance, diversity, EPT and EPTC) compared Atlantic Forest streams inserted in environments with different characteristics. We compared streams inserted in Tropical Rain Forest of lowlands (50-50 m), foothills of the Serra do Mar and Mountain Tropical Rain Forest (500-1200 m) upland. Also compared streams in different land uses, inserted into a matrix of forest, grassland and eucalyptus. Differences found on isotopic variables showed changes in dietary patterns. The lowland streams showed a high consumption of periphyton that was replaced by the consumption of particulate matter in the upland streams. Consumption of leaf litter was important in both altitudes and remained stable on both seasons. For land use comparison, streams inserted in eucalyptus plantations, followed a pattern similar to forested streams. The patterns found in pasture streams differed from both forest formations, showing a low consumption of leaf litter and influence of C4 plants in the diet of some invertebrates, as well as a large internal variation explained by the composition of litter and particulate matter collected in these streams.

Keywords: Stable isotopes; Dietary pattern; Land cover; Altitudinal variation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização dos Pontos de coleta (8).....	29
Figura 2 – Locais de coleta. (A) FTB1, (B) FTB2	31
Figura 3 – Locais de coleta. (A) FAL1/FLOa, (B) FAL2/FLOb	32
Figura 4 – Locais de coleta. (A) EUCa, (B) EUCb, (C) PASa, (D) PASb.....	33
Figura 5 – Amostradores. (A) Surber, (B) Rede-D	34
Figura 6 – Lavagem das amostras.	35
Figura 7 – Filtragem do material particulado.	36
Figura 8 – Amostra não filtrada de Perifiton.	37
Figura 9 – Dispersão contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento) e médias isotópicas acompanhadas dos desvios padrão dos macroinvertebrados coletados em ambas as campanhas. (A) FTB1; (B) FTB2.....	47
Figura 10 – Dispersão contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento) e médias isotópicas acompanhadas dos desvios padrão dos macroinvertebrados coletados em ambas as campanhas. (A) FAL1; (B) FAL2.....	48
Figura 11 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas durante a estação seca.	49
Figura 12 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas durante a estação chuvosa.....	50
Figura 13 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) FLOa; (B) FLOb	55
Figura 14 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) EUCa; (B) EUCb	56
Figura 15 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) PASa; (B) PASb.....	57

Figura 16 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas	58
Figura 17 – Contribuição de plantas C3 e C4 nos folhiços coletados nos ambientes alterados.....	59
Figura 18 – Comparação entre o POC e três possíveis origens (valores corrigidos pelo fracionamento) nos riachos de Eucalipto. (A) EUCa (B) EUCb.....	60
Figura 19 – Comparação entre o POC e três possíveis origens (valores corrigidos pelo fracionamento) nos riachos de Pastagem. (A) PASa (B) PASb	61
Figura 20 – Contribuição de plantas C3, C4 e algas do fitoplâncton no material particulado (POC) coletado nos ambientes alterados.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Pontos de coleta acompanhados por seus códigos (ID), bacia, núcleo, coordenadas (Lat/Long), classe de altitude (CA), uso do solo	30
Tabela 2 – Valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água nos riachos amostrados ($5 > n < 30$).	43
Tabela 3 – Caracterização dos riachos e entronos	44
Tabela 4 – Índices ecológicos calculados para cada altitude.	45
Tabela 5 – Médias dos valores isotópicos medidos para os macroinvertebrados coletados em cada altitude, acompanhadas de seus desvios padrão.	45
Tabela 6 – Médias dos valores isotópicos medidos para as fontes alimentares para cada classe de altitude, acompanhadas de seus desvios padrão ($6 < n > 16$).	46
Tabela 7 – Índices ecológicos calculados para cada uso do solo.	52
Tabela 8 – Médias dos valores isotópicos medidos para cada uso do solo acompanhadas de seus desvios padrão.	53
Tabela 9 – Médias dos valores isotópicos medidos para as fontes alimentares para cada uso do solo, acompanhadas de seus desvios padrão. ($6 < n > 12$).	54

1 INTRODUÇÃO

Macroinvertebrados bentônicos são organismos que habitam o substrato do fundo dos habitats de água doce (sedimentos, pedras, macrófitas, algas filamentosas, etc), durante pelo menos parte do seu ciclo de vida. Segundo Wiederholm (1983), são aqueles invertebrados que ficam retidos em peneiras com malha de 200 a 500 μm , embora os primeiros estágios de vida de algumas espécies sejam menores que estas dimensões (ROSEMBERG; RESCH, 1993).

Diversos estudos de qualidade de água consideram a comunidade de macroinvertebrados bentônicos como “variável biótica”, podendo também funcionar como indicativo de qualidade de habitat. Isto se deve ao fato desta comunidade sofrer diretamente os reflexos de alterações no meio, como por exemplo, variações na concentração de nitrogênio na água causadas por adubação nitrogenada (RUGENSKI et al., 2005). Outro aspecto importante da comunidade de macroinvertebrados é sua resiliência e resistência variável, a diferentes impactos, de acordo com o grupo taxonômico (YOUNT; NIEMI, 1990), sendo importante indicadora da capacidade de recuperação dos ambientes que habitam.

Os macroinvertebrados aquáticos estão presentes em todos os níveis tróficos consumidores, com uma atuação ecológica bem diversa nos ecossistemas aquáticos (CUMMINS; KLUG, 1979). Por exemplo, uma comunidade de fragmentadores chamados “desfibradores” converte partículas orgânicas grandes, provenientes de ambientes terrestres (como por exemplo: folhas), em uma forma mais acessível para fragmentadores menores, atuando como decompositores. Um segundo grupo de decompositores, os coletores, se alimenta de partículas produzidas pelos desfibradores menores, juntando-as aos sedimentos ou filtrando-as da coluna d’água (HEINO, 2005).

Um papel ecológico diferente é executado pelos “raspadores”, que se alimentam de perifiton (capa nutritiva formada por algas, protozoários, fungos e bactérias e que cresce em substrato aquático) (TUMWESIGYE; YUSUF; MAKANGA, 2000). Exemplos destes decompositores incluem os vermes achatados (Turbelária), que se alimentam de protozoários e de outros invertebrados (EATON, 2003). Essa diversidade de papéis

ecológicos torna os macroinvertebrados um importante elemento dentro da cadeia alimentar e no metabolismo do riacho.

Riachos são ambientes lóticos de pequeno porte, caracterizados por suas formas lineares, fluxo d'água contínuo e unidirecional, alternância de habitats e leitos instáveis (UIEDA; CASTRO, 1999; TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006). Os ecossistemas de riachos são espacialmente heterogêneos, tanto na diversidade de habitats quanto pela velocidade do fluxo, profundidade, substratos e condições de temperatura (FRISSELL; LONZARICH, 1996). Estes fatores estão estreitamente relacionados com a composição vegetativa das áreas em interface entre os ecossistemas terrestres e aquáticos (GREGORY et al., 1991), denominadas zonas ripárias (NAIMAN; DECAMPS; McCLAIN, 2005).

Segundo o conceito do rio contínuo, em riachos de cabeceiras, as florestas ripárias possuem uma grande influência na regulação do fluxo de energia e na ciclagem de nutrientes (VANNOTE et al., 1980). A presença da floresta ripária influencia na produção primária, que é regulada pelo sombreamento e pela entrada de detritos vegetais. No caso de riachos de cabeceira, esse sombreamento determina a diminuição da incidência de luz, acarretando uma razão produção e respiração inferior a um (1) (CALIJURI; BUBEL, 2006)

Alterações nos ecossistemas ripários acarretam modificações nas cadeias tróficas aquáticas e levam à desestruturação e homogeneização dos canais, que também proporcionam efeitos deletérios. A ausência de florestas ripárias pode acarretar na maior transferência de sedimentos para os corpos d'água, aumentando a turbidez e a perda de habitats através dos processos de assoreamento (FERREIRA; CASATTI, 2006; SILVA et al., 2007; KASANGAKI; CHAPMAN; BALIRWA, 2008). Estas alterações no substrato influenciam diretamente na composição das comunidades de macroinvertebrados (SPONSELLER; BENFIELD; VALETT, 2001; RIOS; BAILEY, 2006), que são, por exemplo, uma importante fonte alimentar para peixes de riachos (WATERS, 1995; RUSSO; FERREIRA; DIAS, 2002).

Mas não são apenas as alterações nas zonas ripárias que podem afetar a estrutura e a biota dos riachos. Modificações naturais ou antrópicas nas vertentes das microbacias também podem acarretar distúrbios nos ecossistemas aquáticos. Existem

vários estudos sobre as alterações da cobertura do solo sobre comunidades de macroinvertebrados e peixes em riachos das regiões temperadas, mas são escassos os trabalhos que abordam tal tema em riachos tropicais (OMETTO et al., 2000).

O uso de isótopos estáveis em estudos em ambientes aquáticos tem se tornado cada vez mais recorrente nos últimos anos, aparecendo em trabalhos em riachos (BUNN; DAVIES; KELLAWAY, 1997; MacLEOD; BARTON, 1998; FINLAY, 2001; MANTELATTO; CHRISTOFOLETTI; CAMARGO, 2002; CLAPCOTT; BUNN, 2003; ENGLAND; ROSEMOND, 2004; HERSHEY et al., 2007; RYBCZYNSKI et al., 2008), em ambientes lênticos (GU; SCHELSKE; HOYER, 1997; BEAUDOIN et al., 1999; VANDER ZANDER et al., 2000; POST, 2002; KELLY; JONES; GRAY, 2004; CLARKE; VIDERGAR; BENNETT, 2005; OLIVEIRA et al., 2006), em rios e reservatórios (FORSBERG et al., 1993; VAZ et al., 1999; LEWIS JUNIOR et al., 2001; MANETTA BENEDITO-CECILIO; MARTINELLI, 2003; LOPES et al., 2006; LOPES; BENEDITO-CECILIO; MARTINELLI, 2007; PEREIRA; BENEDITO; SAKURAGUI, 2007). Além disso, o uso de isótopos estáveis em estudos de ecologia de riachos pode ser utilizado como subsídio para o conhecimento das interações entre a zona ripária e os córregos. As informações oriundas dos sinais isotópicos podem: determinar padrões, comparar processos ecológicos das zonas ripárias em diferentes regiões, e identificar os efeitos das alterações antrópicas, como práticas de agricultura ou desmatamentos, nas interações entre a cobertura do solo e os corpos d'água (MINSHALL; RUGENSKI, 2007).

Em estudos ambientais, a aplicação da composição isotópica do carbono é fundamentada na variação natural que existe, nos diversos elementos do ecossistema (MARTINELLI et al., 1988), e essa variação é medida através da razão isotópica, que é expressa pela relação entre o isótopo raro, em geral o isótopo mais pesado, e o isótopo mais abundante, chamado, normalmente, de leve. No caso do carbono e nitrogênio, estas razões são representadas por $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, respectivamente (FLANAGAN; EHLERINGER, 1991).

Para a utilização da metodologia isotópica, é necessário um conhecimento prévio a respeito do objeto de estudo, como por exemplo, o comportamento e os hábitos

alimentares e uma avaliação prévia de todas as possíveis fontes (GANNES; O'BRIEN; MARTINEZ, 1998; WEBSTER et al., 2002).

1.1 Objetivos

O presente estudo teve o objetivo de identificar se há variação na comunidade de macroinvertebrados bentônicos e de suas possíveis fontes alimentares, entre ambientes naturais e alterados, sendo os ambientes alterados divididos em ambiente com matriz de pasto e ambientes inseridos em matriz de eucalipto, além de comparar ambientes naturais localizados em classes de altitudes extremas, utilizando-se sobre tudo, a técnica isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$.

1.2 Hipóteses

h1: As variáveis isotópicas sofrem alterações decorrentes da mudança de classe de altitude, assim como as variáveis ecológicas e ambientais.

h2: As fontes alimentares presentes em riachos preservados tem a mesma importância relativa, independentemente das alterações de classe de altitude.

h3: As variáveis isotópicas sofrem alterações decorrentes da mudança do uso do solo, assim como as variáveis ecológicas e ambientais.

h4: A presença de material de origem C4 na zona ripária de riachos de cabeceira torna essa origem uma importante fonte para o metabolismo do riacho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cadeias alimentares em riachos

A manutenção da biodiversidade aquática depende, em parte, das funções ecológicas desempenhadas pelas matas, principalmente no fornecimento de uma variedade de alimentos terrestres de origem vegetal e animal que caem na água (BARRELA; PETRERE JUNIOR, 2001). A fonte primária destes alimentos tem origem alóctone, que é dependente dos nutrientes da matéria orgânica oriunda da vegetação ripária, considerada a base da cadeia trófica em riachos (GREGORY et al., 1991; BRETSCHKO; WAIDBCHER, 2001; SABINO; DEUS E SILVA, 2004).

Trabalhos vêm enfocando como as alterações no uso e cobertura do solo, principalmente nas zonas ripárias, interferem na comunidade de macroinvertebrados aquáticos em riachos (RICHARDS; JOHNSON; HOST, 1996; ALLAN; ERICKSON; FAY, 1997; QUINN et al., 1997; SPONSELLER; BENFIELD; VALETT, 2001; TOWNSEND et al., 2004; CORBI; TRIVINO-STRIXINO, 2006; RIOS; BAILEY, 2006; BONADA et al., 2008; KASANGAKI; CHAPMAN; BALIRWA, 2008). Sponseller, Benfield e Valett (2001) e Rios e Bailey (2006) encontraram maior riqueza e diversidade de macroinvertebrados aquáticos em riachos com maior cobertura florestal nas zonas ripárias.

Com relação a diferentes altitudes, trabalhos afirmam que a diversidade, riqueza e estrutura da comunidade de macroinvertebrados acompanham as mudanças físicas e químicas do ambiente aquático no sentido montante-jusante, de acordo com a mudança de ordem do corpo d'água lótico e que nesse mesmo gradiente, existe uma mudança de hábito e disponibilidade alimentar (VANNOTE et al., 1980; WARD, 1986, PALMER et al., 1994, GRUBAUGH; WALLACE; HOUSTON, 1996, TOMANOVA et al., 2007). Vannote et al. (1980) sugeriram que a riqueza de espécies aumenta em consequência do aumento do tamanho do rio. Entretanto o padrão de diversidade dos macroinvertebrados ao longo de uma gradiente longitudinal ainda gera discussão (VINSON; HAWKINS, 1998). Arscott, Tockner e Ward (2005) investigaram a relação entre riqueza e tamanho de rio, e encontraram uma baixa riqueza nos riachos de cabeceira, que aumentou nos riachos de ordem mediana e voltou a cair nos rios maiores. Já Melo e Froehlich (2001), Yule et al. (2009) e Gowns e Davis (1994) encontraram maior riqueza em riachos de

cabeceira em altitude. Jacobsen (2003) encontrou um gradiente de perda de diversidade no sentido jusante a montante. Porém, segundo o “river continuum concept” (VANNOTE et al., 1980) riachos de mesma ordem, mesmo que em diferentes altitudes, apresentariam o mesmo padrão de hábito e disponibilidade alimentar, assim como o de diversidade e riqueza, decorrentes exclusivamente das condições de sombreamento e dependência do material alóctone.

Há alguns anos, trabalhos utilizam as técnicas isotópicas para verificar as interferências que as alterações do uso e cobertura do solo, podem proporcionar no ecossistema aquático (ROSENFELD; ROFF, 1992; BUNN; DAVIES; KELLAWAY, 1997; HICKS, 1997; CLAPCOTT; BUNN, 2003; ENGLAND; ROSEMOND, 2004; VIEIRA, 2005). Mais recentemente, alguns trabalhos passaram a utilizar técnicas isotópicas para verificar a influência de mudanças espaço-temporais, de altitude e sazonalidade (ZAH, 2001, FÜREDER; WELTER; JACKSON, 2003)

2.2 Técnica isotópica

Isótopos são espécies químicas do mesmo elemento, ou seja, apresentam o mesmo número atômico (Z número de prótons), mas diferem em número de nêutrons (N) que compõem o núcleo, fazendo com que essas espécies químicas tenham massas atômicas diferentes ($A = Z + N$) (EHLERINGER; RUNDEL, 1989). São chamados de estáveis quando não emitem energia ou partículas, em contraposição aos radioativos. Os isótopos mais abundantes são normalmente os que encontramos nas tabelas periódicas, e podem, também, ser denominados leves, enquanto que os com excesso de nêutrons, ou massa atômica maior são mais raros e também chamados de pesados (OMETTO et al., 2005).

A razão entre o isótopo raro (pesado) e o mais abundante (leve) de uma amostra, comparada a de um padrão internacional, determina o sinal isotópico, ou composição isotópica desta amostra. Estas razões são mensuradas em um espectrômetro de massas e expressas pela notação δ , acompanhada do símbolo ‰ (por mil) por serem numericamente muito pequenas, fazendo-se necessária uma multiplicação dos resultados dessa medida por 1.000 (Equação 1) (MARTINELLI et al., 2009). Para a análise isotópica de cada elemento químico são utilizados diferentes padrões

internacionais, para que estas sejam comparáveis à análises realizadas em diferentes laboratórios. No caso do Carbono (C) o padrão internacional é o PDB (Pee dee Belamite), um fóssil de *Belemnitella* da formação Peedee da Carolina do Sul (EUA), e para o nitrogênio, utiliza-se o nitrogênio atmosférico (N₂) (OMETTO et al., 2005).

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} = \left(\frac{R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}}{R_{\text{padrão}}} \right) * 1000 \quad \text{Equação 1}$$

(Na qual R é a relação ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N.

A composição isotópica varia de forma previsível (e muitas vezes conhecida) conforme o elemento cicla na natureza. (OMETTO et al., 2005) e isso traz uma grande vantagem para a utilização desta técnica. Um bom exemplo são os vegetais vasculares terrestres, pois estes são classificados através dos diferentes processos fotossintéticos (ciclo C3, C4 e CAM), o que é a chave para a discriminação isotópica do carbono (OMETTO et al., 2005).

As plantas que seguem o ciclo C3, que representam grande parte dos vegetais superiores (árvores, arbustos, ervas e algumas gramíneas), reduzem o CO₂ para a forma de fosfoglicerato (um composto de três carbonos) através da enzima RuBP carboxilase. Esta enzima apresenta maior afinidade química pelo CO₂ formado por átomos de carbono mais leves (¹²C), discriminando o ¹³CO₂. O resultado são valores de δ¹³C relativamente mais leve (mais negativos), com média de -28‰.

As plantas conhecidas como C4 (a maioria das gramíneas, como cana, cultivares de pastagem e milho), reduzem o CO₂ a ácido aspártico ou ácido málico, compostos com quatro carbonos, utilizando a enzima PEP carboxilase, que não discrimina o ¹³C, tanto quanto a RuBP carboxilase. Assim, plantas C4 têm valores de δ¹³C relativamente mais pesado (mais positivos) com média de -12‰ (BOUTTON, 1991).

Nas plantas CAM (orquídeas, cactos e bromélias), as enzimas de carboxilação são as mesmas utilizadas no ciclo C₄, porém a atividade enzimática é dependente da luminosidade. À noite, o CO₂ é capturado pela PEP-carboxilase, e o malato formado pela carboxilação do oxaloacetato é armazenado no vacúolo. Durante o dia, o malato

armazenado é transportado ao citoplasma, sendo descarboxilado, e o CO₂ é fixado por meio do ciclo C3. Desta forma, as plantas CAM apresentam valores isotópicos intermediários entre as plantas C3 e C4 (FARQUHAR; EHLERINGER; HUBICK, 1989; OMETTO et al., 2005).

Desta forma, as plantas C3 e C4 apresentam valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ distintos, o que é uma das condições básicas para o uso de isótopos estáveis em estudos de cadeias alimentares, nas quais ocorre transferência de carbono entre elementos do ecossistema. Isótopos estáveis pesados de carbono (¹³C) e nitrogênio (¹⁵N) são especialmente usados para compreender as transferências de carbono e nitrogênio de produtores primários para consumidores primários e secundários. Em muitos ecossistemas, a matéria orgânica possui diferentes razões de ¹³C/¹²C e ¹⁵N/¹⁴N. As dietas de animais podem ser inferidas pelas razões isotópicas de seus tecidos, pois o sinal isotópico de suas fontes alimentares é refletido neles (MARTINELLI et al., 2009).

Compara-se, então, a razão isotópica no organismo com a de suas possíveis fontes alimentares (MARTINELLI et al., 1988), considerando as diferenças entre os valores isotópicos do tecido animal e o de sua dieta. Essa diferença é chamada de fracionamento isotópico e é resultante dos processos decorrentes durante a digestão, a absorção, a assimilação e a excreção dos nutrientes (DeNIRO; EPSTEIN, 1978, 1981).

Os organismos que compõem as cadeias alimentares refletem os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ das suas fontes de energia, com um fracionamento isotópico de 0 a 1‰, somado a cada nível trófico (POST, 2002). Contudo a complexidade na interpretação dos valores isotópicos de carbono, na investigação sobre as possíveis fontes alimentares, indica a necessidade de complementação com outros isótopos como o nitrogênio (FRY; SHERR, 1984).

A investigação da influência da dieta na distribuição de isótopos de nitrogênio em animais evidenciou que, os tecidos animais apresentam normalmente valores maiores de ¹⁵N em relação aos encontrados em plantas. Esse progressivo enriquecimento demonstrado em tecidos animais é decorrência dos caminhos catabólicos que favorecem a liberação do isótopo mais leve. Sendo assim, a cada nível trófico ocorre um aumento no valor isotópico do $\delta^{15}\text{N}$ (MARTINELLI et al., 2009).

Por conta disso o $\delta^{15}\text{N}$ vem sendo utilizado na caracterização da posição trófica dos organismos nas cadeias alimentares, principalmente nos ecossistemas aquáticos (PETERSON; FRY, 1987; VANDER ZANDER; CABANA; RASMUSSEN, 1997; VANDER ZANDER et al., 2000; POST, 2002; ANDERSON; CABANA, 2007; RYBCZYNSKI et al., 2008). Minagawa e Wada (1984) verificaram um enriquecimento de ^{15}N na cadeia alimentar, variando entre 1,3 a 5,3‰, com média de 3,4‰ por nível trófico, onde os $\delta^{15}\text{N}$ dos consumidores se mostraram mais pesados quando comparados a dieta. Com base nisso se considerarmos algas, com $\delta^{13}\text{C} = -30‰$ e $\delta^{15}\text{N} = 0‰$, como a única fonte alimentar de um animal, a composição isotópica do animal será em torno de $\delta^{13}\text{C} = -30$ a $-29‰$ e $\delta^{15}\text{N} = 2,5$ a $3,5‰$ (HERSHEY et al., 2007).

2.3 Os isótopos e as cadeias alimentares em riachos

A utilização conjunta de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio pode ser uma ótima ferramenta para o entendimento de processos e interações das zonas ripárias com os riachos, além da compreensão de questões complexas sobre interações tróficas (MINSHALL; RUGENSKI, 2007), podendo até estabelecer a relativa importância dos recursos energéticos aquáticos e terrestres na manutenção das cadeias alimentares de riachos, desde que as origens destes recursos possuam assinaturas isotópicas diferentes (FINLAY, 2001; ENGLAND; ROSEMOND, 2004). Informações como estas, podem ser usadas para determinar padrões, comparar processos das zonas ripárias de diferentes regiões, além de determinar os efeitos de alterações, como desmatamentos e práticas de agricultura, que trazem impactos ou substituem a vegetação de zonas ripárias e nas interações entre estas e os corpos d'água que circundam (MINSHALL; RUGENSKI, 2007).

A cobertura florestal em muitas bacias hidrográficas foi substituída pelo cultivo de cana-de-açúcar, em muitas regiões da Austrália, o que resultou na ausência de sombreamento nos corpos d'água e obstrução dos canais dos riachos por macrófitas aquáticas e semi-aquáticas (BUNN; DAVIES; KELLAWAY, 1997). Através de dados isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, Bunn, Davies e Kellaway (1997) notaram que a transferência de cana-de-açúcar e outras plantas C4 como fontes primárias para a rede alimentar aquática foram baixas. A ausência significativa da entrada de material de origem C3,

oriundos das zonas ripárias e o aumento da produção primária interna (proliferação de algas) nos riachos, fez com que a comunidade de invertebrados aquáticos mudasse e passasse a utilizar esse novo recurso autóctone. Por conta disso, os autores sugerem que apenas a recuperação das florestas ripárias resultará na redução da produção primária excessiva no interior dos riachos, e restabelecerá o abastecimento do estoque de detritos para a manutenção das redes alimentares aquáticas.

Através de um estudo da composição isotópica da vegetação ripária e da comunidade de macroinvertebrados, Clapcott e Bunn (2003) concluíram que plantas C4, não têm uma presença significativa na nutrição destes organismos, e que, por isso, no processo de substituição da vegetação nativa por monocultura de plantas C4 na Austrália, as comunidades de macroinvertebrados bentônicos sofreram uma drástica alteração de composição (riqueza e abundância).

Füreder, Welder e Jackson (2003) utilizaram a técnica isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, para analisar a dieta dos macroinvertebrados em riachos dos Alpes na Áustria, e verificaram que apesar da importância do material alóctone ser muito difundida na literatura, a falta de cobertura florestal nestes riachos tornou o consumo de algas bastante significativo, principalmente em riacho glaciais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

Segundo a classificação do IBGE, a Floresta Ombrófila Densa Atlântica sensu lato se estendia desde o Cabo de São Roque, no estado do Rio Grande do Norte, até o município de Osório, no Rio Grande do Sul. Mesmo sendo considerada um “hot spot” (MYERS et al., 2000), estudos mostraram que há pouco mais de uma década atrás restavam apenas 7,6% da cobertura original da Mata Atlântica (SOS MATA ATLÂNTICA, 1993).

Na latitude das áreas de estudo, que ficam na faixa entre 16 e 24° S, seguindo o sistema fisionômico-ecológico de classificação da vegetação brasileira adotado pelo IBGE (VELOSO; RANGEL FILHO; LIMA, 1991), encontramos uma Mata Atlântica subdividida em: 1) Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas - 5 a 50 m de altitude sobre solo de restinga; 2) Floresta Ombrófila Densa Submontana – no sopé da Serra do Mar, com cotas de altitude variando entre 50 e 500 m; 3) Floresta Ombrófila Densa Montana – recobrimo a encosta da Serra do Mar propriamente dita, em altitudes que variam de 500 a 1.200 m; 4) Floresta Ombrófila Densa Altimontana – ocorrendo no topo da Serra do Mar, acima dos limites estabelecidos para a formação montana, onde a vegetação praticamente deixa de ser arbórea, pois predominam os campos de altitude.

Essa divisão em classes de altitude está também, diretamente, relacionada com o funcionamento da floresta e processos que nela ocorrem. Florestas de altitude geralmente têm uma produtividade menor se comparadas a florestas de terras baixas, por consequência da menor incidência de luz que recebem por causa da maior cobertura de nuvens. Além disso, estudos apontam que a quantidade de nitrogênio e fósforo também é geralmente menor em florestas de altitude, principalmente, devido à menor quantidade de serapilheira produzida (TANNER; VITOUSEK; CUEVAS, 1998; SOLLINS, 1998). No caso da área estudada, apesar de existir uma menor produção de biomassa nas florestas de altitude, a matéria orgânica acumulada no solo é maior devido à menor decomposição, por conta disso, ocorre um acúmulo C e N na camada superficial do solo (MARTINS, 2010).

Caracterizados por apresentarem pequeno volume d’água, devido a sua formação difusa nas encostas, os rios do litoral norte, de modo geral, são constituídos

de curtos trechos meândricos de planície e de quedas d'água de regime torrencial na estação chuvosa. Possuem leitos formados predominantemente por rochas, águas límpidas, correnteza forte e alta concentração de oxigênio dissolvido.

Nos trechos com mata ciliar, a menor incidência de luz solar determina valores mais baixos de temperatura e a mata contribui com material vegetal alóctone, sobre forma de folhas e ramos, que se acumulam no fundo. Tais ambientes podem ser divididos em três tipos: riachos de montanha ou de cabeceira, riachos de planície e riachos litorâneos, todos com características químicas, físicas e biológicas peculiares (OYAKAWA et al., 2006).

Entre os principais cursos d'água destacam-se os rios: Grande, Indaiá, Itamambuca e da Fazenda, localizados em Ubatuba (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 2006, 2007). Segundo os resultados obtidos pela CETESB (2006, 2007), o principal fator de degradação desses corpos d'água é a poluição fecal advinda de esgotos domésticos na área urbana sem o devido tratamento, o que pode levar o corpo d'água a processos de eutrofização, depleção dos níveis de oxigênio dissolvido, entre outros, trazendo prejuízos significativos à biota aquática.

Com quase 315 mil ha, numa extensão que vai desde a divisa de São Paulo com o Rio de Janeiro até Itariri, no sul do estado, o Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), criado em 1977 através do Decreto Estadual n.º 10.251, 17 de 30 de agosto de 1977 (posteriormente alterado pelo Decreto Estadual n.º 13.313 de 06 de março de 1979), representa a maior porção contínua preservada de Mata Atlântica do Brasil. No seu limite norte, o PESM apresenta uma pequena sobreposição com o Parque Nacional da Serra da Bocaina. Devido às suas dimensões, o PESM é administrado por Núcleos, que são bases instaladas em áreas de domínio do estado.

No presente trabalho as áreas de estudo, inseridas em matriz de Floresta Ombrófila Densa, foram selecionadas dentro do Parque Estadual da Serra do Mar, sendo duas no Núcleo Picinguaba, representando riachos inseridos em Floresta Ombrófila Densa de terras baixas e duas no Núcleo Santa Virgínia, representando riachos inseridos em Floresta Ombrófila Densa Montana. Também foram selecionadas áreas alteradas localizadas nos arredores do Núcleo Santa Virgínia, sendo duas

inseridas em matriz de pastagem e duas em áreas de floresta plantada com eucalipto, totalizando 8 pontos de coleta (Figura 1 e Tabela 1).



Figura 1 – Localização dos Pontos de coleta (8)

Tabela 1 – Pontos de coleta acompanhados por seus códigos (ID), bacia, núcleo, coordenadas (Lat/Long), classe de altitude (CA), uso do solo

Nome	ID*	Bacia	Núcleo	Lat / Long	CA	Uso do solo
Rio do Buracão	FTB1	Rio Indaiá (Costeira)	Picinguaba	23°23'26.9"S / 45° 4'22.3"O	5 – 50 m	Floresta
Afluente Rio da Fazenda	FTB2	Rio da Fazenda (Costeira)	Picinguaba	23°20'36.5"S / 44°50'57.7"O	5 – 50 m	Floresta
Córrego do Barro Branco	FAL1/FLOa	Paraíba do Sul	Santa Virginia	23°20'37.7"S / 45°7'44.5"O	500 – 1100 m	Floresta
Riacho da Casa de Pedra	FAL2/FLOb	Paraíba do Sul	Santa Virginia	23°19'11.2"S / 45°5'39.8"O	500 – 1100 m	Floresta
Riacho Fazenda Sertãozinho II	EUCa	Paraíba do Sul	Santa Virginia**	23°15'19.9"S / 45°10'16.3"O	500 – 1100 m	Eucalipto
Riacho Fazenda Nevada	EUCb	Paraíba do Sul	Santa Virginia**	23°18'2.7"S / 45°13'1.9"O	500 – 1100 m	Eucalipto
Riacho da Vargem Grande	PASa	Paraíba do Sul	Santa Virginia**	23°25'17.0"S / 45°15'6.4"O	500 – 1100 m	Pastagem
Afluente Rio Cachoeirinha	PASb	Paraíba do Sul	Santa Virginia**	23°16'31.9"S / 45°13'10.4"O	500 – 1100 m	Pastagem

* Os ID estão acompanhados de a/1 ou b/2, para identificar cada réplica.

**Os pontos alterados estão localizados nos arredores do Parque

3.1.1 Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba

O Núcleo Picinguaba está localizado no município de Ubatuba, nas coordenadas 23° 31' a 23° 34' S e 45° 02' a 45° 05' W. Com uma área total de aproximadamente 47.500 ha o Núcleo Picinguaba é a única porção do Parque Estadual da Serra do Mar que atinge a orla marinha (SÃO PAULO, 1996). Por conta disso, encontramos neste

núcleo uma grande variedade de ecossistemas, que inclui desde formações pioneiras como Dunas e Caxetais, passando por Mangues, até formações florestais muito complexas como Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas ou Mata de Restinga, Floresta Ombrófila Densa Submontana e Floresta Ombrófila Densa Montana (ASSIS, 1999).

Com relação ao relevo, também, encontramos uma grande diversidade. Dominado pela Planície Costeira e com altitudes variando do nível do mar a 1.340 m, o Núcleo Picinguaba também tem morros isolados e serras alongadas da Morraria Costeira, atingindo no seu limite interior, escarpas festonadas e espigões digitados, da Serrania Costeira (PONÇANO et al., 1981). O clima regional é tropical úmido, sem estação seca (SETZER, 1966), com uma precipitação média anual superior a 2.200 mm e com médias mensais nunca inferiores a 80 mm, mesmo nos meses mais secos.

Neste Núcleo estão contidos 2 dos 8 pontos de coleta (Figura 2), ambos florestados, com altitudes de no máximo 50 m, porém sem a influência das marés e água salina. Classificados como riachos de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas, serão tratados como FTB.

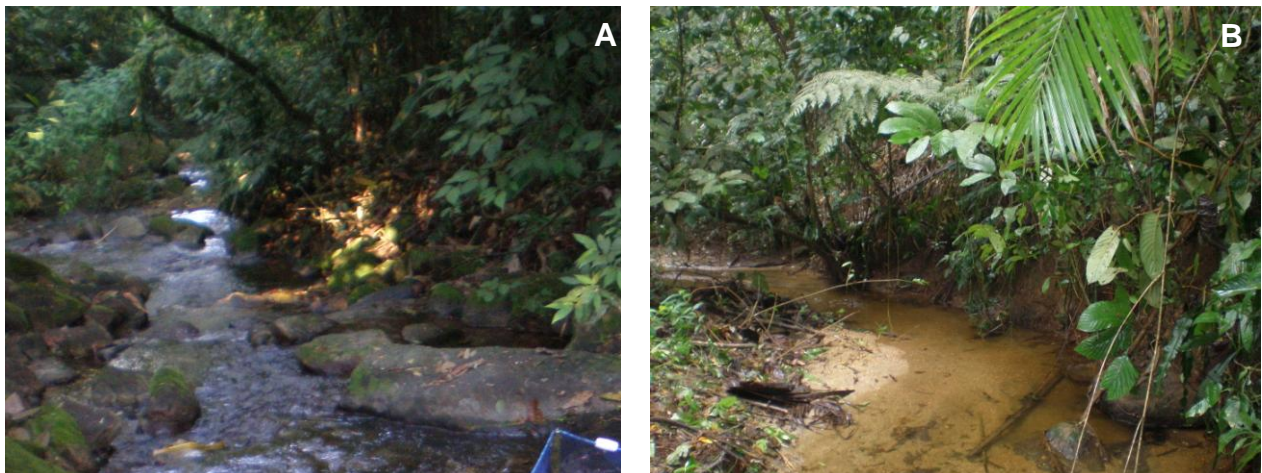


Figura 2 – Locais de coleta. (A) FTB1, (B) FTB2

3.1.2. Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia

O Núcleo Santa Virgínia, localizado nas coordenadas 23° 17' a 23° 24' S e 45° 03' a 45° 11' W, tem seus cerca de 5.000 ha divididos entre os municípios de São Luís do

Paraitinga onde se localiza a maior parte desse núcleo (70%), Cunha (20%) e Ubatuba (10%). Com uma altitude que varia de 850 a 1.100 m, o Núcleo Santa Virgínia, é predominantemente Floresta Ombrófila Densa Montana (VELOSO et al., 1991). Nesta região de escarpas e reversos da Serra do Mar, no Planalto de Paraitinga e Paraibuna, o relevo apresenta fortes declividades (24° a 37°). O clima regional é tropical temperado, sem estação seca (SETZER, 1966). Mesmo nos meses mais secos, junho a agosto, a precipitação média mensal nunca é inferior a 60 mm e a precipitação média anual é superior a 2.000 mm.

Neste núcleo, estão localizados outros 2 pontos amostrados neste trabalho (Figura 3), ambos inseridos em matriz de Floresta Ombrófila Densa Montana, a uma altitude superior aos 800 m. Classificados como riachos de Floresta Ombrófila Densa de Altitude, serão tratados como FAL quando forem comparados com FTB, com relação a mudanças de classe de altitude. Para comparações relacionadas a uso do solo, estes pontos serão denominados FLO e classificados como riachos inseridos no uso do solo floresta.



Figura 3 – Locais de coleta. (A) FAL1/FLOa, (B) FAL2/FLOb

3.1.3. Ambientes Alterados

Os 4 pontos restantes estão inseridos em ambientes alterados, sendo 2 em matriz de floresta plantada de eucalipto, denominados EUC, e 2 em matriz de pastagem, denominados PAS. Todos os pontos de ambientes alterados foram selecionados no entorno do Núcleo Santa Virgínia, e serão comparados com relação ao uso do solo, com FLO.



Figura 4 – Locais de coleta. (A) EUCa, (B) EUCb, (C) PASa, (D) PASb

3.2 Coleta de material

As coletas foram realizadas em 2 (duas) campanhas, buscando abranger a variabilidade climática e a amplitude de vazão dos córregos, a primeira em setembro e outubro de 2008 (período menos chuvoso) e a segunda em janeiro de 2009 (período mais chuvoso). Material referente à comparação de uso do solo foi coletado apenas na primeira campanha, por não se esperar alterações temporais mais significativas do que as relacionadas com a substituição das florestas ripárias.

Nessas campanhas foram coletadas amostras de macroinvertebrados, matéria orgânica particulada em suspensão, perifiton, material vegetal em ambiente deposicional, material vegetal vivo das margens dos pontos amostrados, além de variáveis abióticas, sendo que as últimas só foram utilizadas para a caracterização de

cada ponto. Os dados referentes ao perifiton, material particulado e material vegetal vivo, foram coletados em mais duas campanhas uma anterior (maio de 2008) e outra posterior (abril de 2009) as duas campanhas supracitadas, para abranger uma maior variabilidade natural desse tipo de material.

3.2.1 Macroinvertebrados

Para coleta de macroinvertebrados utilizou-se um amostrador tipo Surber (Figura 5), com área de 20X20 cm, e malha com abertura de 250 μm . Foram selecionados 3 pontos nos quais havia substrato com granulometria fina (cascalho fino, areia, silte, lodo, entre outros) e nesses pontos foi realizada uma coleta no centro e em uma das margens do córrego. Para fins de análise, foi considerado como unidade amostral o ponto selecionado, incluindo as duas amostras (margem e centro). Foi utilizada também uma rede-D (Figura 5), com malha de 250 μm . A amostragem com rede-D foi realizada em 3 pontos distintos dos utilizado para o Surber, com um tempo de exposição de 4 min, revolvendo ou lavando o substrato logo a frente da rede e deixando que a correnteza levasse o material para dentro da mesma. As amostras foram retiradas de um trecho de no máximo 100 m do riacho e o material coletado foi posteriormente colocado em uma caixa térmica com gelo e congelado logo após a coleta.



Figura 5 – Amostradores. (A) Surber, (B) Rede-D

A triagem de todo o material foi feita através da lavagem do mesmo e separação dos organismos (Figura 6). Na lavagem foram utilizadas peneiras granulométricas de 2,8 mm e 0,5 mm. O material resultante das lavagens foi fixado em álcool 70%. A identificação foi feita ao nível de família e os organismos foram separados em morfotipos sob microscópio estereoscópico.



Figura 6 – Lavagem das amostras

3.2.2 Matéria orgânica particulada

A matéria orgânica em sistemas aquáticos envolve um amplo espectro, que vai de formas particuladas, passando por colóides e chegando as formas dissolvidas. De cada um dos riachos foram coletados 10 litros (10L) de água corrente (há pelo menos 10 cm da superfície) que posteriormente foram passados em filtros de fibra de quartzo, pré-calcinados, com porosidade de 0,70 mm até que os mesmos estivessem totalmente obstruídos. Para a análise da composição isotópica desse material foram utilizados 9 (nove) discos cortados dos próprios filtros. Os procedimentos de filtragem do material em suspensão foram realizados logo após as coletas (Figura 7).



Figura 7 – Filtragem do material particulado

3.2.3 Perifiton

Foram coletadas rochas ou macrófitas no leito dos riachos, estas foram guardadas em sacos plásticos, acondicionadas em uma caixa térmica e levadas ao alojamento, o material aderido foi raspado utilizando-se uma lâmina de gilete revestida por uma folha de papel alumínio e/ou escovado com a ajuda de uma escova de dente ultra macia. O substrato foi lavado com ajuda de uma pisseta, coletando-se o material lavado em uma placa de Petri (Figura 8). A solução resultante foi passada em filtros de fibra de quartzo, pré-calcinados, com porosidade de 0,70 mm até que os mesmos estivessem totalmente obstruídos. Para a análise da composição isotópica foram utilizados, também, 9 (nove) discos cortados do próprio filtro.



Figura 8 – Amostra não filtrada de Perifiton

3.2.4 Material vegetal

Restos vegetais presentes em ambientes deposicionais no riacho foram também coletados para determinações isotópicas. Para tal, foram selecionados 3 pontos no riacho e destes foi coletada, utilizando-se uma rede-D (comumente utilizada para coleta de macroinvertebrados), uma quantidade suficiente para encher um saco de 500 ml de volume. Nos meses subsequentes a coleta, esse material foi triado para a retirada de partículas de sedimento e de possíveis organismos. Esse material também foi congelado logo após a coleta e anteriormente, acondicionado em uma caixa térmica com gelo.

Também foi coletado material vegetativo das plantas no entorno do ponto de coleta e eventuais macrófitas presentes no riacho, para estabelecer um sinal isotópico médio de plantas C3 e C4 para cada ponto.

3.2.5 Variáveis abióticas

Foram medidas as seguintes variáveis: temperatura e oxigênio dissolvido (eletrodo específico da marca YSI, modelo 5905) no campo em 5 pontos distintos do trecho de coleta. Além de pH (Orion pH meter – model EA940) e condutividade elétrica (Digital Conductivity Meter - Amber Science Inc., Model 2052), tomados de amostras levadas ao laboratório. Estes dados foram utilizados visando uma caracterização geral dos riachos.

Além disso, foram feitas observações a respeito do tipo de substrato (rochoso ou arenoso), tipo de solo do entorno (rochoso, arenoso, ou argiloso), presecção e estado de conservação da mata ciliar (ausente, degradada, conservada), presença de plantas C3 e C4 (predominante, muito presente, presente e ausente), grau de sombreamento (não sombreado, parcialmente sombreado, sombreado)

3.3 Análise isotópica

Para as análises elementares e isotópicas as amostras foram secas a 60°C por 48 horas, e moídas abaixo de 250 micra. Quando os materiais eram de origem vegetal, a análise isotópica respeitou a metodologia para análises isotópicas de amostras de plantas, que consistem em pesar de 1,5-2,0 mg de material em cápsulas de estanho; no caso de materiais de origem animal as quantidades foram variáveis dependendo da quantidade de amostra disponível, mas nunca excedendo 1,2 mg. As cápsulas foram encaminhadas a um analisador. A média isotópica de cada um dos morfotipos e fontes alimentares, para cada ponto amostral, é constituída de no máximo 7 amostras, alguns morfotipos apresentaram material suficiente para apenas uma amostra, neste caso foi usado o valor bruto no lugar de uma média.

As composições isotópicas de carbono e nitrogênio foram determinadas pela combustão “on-line” da amostra por CF-IRMS em um analisador elementar Carlo Erba (CHN-1110) acoplado ao espectrômetro de massas Delta Plus. Os gases CO₂ e N₂ liberados foram purificados de outros subprodutos da combustão e foram separados por cromatografia gasosa antes de serem injetados no espectrômetro de massas. Todas estas análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/USP.

3.4 Análise dos resultados

A análise de resultados foi feita em duas partes. A primeira comparando riachos inseridos em matriz de Floresta Ombrófila Densa Montana e de Terras Baixas (FAL e FTB), visando verificar diferenças decorrentes da mudança de classe de altitude. A segunda comparando diferentes usos do solo, utilizando os riachos inseridos em matriz

de pastagem, plantação de eucalipto e Floresta Ombrófila Densa Montana (PAS, EUC, FLO), visando encontrar alterações decorrentes da substituição da vegetação ripária e do entorno.

3.4.1 Análise comparativa entre os organismos coletados nas florestas localizadas em diferentes altitudes

No caso desta análise, como existe a variável temporal, as réplicas foram agrupadas por tempo amostral, gerando categorias denominadas, floresta de altitude (FAL) e floresta de terras baixas (FTB), acompanhadas de “seca” ou “chuva” para especificar a primeira ou segunda coleta. Houve além de uma comparação espacial, considerando as diferentes altitudes, uma comparação temporal.

Os dados coletados nas réplicas foram analisados em conjunto, visando considerar a variabilidade natural dentro de cada tipo de ambiente. Sendo assim foi calculada a diversidade, riqueza e abundância de cada uma das fisionomias, além dos índices EPT (gerado através a soma dos morfotipos coletados, pertencentes às ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera) e EPTC (gerado através da razão entre a soma do número de indivíduos coletados, pertencentes às mesmas ordens de EPT, e o número de indivíduos coletados, pertencentes à família Chironomidae, da ordem Díptera), visando gerar subsídios para futuras interpretações acerca dos valores isotópicos medidos.

Para análises considerando os valores isotópicos, primeiramente foi gerada a média de cada morfotipo em cada uma das réplicas, posteriormente os dados foram agrupados e foram geradas médias de morfotipos comuns nas duas réplicas, e por fim foram geradas médias gerais para cada uso do solo dando o mesmo peso a cada um dos morfotipos.

Para uma comparação estatística foi adotada a postura de não transformar os dados, utilizando-se a análise de variância em *ranks* de Kruskal-Wallis para ambos os isótopos. Para comparações relativas a valores de $\delta^{13}\text{C}$ foi utilizado teste de Dunn e de Tukey para $\delta^{15}\text{N}$, ambos para um p de 0,05. Foram comprados todas as fisionomias e tempos amostrais, pareados entre si e ao mesmo tempo.

Além disso, foram feitas análises a cerca da importância de cada item alimentar coletado na dieta geral da assembléia de macroinvertebrados. Para tal, foram gerados gráficos de dispersão para cada um dos riachos, contendo as médias isotópicas calculadas para cada morfotipo coletado, além das médias de suas possíveis fontes alimentares, para uma comparação visual. Posteriormente foram calculadas as contribuições de cada uma das fontes alimentares coletadas na dieta geral da assembléia de cada riacho utilizando o programa IsoSource (versão 1.3.1).

Foram assumidos fracionamentos de 0‰ para carbono e 2‰ para nitrogênio, respeitando médias encontradas na literatura (MACHÁS; SANTOS, 1999; PETERSON, 1999; VANDER ZANDEN; RASMUSSEN, 2001; POST, 2002; BRITO et al., 2006; LAU; LEUNG; DUDGEON, 2008; COAT et al., 2009; JARDINE; KIDD; CUNJAK, 2009) e arredondando-as para baixo, a fim de utilizar números inteiros e ajustar a um maior volume de consumidores primários, tanto em biomassa, quanto em abundância. Além disso, foi adotado 1% como valor fixo de incremento (PHILLIPS, 2001; PHILLIPS; GREGG, 2001)

Phillips (2001) sugere que para cálculos de contribuição de fontes alimentares em dietas seja utilizado um valor de tolerância igual a 0,05‰, porém quando trabalhamos com comunidades ou assembléias, os valores isotópicos medidos costumam ser muito variáveis, gerando desvios padrão muito grandes. Neste caso, o próprio Phillips¹ sugere utilizar como valor de tolerância, o valor do desvio padrão (comunicação pessoal).

No caso do presente estudo foram adotados valores de tolerância (de 0,1‰ a 0,5‰ para seca e 0,05‰ a 0,9‰ para cheia) altos o suficiente para permitir que o programa calculasse as contribuições e gerasse no mínimo 10 observações, mas nunca chegando ao valor dos desvios padrão, dado que alguns desvios padrão calculados ultrapassavam a diferença entre os valores isotópicos medidos para as possíveis fontes alimentares. Neste caso o aumento indiscriminado da variável tolerância diminui a confiabilidade do resultado.

¹ PHILLIPS, D.L. Mensagem recebida por alexmg@yaho.com.br em 12 de janeiro de 2005 e repassada a mtassoni@esalq.usp.br em 17 de setembro de 2009.

Algo parecido foi adotado por Harju (2007), porém com uma tolerância de até 1,8‰. Além disso, neste caso não houve a exigência de um mínimo de observações e o incremento foi de 2% para facilitar os cálculos, tornando-os mais rápidos.

3.4.2 Análise comparativa entre os morfotipos coletados nas diferentes matrizes de uso do solo

As médias de cada morfotipo e de cada uso do solo, foram calculadas da mesma forma que na análise referente a diferentes altitudes e os índices ecológicos calculados também foram os mesmos. Da mesma forma com relação aos dados isotópicos, as médias foram geradas para o conjunto de riachos referentes a cada uso do solo.

Para uma comparação estatística também foi adotada a postura de não transformar os dados, sendo assim, foi utilizada a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis no caso do $\delta^{13}\text{C}$ e uma ANOVA paramétrica no caso do $\delta^{15}\text{N}$.

Como descrito anteriormente, foram feitas análises a cerca da importância de cada item alimentar coletado na dieta geral da assembléia de macroinvertebrados. Utilizando-se também gráficos de dispersão para cada um dos riachos, contendo as médias isotópicas calculadas para cada morfotipo coletado, além das médias de suas possíveis fontes alimentares, e o programa IsoSource (versão 1.3.1) para o cálculo das contribuições.

Os valores de fracionamento e incremento utilizados foram os mesmos da análise anterior, porém, os valores de tolerância variaram entre 0,1‰ e 1,1‰, seguindo o mesmo princípio.

Visando elucidar questões acerca da origem dos itens alimentares possivelmente compostos (Folhiço e POC), foram utilizados os valores medidos de $\delta^{13}\text{C}$ e o modelo de mistura simples (1 isótopo, duas fontes) para calcular a porcentagem de plantas de metabolismo C3 e C4 no folhiço dos ambientes alterados (dado que na floresta não houve presença significativa de plantas C4) e o mesmo programa (IsoSource versão 1.3.1), para estimar as contribuições de plantas C3, C4 e algas do fitoplâncton no POC.

No caso do folhiço, como as referências de C3 e C4 coletadas eram de ramos vivos, foi considerado um fracionamento de 1‰, seguindo a média arredondada, do que foi encontrado para fracionamento de folhas vivas para a serapilheira na literatura

(OMETTO et al., 2006; COLETTA et al., 2009). Já no caso do POC, foi utilizado um fracionamento maior (já que se trata de um material que já sofreu mais transformações), seguindo o que foi encontrado na literatura para material particulado no solo (OMETTO et al., 2006; COLETTA et al., 2009) chegando a um fracionamento de 2‰ para carbono e 3‰ para nitrogênio. O valor de algas do fitoplâncton adotado foi de -37‰ para carbono e 2,5‰ para nitrogênio, usando como referência os valores apresentados por Martinelli et al. (2009).

Os valores de incremento e tolerância, utilizados na análise de POC foram de 1% e de 0,2‰ a 1,1‰, respectivamente, respeitando as mesmas premissas utilizadas no caso dos macroinvertebrados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando todos os sítios amostrados, foram coletados 9086 indivíduos, divididos em 143 morfotipos, 48 famílias (excluindo a ordem Trichoptera, que não foi identificada ao nível de família) e 10 ordens, considerando apenas a classe insecta, já que apenas esta foi usada nas análises.

Os resultados referentes aos parâmetros físicos e químicos da água dos riachos amostrados estão apresentados na Tabela 2. Nota-se diferenças claras com relação a oxigênio dissolvido (O.D.) e saturação (Sat.), que se apresentaram mais baixos para os riachos de pastagem, e condutividade (Cond.) que aparece mais baixas nos riachos de altitude e mais alta nos riachos de pastagem.

Tabela 2 – Valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água nos riachos amostrados ($5 > n < 30$)

	O.D	Sat (%)	Cond	pH	Temperatura
FTB1	8,26	90,57	36,70	6,56	19,75
FTB2	8,37	92,31	35,35	6,89	18,86
FAL1/FLOa	8,82	88,46	23,80	6,01	15,03
FAL2/FLOb	8,10	82,83	23,97	6,19	16,51
EUCa	8,20	84,60	17,76	6,32	16,91
EUCb	7,64	77,50	22,10	6,24	16,12
PASa	5,47	57,40	32,90	5,97	17,67
PASb	6,46	69,18	35,63	6,23	18,18

Pudemos notar que mesmo os riachos pertencentes à mesma classe, tanto de altitude como de uso do solo, apresentaram algumas características discrepantes (Tabela 3), fato que interferiu diretamente em alguns resultados. No caso dos riachos florestados, um de cada classe de altitude apresentou um substrato rochoso e outro arenoso. O único sítio no qual não foram encontradas plantas C4 foi o FAL2/FLOb, nos outros riachos florestados estas estavam presentes, porém em uma quantidade desprezível.

Tabela 3 – Caracterização dos riachos e entronos

	Subtrato	Solo (entrono)	Mata ciliar	Plantas C3	Plantas C4	Sombreamento
FTB1	Rochoso	Arenoso	Conservada	Predominante	Presente	Sombreado
FTB2	Arenoso	Arenoso	Conservada	Predominante	Presente	Sombreado
FAL1/FLOa	Arenoso	Arenoso	Conservada	Predominante	Presente	Sombreado
FAL2/FLOb	Rochoso	Arenoso	Conservada	Predominante	Ausente	Sombreado
EUCa	Arenoso	Arenoso	Degradada	Predominante	Muito presente	Parcialmente sombreado
EUCb	Arenoso	Arenoso	Degradada	Predominante	Muito presente	Parcialmente sombreado
PASa	Arenoso	Arenoso	Ausente	Presente	Predominante	Não sombreado
PASb	Arenoso	Arenoso	Ausente	Presente	Predominante	Não sombreado

Vale ainda salientar que as plantas C3 encontradas no riacho PASa eram quase que na totalidade de apenas uma espécie do gênero *Typha*, enquanto em PASb foram encontradas outras representantes desse ciclo metabólico.

4.1 Diferentes altitudes

4.1.1 Caracterização da assembléia e análises gerais

Com relação aos índices ecológicos, o FALSeca foi o que apresentou os maiores valores, menos com relação ao EPT. Os valores dos índices não variaram muito de uma estação para outra, observando-se apenas que os valores de EPTC diminuíram na FALCheia e os valores de abundância se mostraram relativamente baixos para FTBSeca (Tabela 4), provavelmente devido a um evento de chuva forte ocorrido no dia anterior a coleta.

Tabela 4 – Índices ecológicos calculados para cada altitude

	Seca		Cheia	
	FTB	FAL	FTB	FAL
Riqueza (S)	54	84	52	77
Abundância	995	1617	1558	1514
Diversidade (D)	0,83	0,94	0,85	0,93
EPT	19	24	15	25
EPTC	2,20	3,62	2,44	2,11

Os resultados referentes à análise isotópica mostraram valores mais altos com relação ao carbono e mais baixos com relação ao nitrogênio para FTB. Foi encontrada diferença significativa entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de FAL e FTB em ambas as estações, entretanto não houve diferença significativa com relação a seca e a cheia dentro das fisionomias, seguindo o mesmo padrão encontrado para os índices ecológicos. O mesmo ocorreu com relação ao nitrogênio, com a diferença, que FALSeca não apresentou diferença significativa quando comparado a FTBSeca. Porém ao observarmos os valores brutos, podemos perceber uma tendência a valores mais altos de nitrogênio nos riachos de altitude. (Tabela 5).

Tabela 5 – Médias dos valores isotópicos medidos para os macroinvertebrados coletados em cada altitude, acompanhadas de seus desvios padrão

	Seca (‰)		Cheia (‰)	
	FTB (n=40)	FAL (n=67)	FTB (n=48)	FAL (n=79)
$\delta^{13}\text{C}$	-26,10 ± 1,14a	-29,84 ± 3,26b	-26,25 ± 2,5a	30,53 ± 3,32b
$\delta^{15}\text{N}$	3,48 ± 1,74bc	4,34 ± 1,85ab	3,00 ± 1,60c	4,43 ± 1,82a

Com relação às fontes alimentares só foi encontrada diferença significativa entre as duas fisionomias para o perifiton, tanto para carbono quanto para nitrogênio (Tabela 6). As fontes diferiram entre si em pelo menos um dos isótopos, o que favoreceu a análise de contribuição.

Tabela 6 – Médias dos valores isotópicos medidos para as fontes alimentares para cada classe de altitude, acompanhadas de seus desvios padrão ($6 < n > 16$)

	FTB (‰)	FAL (‰)
$\delta^{13}\text{C}$		
Folhiço	$-30,74 \pm 1,24a$	$-30,84 \pm 0,65a$
POC	$-29,36 \pm 0,47a$	$-28,86 \pm 0,40a$
Perifiton	$-21,55 \pm 4,33a$	$-32,01 \pm 2,53b$
$\delta^{15}\text{N}$		
Folhiço	$2,92 \pm 0,75a$	$1,53 \pm 1,19a$
POC	$3,26 \pm 0,47a$	$3,02 \pm 1,88a$
Perifiton	$0,98 \pm 0,73b$	$3,91 \pm 1,27a$

4.1.2 Análise de contribuição nos macroinvertebrados

Os gráficos de dispersão foram utilizados apenas para um diagnóstico rápido e posterior comparação com o resultado obtido com o IsoSource. Com eles foi possível perceber que a diferença entre as campanhas e mesmo entre os riachos da mesma classe de altitude não foi significativa. Alguns padrões puderam ser identificados como a presença de um perifiton mais enriquecido com relação ao carbono, nos riachos de terras baixas (Figura 9) e um folhiço mais empobrecido com relação ao nitrogênio, nos riachos de altitude (Figura 10).

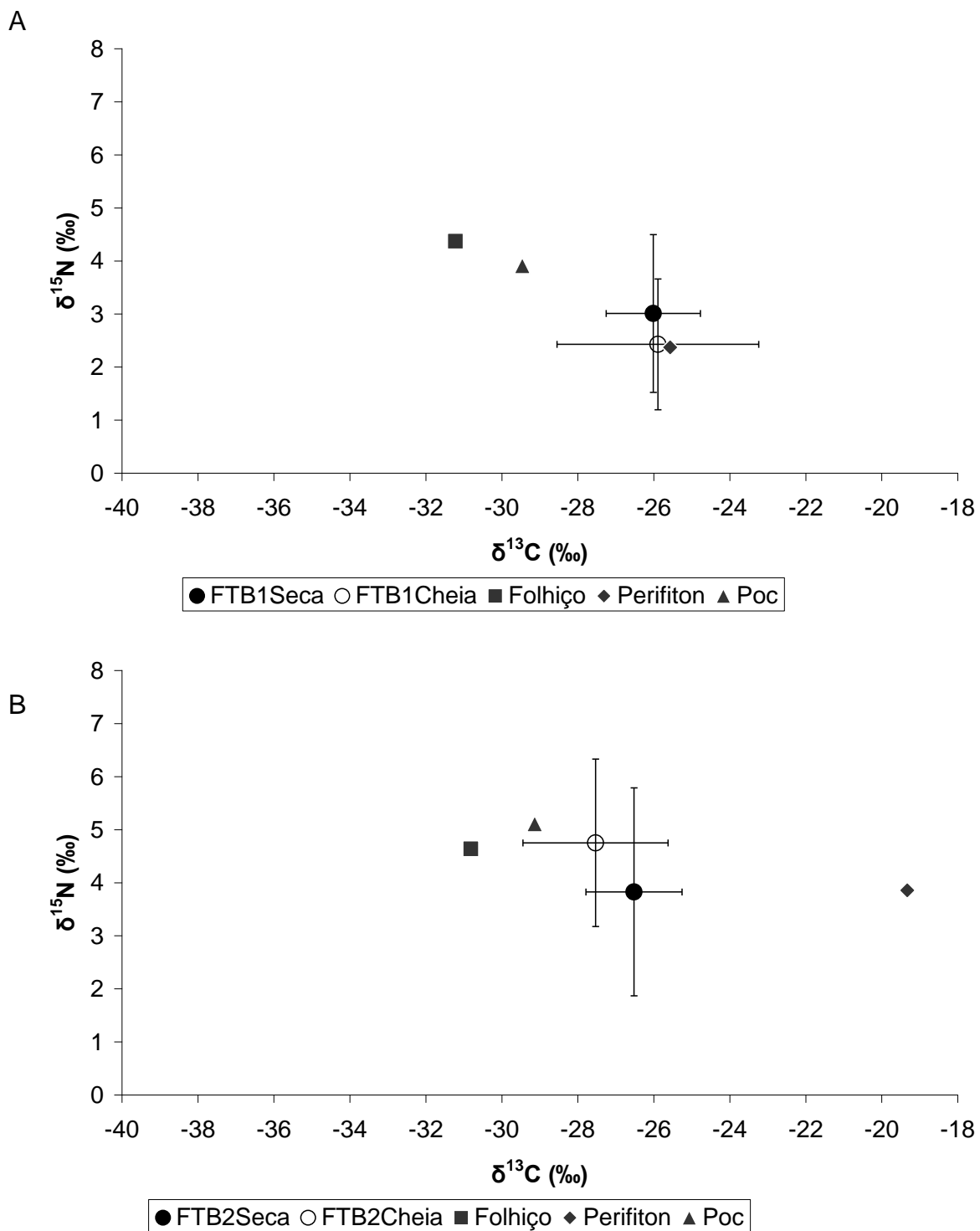


Figura 9 – Dispersão contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento) e médias isotópicas acompanhadas dos desvios padrão dos macroinvertebrados coletados em ambas as campanhas. (A) FTB1; (B) FTB2

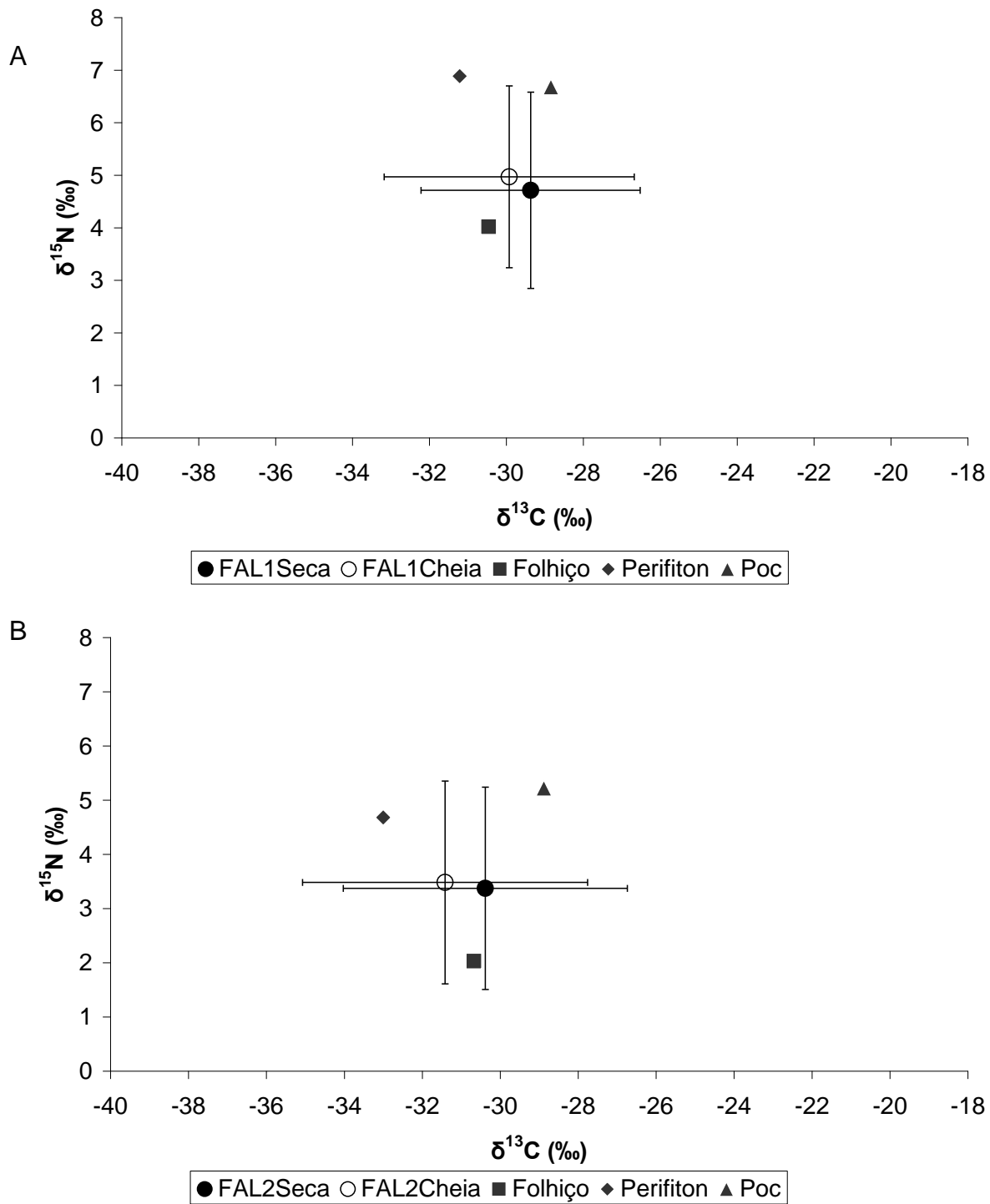


Figura 10 – Dispersão contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento) e médias isotópicas acompanhadas dos desvios padrão dos macroinvertebrados coletados em ambas as campanhas. (A) FAL1; (B) FAL2

Em todos os riachos e tempos amostrais o folhiço se mostrou uma fonte alimentar importante, sempre representando pelo menos 20% da contribuição (Figuras 11 e 12). Porém foi encontrada nítida diferença entre os riachos de FAL e de FTB, tanto na seca quanto na cheia. Na seca o perifiton se mostrou um item importante nos riachos de terras baixas, e foi substituído pelo POC nos riachos de altitude (Figura 11). Já na cheia, a contribuição de folhiço diminui nos riachos FTB dando lugar a outras fontes e se mantém em FAL (Figura 12).

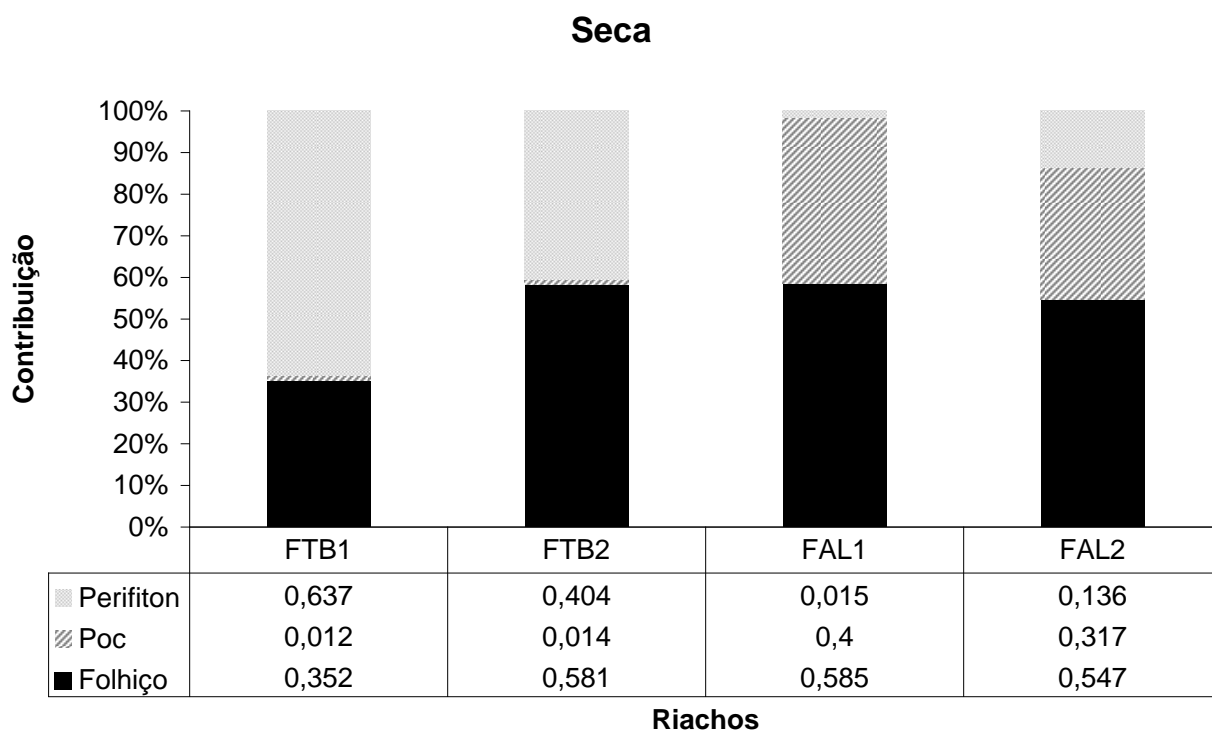


Figura 11 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas durante a estação seca

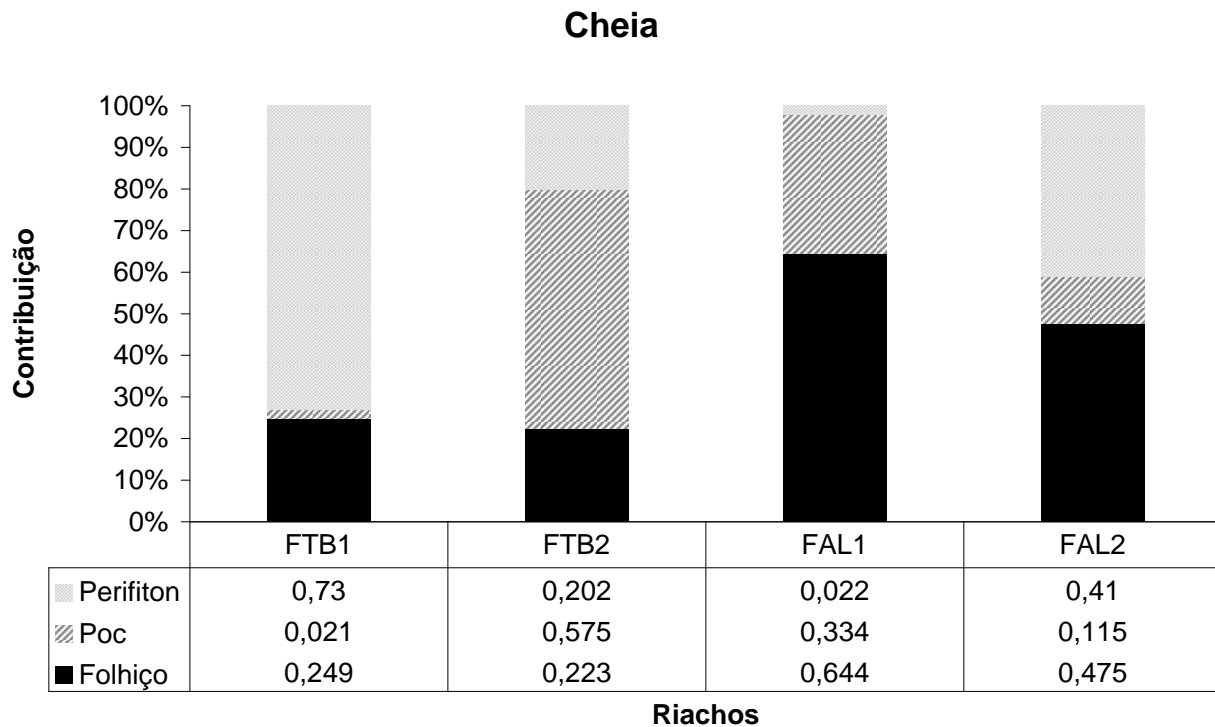


Figura 12 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas durante a estação chuvosa

4.1.3 Discussão

De maneira geral os macroinvertebrados dos riachos de terras baixas apresentaram valores mais enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ e mais empobrecidos de $\delta^{15}\text{N}$, quando comparados aos de riachos de altitude (Tabela 5), o que provavelmente está relacionado ao padrão de dieta encontrado nesses ambientes. Nos riachos FTB o perifiton, uma fonte que apresentou valores relativamente altos de $\delta^{13}\text{C}$ e baixos de $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 6) nestes riachos (o mesmo padrão encontrado para os macroinvertebrados), representou de 40% a 60% da dieta total da assembléia durante a seca (Figura 11) e de 20% a 60% durante a cheia (Figura 12)

Por outro lado em FAL o padrão apresentado foi diferente (Figuras 11 e 12), sendo o perifiton substituído, em grau de importância, pelo POC, uma fonte mais enriquecida com relação ao $\delta^{15}\text{N}$, por conta de ter passado por mais transformações (WEBSTER et al., 1999; BUNN; DAVIES; KELLAWAY, 2003) e mais empobrecida com

relação ao $\delta^{13}\text{C}$ (Tabela 6), por ter origem principalmente nas plantas da zona ripária (BIRD; KAUSHIK, 1981; WALLACE et al., 1995; ABELHO; GRAÇA, 1996).

O Folhicho se mostrou uma fonte muito importante em ambas as altitudes, representando de 35% a quase 60% da dieta geral dos macroinvertebrados, enfatizando a dependência, dos riachos para com a zona ripária, descrita por Gregory et al., (1991); Barrela et al. (2001); Waidbcher (2001); Sabino et al. (2004) e Naiman et al. (2005).

Esses resultados estabeleceram uma relação conturbada com a teoria do contínuo fluvial (VANNOTE et al., 1980) por reforçarem a importância do POC e principalmente do folhicho como fonte de nutriente alóctone para riachos de cabeceira, mas mostraram que em alguns casos essa dependência do material alóctone pode ser amenizada pela produção interna representada pelo perifiton.

Exceções a regra são comuns quando falamos de ambientes naturais, mesmo porque esses ambientes são regidos por diversas variáveis e a interação entre elas é que torna cada riacho único. Encontramos neste trabalho bons exemplos disso. Apesar de existirem padrões alimentares bem definidos e claros (como os citados acima), ainda nota-se a particularidade de cada riacho.

Verificamos que FTB1 apresentou o mesmo padrão alimentar tanto na seca quanto na cheia, o que não ocorreu com FTB2 (Figuras 11 e 12). Este fato está provavelmente relacionado ao tipo de substrato encontrado nesses dois riachos (Tabela 3). FTB1 é um riacho com leito rochoso, composto principalmente de matacões e blocos, com poucos trechos e cascalho e seixos, o que favorece o desenvolvimento de comunidades perifitídicas estáveis e que resistem a distúrbios hídricos (MELO et al., 2003) causados pelas fortes chuvas da região de Ubatuba.

Já FTB2 é um riacho de leito de areia e correndo em uma região onde o solo também é arenoso (Tabela 3). O perifiton encontrado nesse riacho se desenvolve em pequenas rochas e algumas macrófitas que são facilmente arrastadas pela chuva, assim como o material orgânico em decomposição incorporado aos solos do entorno. Na época chuvosa as pequenas rochas e macrófitas são levadas para porções inferiores do riacho (MELO et al., 2003), em direção ao mar, enquanto a matéria orgânica do solo é careada diretamente ao leito do mesmo (WALLACE et al., 1995). Desta forma encontra-

se um padrão esperado, no qual o perifiton é substituído pelo POC na estação chuvosa (Figuras 11 e 12).

No caso dos riachos de altitude verifica-se uma situação similar, na qual em FAL2, um riacho com leito rochoso (Tabela 3), as fortes chuvas levam muito do folhiço e principalmente do POC rio a baixo e o sol dos dias longos de verão torna possível o estabelecimento de comunidades perifitídicas (GOMIERO; BRAGA, 2005; KIKUCHI; UIEDA, 2005), resultando em uma dieta mesclada de perifiton e folhiço (Figura 12). Na época mais seca, a elevada queda de folhas e a curta duração dos dias tornam o perifiton escasso e o folhiço e o POC abundantes, fazendo com que estes últimos contribuam massivamente na dieta geral do macroinvertebrados (Figura 11).

Em FAL1 a situação é de estabilidade, dado que seu leito e entorno arenosos (Tabela 3) favorecem o aporte de material particulado ao riacho. A intensa queda de folhas, que ocorre o ano todo nesta região (MARTINS, 2010), favorece por sua vez o aporte de folhiço. O maior sombreamento e a escassez de rochas e macrófitas (Tabela 3) impossibilitam o surgimento de perifiton. Com isso os macroinvertebrados deste riacho mantêm o mesmo padrão alimentar nas duas estações (Figuras 11 e 12).

4.2. Uso do solo

4.2.1 Caracterização da assembléia e análises gerais

Com relação aos índices ecológicos, o FLO foi o que apresentou maiores valores de riqueza, diversidade, EPT e EPTC, no caso da abundância o EUC apresentou o maior número de indivíduos coletados (Tabela 7)

Tabela 7 – Índices ecológicos calculados para cada uso do solo

	FLO	EUC	PAS
Riqueza (S)	84	62	42
Abundância	1617	2000	1502
Diversidade (D)	0,94	0,80	0,81
EPT	24	21	9
EPTC	3,62	0,37	0,08

Os resultados referentes à análise isotópica dos macroinvertebrados indicaram que tanto com relação ao $\delta^{13}\text{C}$ quanto ao $\delta^{15}\text{N}$, o PAS apresentou os valores mais altos, e significativamente diferentes dos valores medidos para FLO (Tabela 8). Os valores medidos para EUC não apresentaram diferença significativa quando comparados aos outros usos do solo com relação ao $\delta^{13}\text{C}$.

Tabela 8 – Médias dos valores isotópicos medidos para cada uso do solo acompanhadas de seus desvios padrão

	FLO (‰) (n=67)	EUC (‰) (n=34)	PAS (‰) (n=30)
$\delta^{13}\text{C}$	-29,84 ± 3,26b	-28,88 ± 1,88 ab	-26,56 ± 4,25 a
$\delta^{15}\text{N}$	4,34 ± 1,85b	6,72 ± 1,53 a	6,64 ± 1,81 a

Porém com relação aos valores de $\delta^{15}\text{N}$ encontramos diferença significativa quando comparamos EUC e FLO, mas não quando comparamos EUC com PAS. Quando comparados, os valores medidos nos riachos de pastagem se mostraram significativamente diferentes dos valores dos riachos inseridos em floresta.

Ainda com relação ao $\delta^{15}\text{N}$ os valores de POC seguiram o mesmo padrão encontrado para os macroinvertebrados, sendo estatisticamente iguais entre os riachos impactados e diferentes quando comparados aos riachos de floresta (Tabela 9).

Tabela 9 – Médias dos valores isotópicos medidos para as fontes alimentares para cada uso do solo, acompanhadas de seus desvios padrão. ($6 < n > 12$)

	FLO (‰)	EUC (‰)	PAS (‰)
$\delta^{13}\text{C}$			
Folhiço	$-30,84 \pm 0,65\text{b}$	$-30,19 \pm 0,38\text{b}$	$-20,77 \pm 3,17\text{a}$
POC	$-28,86 \pm 0,40\text{b}$	$-27,38 \pm 0,67\text{b}$	$-24,89 \pm 1,77\text{a}$
Perifiton	$-32,01 \pm 2,53\text{a}$	$-31,42 \pm 5,82\text{a}$	$-29,87 \pm 2,68\text{a}$
$\delta^{15}\text{N}$			
Folhiço	$1,53 \pm 1,19\text{c}$	$3,01 \pm 0,53\text{b}$	$5,69 \pm 0,31\text{a}$
POC	$3,02 \pm 1,88\text{b}$	$6,20 \pm 0,93\text{a}$	$5,38 \pm 0,61\text{a}$
Perifiton	$3,91 \pm 1,27\text{b}$	$6,86 \pm 0,82\text{a}$	$5,83 \pm 0,81\text{a}$

Com relação aos valores isotópicos medidos para fontes alimentares vale à pena resaltar a grande influência de plantas do ciclo C4 no folhiço e em menor escala no POC dos riachos PAS, percebida pelos valores altos de $\delta^{13}\text{C}$ medidos para essas duas fontes. Os valores medidos para perifiton em FLO também se mostraram muito empobrecidos com relação ao carbono e ao nitrogênio.

4.2.2 Análise de contribuição nos macroinvertebrados

Apesar de alguns “*outliers*” que provavelmente indicam o consumo de outras fontes além das coletadas, podemos perceber já pelas dispersões uma tendência ao consumo de folhiço e POC em FLOa e FLOb, EUCa e EUCb (Figuras 13 e 14). Em PASa e PASb a grande variância dos dados não permitiu a percepção de algum padrão ou tendência apenas com as dispersões (Figura 15).

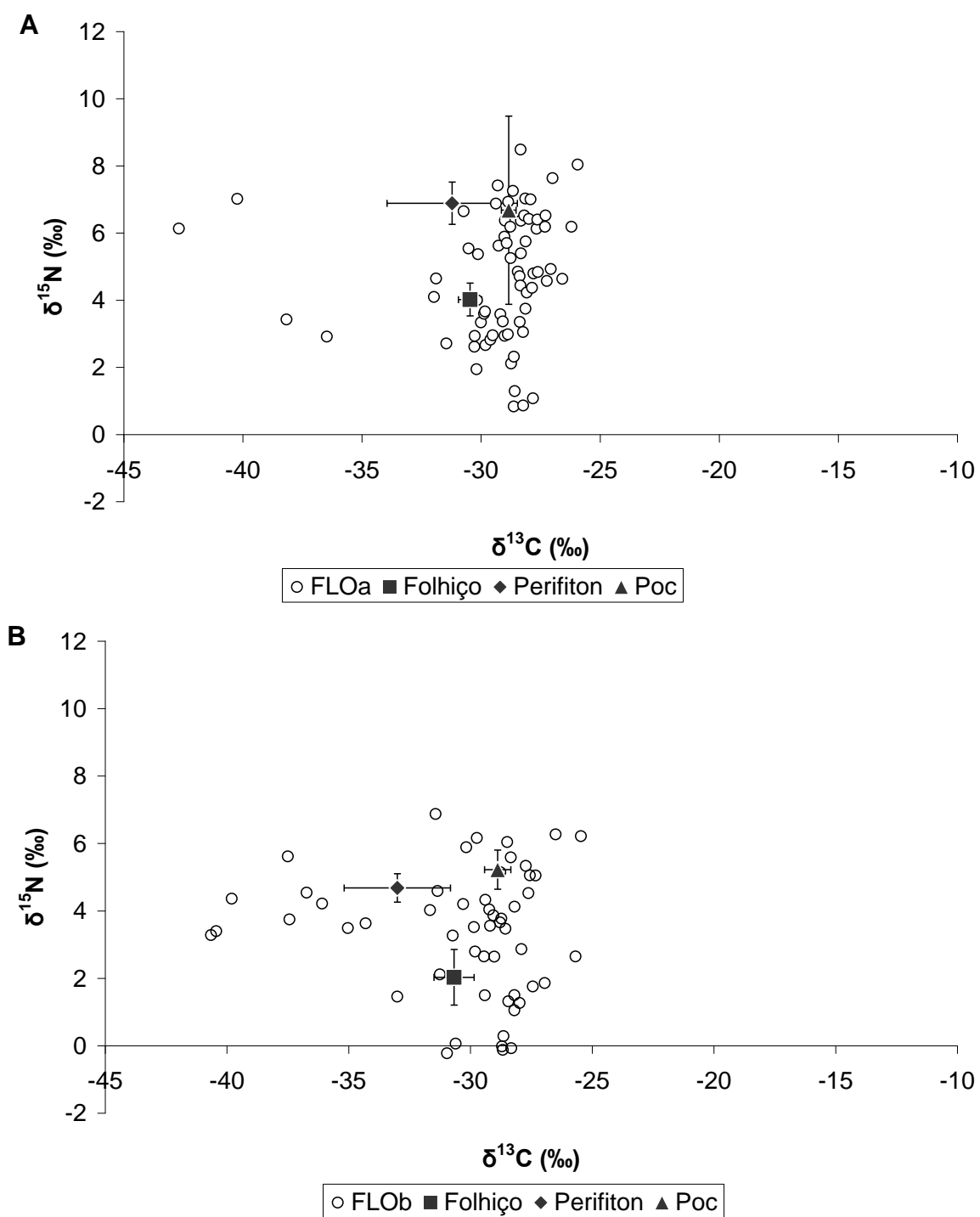


Figura 13 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) FLOa; (B) FLOb

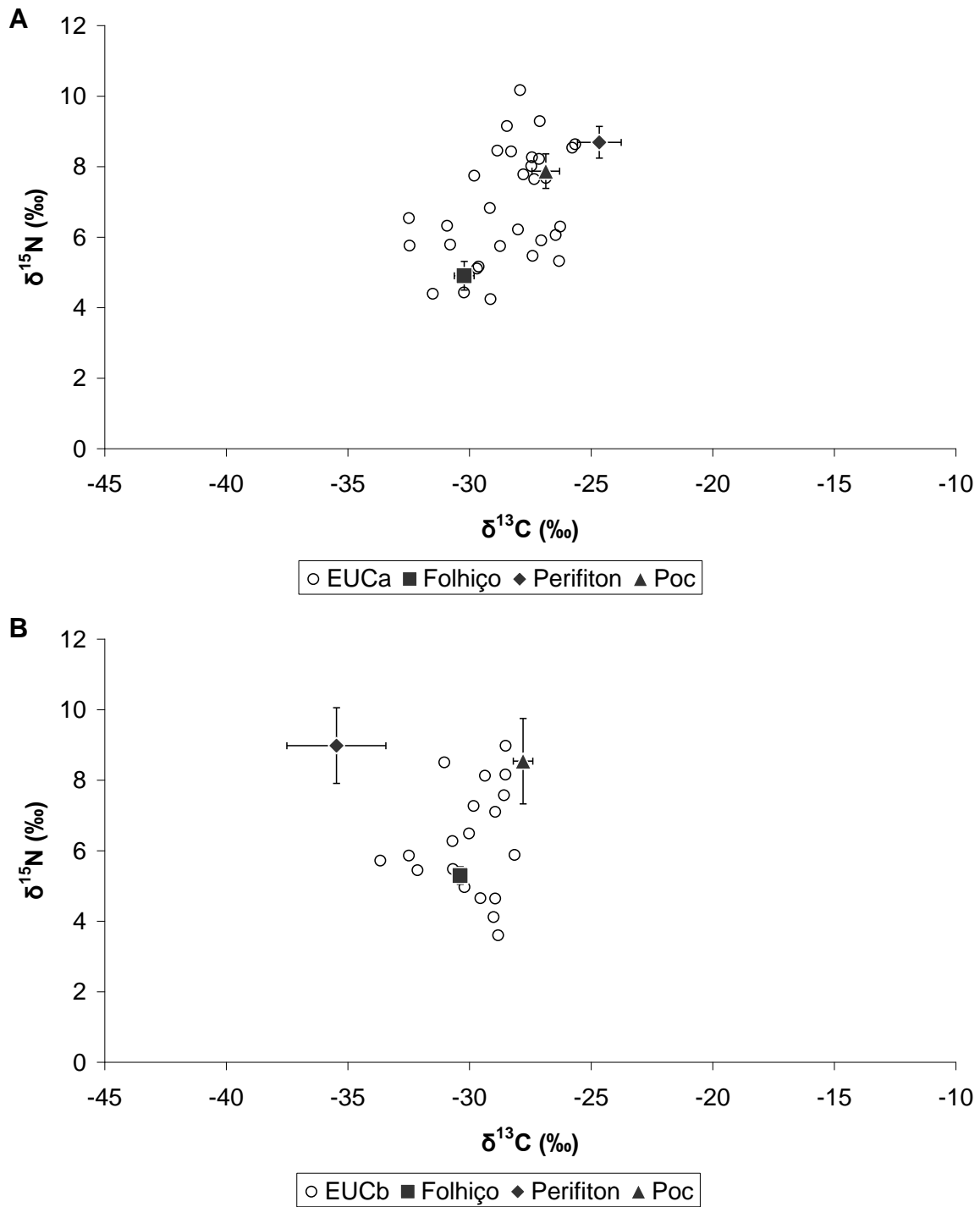


Figura 14 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) EUCa; (B) EUCb

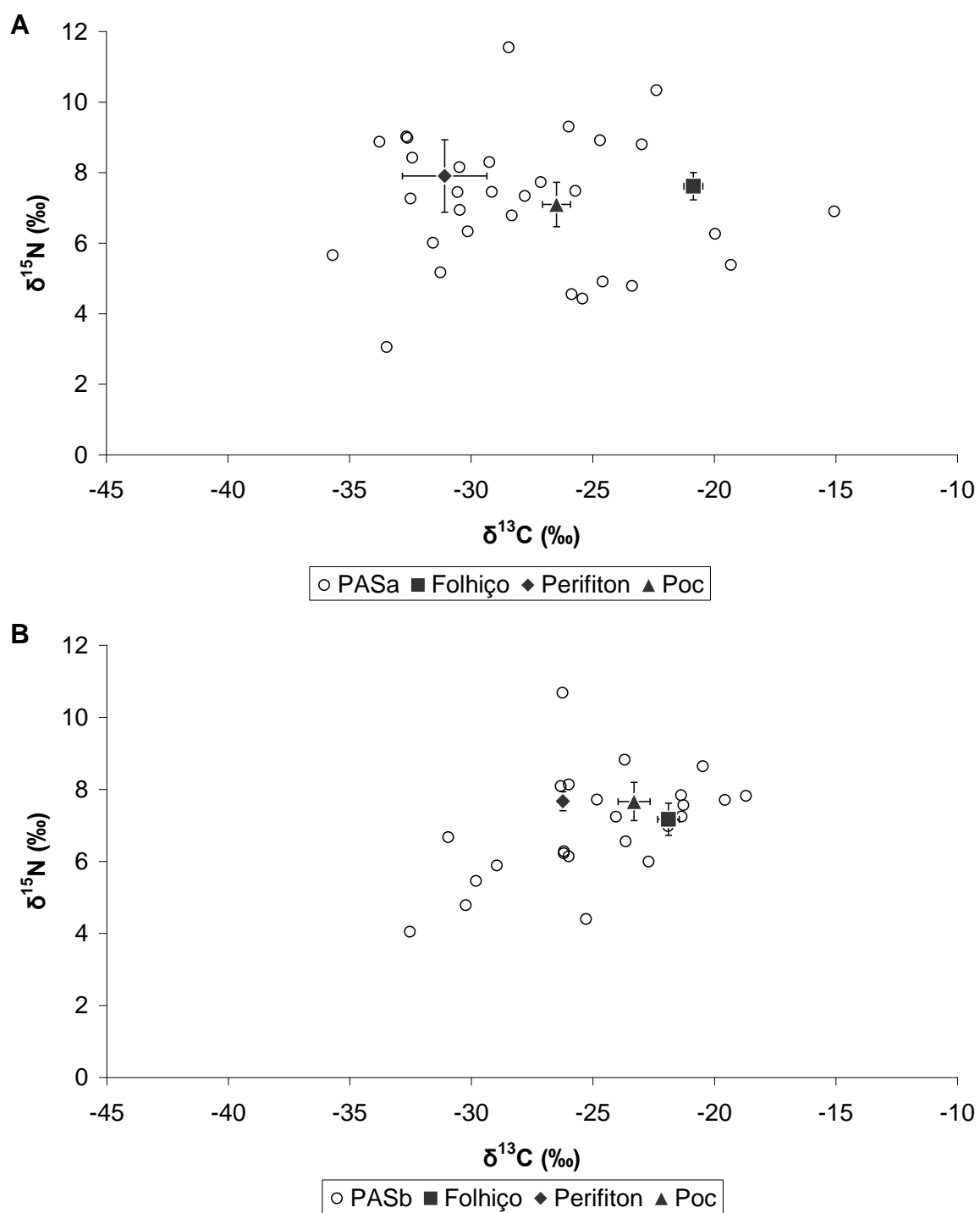


Figura 15 – Dispersões contendo médias isotópicas das possíveis fontes alimentares (corrigidas pelo fracionamento), acompanhadas de seus desvios padrão e médias dos macroinvertebrados coletados. (A) PASa; (B) PASb

As tendências de FLO e EUC são comprovadas com os dados calculados com o IsoSource que indicaram um consumo preferencial de folhiço e POC nessas duas fisionomias. No caso de PAS tivemos situações diferentes, em PASa um consumo de folhiço quase inexistente e um alto consumo de POC e perifiton, e em PASb, um consumo expressivo de perifiton, um consumo baixo de folhiço e quase inexistente de POC.

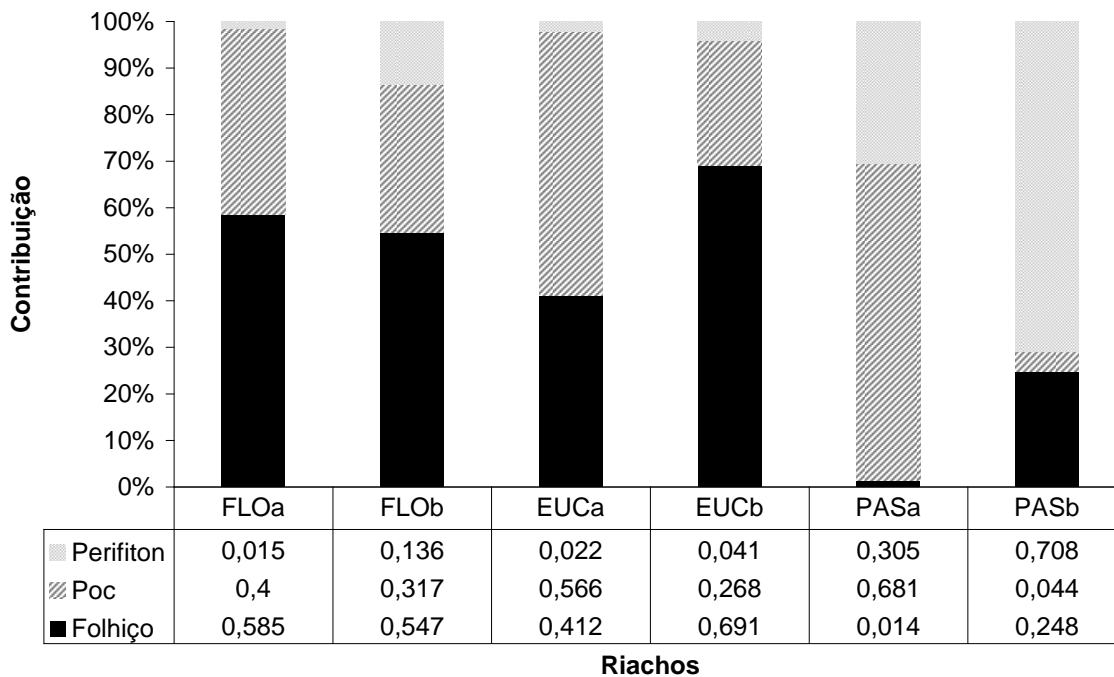


Figura 16 – Contribuição de cada item alimentar na dieta das assembléias amostradas

4.2.3 Análise da origem e composição das fontes

Os folhiços de ambos os EUC, como esperado, apesar da presença de algumas plantas C4 nos locais, apresentaram apenas plantas C3 em sua composição (Figura 17). A contribuição mínima calculada pode ser desconsiderada, já que equivale a variações que estão dentro do erro analítico do equipamento de análise isotópica (espectrometro de massas).

Já no caso de PAS, ambos os riachos apresentaram folhiços com uma presença significativa de plantas C4, sendo que PASa teve uma porcentagem maior que 50% de plantas desse ciclo em sua composição (Figura 17).

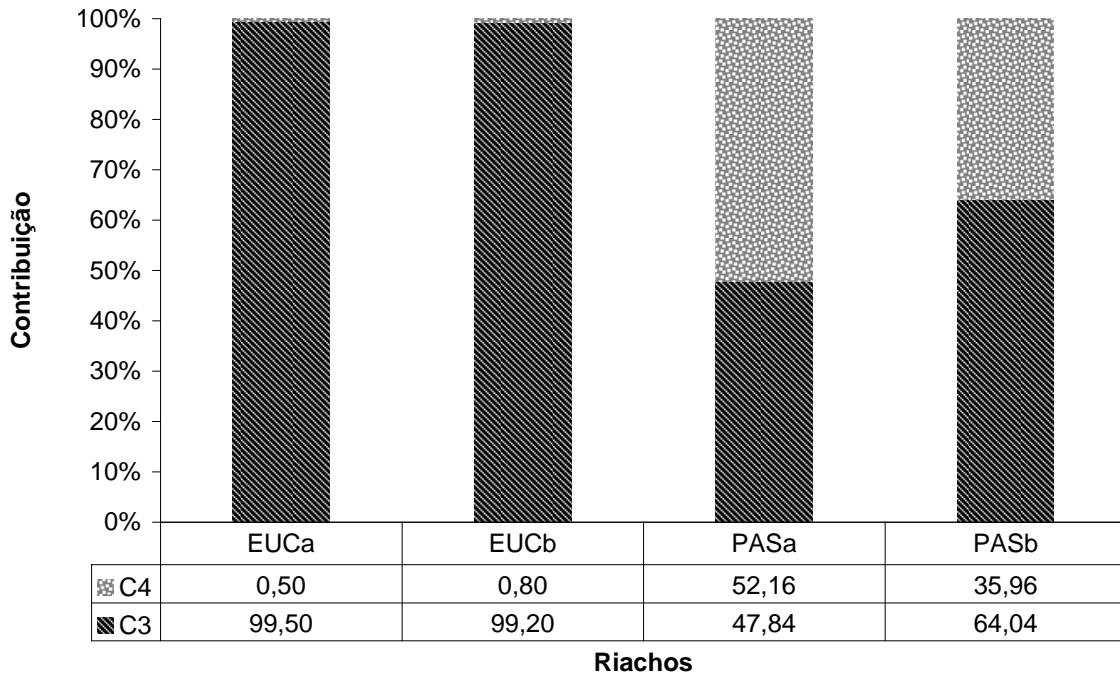


Figura 17 – Contribuição de plantas C3 e C4 nos folhiços coletados nos ambientes alterados

No caso do material particulado (POC) podemos considerar a contribuição de plantas C4 em EUC, mas com uma predominância clara de material de origem C3 (Figuras 18 e 20). Em PAS existe um mistura de origens, sendo que em PASa ainda existe uma contribuição significativa de plantas C3, o que não ocorre em PASb, onde o POC é composto quase que exclusivamente por material de origem C4 e algas do fitoplâncton (Figuras 19 e 20).

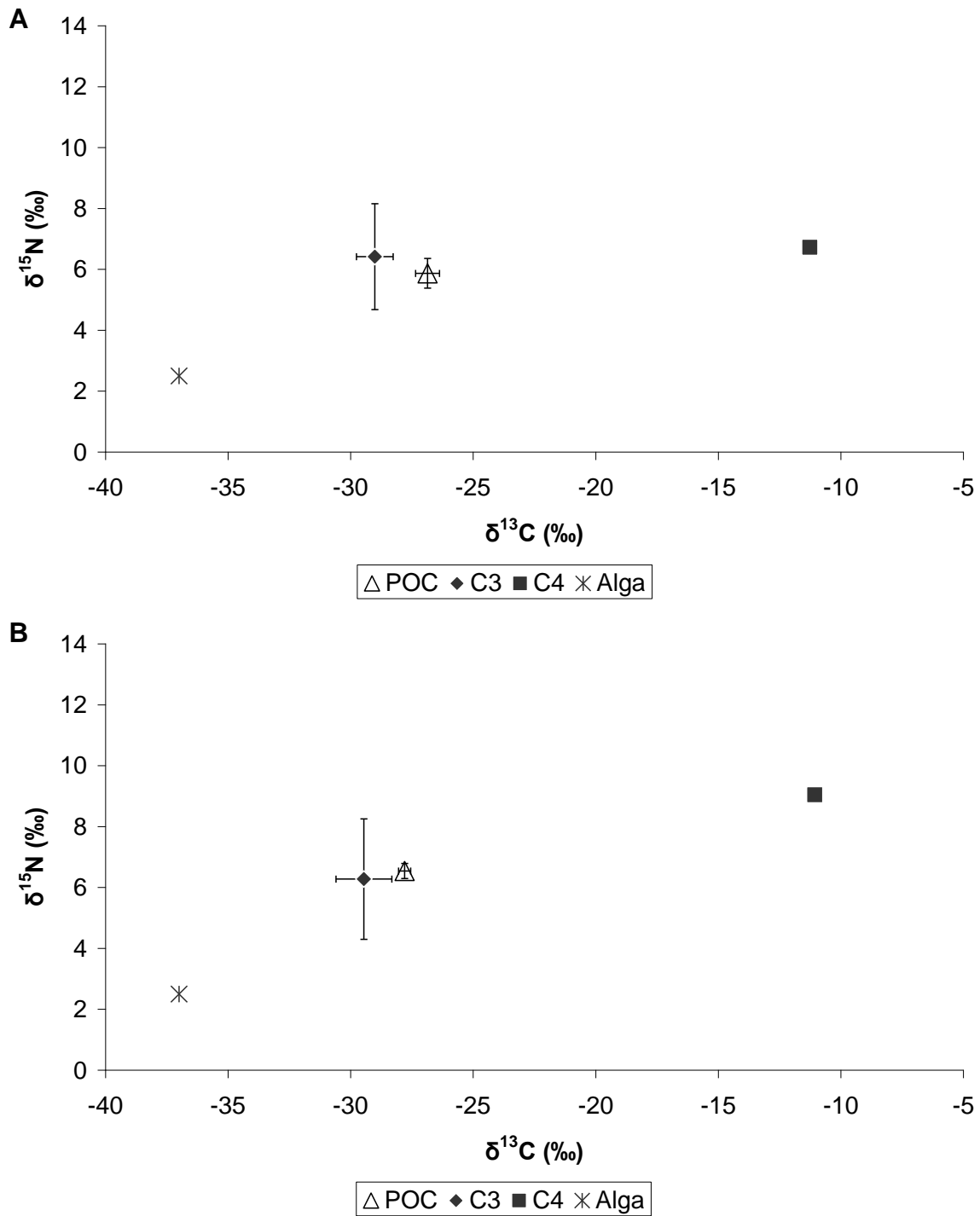


Figura 18 – Comparação entre o POC e três possíveis origens (valores corrigidos pelo fracionamento) nos riachos de Eucalipto. (A) EUCa (B) EUCb

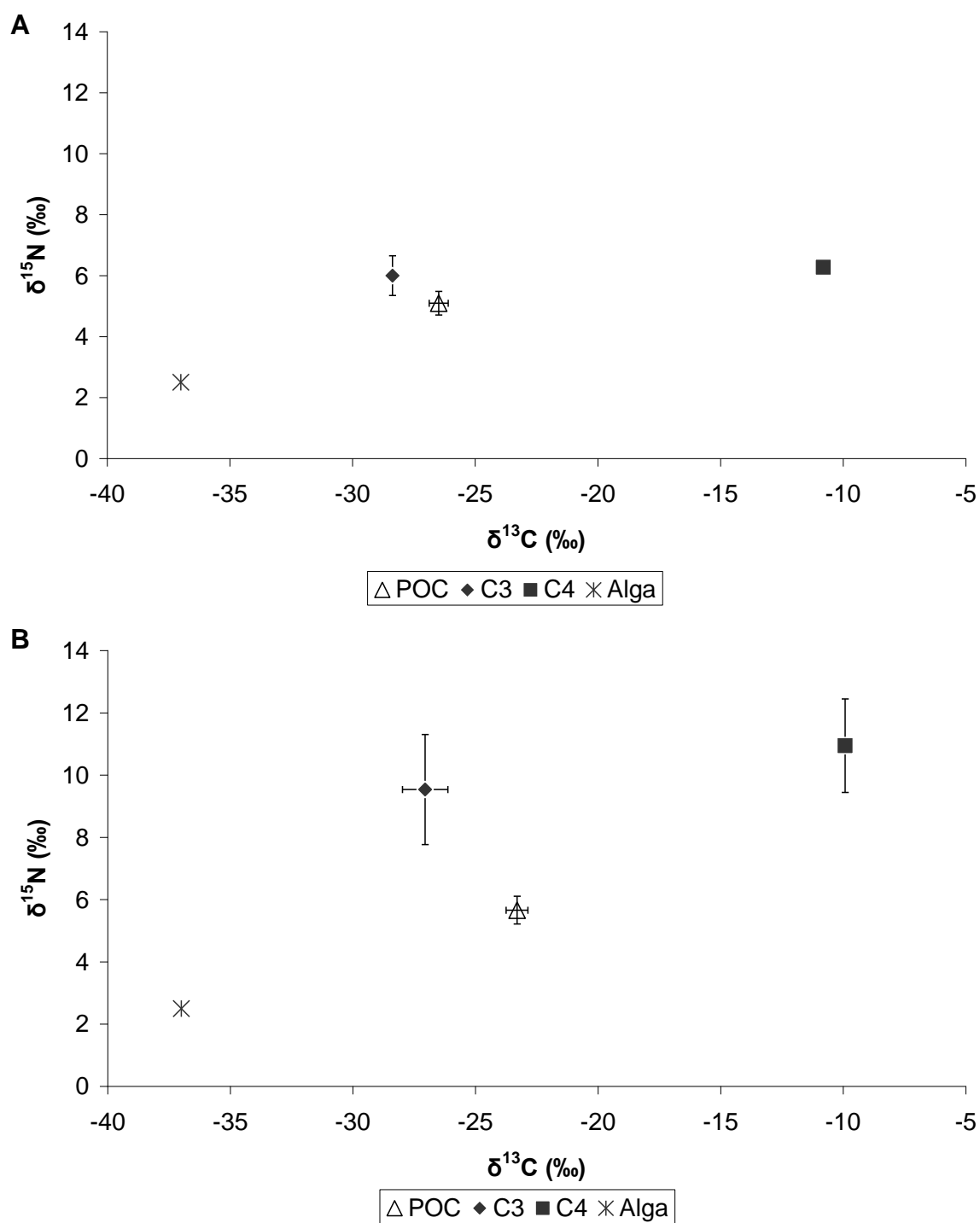


Figura 19 – Comparação entre o POC e três possíveis origens (valores corrigidos pelo fracionamento) nos riachos de Pastagem. (A) PASa (B) PASb

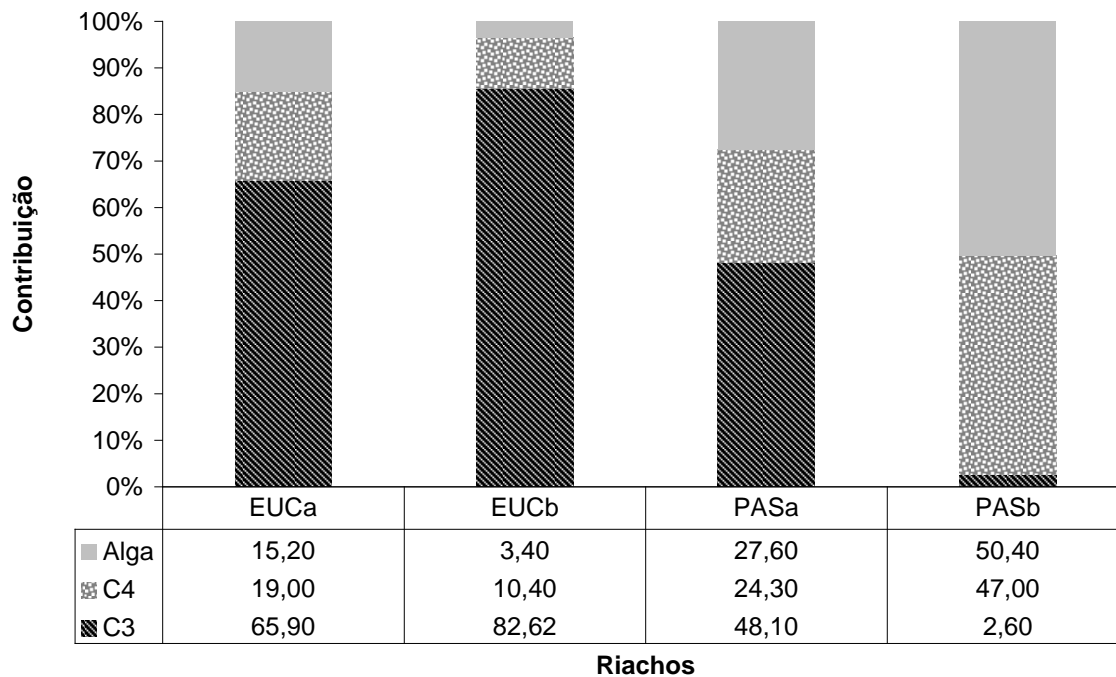


Figura 20 – Contribuição de plantas C3, C4 e algas do fitoplâncton no material particulado (POC) coletado nos ambientes alterados

4.2.4 Discussão

Como esperado os riachos florestados apresentaram os valores mais empobrecidos tanto de nitrogênio quanto de carbono para os invertebrados (Tabela 8) suas fontes alimentares (Tabela 9). No caso dos riachos inseridos em plantações de eucalipto os valores de $\delta^{13}\text{C}$ não se mostraram diferentes dos de floresta (Tabelas 8 e 9), dado que ambas as fisionomias compartilham uma formação florestal composta predominantemente por plantas que seguem o ciclo C3.

Ainda com relação ao carbono os riachos de pastagem apresentaram valores um pouco mais altos que as médias dos riachos florestados (Tabelas 8 e 9), fato esperado e que provavelmente está ligado ao aporte de material de origem C4 ao riacho, dado que plantas que seguem este ciclo são predominantes nas zonas ripárias destes riachos.

Com relação ao nitrogênio os riachos EUC e PAS apresentaram valores enriquecidos e muito próximos, para os macroinvertebrados (Tabela 8), o que pode ser explicado pelo aumento de material de origem animal encontrado em riachos impactados, devido à homogeneização do canal e o fornecimento de características de

rios de maior ordem, decorrentes do impacto (GERHARD, 2005). Esta hipótese é corroborada pelos valores medidos para o material particulado (POC) nos diferentes usos do solo, que são estatisticamente iguais nos riachos impactados que diferem do riacho de floresta (Tabela 9).

Além disso, PASb apresentou valores de $\delta^{15}\text{N}$ mais altos que PASa, com relação a plantas C3 e C4 no entrono (Figura 19), fato que pode estar ligado a adubação por esterco de porco, dado que a criação destes animais é comum nas propriedades próximas ao referido riacho. Este fato influencia não só os valores de POC (como visto na Figura 19), mas os valores de folhiço, o que explica o fato de PAS apresentar os valores médios mais enriquecidos de $\delta^{15}\text{N}$ para está fonte (Tabela 9).

Com relação aos padrões alimentares os riachos de eucalipto seguiram um padrão muito próximo aos de floresta, tendo o folhiço e o POC (fontes alóctones) como fontes mais importantes (Figura 16). Este fato pode estar relacionado com composição e estrutura da vegetação encontrada nas zonas ripárias destes usos do solo (Tabela 3) que acarretam em um massivo aporte de material de origem C3, por conta da queda de folhas abundante na região (MARTINS, 2010) e a impossibilidade do desenvolvimento do perifiton, ocorrido por conta do sombreamento (GOMIERO; BRAGA, 2005; KIKUCHI; UIEDA, 2005).

Não foi possível encontrar nenhum padrão alimentar para os riachos de pastagem, dado que os dois riachos apresentaram características muito diferentes (Tabela 3) e por consequência dados referentes à contribuição distintos. PASa teve um consumo próximo a 1,5% de folhiço, enquanto em PASb essa fonte contribuiu com quase 25% da dieta total da assembléia (Figura 16). Além disso, o POC fonte mais consumida em PASa, foi substituída por perifiton em PASb, ambos com contribuições próximas a 70% em seus respectivos riachos.

Observando as análises de composição e origem das fontes alimentares nestes dois riachos, podemos entender o porquê de padrões alimentares tão distintos. Primeiramente observamos que o folhiço de PASa teve um composição representada por mais de 50% de plantas C4, enquanto no folhiço coletado em PASb esse tipo de planta representou por volta de 35%. No caso do POC observamos o contrário sendo a parcela de plantas C4 menor que 25% em PASa e de quase 50% em PASb.

Estes resultados corroboram o que é afirmado por Bunn, Davies e Kellaway. (1997) e Clapcott e Bunn (2003), que mesmo com um aporte significativo de plantas C4, estas não têm uma presença significativa na nutrição dos macroinvertebrados. E, além disso, mostram que de maneira geral o padrão alimentar da assembléia como um todo se molda à disponibilidade alimentar, o que pode ocorrer por plasticidade de espécies generalistas e por alterações na própria composição de espécies desta assembléia.

Porem notou-se que foi coletada no riacho PASa, pelo menos, um morfotipo que tem em sua dieta uma grande porção de plantas C4 (Figura 15A) apresentando um valor de $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente -15‰ , além de alguns outros morfotipos em PASa e PASb que apresentaram valores entre -18 e -20‰ , o que vai de encontro com a teoria citada acima.

Bunn, Davies e Kellaway (1997) notaram que a ausência significativa da entrada de material de origem C3, oriundos das zonas ripárias e o aumento da produção primária interna (proliferação de algas) que ocorre em riachos inseridos em matrizes de plantas C4 (cana-de-açúcar no caso), fez com que a comunidade de invertebrados aquáticos mudasse e passasse a utilizar esse novo recurso autóctone. O que não foi observado neste trabalho, dado que a composição do POC de PASb foi representada por mais de 50% de algas do fitoplâncton, porém este item não apresentou real importância, dado que o consumo de POC é menor que 5% e não foi encontrado nenhum morfotipo com valores isotópicos que indicassem o consumo significativo de fitoplâncton neste riacho.

Ainda é válido salientar a presença de um número significativo de morfotipos em ambos os riachos de floresta com valores de $\delta^{13}\text{C}$ abaixo de -35‰ , incluindo dois morfotipos em cada um desses riachos com valores abaixo de -40‰ (chegando a $-42,68\text{‰}$). Partindo do pressuposto de que em riachos de cabeceira conservados, a proliferação de algas do fitoplâncton é muito improvável, já que estas são dependentes diretas da incidência de luz (HAMILTON; LEWIS, 1992), e valendo-se dos valores medidos para o POC, que indicam composição pura de plantas C3 e do fato de valores abaixo de -40‰ serem muito incomuns para esse tipo de algas, resta supor que exista uma fonte não coletada com valores de $\delta^{13}\text{C}$ por volta de -43‰ . Esta fonte provavelmente está relacionada a bactérias metanotróficas que segundo Kiyashko,

Narita e Wada (2001) e Kohzu et al. (2004) atingem valores de $\delta^{13}\text{C}$ de menos de -60‰ e podem fazer parte da dieta de macroinvertebrados de riacho.

5 CONCLUSÕES

A ferramenta isotópica, mais uma vez, se mostrou extremamente eficiente no entendimento das questões relacionadas às cadeias alimentares e fluxo de nutrientes nos ecossistemas.

A associação desta ferramenta com um conhecimento prévio do objeto de estudo possibilitou concluir que tanto a mudança de classe de altitude quanto às alterações no uso do solo, interferem diretamente no padrão alimentar da assembléia de macroinvertebrados bentônicos de riacho, alterando diretamente os sinais isotópicos das fontes alimentares disponíveis e dos próprios invertebrados.

Observamos que no caso das mudanças de altitude, mais fatores como tipo de substrato e sombreamento, interferem na dinâmica alimentar ao longo do tempo, mas que apesar disso, o fator altitude é responsável por alterações críticas na representatividade do perifiton, como item alimentar autóctone, na dieta dos macroinvertebrados.

Com relação às alterações de uso do solo, ficou claro que a manutenção de uma mata ciliar e da formação florestal que as plantações de eucalipto provêm, favorecem a manutenção de um padrão alimentar próximo ao natural, encontrado nos riachos preservados e florestados.

No caso dos riachos de pastagem pôde-se verificar a forte influência de fatores como aporte de plantas C4 e incidência de luz, que alteram completamente os padrões alimentares, a composição das fontes alimentares e por conseqüência os valores isotópicos dos macroinvertebrados como consumidores.

Houve ainda indicativos interessantes que suscitam a necessidade de estudos mais aprofundados, como a descoberta de morfotipos de macroinvertebrados ingerindo e absorvendo grandes porções de material de origem C4 nos riachos de pastagem, e fontes com valores muito negativos (provavelmente bactérias metanotróficas) nos riachos florestados de altitude.

Vale ainda colocar que este estudo se mostrou um bom exemplo do quanto é importante a prática do agrupamento a posteriori em estudos isotópicos, que tem como premissa a análise da menor categoria possível (no caso morfotipos), para a organização posterior dos dados em grupos reais. Esse tipo de prática permite que

tenhamos uma noção real da variabilidade dos dados e dos grupos que naturalmente existem em nosso universo amostral, evitando erros de interpretação decorrentes do uso de médias como valores brutos.

REFERÊNCIAS

- ABELHO, M.; GRAÇA, M.A.S. Effects of eucalyptus afforestation on leaf litter dynamics and macroinvertebrate community structure of streams in Central Portugal. **Hydrobiologia**, Haugue, v. 324, p. 195–204, 1996.
- ARSCOTT, D.B.; TOCKNER K.; WARD J.V. Lateral organization of aquatic invertebrates along the corridor of a braided floodplain river. **Journal of the North American Benthological Society**, Fort Collins, v. 24, p. 934–954, 2005.
- ASSIS, M.A. **Florística e caracterização das comunidades vegetais da Planície Costeira de Picinguaba, Ubatuba/SP**. 1999. 248 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.
- ALLAN, J.D.; ERICKSON, D.L.; FAY, J. The influence of catchment land use on stream integrity across multiple spatial scales. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 37, p. 149-161, 1997.
- ANDERSON, C.; CABANA, G. Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 26, p. 273-285, 2007.
- BARRELA, W.; PETRERE-JUNIOR, M. A biodiversidade da ictiofauna dos rios Tietê e Paranapanema e sua relação com a floresta Atlântica. In: FUNDAÇÃO TROPICAL DE PESQUISAS E TECNOLOGIA. **Bases de Dados Tropicais**. Disponível em: <<http://www.bdt.org.br/workshop/mataatlantica/SE-S/peixes>>. Acesso em: 27 jan. 2010.
- BEAUDOIN, C.P.; TONN, W.M.; PREPAS, E.E.; WASSENAAR, L.I. Individual specialization and trophic adaptability of northern pike (*Esox luciosus*): an isotope and dietary analysis. **Oecologia**, Berlin, v. 120, p. 386-396, 1999.
- BIRD, G.A.; KAUSHIK, N.K. Coarse particulate organic matter in streams. In: LOCK, M.A.; WILLIAMS, D. D (Ed.). **Perspectives in running water ecology**. New York: Plenum Press, 1981. chap. 2, p. 41-68.
- BONADA, N.; RIERADEVALL, M.; DALLAS, H.; DAVIS, J.; DAY, J.; FIGUEROA, R.; RESH, V.H.; PRAT, N. Multi-scale assessment of macroinvertebrate richness and composition in Mediterranean-climate rivers. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 53, p. 772-788, 2008.
- BOUTON, T.W. Stable carbon isotope ratio of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.). **Carbon isotope techniques**. New York: Academic Press, 1991. chap. 11, p. 173-185.

BRETSCHKO, G.; WAIDBACHER, H. Riparian ecotones, invertebrates and fish: life cycle timing and trophic base. **Ecohydrology & Hydrobiology**, Warsaw, v. 1, n. 1/2, p. 57-64, 2001.

BRITO, E.F.; MOULTON, T.P.; SOUZA, M.L.; BUNN, S.E. Stable isotope analysis indicates microalgae as the predominant food source of fauna in a coastal forest stream, south-east Brazil. **Austral Ecology**, Nathan, v. 31, p. 623–633, 2006.

BUNN, S.E.; DAVIES, P.M.; KELLAWAY, D.M. Contributions of sugar cane and invasive pasture grass to the aquatic food web of a tropical lowland stream. **Marine and Freshwater Research**, East Melbourne, v. 48, p. 173-179, 1997.

CALIJURI, M.C.; BUBEL, A.P. Conceituação de microbacias. In: LIMA, W.P.; ZÁKIA, M.J.B. (Org.). **As florestas plantadas e a água**: implementando o conceito da microbacia como unidade de planejamento. São Carlos: Rima; CNPq, 2006. cap. 4, p. 45-60.

CLAPCOTT, J.E.; BUNN, S.E. Can C₄ plants contribute to aquatic food webs of subtropical streams? **Freshwater Biology**, Oxford, v. 48, p. 1105-1116, 2003.

CLARKE, L.R.; VIDERGAR, D.T.; BENNETT, D.H. Stable isotopes and gut content show diet overlap among native and introduced piscivores in a large oligotrophic lake. **Ecology of Freshwater Fish**, Copenhagen, v. 14, p. 267-277, 2005.

COAT, S., MONTI, D., BOUCHON, C., AND LEPOINT, G. Trophic relationships in a tropical stream food web assessed by stable isotope analysis. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 54, p. 1028–1041, 2009.

COLETTA, L.D.; NARDOTO, G.B.; LATANSIO-AIDAR, S.R.; ROCHA, H.R.; AIDAR, M.P.M.; OMETTO, J.P.H.B. Isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen cycles in a cerrado ecosystem, southeastern Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, p. 467-475, 2009.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de qualidades das águas litorâneas no Estado de São Paulo**: balneabilidade das prais 2005. São Paulo, 2006. 254 p.

_____. **Relatório de qualidades das águas litorâneas no Estado de São Paulo, 2006**. São Paulo, 2007. 327 p.

CORBI, J.J.; TRIVINO-STRIXINO, S. Influence of taxonomic resolution of stream macroinvertebrate communities on the evaluation of different land uses. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 18, n. 4, p. 469-475, 2006.

CUMMINS, K.H. An evaluation of some techniques for the collection and analyses of benthic samples with special emphasis on lotic water. **American Midland Naturalist**, Notre Dame, v. 67, n. 2, p. 477-504, 1962.

CUMMINS, K.W.; KLUG, M.J. Feeding ecology of stream invertebrates. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, 10: 147-172, 1979.

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Washington, v. 42, p. 495-506, 1978.

_____. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Washington, v. 45, p. 341-351, 1981.

EATON, D.P. Macroinvertebrados aquáticos como indicadores ambientais da qualidade de água. In: CULLEN, L.J.; RUDRAN, R.; PÁDUA, C.V. (Org.). **Métodos de estudo em biologia da conservação e manejo da vida silvestre**. Curitiba: UFPR, 2003. cap. 2, p. 43-68.

EHLERINGER, J.R.; RUNDEL, P.W. Stable isotopes: history, units, and instrumentation. In: RUNDEL, P.W.; EHLERINGER, J.R.; NAGY, K.A. (Ed.). **Stable isotopes in ecological research**. New York: Springer-Verlag, 1989. chap. 1, p. 1-15.

ENGLAND, L.E.; ROSEMOND, A.D. Small reductions in forest cover weaken terrestrial-aquatic linkages in headwater streams. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 49, p. 721-734, 2004.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FERREIRA, C.P.; CASATTI, L. Influência da estrutura do hábitat sobre a ictiofauna de um riacho em uma micro-bacia de pastagem, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 642-651, 2006.

FINLAY, J.C. Stable-carbon-isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. **Ecology**, Tempe, v. 82, n. 4, p. 1052-1064, 2001.

FLANAGAN, L.B.; EHLERINGER, J.R. Stable isotope composition of stem and leaf water: applications to the study of plant water use. **Functional Ecology**, London, n. 5, p. 270-277, 1991.

FORSBERG, B.R.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; MARTINELLI, L.A.; VICTORIA, R.L.; BONASSI, J.A. Autotrophic carbon sources for fish of the Central Amazon. **Ecology**, Tempe, v. 74, n. 3, p. 643-652, 1993.

FRISSELL, C.A.; LONZARICH, D.G. Habitat use and competition among stream fishes. In: HAUER, F.R.; LAMBERTI, G.A. (Ed.). **Methods in stream ecology**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 493-510.

FRY, B.; SHERR, E.B. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and fresh water ecosystems. **Contribution in Marine Science**, Texas, v. 27, p. 13-47, 1984.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio da Mata Atlântica no período 1985-1990**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica; INPE, 1993. 93 p.

FÜREDER, L.; WELTER, C.; JACKSON, J.K. Dietary and stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) analyses in alpine Ephemeroptera and Plecoptera. - In: GAINO, E. (Ed.). **Research update on Ephemeroptera and Plecoptera**. Perugia: Università de Perugia, 2003. p. 39-46.

GANNES, L.Z.; O'BRIEN, D.M.; MARTINEZ Del RIO, C. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. **Ecology**, Tempe, v. 78, n. 4, p. 1271-1276, 1998.

GERHARD, P. **Comunidade de peixes de riachos em função da paisagem da Bacia do Rio Corumbataí, Estado de São Paulo**. 2005. 241 p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GOMIERO, L.M.; BRAGA, F.M.S. Uso do grau de preferência alimentar para a caracterização da alimentação de peixes na APA de São Pedro e Analândia. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 265-270, 2005.

GREGORY, S.V.; SWANSON, F.J.; McKEE, W.A.; CUMMINS, K.W. An ecosystem perspective of riparian zones: focus on links between land and water. **Bioscience**, Washington, v. 41, n. 8, p. 540-551, 1991.

GROWNS, I.O.; DAVIS, J.A. Longitudinal changes in near-bed flows and macroinvertebrate communities in a western Australian stream. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 13, p. 417–438, 1994.

GRUBAUGH, J.W.; WALLACE, J.B.; HOUSTON, E.S. Longitudinal changes of macroinvertebrate communities along an Appalachian stream continuum. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 53, p. 896–909, 1996.

GU, B.; SCHELSKE, C.L.; HOYER, M.V. Intrapopulation feeding diversity in blue tilapia: evidence from stable-isotope analyses. **Ecology**, Tempe, v. 78, n. 7, p. 2263-2266, 1997.

HAMILTON, S.K.; LEWIS, W.M. Stable carbon and nitrogen isotopes in algae and detritus from the Orinoco River floodplain, Venezuela. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Maryland Heights, v. 56, n. 12, p. 4237-4246, 1992.

HARJU, T.K. **Modeling regional distribution and local food web dynamics of the new zealand mud snail (*potamopyrgus antipodarum*)**. 2007. 80 p. Thesis (Partial fulfillment of Master in Watershed Science) - Utah State University, Logan, 2007.

HEINO, J. Functional biodiversity of macroinvertebrate assemblages along major gradients of boreal headwater streams. **Freshwater Biology**, Oxford, n. 50, p. 1578, 2005.

HERSHEY, A.E.; FORTINO, K.; PETERSON, B.J.; ULSETH, A.J. Stream food webs. In: HAUER, F.R.; LAMBERTI, G.A. (Ed.). **Methods in stream ecology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2007. chap. 27, p. 637-659.

HICKS, B.J. Food webs in forest and pasture streams in the Waikato region, New Zealand: a study based on analyses of stable isotopes of carbon and nitrogen, and fish gut contents. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, Wellington, v. 31, p. 651-664, 1997.

JACOBSEN, D. Altitudinal changes in diversity of macroinvertebrates from small streams in the Ecuadorian Andes. **Archiv für Hydrobiologie**, Stuttgart, v. 158, p. 145–167, 2003.

JARDINE, T.D.; KIDD, K.A.; CUNJAK, R.A. An evaluation of deuterium as a food source tracer in temperate streams of eastern Canada. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 28, p. 885–893, 2009.

KASANGAKI, A.; CHAPMAN, L.J.; BALIRWA, J. Land use and the ecology of benthic macroinvertebrate assemblages of high-altitude rainforest streams in Uganda. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 53, p. 681-697, 2008.

KELLY, A.; JONES, R.I.; GRAY, J. Stable isotope analysis provides fresh insights into dietary separation between *Chironomus anthracinus* and *C. plumosus*. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 23, n. 2, p. 287-296, 2004.

KIKUCHI, R.M.; UIEDA, V.S. Composition and distribution of macroinvertebrates in different types of substrate of a stream in the Municipal District of Itatinga, São Paulo, Brazil. **Entomología y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 193-231, 2005.

KIYASHKO, S.I.; NARITA, T.; WADA, E. Contribution of methanotrophs to freshwater macroinvertebrates: evidence from stable isotope ratios. **Aquatic Microbial Ecology**, Paris, n. 24, p. 203–207, 2001.

KOHZU, A.; KATO, C.; IWATA, T.; KISHI, D.; MURAKAMI, M.; NAKANO, S.; WADA, E. Stream food web fueled by methane-derived carbon. **Aquatic Microbial Ecology**, Paris, n. 36, p. 189–194, 2004.

LAU, D.C.P.; LEUNG, K.M.Y.; DUDGEON, D. What does stable isotope analysis reveal about trophic relationships and the relative importance of allochthonous and autochthonous resources in tropical streams? A synthetic study from Hong Kong. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 54, p. 127–141, 2009.

LEWIS JUNIOR, W.M.; HAMILTON, S.K.; RODRÍGUEZ, M.A.; III, J.F.S.; LASI, M.A. Foodweb analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 241-254, 2001.

LOPES, C.A.; BENEDITO-CECILIO, E.; MARTINELLI, L.A. Variability in the carbon isotope signature of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae, Characiformes) a bottom-feeding fish of the neotropical region. **Journal of Fish Biology**, London, v. 70, p. 1649-1659, 2007.

LOPES, C.A.; BENEDITO-CECILIO, E.; MARTINELLI, L.A.; SOUZA, M.C. Variability of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in terrestrial and aquatic sources in the Upper Paraná River Basin, Paraná, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 18, n. 3, p. 281-292, 2006.

MACHÁS, R.; SANTOS, R. Sources of organic matter in Rio Formosa revealed by stable isotope analysis. **Acta Oecologica**, Paris, v. 20, p. 463-469, 1999.

MacLEOD, N.A.; BARTON, D.R. Effects of light intensity, water velocity, and species composition on carbon and nitrogen stable isotope ratios in periphyton. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 55, p. 1919-1925, 1998.

MANETTA, G.L.; BENEDITO-CECILIO, E.; MARTINELLI, L.A. Carbon sources and trophic position of the main species of fishes of Baía River, Paraná River Floodplain, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 63, n. 2, p. 283-290, 2003.

MANTELATTO, F.L.; CHRISTOFOLETTI, R.A.; CAMARGO, P.B. A food source analysis for the swimming crab *Callinectes ornatus* (Portunidae) in Ubatuba Bay (Brazil), using carbon isotopes. **Nauplius**, Rio Grande, v. 10, n. 1, p. 61-66, 2002.

MARTINELLI, L.A.; VICTÓRIA, R.L.; MATSUI, E.; FORSBERG, B.R.; MOZETO, A.A. Utilização das variações de $\delta^{13}\text{C}$ no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 11, p. 859-882, 1988.

MELO, A.S.; NIYOGI, D.K.; MATTHAEI, C.D.; TOWNSEND, C.R. Resistance, resilience and patchiness of invertebrate assemblages in native tussock and pasture streams in New Zealand after a hydrological disturbance. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 60, n. 6, p. 731-739, 2003.

MARTINELLI, L.; OMETTO, J.P.; FERRAZ, E.; VICTORIA, R.; CAMARGO, P.B.; MOREIRA, M. A composição isotópica do carbono na hidrosfera. In: _____. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009. cap. 8, p. 80-91.

- MARTINS, S.C. **Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo**. 2010. 175 p. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- MCCUTCHAN, J.H, JR.; LEWIS, W.M. Jr. Seasonal variation in stable isotope ratios of stream algae. **Archiv für Hydrobiologie. Internationale für Theoretische und Angewandte Limnologie**, Stuttgart, v. 27, p. 3304–3307, 2000.
- MELO, A.S.; FROEHLICH, C.G. Macroinvertebrates in neotropical streams: richness patterns along a catchment and assemblage structure between 2 seasons. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 20, p. 1–16, 2001.
- MINAGUAWA, M.; WADA, E. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Kidlington, v. 48, p. 1135-1140, 1984.
- MINSHALL, G.W.; RUGENSKI, A. Riparian processes and interactions. In: HAUER, F.R.; LAMBERTI, G.A. (Ed.). **Methods in stream ecology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2007. chap. 31, p. 721-742.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, p. 852-858, 2000.
- NAIMAN, R.J.; DÉCAMPS, H.; McCLAIN, M.E. **Riparia: ecology, conservation, and management of streamside communities**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 430 p.
- OLIVEIRA, A.C.B.; MARTINELLI, L.A.; MOREIRA, M.Z.; SOARES, M.G.M.; CYRINO, J.E.P. Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon – lake Camaleão, Amazonas, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, Oxford, v. 13, p. 135-142, 2006.
- OMETTO, J.P.H.B.; MARTINELLI, L.A.; CAMARGO, P.B.; MOREIRA, M.Z. Uso de isótopos estáveis em estudos ambientais. In: ROLAND, F.; CÉSAR, D.; MARINHO, M. (Org.). **Lições de limnologia**. São Carlos: RIMA, 2005. p. 461-485.
- OMETTO, J.P.H.B.; MARTINELLI, L.A.; BALLESTER, M.V.R.; GESSNER, A.; KRUSCHE, A.; VICTORIA, R.L.; WILLIAMS, M. Effects of land use on water chemistry and macroinvertebrates in two streams of Piracicaba river basin, southeast Brazil. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 44, p. 327-337, 2000.
- OMETTO, J.P.H.B. ; EHLERINGER, J.R.; DOMINGUES, T.F.; BERRY, J.A.; ISHIDA, F.Y.; MAZZI, E.; HIGUCHI, N.; FLANAGAN, L.B.; NARDOTO, G.B.; MARTINELLI, L.A. The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 79, p. 251-274, 2006.

OYAKAWA, O.T.; AKAMA, A.; MAUTARI, K.C.; NOLASCO, J.C. **Peixes de riachos da Mata Atlântica nas Unidades de Conservação do Vale do Rio Ribeira de Iguape no Estado de São Paulo**. São Paulo: Ed. Neotropica, 2006. 201 p.

PALMER, C.; PALMER A.; O'KEEFE, J.; PALMER, R. Macroinvertebrate community structure and altitudinal changes in the upper reaches of a warm temperature southern african river. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 32, p. 337-348, 1994.

PEREIRA, A.L.; BENEDITO, E.; SAKURAGUI, C.M. Spatial variation in the stable isotopes of ^{13}C and ^{15}N and trophic position of *Leporinus friderici* (Characiformes, anostomidae) in Corumbá Reservoir, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 1, p. 41-49, 2007.

PETERSON, B.J. Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. **Acta Oecologica**, Paris, v. 20, p. 479–487, 1999.

PETERSON, B.J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 293-320, 1987.

PHILLIPS, D.L. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. **Oecologia**, Berlin, v. 127, p. 166-170, 2001.

PHILLIPS, D.L.; GREGG, J.W. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. **Oecologia**, Berlin, v. 127, p. 171–179, 2001.

PONÇANO, W.L.; CARNEIRO, C.D.R.; BISTRICHI, C.A; ALMEIDA, F.F.M.; PRADINI, F.L. **Mapa geomorfológico do estado de São Paulo**. São Paulo: IPT, 1981. v. 1.

POST, D.M. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. **Ecology**, Tempe, v. 83, n. 3, p. 703-718, 2002.

QUINN, J.M.; COOPER, A.B.; DAVIES-COLLEY, R.J.; RUTHERFORD, J.C.; WILLIAMSON, R.B. Land use effects on habitat, water quality, periphyton, and benthic invertebrates in Waikato, New Zealand, hill-country streams. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, Wellington, v. 31, p. 579-597, 1997.

RICHARDS, C.; JOHNSON, L.B.; HOST, G.E. Landscape-scale influence on stream habitats and biota. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 53, n. 1, p. 259-311, 1996.

RIOS, S.L.; BAILEY, R.C. Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales. **Hydrobiologia**, Haugue, v. 553, p. 153-160, 2006.

ROSEMBERG, D.M.; RESCH, V.H. Introduction to fresh water biomonitoring and benthic macroinvertebrates. In: _____. **Fresh water biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. p. 1–9.

- ROSENFELD, J.S.; ROFF, J.C. Examination of the carbon base in southern Ontario streams using stable isotopes. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 11, p. 1-10, 1992.
- RUGENSKI, A.T.; KOHLER, A.; MINSHALL, G.W.; DANEHY, R.J.; TAKI, D. Effect of ¹⁵N labeled riparian fertilization and salmon carcass analog addition on food web dynamics and productivity in four idaho streams. In: AMERICAN GEOPHYSICAL UNION, SPRING MEETING, 2005, British Columbia. **Proceedings...** British Columbia: AGU, 2005. p. 3.
- RUSSO, M.R.; FERREIRA, A.; DIAS, R.M. Disponibilidade de invertebrados aquáticos para peixes bentófagos de dois riachos da bacia do rio Iguazu, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 411-417, 2002.
- RYBCZYNSKI, S.M.; WATERS, D.M.; FRITZ, K.M.; JOHNSON, B.R. Comparing trophic position of stream fishes using stable isotope and gut contents analyses. **Ecology of Freshwater Fish**, Copenhagen, v. 17, n. 2, p. 199-206, 2008.
- SABINO, J.; DEUS E SILVA, C.P. História natural de peixes da estação ecológica Juréia-Itatins. In: MARQUES, O.A.V.; DULEBA, W. (Ed.). **Estação ecológica Juréia-Itatins: ambiente físico, flora e fauna**. Ribeirão Preto: Holos, 2004. p. 230-242.
- SÃO PAULO. Secretaria do Meio Ambiente. **Atlas das Unidades de Conservação do Estado de São Paulo. Parte 1. Litoral**. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente; CESP, 1996. 47 p.
- SETZER, J. **Atlas climatológico do estado de São Paulo**. São Paulo: Comissão Interestadual da Bacia do Paraná-Paraguai; CESP, 1966. 40 p.
- SILVA, A.M.; CASATTI, L.; ALVARES, C.A.; LEITE, A.M.; MARTINELLI, L.A.; DURRANT, S.F. Soil loss risk and habitat quality in streams of a meso-scale river basin. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 4, p. 336-343, 2007.
- SOLLINS, P. Factors influencing species composition in tropical lowland rain forest: does soil matter? **Ecology**, New York, v. 79, p. 23-30, 1998.
- SPONSELLER, R.A.; BENFIELD, E.F.; VALETT, H.M. Relationships between land use, spatial scale and stream macroinvertebrate communities. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 46, p. 1499-1424, 2001.
- TANNER, E.V.J.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E. Experimental investigation of nutrient limitation of forest growth on wet tropical mountains. **Ecology**, New York, v. 79, p. 10-22, 1998.

TOMANOVA, S.; TEDESCO, P.A.; CAMPERO, M.; VAN DAMME, P.A.; MOYA, N.; OBERDORFF, T. Longitudinal and altitudinal changes of macroinvertebrate functional feeding groups in Neotropical streams: a test of the River Continuum Concept. **Archiv für Hydrobiologie**, Stuttgart, v. 170, p. 233–241, 2007.

TOWNSEND, C.R.; BEGON, M.; HARPER, J.L. **Fundamentos em ecologia**. 2. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2006. 592 p.

TOWNSEND, C.R.; DOWNES, B.J.; PEACOCK, K.; ARBUCKLE, C.J. Scale and the detection of land-use effects on morphology, vegetation and macroinvertebrate communities of grassland streams. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 49, p. 448-462, 2004.

TUMWESIGYE, C.; YUSUF, S.K.; MAKANGA, B. Structure and composition of benthic macroinvertebrates of a tropical forest stream, River Nyamweru, Western Uganda. **African Journal of Ecology**, Oxford, n. 38 p. 72, 2000

UIEDA, V.S.; CASTRO, R.M.C. Coleta e fixação de peixes de riachos. In: CARAMASHI, E.P.; MAZZONI, R.; PERES-NETO, P.R. (Ed.). **Ecologia de peixes de riachos**. Rio de Janeiro: UFRJ, PPGE, 1999. v. 6, p. 1-22. (Série Oecologia Brasiliensis).

VANDER ZANDER, M.J.; RASMUSSEN J.B. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. **Limnology and Oceanography**, Ottawa, v. 46, p. 2061–2066, 2001.

VANDER ZANDER, M.J.; CABANA, G.; RASMUSSEN, J.B. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 54, p. 1142-1158, 1997.

VANDER ZANDER, M.J.; SHUTER, B.J.; LESTER, N.P.; RASMUSSEN, J.B. Within- and among-population variation in the trophic position of a pelagic predator, lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 57, p. 725-731, 2000.

VANNOTE, R.L.; MINSHALL, G.W.; CUMMINS, K.W.; SEDELL, J.R.; CUSHING, C.E. The river continuum concept. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 37, p. 130-137, 1980.

VAZ, M.M.; PETRERE JUNIOR, M.; MARTINELLI, L.A.; MOZETO, A.A. The dietary regime of detritivorous fish from the River Jacaré Pepira, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, Oxford, v. 6, p. 121-132, 1999.

VELOSO, H.P.; RANGEL FILHO, A.L.R.; LIMA, J.C.A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Brasília: IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991. 123 p.

VIEIRA, I. **Alterações nas fontes alimentares disponíveis a ictiofauna, utilizando isótopos estáveis de carbono.** 2005. 76 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

VINSON, M.R.; HAWKINS, C.P. Biodiversity of stream insects: variation at local, basin, and regional scales. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 271–293, 1998.

WALLACE, J.B.; WHILES, M.R.; EGGERT, S.; CUFFNEY, T.F.; LUGTHART, G.J.; CHUNG, K. Long-term dynamics of coarse particulate organic matter in three Appalachian Mountain streams. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 14, p. 217-232, 1995.

WARD J.V. Altitudinal zonation in a Rocky Mountain stream. **Archiv für Hydrobiologie Supplement**, Stuttgart, v. 74, p. 133–199, 1986.

WATERS, T.F. Sediment in streams. **American Fisheries Society Monographs**, Maryland, v. 7, p. 79-118, 1995.

WEBSTER, J.R.; BENFIELD, E.F.; EHRMAN, T.P.; SCHAEFFER, M.A.; TANK, J.L.; HUTCHENS, J.J.; D'ANGELO, D.J. What happens to allochthonous material that falls into streams? A synthesis of new and published information from Coweeta. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 41, p. 687–705, 1999.

WEBSTER, M.S.; MARRA, P.P.; HAIG, S.M.; BENSCH, S.; HOLMES, R.T. Links between worlds: unraveling migratory connectivity. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 17, p. 76-83, 2002.

WIEDERHOLM, T. Chironomidae of the Holarctic region, keys and diagnoses: Part 1: Larvae. **Entomologica Scandinavica**, Lund, suppl. 19, p. 457, 1983

YOUNT, J.D.; NIEMI G.J. Recovery of lotic communities and ecosystems from disturbance: a narrative review of case studies. **Environmental Management**, New York, v. 14, n. 5, p. 547-569, 1990.

YULE, C.M.; LEONG, M.Y.; LIEW, K.C.; RATNARAJAH, L.; SCHMIDT, K.; WONG, H.M.; PEARSON, R.; BOYERO, L. Shredders in Malaysia: abundance and richness are higher in cool upland tropical streams. **Journal of the North American Benthological Society**, Schaumburg, v. 28, p. 404-415, 2009.

ZAH, R. **Patterns, pathways, and trophic transfer of organic matter in a glacial stream ecosystem in the Alps.** 2001. 148 p. Thesis (Ph.D. in Natural Sciences) - Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, 2001.