DIEGO ALBERTO TAVARES

Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão luz:nutrientes sobre a estrutura da comunidade de algas planctônicas e epipélicas

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais

SÃO PAULO
2018

DIEGO ALBERTO TAVARES

Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão luz:nutrientes sobre a estrutura da comunidade de algas planctônicas e epipélicas

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais

ORIENTADORA: DRA. CARLA FERRAGUT

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Tavares, Diego Alberto
T231e Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão luz: nutrientes sobre a estrutura da comunidade de algas planctônicas e epipélicas / Diego Alberto Tavares -- São Paulo, 2018.
51p.; il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2018.

Bibliografia.

1. Fitoplâncton. 2. Epipélon. 3. Ecologia. I. Título.

CDU: 582.26

Aos meus pais, Carlos e Silvia, meu irmão Douglas e minha namorada Ingrid,

Por seu amor e apoio a cada momento e a cada escolha.

Dedico.

“I was just guessing at numbers and figures
Pulling the puzzles apart
Questions of science, science and progress
Do not speak as loud as my heart”
Coldplay – The Scientist

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Carla Ferragut, por sua orientação, apoio, dedicação, paciência, compreensão, e principalmente pela oportunidade dada na execução deste trabalho. Nestes dois anos muitos foram os momentos nos quais me passou lições importantes que levarei para toda minha vida profissional. Houveram também, muitos os momentos de piadas e risadas que fizeram com que você seja uma pessoa especial, muito além de apenas uma orientadora, uma mestra digna de minha amizade e respeito para toda a vida.

À Dra. Denise de Campos Bicudo por suas contribuições ao trabalho, desde a elaboração do projeto com dicas sobre a nossa execução, por me ensinar de forma didática seus conhecimentos, seja dentro, ou fora da sala de aula; pelas sugestões que foram feitas no Exame de Qualificação, por sempre acreditar no trabalho e sempre me considerar um profissional.

Ao Dr. Eduardo Pereira Cabral Gomes pelas sugestões dadas durante o Exame de Qualificação, bem como os ensinamentos e conversas durante sua disciplina Planejamento e Análises Quantitativas em Estudos de Biodiversidade e as conversas ocasionais no corredor da Ecologia.

Ao Dr. André Cordeiro Alves dos Santos por aceitar meu convite de ser banca de meu Exame de Qualificação e seus conselhos sugestões para melhora deste trabalho.

Ao Dr. Raoul Henry pela amizade e todo apoio dado durante período experimental deste trabalho. A contribuição com meu melhoramento profissional permitindo que eu fizesse a disciplina “Ecologia de Rio e Riachos” na Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu – SP é imensurável. Foi com certeza um prazer conhecê-lo e poder trabalhar ao lado de um dos maiores nomes da Limnologia do país.

Ao Dr. Carlos Eduardo de Matos Bicudo pelas boas histórias na hora do cafezinho e sempre a disposição para ajudar com as dificuldades taxonômicas e ao acesso a sua maravilhosa biblioteca. Foi um prazer trabalhar com um dos maiores nomes da Limnologia e Ficologia do país.

Aos amigos e perifitólogos Luyza, Mayara, Richard e Thiago por estarem ao meu lado durante toda a elaboração, definição e execução deste trabalho, sendo mais do que amigos, sendo irmãos que compartilharam experiências e lições que nos manterão sempre amigos. Obrigado por colaborem todo este período e que isso seja levado para toda nossa vida.

Aos amigos e membros da equipe do Laboratório de Ecologia Aquática: Ana Margarita, Angela Maria, Camila Araújo, Elaine Bartozek, Elton Lenhkuhl, Gisele Marquardt, Jennifer Paola, Krysna Morais, Lívia Costa, Lucineide Santana, Pryscilla Denise, Samantha Faustino,

Simone Oliveira, Simone Wengrat, Stéfano Zorzal. Obrigada pela preciosa ajuda nos dias de coleta, pela convivência e amizade.

À, hoje, Dra. Maria Carolina, pelas melhores experiências cômicas durante as coletas, foi muito bom poder trabalhar com você e espero que continuemos nossa jornada acadêmica e científica como grandes parceiros.

Aos amigos e membros da equipe do Laboratório de Ecologia Terrestre: Cássia, Débora, Douglas, Giovana, Gisele, Laís, Marcela, Marisia, Solange, Vanessa e Vilmar. Obrigada pela convivência e amizade, ela foi muito importante principalmente para que eu pudesse me sentir acolhido.

À Amariles Souza, Maria Auxiliadora (Dorinha) e Marly por sempre me ajudarem nos dias de coleta e de análises, por sua dedicação e cuidado com todos os materiais que utilizei durante os dias de coleta. Agradeço principalmente à Dorinha e a Amariles pela amizade, preocupação e carinho dado durante todo esse período.

Aos pesquisadores, alunos e funcionários do Núcleo de Pesquisas em Ecologia, pelo apoio e convivência, sempre agradável, no desenvolvimento do trabalho.

Ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pela infraestrutura disponibilizada, auxílio nas coletas e uso irrestrito do laboratório e equipamentos do Núcleo de Pesquisas em Ecologia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo pela oportunidade e todas disciplinas oferecidas que foram essenciais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa cedida durante o período de execução deste trabalho.

A toda minha família, especialmente, ao meu pai, Carlos, minha mãe, Silvia, meu irmão Douglas e meus avôs, José, Paulo e Zoraide, não esquecendo meu sogro, Milton e sogra, Leni, agradeço a todos vocês pelo apoio, confiança, e por sempre se esforçaram para que eu termine o mestrado sem preocupações e distrações.

A minha namorada, Ingrid Iyuri por ser paciente, amiga, me dar carinho quando precisei, por ser meu maior apoio emocional e motivacional, por me fazer melhor. É por você e por nós que tenho motivação para nunca desistir dos meus objetivos, ainda que futuro seja distante e desconhecido, espero continuar tendo você ao meu lado para sermos melhores juntos.

ÍNDICE

RESUMO GERAL **1**

GENERAL SUMMARY **1**

INTRODUÇÃO GERAL **3**

O EFEITO DO ENRIQUECIMENTO POR N E P E SUA INTERRUPÇÃO SOBRE A RELAÇÃO DA BIOMASSA FITOPLANCTÔNICA E EPIPÉLICA. **5**

1.INTRODUÇÃO 5

2. MATERIAL E MÉTODOS 6

2.1 Delineamento experimental *6*

2.2. Variáveis analisadas *8*

2.3 Análise Estatística dos Resultados *9*

3. RESULTADOS 9

3.1 Variáveis abióticas *9*

3.2 Variáveis bióticas *13*

4. DISCUSSÃO 15

APÊNDICE 17

EFEITOS DA VARIAÇÃO DE LUZ E NUTRIENTES SOBRE O FITOPLÂNCTON E EPIPÉLON **18**

1. INTRODUÇÃO 18

2. MATERIAL E MÉTODOS 19

2.1 Delineamento experimental *19*

2.2. Variáveis analisadas *21*

2.3 Análise Estatística dos dados *22*

3. RESULTADOS 23

3.1 Variáveis abióticas *23*

3.1 Variáveis bióticas *25*

4. DISCUSSÃO 35

APÊNDICE 38

CONSIDERAÇÕES FINAIS **39**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... **I**

RESUMO GERAL

A disponibilidade de luz e nutrientes são fatores determinantes da estrutura da comunidade de algas perifíticas. O maior entendimento dos efeitos combinados da disponibilidade de luz e nutrientes sobre a estrutura e dinâmica do epipélon e do fitoplâncton pode melhorar processos de recuperação e conservação dos ecossistemas rasos tropicais. Este trabalho teve como objetivo isolar os efeitos da disponibilidade de nutrientes e de luz e, consequentemente, da razão luz:nutriente sobre o fitoplâncton e epipélon. Dois experimentos com variação de nutrientes e luz foram realizados em mesocosmos de fundo aberto *in situ*. No primeiro experimento, nós buscamos avaliar os efeitos do enriquecimento combinado e isolado por N e P e a sua interrupção sobre as mudanças da clorofila a do fitoplâncton e epipélon. No segundo experimento, nós avaliamos o efeito da variação da disponibilidade de luz sobre as mudanças da clorofila a e da estrutura taxonômica do fitoplâncton e do epipélon em condições de alta disponibilidade de nutrientes, visando comparar as respostas em função da variação da razão Luz:Nutrientes. De maneira geral, nossos resultados demostraram que o enriquecimento combinado e isolado por N e P e a sua interrupção tem efeito sobre a biomassa fotossintética do fitoplâncton e epipélon, principalmente com a adição isolada e combinada de fósforo, a qual promoveu o aumento da concentração de clorofila *a* do fitoplâncton. Em relação a variação de luz e nutrientes nossos resultados mostraram que o enriquecimento por N e P tem efeito sobre estrutura taxonômica do fitoplâncton e do epipélon, mas a disponibilidade de luz assumiu importante papel em condições de alta disponibilidade de nutrientes. A disponibilidade luz e de nutrientes foram fatores determinantes da estrutura do fitoplâncton e do epipélon, pois ambos os fatores promoveram mudanças na dominância e abundância das espécies descritoras. Concluiu-se que mudanças na disponibilidade de nutrientes altera a relação entre fitoplâncton e epipélon, sendo o enriquecimento um fator que reduz o potencial fotossintético do epipélon. A variação na disponibilidade de luz pode ter forte impacto sobre a estrutura das comunidades de algas do plâncton e epipélon.

Palavras-Chave: Fitoplâncton, Epipélon, atenuação da luz, mesocosmos de fundo aberto

GENERAL SUMMARY

The light and nutrient availability are determining factors of the biomass and taxonomic structure in the periphyton. Greater understanding of the combined effects of light and nutrient availability on the structure and dynamics of epipelon and phytoplankton can improve the recovery and conservation processes of tropical shallow ecosystems. This study aimed to isolate the effects of nutrient and light availability and, consequently, the light:nutrient ratio on phytoplankton and epipelon. Two experiments with nutrient and light variation were performed in open bottom mesocosms *in situ*. In the first experiment, we aimed to evaluate the effects of combined and isolated enrichment by N and P and its interruption on the changes of phytoplankton and epipelon chlorophyll *a*. In the second experiment, we evaluated the effect of light availability on chlorophyll a and phytoplankton and epipelon taxonomic structures, in order to compare the responses as a function of the Light: Nutrients ratio. In general, our results showed that N and P combined, and isolated enrichment had an effect on photosynthetic biomass of phytoplankton and epipelon, especially with the combined and isolated addition of phosphorus, which promoted an increase of phytoplankton biomass. In relation to light and nutrient variation, our results showed that N and P enrichment has an effect on phytoplankton and epipelon taxonomic structure, but light availability has assumed a significant role in high nutrient availability conditions. Light and nutrient availability were determinant factors of phytoplankton and epipelon structure, as both factors promoted changes in dominance and abundance of species descriptors. We conclude that changes in nutrient availability alter the relationship between phytoplankton and epipelon and that enrichment is a factor that reduces the photosynthetic potential of the epipelon. The variation in light availability may have a strong impact on the structure of the algal communities of plankton and epipelon.

Key words: Phytoplankton, epipelon, mesocosms open bottom; light attenuation

INTRODUÇÃO GERAL

Lagos e reservatórios rasos são predominantes em nível mundial e suas extensas regiões litorâneas possibilitam o desenvolvimento de diversos produtores primários, como por exemplo, as comunidades algais (Wetzel 1983, Downing *et al.* 2006). As comunidades algais possuem diversas funções em ecossistemas aquáticos, pois podem contribuir com mais de 90% da produtividade primária total do sistema (Vadeboncouer *et al.* 2001, Liboriussen & Jeppesen 2009), são a base da cadeia alimentar (Vadeboncoeur & Steinman 2002), participam da ciclagem de nutrientes (Dodds 2003, Huszar *et al.* 2006) e contribuem enormemente para a biodiversidade local (Stevenson 1996, Ferragut *et al.* 2005).

Comunidades algais podem ser classificadas de acordo com habitat, como as algas planctônicas e algas bentônicas (Bellinger & Siegee 2010). Comunidades planctônicas são aquelas suspensas na coluna d'água e a comunidade algal é denominada de fitoplâncton (Lampert & Sommer 2007), que é comumente usada nos diagnósticos ambientais (Tundisi 2003, Darchambeaua *et al.* 2014). Por outro lado, as comunidades bentônicas são aquelas associadas a um substrato, como por exemplo, o epipélon que está associado ao sedimento (Round 1973). O epipélon é tipicamente formado por algas que habitam o sedimento mole, podendo estar expostas ou submersas no sedimento, onde há predominância de diatomáceas e cianobactérias (Stevenson 1996). Apesar de organizadas de forma distinta no ambiente, as comunidades algais exibem diversas formas de interação, como competição por recursos, como a luz e os nutrientes (Hill & Fanta 2008). Além disso, o epipélon e o fitoplâncton podem intercambiar espécies através da migração que pode ocorrer devido às perturbações físicas no sedimento ou pela migração vertical em busca de melhores condições de recursos (Carrick *et al.* 1993, Havens *et al.* 1996, Werner & Köhler 2005). Perturbações no ambiente podem afetar a organização e estruturação das comunidades algais, podendo gerar instabilidade e quebrar o equilíbrio do sistema, como é o caso da perturbação química causada pela entrada de nutrientes (Peterson & Stevenson 1990, Smith & Schindler 2009). A sobrecarga de nutrientes pode afetar a estrutura e o funcionamento das comunidades algais, bem como as interações ecológicas (Biggs 1995, Peterson 1996). A resposta das comunidades frente à sobrecarga de nutrientes é, normalmente, estudada em experimentos de enriquecimento, que podem simular diferentes condições ambientais (ex. Ferragut & Bicudo 2012). Vale ressaltar que ao se introduzir um nutriente limitante em um ecossistema pode haver mudanças na estequiometria C, N e P, bem como em outros elementos, levando a uma maior competição por recursos entre as comunidades algais (Dodds & Priscu 1990, Reynolds & Davies 2001). Porém, poucos estudos experimentais avaliaram o efeito da adição de nutrientes sobre fitoplâncton e epipélon conjuntamente (ex.

Havens *et al.* 1996). Estudos mostraram que o aumento da disponibilidade de nutrientes pode alterar a dominância de uma comunidade algal no ecossistema (Goldsborough & Robinson 1996). Conforme Genkai-Kato *et al.* (2012), a relação entre o fitoplâncton e o epipélon controlam a disponibilidade de fósforo em lagos rasos temperados.

Outro fator a ser considerado é a disponibilidade de luz (Hill *et al.* 2009). A luz é um fator importante para o desenvolvimento das comunidades algais, as quais podem estar expostas ao sombreamento da vegetação riparia em ecossistemas lóticos (Hill & Fanta 2008) e das macrófitas aquáticas em lênticos (Goldsborough *et al.* 2005). Especificamente em lagos e reservatórios, o efeito das macrófitas como um gerador de limitação de luz sobre as comunidades algais é comumente reportado na literatura (Goldsborough *et al.* 2005). Contudo, são escassos estudos experimentais mostrando os efeitos da variação da luz sobre o fitoplâncton e epipélon conjuntamente, bem como da inter-relação entre estas comunidades (ex. Steinman et al 2016). Murkin *et al.* (1994) verificaram um aumento na biomassa epipélica em sítios experimentais livres da presença de macrófitas, associando as melhores condições de luz. O efeito combinado da luz e dos nutrientes foi avaliado e testado no perifíton em rios e riachos (Hill & Fama 2008, Hill *et al.* 2009 e Hill *et al.* 2011), sendo praticamente inexistentes em lagos e reservatórios rasos tropicais. O maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre a estrutura e da dinâmica do epipélon e do fitoplâncton são fundamentais para a recuperação e conservação dos ecossistemas rasos tropicais.

Estudos anteriores mostraram que elevada cobertura de macrófitas pode influenciar as mudanças da biomassa e estrutura do perifíton e do fitoplâncton (Fonseca & Bicudo 2011; Souza *et al*. 2015). Considerando que as macrófitas podem alterar a disponibilidade de luz que atinge o epipélon, a razão luz:fósforo proposta por Hill *et al.* (2010) pode explicar grande parte da variabilidade da biomassa do fitoplâncton e do perifíton no reservatório. Desta forma, os experimentos realizados no presente estudo pretenderam isolar os efeitos da disponibilidade de nutrientes e de luz e, consequentemente a razão luz:nutriente (nutriente limitante), sobre o fitoplâncton e epipélon.

CAPITULO 1:

O EFEITO DO ENRIQUECIMENTO POR N E P E SUA INTERRUPÇÃO SOBRE A RELAÇÃO DA BIOMASSA FITOPLANCTÔNICA E EPIPÉLICA.

1.INTRODUÇÃO

Em sistemas aquáticos, comunidades algas podem contribuir com mais de 90% da produtividade primária total (Vadeboncouer *et al*. 2001, Liboriussen & Jeppesen 2009). Esta produtividade está ligada, principalmente, a uma ótima condição de disponibilidade de luz e nutrientes (Liboriussen & Jeppesen 2006). Em ecossistemas oligotróficos, algas perifíticas podem ser os principais produtores, inclusive aquelas associadas ao sedimento (Persson *et al.* 1977, Bjork-Ramberg 1984). Apesar das comunidades algais contribuírem grandemente para a biodiversidade e para o funcionamento dos ecossistemas, há ainda inúmeras lacunas no conhecimento, principalmente envolvendo as inter-relações entre autótrofos. Considerando a relação entre o fitoplâncton e o epipélon, inúmeros estudos reportaram o aumento da biomassa do fitoplâncton em lagos eutrofizados (ex. Tavernini *et al*. 2011), enquanto outros relatam dominância da biomassa epipélica em lagos rasos oligotróficos (Liboriussen & Jeppesen 2003). Os efeitos da adição de nutrientes sobre a estrutura do fitoplâncton e epipélon foram avaliados conjuntamente em estudos experimentais, os quais evidenciaram a forte inter-relação entre as duas comunidades (ex. Havens *et al*. 1996; Pasternak *et al.* 2009). Outros trabalhos evidenciam a importância da contribuição da comunidade de algas epipélicas para a produtividade primária e biomassa total de lagos rasos temperados, evidenciando principalmente o potencial de aprisionamento de nutrientes no sedimento pelo epipélon (Libouriussen & Jeppesen 2003; Vadeboncouer *et al*. 2003; Casco *et al* 2009; Genkai-Kato *et al.* 2012). Tais estudos demonstraram que a disponibilidade de nutrientes é o principal fator ambiental que altera a dominância da do fitoplâncton, afetando negativamente as comunidades epipélicas em lagos rasos (Vadeboncoeur *et al.* 2003). Assim, a sobrecarga de nutrientes pode afetar a estrutura e o funcionamento das comunidades algais, bem como as interações ecológicas (Biggs 1995, Peterson 1996). A alta disponibilidade de um nutriente limitante a pode acarretar mudanças na estequiometria C, N e P, bem como em outros elementos, influenciando a uma maior competição por recursos entre as comunidades algais (Dodds & Priscu 1990, Reynolds & Davies 2001).

Levando-se em conta que a disponibilidade de nutrientes é um recurso determinante do desenvolvimento das comunidades algais e que a maioria dos estudos apontam relação inversa entre a biomassa fotossintética do epipélon e do fitoplanctônica (Flödder *et al.* 2006; Pasternak *et al.* 2009; Santos, 2016), o presente estudo abordou a relação fitoplâncton-epipélon. O nosso objetivo foi avaliar os efeitos do enriquecimento combinado e isolado por N e P e a sua interrupção sobre as mudanças da clorofila *a* do fitoplâncton e epipélon (clorofila *a*). Nossa hipótese é que o enriquecimento terá efeito positivo sobre o fitoplâncton e negativo sobre o epipélon, após a interrupção o inverso será observado, sendo a disponibilidade de luz um fator determinante. Estudos em ecossistemas lóticos evidenciaram que os efeitos interativos entre a disponibilidade de luz e nutrientes sobre a produção primária do perifíton pode ser mais importante do que os seus efeitos independentes (Hill & Fanta 2008, Hill *et al.* 2009, Fanta *et al.* 2010, Sanches *et al.* 2013). Nesse sentido, a nossa segunda hipótese é que a razão Luz:Nutrientes pode ser representativa da relação fitoplâncton-epipélon. Especificamente, pretende-se responder as seguintes perguntas: *i*) Qual o nutriente limitante do fitoplâncton e do epipélon? *ii*) A biomassa do fitoplâncton tem relação inversa com a do epipélica? *iii)* Se houver influência negativa, qual razão Luz:P foi determinante?

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O Lago das Ninfeias, cuja localização é no Parque estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) (23º38’ S, 46º37’ W) uma reserva inserida na malha urbana de São Paulo. O Lago das Ninfeias é oriundo do represamento do córrego Pirarungaua, sua principal finalidade é o paisagismo no Jardim Botânico de São Paulo. É um reservatório raso e considerado mesotrófico, possui área de 5.433m², profundidade máxima de 3,6m, profundidade média 1,3m e tempo de residência de 7,2 dias (Bicudo et al. 2002). Este reservatório possui uma extensa região litorânea com elevada cobertura de macrófitas aquáticas. O reservatório foi escolhido pelas características mesotróficas e pela forte inter-relação entre as macrófitas e a comunidade algal (Fonseca & Bicudo 2011, Souza et al. 2015).

2.1 Delineamento experimental

Para a avaliação do efeito da disponibilidade de nutrientes limitantes sobre o fitoplâncton e epipélon foi realizado um experimento de enriquecimento com a adição

combinada e isolada de fósforo e nitrogênio em mesocosmos de fundo aberto durante 28 dias de período experimental.

Os mesocosmos foram constituídos de cilindros plásticos (PVC), com dimensões 0,50 m de diâmetro e 1,00 m de altura, com volume aproximado de 160 litros. Os mesocosmos foram enterrados no sedimento de maneira a integrar todas as comunidades algais ali existentes, resultando em uma profundidade média de 0,85m, e sua disposição seguiu a entrada de água na região litorânea do reservatório (Figura 1).

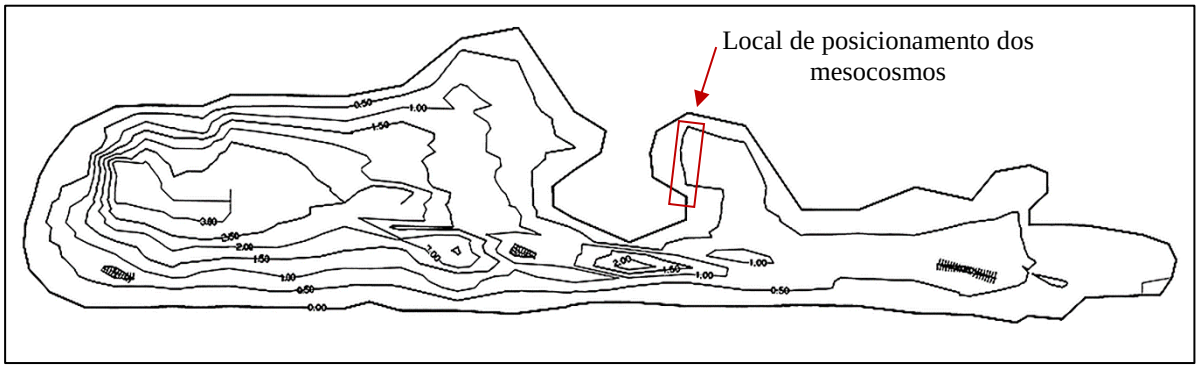

Figura 1. Batimetria do Lago das Ninfeias e local de posicionamento dos mesocosmos na região litorânea.

O experimento foi constituído de 4 tratamentos em tréplicas designados de: C – controle (ausência de enriquecimento), tratamento P+ – adição isolada de P, tratamento N+ – adição isolada de N e tratamento NP+ – adição combinada de N e P. Antes do início do experimento, uma coleta prévia foi realizada para a determinação das concentrações de nitrogênio e fósforo dissolvido na água do reservatório. Com base na concentração de NID e P-PO_4 foram realizados os cálculos para a determinação da quantidade de N, P e NP a serem adicionados nos mesocosmos a fim de atingir a razão molar N:P de (16:1) no tratamento NP+, razão N:P <16 no tratamento N+ (condição P-limitante) e razão N:P >16 no tratamento P+ (condição N-limitante). O sal utilizado para o enriquecimento foi o fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4) e nitrato de sódio ($NaNO_3$).

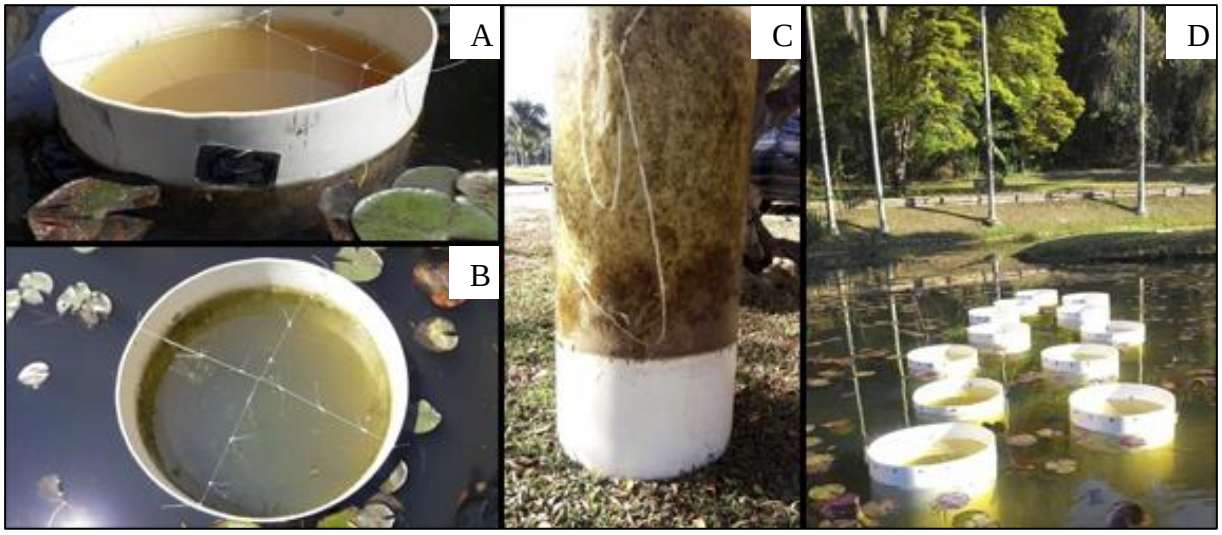

Figura 2. Disposição dos mesocosmos colocados na região litorânea do Lago das Ninfeias. A) Controle; B) Tratamento P+; C) A parte verde escuro do tubo é a parte submersa e a parte branca aenterrada no sedimento; D) Organização dos mesocosmos colocados no lago.

Coletas para a determinação e manutenção da razão molar de N:P da água dos tratamentos enriquecidos foram realizadas em intervalos de 3 dias. O enriquecimento foi realizado até o 16º dia do período experimental. Coletas regulares para a amostragens das variáveis químicas e biológicas foram realizadas no 7º, 14º e 28º dia do período experimental, sendo duas coletas durante o período de enriquecimento e uma após sua interrupção.

Neste experimento, o fitoplâncton e a comunidade de algas epipélicas foram avaliados por meio da biomassa fotossintética (clorofila a) nos diferentes tratamentos. Para análise do epipélon, amostras do sedimento foram coletadas por meio de tubo de acrílico ("corer") de 5 centímetros de diâmetro em cada mesocosmo. Para evitar a inclusão de algas planctônicas o sobrenadante foi cuidadosamente retirado por meio de uma pipeta Pasteur. No laboratório, o material coletado foi diluído em 250 mL de água destilada e uma alíquota foi separada para a determinação da biomassa. Para análise do fitoplâncton, amostra de água da subsuperfície foi coletada em cada mesocosmo. Em laboratório, uma alíquota foi separada para a determinação da biomassa.

2.2. Variáveis analisadas

Neste experimento foram analisadas as seguintes variáveis abióticas na água dos mesocosmos: temperatura, condutividade elétrica, pH (sonda subaquática multiparâmetros, Horiba), radiação subaquática (luxímetro Li-Cor LI-250A), oxigênio dissolvido (Golterman *et al*. 1978), alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido (CO2 livre e bicarbonato), nitrito e nitrato (Mackeret *et al*. 1978), nitrogênio amoniacal

(Solorzano 1969), ortofosfato e fósforo total dissolvido (Strickland & Parsons 1960), nitrogênio total e fósforo total (Valderrama 1981). As amostras para a fração dissolvida dos nutrientes foram filtradas em filtro GF/F sob baixa pressão (≤0,3 atm). Após determinação das concentrações, foram calculados os valores de NID (nitrogênio inorgânico dissolvido), bem como a razão molar N:P.

O fitoplâncton e epipélon foram analisadas por meio da clorofila *a* no 7º, 14º e no 28º do período experimental. As alíquotas de água e epipélon foram filtradas em filtro de fibra de vidro Whatman GF/F para a determinação da clorofila a. A extração da clorofila *a* (com a correção de feofitina) foi realizada utilizando etanol (90%) através do método proposto por Sartory & Grobblelar (1984). Para comparação o fitoplâncton foi padronizado à unidade de medida do epipélon (mg/cm²), a partir da relação da clorofila *a* pela profundidade média dos mesocosmos.

2.3 Análise Estatística dos Resultados

Os dados foram analisados por meio de análise descritiva univariada e representação gráfica dos dados. Foram utilizadas medidas de tendência central (média aritmética) e de dispersão (desvio padrão).

Para a análise inferencial dos dados abióticos foi aplicada análises de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA 1 e 2 fatores) para a detecção de diferenças significativas entre as médias das variáveis abióticas e clorofila *a* entre tratamentos. Para a comparação de médias e determinação da diferença mínima significante foi utilizado o teste de comparações múltiplas de Tukey, no software SigmaPlot 11.0. Para cumprir as premissas destas análises, as variáveis abióticas e bióticas foram transformadas em log10 e log10(x+1) sempre que necessário. Para análise dos dados de clorofila *a* foram realizados RM-ANOVA 1 e 2 fatores ou Kruskal-Wallis com testes *a posteori* de comparações de média.

3. RESULTADOS

3.1 Variáveis abióticas

A Figura 3 resume as variáveis abióticas nos tratamentos com adição isolada e combinada e N e P no 7º, 14º dia e após a sua interrupção no 28º do período experimental.

De acordo com os resultados da RM ANOVA 2-fatores no período de enriquecimento, as variáveis CO_2 livre, NID, nitrogênio total, fósforo total dissolvido e fósforo total apresentaram diferença significativa entre os tratamentos em ambos os períodos experimentais

($p<0,05$). Temperatura, condutividade, pH, oxigênio dissolvido e ortofosfato não apresentaram diferença significativa entre tratamentos.

Detectou-se diferença significativa na concentração de CO_2 livre entre os tratamentos NP+ e controle (Tukey: $p=0,01$). A concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido no tratamento N+ diferiu significativamente do controle e tratamentos P+ e NP+ (Tukey: $p<0,001$) e a concentração no tratamento P+ foi diferente do controle e tratamento NP+ (Tukey: $p<0,01$). Diferença significativa foi encontrada entre a concentração de NT do tratamento N+ e NP+ e do controle e tratamento P+. A concentração de PDT e PT do tratamento N+ foi significativamente diferente do controle (Tukey: $p<0,001$).

A razão molar N:P da água no tratamento P+ variou de 4,6 a 12,7 indicando condição N-limitante durante o período de enriquecimento. Após os 12 dias de interrupção do enriquecimento, a razão N:P foi de 31,8 indicando retorno à condição P-limitante (igual ao controle). No tratamento N+, a razão molar N:P variou de 90 a 120 indicando condição P-limitante durante o período de enriquecimento. Após o período de interrupção, a razão molar N:P foi de 76, mantendo a condição P-limitante. Para o tratamento NP+, a variação da razão molar N:P da água foi de 10 a 15 durante o período de enriquecimento, indicando condições ideais do desenvolvimento algal. Após a interrupção do enriquecimento, 12 dias, a razão molar N:P no tratamento NP+ aumentou para 55, indicando condição P-limitante, similar ao controle (Figura 4).

Apesar da disponibilidade de luz nos tratamentos não ter diferença significativa entre tratamentos (Figura 5A), diferenças na atenuação da luz foram detectadas. A quantidade de material particulado variou durante o período de enriquecimento (RM-Anova 2-fator: $p<0,05$) (Figura 4B), quando se detectou a diferença entre o tratamento NP+ com o controle e o tratamento N+ (Tukey: $p<0,05$). Os menores valores da razão Luz:PT foram encontrados nos tratamentos P+ e NP+ (23 – 31) no período de enriquecimento, mas após 12 dias de interrupção do enriquecimento houve aumento significativo dos valores (160 e 78, respectivamente). Diferenças significavas foram detectadas entre controle e tratamentos P+ e NP+ (Tukey: $p<0,01$) e entre tratamento NP+ e N+ (Tukey: $p<0,05$).

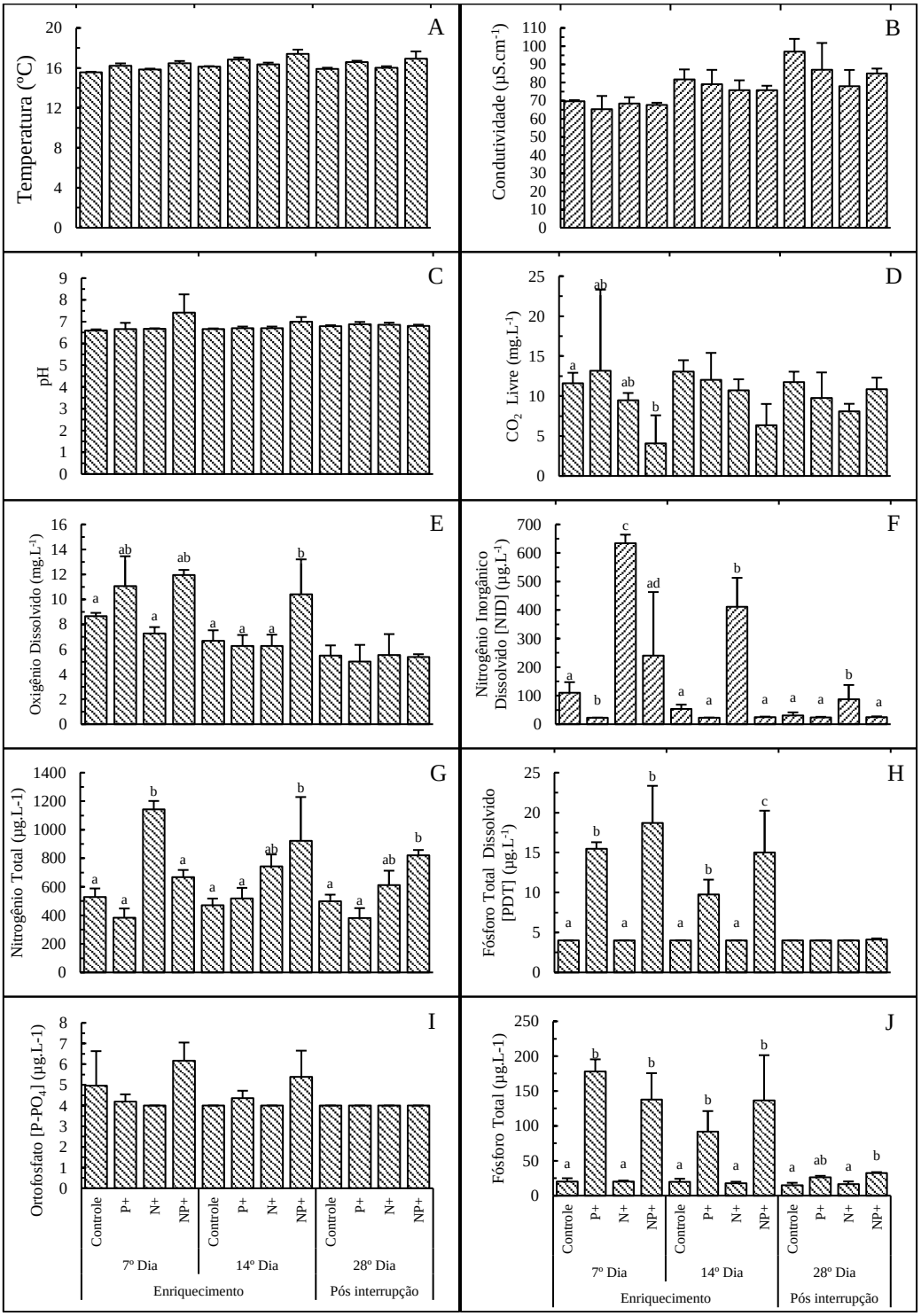

Figura 3. Valores médios e desvio padrão (n=3) da temperatura (A), condutividade elétrica (B), pH (C) CO2 livre (D), oxigênio dissolvido (E), nitrogênio inorgânico dissolvido (F), nitrogênio total (G), fósforo total dissolvido (H), ortofosfato (I), fósforo total (J) nos tratamentos com adição combinada e isolada de N e P no período de enriquecimento e após a sua interrupção (C, controle; P+, adição isolada de fósforo; N+, adição isolada de nitrogênio; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo). Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos

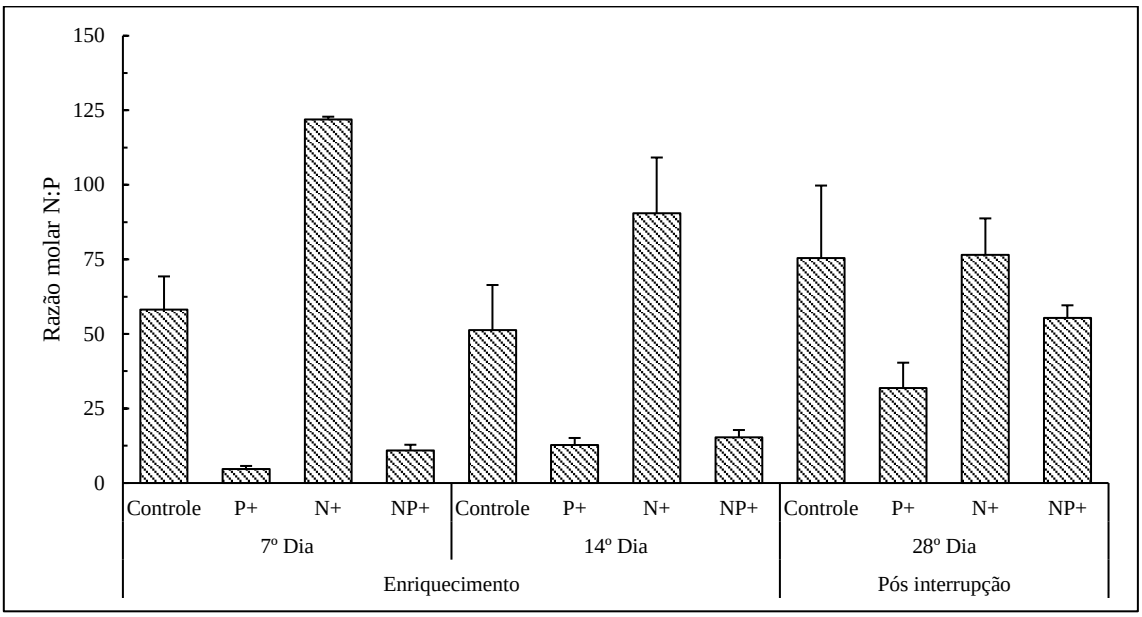

Figura 4. Valores médios e desvio padrão (n = 3) da razão molar N:P da água no período de enriquecimento e após a sua interrupção (C, controle; P+, adição isolada de fósforo; N+, adição isolada de nitrogênio; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo).

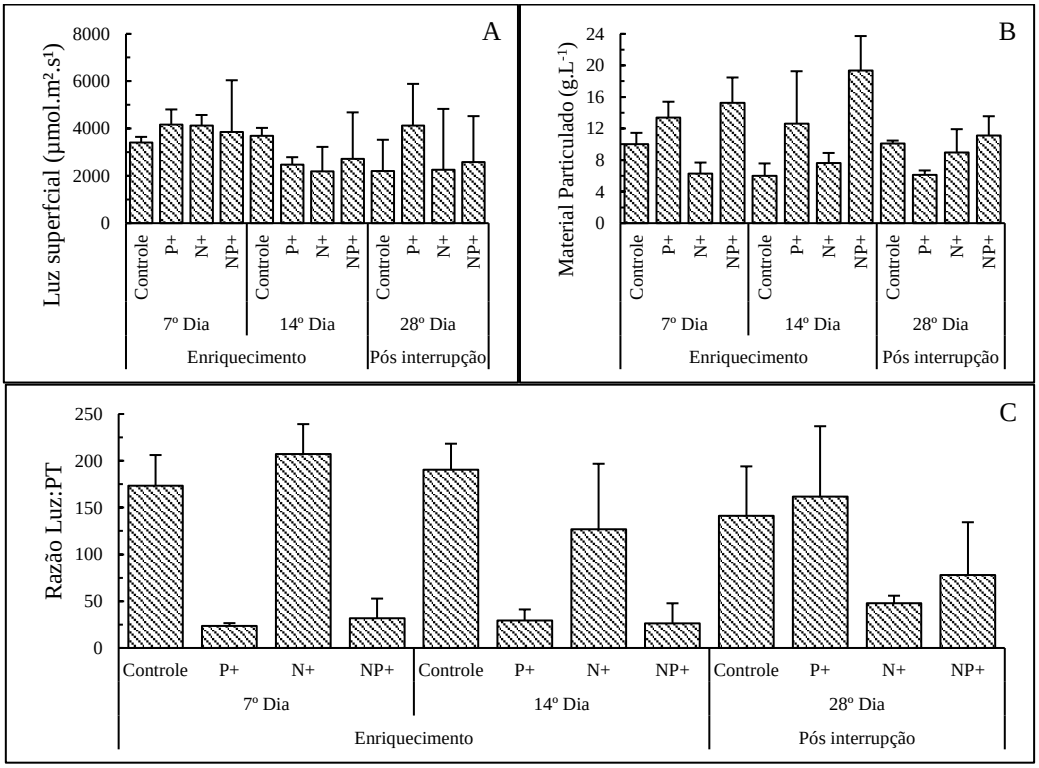

Figura 5. Valores médios e desvio padrão (n=3) da radiação subaquática na subsuperfície da água (A), material particulado na água (B) e da razão Luz:PT (C) nos tratamentos com adição combinada e isolada de N e P no período de enriquecimento e após a sua interrupção (C, controle; P+, adição isolada de fósforo; N+, adição isolada de nitrogênio; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo)

3.2 Variáveis bióticas

Os maiores valores de clorofila *a* do fitoplâncton foram registrados no tratamento NP+ em ambos os dias do período de enriquecimento. Comprando com o controle, o enriquecimento combinado por N e P aumentou a biomassa em 10 vezes no 7º e 14º dia do período experimental (Figura 6 B). Os resultados da RM-ANOVA 2-fatores mostraram que a biomassa foi significativamente diferente entre tratamentos no período de enriquecimento ($p<0,01$). A comparação múltipla de média mostrou que a clorofila *a* do fitoplâncton no tratamento P+ e NP+ foi significativamente diferente no controle e tratamento N+ (Tukey: $p<0,003$). Após a interrupção no enriquecimento por 12 dias, a clorofila *a* do fitoplâncton não apresentou diferença significativa entre tratamentos.

O maior valor da clorofila *a* do epipélon foi obtido no controle no 7º dia do período experimental. Ao comparar os tratamentos em relação ao controle, verificamos um decréscimo na concentração da clorofila *a* nos tratamentos durante o período de enriquecimento (Figura 6. D). Contudo, após a interrupção do enriquecimento, pode-se notar um acréscimo de 30% na concentração do tratamento P+ em relação ao controle. A clorofila *a* do epipélon não apresentou diferença significativa entre tratamentos durante o período de enriquecimento. Porém, foram detectadas diferença significativa entre o tratamento P+ e os tratamentos N+ e NP+ no período pós-enriquecimento (Tukey: $p<0,05$).

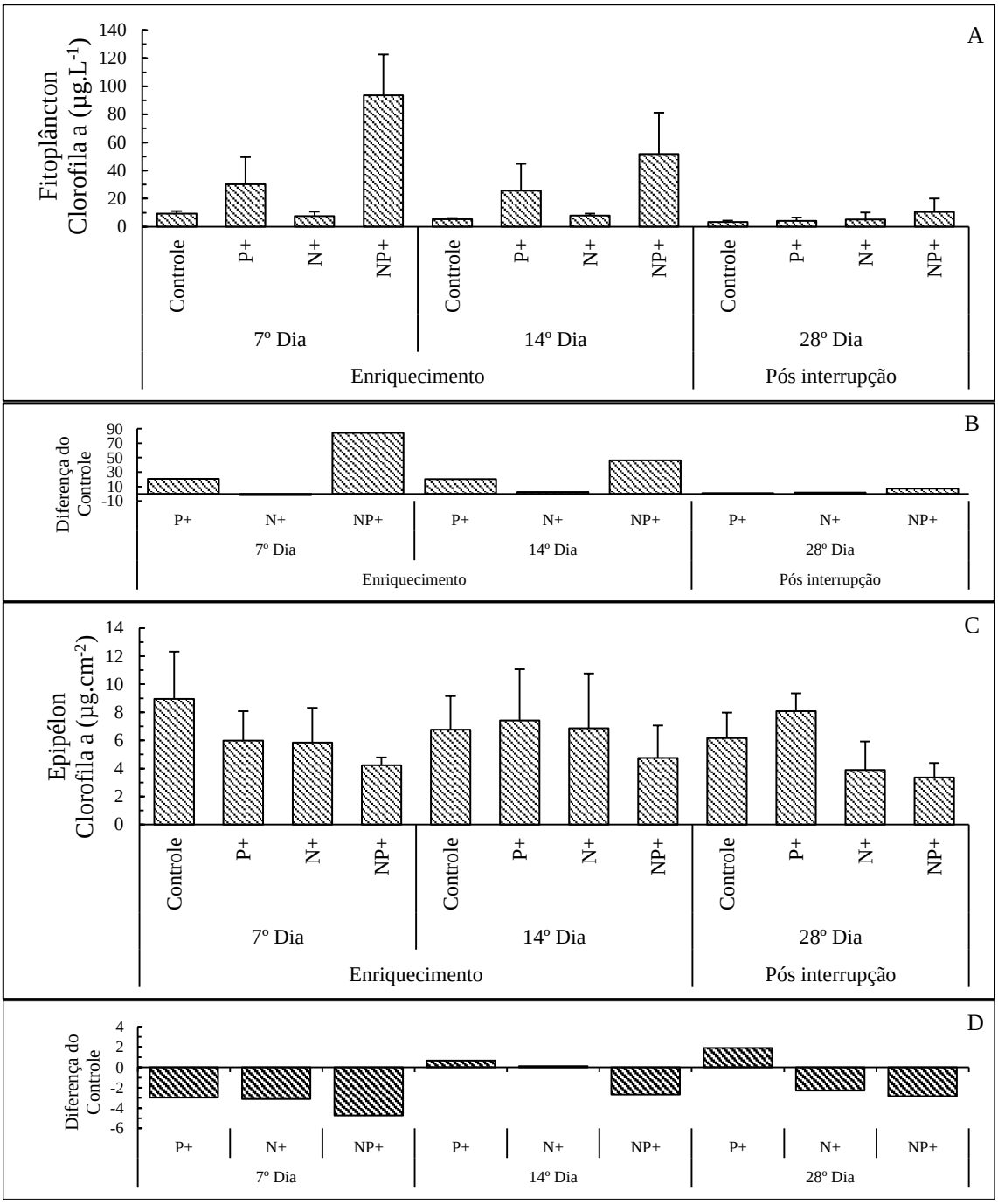

Figura 6. Variação dos valores médios e desvio padrão (n=3) da clorofila *a* do A) fitoplâncton e do C) epipélon e as diferenças entre controle e tratamentos com adição combinada e isolada de N e P no período de enriquecimento e após a sua interrupção (B e D) (C, controle; P+, adição isolada de fósforo; N+, adição isolada de nitrogênio; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo).

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que o enriquecimento combinado e isolado por N e P e a sua interrupção teve efeito sobre a biomassa fotossintética do fitoplâncton e epipélon. Estudos observacionais relataram a influência da variação na disponibilidade de nutrientes sobre a relação entre o fitoplâncton e o perifíton (Cano *et al.* 2008, Casco *et al*. 2009, Oliveira *et al.* 2010), incluindo o papel do epipélon na retenção de fósforo no sedimento (Genkai-Kato *et al*. 2012). Como relatado em outros estudos experimentais (ex. Havens *et al*. 1999), a adição de nutrientes, principalmente o fósforo, promoveu o aumento da biomassa do fitoplâncton. O fósforo é considerado o nutriente limitante das comunidades algais no reservatório estudado (Huszar *et al*. 2005). Por outro lado, a ausência de limitação no epipélon foi observada durante o período de enriquecimento, tendo ganho de biomassa fotossintética somente após a interrupção do enriquecimento. Assim, nossos resultados mostraram que a adição de nutrientes isolada ou combinada não apresentou forte efeito sobre o epipélon, pois a disponibilidade de luz foi considerada um fator limitante do crescimento algal.

Conforme Vadeboncoeur *et al*. (2003), o aumento do fitoplâncton tem o efeito estagnador sobre a comunidade epipélica. Esta relação foi observada no presente estudo, pois no período de enriquecimento, os menores valores de biomassa fotossintética no epipélon foram encontrados nos tratamentos com adição combinada de N e P, onde houve aumento significativo da biomassa fitoplanctônica e material particulado (tratamentos P+ e NP+). Considerando que o material particulado em suspensão inclui material inorgânico e orgânico (ex. fitoplâncton, zooplâncton), verificamos que não apenas o fitoplâncton teve efeito negativo sobre a disponibilidade de luz para o epipélon. A adição isolada de P e combinada de N e P reduziu significativamente a razão Luz:PT (27,8) em relação ao controle, mostrando que esta condição ambiental reduziu o potencial fotossintético do epipélon. Após a interrupção do enriquecimento, detectou-se a resposta positiva do epipélon para a adição isolada de fósforo, onde o material particulado, razão luz:PT e a biomassa do fitoplâncton foram reduzidos, evidenciando o aumento do potencial fotossintético do epipélon. Conforme Hansson (1988), o enriquecimento claramente favorece o desenvolvimento do fitoplâncton e não permite a resposta do epipélon. Diferentemente do fitoplâncton, a disponibilidade de nutrientes pode não ser um problema para as comunidades epipélicas, mesmo em lagos oligotróficos, devido à relação estreita e direta entre essa comunidade e o sedimento (Sand-Jensen e Borum, 1991, Hansson 1988, Genkai-Kato *et al*. 2012). Por outro lado, a disponibilidade de luz pode ser o fator determinante do desenvolvimento algal no epipélon.

Considerando a hipótese proposta, o enriquecimento isolado de P e combinado por N e P teve efeito positivo e significativo sobre o fitoplâncton e negativo sobre o epipélon, sendo o fósforo considerado o nutriente limitante primário. Assim, evidenciou-se a redução do potencial fotossintético do epipélon com aumento da clorofila *a* do fitoplâncton. Em oposição, a interrupção do enriquecimento teve efeito negativo sobre a clorofila *a* do fitoplâncton e positivo sobre o epipélon (P+), confirmando a relação inversa entre fitoplâncton e epipélon. Como o enriquecimento por N e P reduziu a disponibilidade de luz nos tratamentos, a luz foi considerada um fator limitante para manutenção do potencial fotossintético do epipélon. A razão Luz:PT entre 26 e 32 foi representativa da relação inversa entre fitoplâncton e epipélon, sendo considerada importante variável para o entendimento das respostas do epipélon ao enriquecimento. Contudo, mais estudos são necessários para identificar a razão ideal para o desenvolvimento do epipélon fotossinteticamente ativo. Finalmente, concluiu-se que mudanças na disponibilidade de nutrientes altera a relação entre fitoplâncton e epipélon, sendo o enriquecimento um fator que reduz o potencial fotossintético do epipélon.

APÊNDICE

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão dos dados limnológicos (n=3) nos tratamentos (C, controle; N+, adição isolada de nitrogênio; P+, adição isolada de fósforo; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo) no período de enriquecimento (7-14º dia) e após a sua interrupção (28º dia).

	7º Dia				14º Dia				28º Dia			
	C	P+	N+	NP+	C	P+	N+	NP+	C	P+	N+	NP+
Temperatura (ºC)	15,6	16,2	15,8	16,5	16,1	16,8	16,4	17,4	15,9	16,6	16,0	16,9
	±0,06	±0,24	±0,10	±0,22	±0,05	±0,21	±0,18	±0,43	±0,13	±0,15	±0,15	±0,73
pH	5,3	6,0	5,8	6,2	6,0	6,2	6,2	6,3	6,1	6,5	6,5	6,4
	±0,24	±0,19	±0,10	±0,19	±0,30	±0,13	±0,03	±0,11	±0,33	±0,07	±0,10	±0,02
Condutividade ($\mu S.cm^{-1}$)	69,7	65,3	68,3	67,7	81,7	79,0	75,7	75,7	97,0	87,0	78,0	85,0
	±0,6	±3,5	±7,2	±1,2	±5,5	±7,9	±5,5	±2,5	±7,0	±14,7	±8,9	±2,6
Radiação subaquática ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$)	3403,0	4168,0	4126,0	3848,0	3695,0	2480,0	2184,0	2711,0	2201,0	4126,0	2257,0	2578,0
	±242	±637	±445	±2.191	±330	±308	±1.038	±1.969	±1.323	±1.760	±2.571	±1.944
Oxigênio Dissolvido ($mg.L^{-1}$)	8,7	11,0	7,2	11,9	6,6	6,2	6,2	10,4	5,5	5,5	5,0	5,4
	±0,27	±2,38	±0,51	±0,41	±0,85	±0,88	±0,90	±2,77	±0,81	±1,67	±1,34	±0,21
Nitrogênio Inorgânico Dissolvido ($\mu g.L^{-1}$)	109,8	23,0	633,9	240,3	53,2	23,1	410,9	24,3	30,2	24,1	86,9	24,6
	±37,6	±0,00	±30,21	±222,68	±15,21	±15,21	±101,97	±2,27	±11,25	±1,86	±50,57	±2,78
Nitrogênio Total ($\mu g.L^{-1}$)	528,3	383,9	1142,6	667,0	470,5	518,4	742,8	921,6	499,2	381,7	612,8	821,1
	±60,23	±64,01	±59,16	±51,09	±47,41	±74,34	±83,98	±307,60	±45,90	±69,44	±100,08	±36,92
Fósforo Total Dissolvido ($\mu g.L^{-1}$)	4,0	15,5	4,0	18,7	4,0	9,8	4,0	15,0	4,0	4,0	4,0	4,1
	±0,00	±0,83	±0,00	±4,64	±0,00	±1,84	±0,00	±5,23	±0,00	±0,00	±0,00	±0,13
Ortofosfato ($\mu g.L^{-1}$)	5,0	4,2	4,0	6,2	4,0	4,4	4,0	5,4	4,0	4,0	4,0	4,0
	±1,67	±0,34	±0,00	±0,88	±0,00	±0,37	±0,00	±1,27	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00
Fósforo Total ($\mu g.L^{-1}$)	20,2	178,2	20,1	137,8	19,8	91,6	17,9	136,6	14,9	26,2	16,6	32,4
	±4,81	±17,29	±1,63	±37,77	±4,43	±29,64	±2,12	±64,79	±3,62	±2,34	±3,81	±1,29
Razão molar N:P	58,2	5,0	121,9	10,9	51,3	12,8	90,5	15,4	75,5	31,9	76,5	55,4
	±11,07	±1,03	±0,91	±1,94	±15,07	±2,35	±18,68	±2,40	±24,29	±8,49	±12,27	±4,17
Silicato ($mg.L^{-1}$)	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,01	±0,00	±0,01	±0,01	±0,01	±0,00	±0,00	±0,01
Dióxido de Carbono Livre ($mg\ L^{-1}$)	11,6	13,2	9,5	6,0	13,1	12,0	10,7	6,4	11,7	9,8	8,1	10,9
	±1,32	±10,17	±0,92	±0,96	±1,43	±3,38	±1,36	±2,66	±1,31	±3,18	±0,93	±1,45
Material Particulado ($mg.L^{-1}$)	10,0	13,4	6,3	15,3	6,0	12,6	7,6	19,3	10,1	6,1	9,0	11,1
	±1,42	±2,02	±1,42	±3,20	±1,56	±6,65	±1,29	±4,39	±0,35	±0,55	±2,95	±2,42

CAPÍTULO 2:

EFEITOS DA VARIAÇÃO DE LUZ E NUTRIENTES SOBRE O FITOPLÂNCTON E EPIPÉLON

1. INTRODUÇÃO

Apesar de organizadas de forma distinta no ambiente, as comunidades algais exibem diversas formas de interação, como competição por luz e os nutrientes (Hill & Fanta 2008), como fitoplâncton e epipélon. Além disso, estas comunidades algais podem intercambiar espécies através da migração que pode ocorrer devido à ocorrência de perturbações físicas no sedimento ou pela migração vertical em busca de melhores condições de recursos (Carrick *et al.* 1993, Havens *et al.* 1996, Werner & Köhler 2005). Perturbações no ambiente podem afetar a organização e a estruturação das comunidades algais, podendo gerar instabilidade e quebrar o equilíbrio do sistema, como é o caso da perturbação química causada pela entrada de nutrientes (Peterson & Stevenson 1990, Smith & Schindler 2009). A sobrecarga de nutrientes pode afetar a estrutura e o funcionamento das comunidades algais, bem como as interações ecológicas (Biggs 1995, Peterson 1996). A resposta das comunidades frente à sobrecarga de nutrientes é, normalmente, estudada em experimentos de enriquecimento, que podem simular diferentes condições ambientais (ex. Steinman *et al*. 2016). A entrada de um nutriente limitante em um ecossistema muda a estequiometria C, N e P, o que pode levar a uma maior competição por recursos entre as comunidades algais (Dodds & Priscu 1990, Reynolds & Davies 2001). O efeito do enriquecimento por nutrientes sobre as inter-relações entre fitoplâncton e epipélon conjuntamente é ainda pouco conhecido (ex. Havens *et al.* 1996), principalmente em região tropical (ex. Santos *et al*. 2017). Estudos mostraram que o aumento da disponibilidade de nutrientes pode alterar a dominância da comunidade algal no habitat planctônico e epipélico (O'Donnell *et al*. 2017, Licursi *et al*. 2016). Conforme Genkai-Kato *et al.* (2012), a relação entre o fitoplâncton e o epipélon controlam a disponibilidade de fósforo em lagos rasos temperados.

A disponibilidade luz é um recurso e, assim, um fator importante para o desenvolvimento das comunidades algais (Hill 1996). O sombreamento da vegetação riparia em rios e riachos e das macrófitas aquáticas em lagos e reservatórios pode ter forte influência sobre as comunidades algais (Hill & Fanta 2008; Goldsborough *et al.* 2005). Especificamente em sistemas lacustres, o efeito das macrófitas como um fator de limitação de luz sobre as comunidades algais é comumente reportado na literatura (Goldsborough *et al.* 2005). Estudos evidenciaram que a estrutura da comunidade de macrófitas pode ser fator determinante da

biomassa e da composição de espécies do fitoplâncton e perifíton devido principalmente à sua influência sobre a disponibilidade de luz (Taniguchi *et al.* 2005, Souza *et al.* 2015, Casartelli & Ferragut 2015, Ward *et al*. 2016). Murkin *et al.* (1994) verificaram o aumento na biomassa epipélica em sítios experimentais livres da presença de macrófitas, associando as melhores condições de luz. Contudo, não há estudos experimentais mostrando os efeitos da variação da luz sobre o fitoplâncton e epipélon conjuntamente, bem como da inter-relação entre estas comunidades. O efeito combinado da luz e dos nutrientes foi avaliado e testado no perifíton em rios e riachos (Hill & Fama 2008, Hill *et al.* 2009 e Hill *et al.* 2011), sendo estudos em lagos e reservatórios rasos tropicais praticamente inexistentes (ex. Philips *et al*. 1997). O maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre a estrutura e da dinâmica do epipélon e do fitoplâncton são fundamentais para a recuperação e conservação dos ecossistemas rasos tropicais.

Conforme Hill *et al.* (2010), a razão Luz:Fósforo pode explicar grande parte da variabilidade da biomassa do fitoplâncton e do perifíton em rios e lagos. Assim, nosso objetivo foi avaliar o efeito da variação da disponibilidade de luz sobre as mudanças da biomassa e da estrutura taxonômica do fitoplâncton e do epipélon em condições de alta disponibilidade de nutrientes, visando comparar as respostas em função da variação da razão Luz:Nutrientes. Considerando que a luz e os nutrientes são fatores determinantes diretos da estrutura das comunidades algais (Havens *et al*. 2003), espera-se que a alta disponibilidade de nutrientes e a variação na disponibilidade de luz provoquem mudanças significativas na estrutura do fitoplâncton e do epipélon. Especificamente, pretende-se responder as seguintes questões: i) A disponibilidade de luz foi um fator determinante das mudanças na estrutura taxonômica das comunidades algais? ii) Qual a razão luz-nutriente proporciona o aumento da biomassa, riqueza e abundância do fitoplâncton e epipélon?

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O Lago das Ninfeias, no Parque estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) (23º38’ S, 46º37’ W) inserido na malha urbana de São Paulo. É oriundo do represamento do córrego Pirarungaua, e sua principal finalidade é o paisagismo no Jardim Botânico de São Paulo. É um reservatório raso e considerado mesotrófico, possui área de 5.433m², profundidade máxima de 3,6m, profundidade média 1,3m e tempo de residência de 7,2 dias (Bicudo et al. 2002). Este reservatório possui uma extensa região litorânea com elevada cobertura de macrófitas aquáticas. O reservatório foi escolhido pelas características mesotróficas e pela forte inter-

relação entre as macrófitas e a comunidade algal (Fonseca & Bicudo 2011, Souza et al. 2015), bem como pelos resultados dispostos no Capítulo 1 deste volume.

2.2 Delineamento experimental

Para avaliar o efeito da variação da disponibilidade de luz sobre o fitoplâncton e epipélon foi realizado um experimento com 4 níveis diferentes de disponibilidade de luz e concentração ótima de N e P durante um período experimental de 21 dias. Coletas regulares para a amostragens das variáveis químicas e biológicas foram realizadas no 7º, 14º e 21º dia (Figura 1).

O experimento foi constituído de 5 tratamentos em tréplicas designados de: **C**, controle (ausência de enriquecimento e manipulação da luminosidade); **A**, aberto, adição de nutrientes e 100% de entrada de luz; **P**, parcialmente sombreado, adição de nutrientes e 70% de entrada de luz; **S**, sombreado, adição de nutrientes e 50% de entrada de luz; **F**, fortemente sombreado, adição de nutrientes e 30% de entrada de luz. O controle da disponibilidade de luz foi realizado pela cobertura dos mesocosmos com sombrite de diferentes malhas de abertura. Em todos os tratamentos, exceto controle, houve a adição combinada de N e P (N:P = 16 *sensu* Redfield). O enriquecimento, por nitrogênio e fósforo (N e P) foi baseado nos resultados obtidos no capítulo 1 do presente estudo. A razão Luz:Nutrientes foi calculada usando a luz expressa em $\mu mol.m^2.s^1$ e a concentração de nutrientes em $\mu g.L^{-1}$ conforme descrito em Fanta *et al.* (2010).

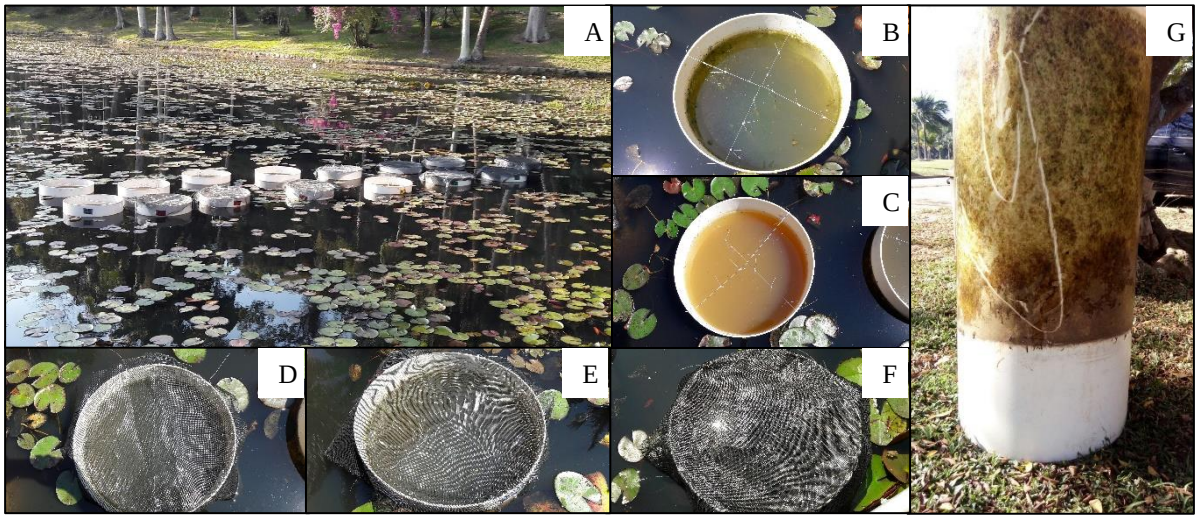

Figura 1. Disposição e cobertura dos mesocosmos colocados na região litorânea do Lago das Ninfeias. A) Organização dos mosocosmos colocados no lago; B) Tratamento aberto; C) Controle; D) Tratamento parcialmente sombreado; E) Tratamento sombreado; F) Tratamento fortemente sombreado; G) Mesocosmos demonstrando porção submersa na água (marrom-esverdeado) e porção submersa no sedimento (branco).

Os mesocosmos foram constituídos de cilindros plásticos (PVC), com dimensões 120 cm de altura e 50 cm de diâmetro, com volume aproximado de 160 litros. Os mesocosmos foram enterrados no sedimento de maneira a integrar todas as comunidades algais ali existentes, resultando em uma profundidade média de 0,85m, e sua disposição seguiu a entrada de água na região litorânea do reservatório, bem como o local com a melhor disponibilidade de luz nesta região no lago (Figura 2).

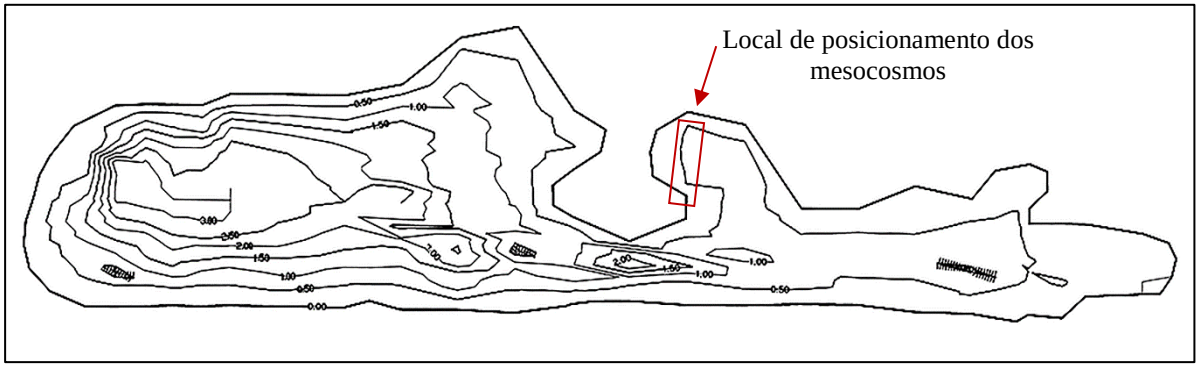

Figura 2. Batimetria do Lago das Ninfeias e local de posicionamento dos mesocosmos na região litorânea.

Amostras de água foram coletadas foram coletadas em todos os mesocosmos para a determinação das variáveis abióticas e do fitoplâncton. O epipélon foi amostrado utilizando um tubo '*corer*' de 5 centímetros no qual coletava-se o primeiro centímetro, após a coleta todo material epipélico foi diluído em 250ml de água destilada e separado em alíquotas para determinação dos epipélon.

2.2. Variáveis analisadas

As variáveis abióticas analisadas na água dos mesocosmos foram: temperatura, condutividade elétrica, pH (sonda subaquática multiparâmetros, Horiba), radiação subaquática (luxímetro Li-Cor LI-250A), oxigênio dissolvido (Golterman *et al.* 1978), alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido (CO_2 livre e bicarbonato), nitrito e nitrato (Mackeret *et al.* 1978), nitrogênio amoniacal (Solorzano 1969), ortofosfato e fósforo total dissolvido (Strickland & Parsons 1960), nitrogênio total e fósforo total (Valderrama 1981). As amostras para a fração dissolvida dos nutrientes serão filtradas em filtro GF/F sob baixa pressão (≤0,3 atm). A partir do somatório das formas de nitrogênio determinou-se o nitrogênio inorgânico dissolvido (NID).

A amostra do epipélon foi diluída em 250ml de água destilada para posterior separação de alíquotas. Amostras de água e epipélon foram filtradas em filtro de fibra de vidro Whatman GF/F para a determinação da clorofila *a*. Para a extração da clorofila *a* (com a correção de feofitina) foi utilizado etanol (90%) conforme Sartory & Grobblelar (1984). Ao final, os atributos analisados do fitoplâncton e do epipélon foram expressos na mesma unidade de medida ($mg.cm^{-2}$).

As amostras de água e do epipélon foram fixadas com formalina 4% para análise taxonômica. As análises qualitativas foram feitas ao microscópio binocular Axioscop da marca Zeiss. A identificação taxonômica das algas teve como base publicações regionais, principalmente referente ao PEFI, além de literatura internacional especializada. Análise quantitativa foi feita a partir de amostras fixadas e preservadas em lugol acético e, mantidas no escuro até o momento da análise. A contagem das algas foi realizada em microscópio invertido (Axio Observer D1, Zeiss) conforme método de Utermöhl, seguindo critério de contagem descrito em Ferragut *et al.* (2013). A biomassa algal foi estimada a partir do produto da densidade populacional e a unidade de volume médio de cada espécie (Hillebrand *et al*. 1999). O biovolume das algas foi obtido em Fonseca *et al.* (2014) e para táxons ausentes na lista o biovolume foi calculado a partir das formas geométricas descritas por Hillebrand *et al*. (1999). Foram consideradas espécies dominantes aquelas cujas densidades superaram 50% da densidade total da comunidade e, abundantes aquelas cujas densidades superarem 10% densidade total de cada tratamento. O número total de táxons quantificados nas amostras foi usado para determinar a riqueza de espécies. A diversidade algal na comunidade fitoplanctônica e epipélica foi calculada pelo índice de diversidade de Shannon.

2.3 Análise Estatística dos dados

A análise dos dados foi realizada por meio de análise descritiva univariada realizada através da representação gráfica dos dados. Foram utilizadas medidas de tendência central (média) e de dispersão (desvio padrão). Na análise inferencial dos dados foi aplicada análises de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA 2-fatores) para a comparação entre os tratamentos. Para comparação de médias e determinação da diferença mínima significante foi utilizado o teste de comparações múltiplas de Tukey no software SigmaPlot 11 (Systat Software, Inc. 2008).

A determinação de diferença significativa na estrutura taxonômica do fitoplâncton e epipélon foi detectada pela PERMANOVA 2-fatores (Past 3.18, Hammer *et al.* 2001). A avaliação conjunta das espécies descritoras das comunidades algais e variáveis ambientais foi através de Análise de Redundância (RDA) no software PCOrd 6 (McCune & Mefford, 2011).

Os dados de biovolume das espécies descritoras e variáveis ambientais foram respectivamente transformados em log10 e log10 (X+1).

3. RESULTADOS

3.1 Variáveis abióticas

A Figura 3 resume a variação das variáveis abióticas nos tratamentos com adição combinada de N e P e variação no sombreamento no 7º, 14º e 21º do período experimental. As variáveis pH, condutividade, oxigênio dissolvido, nitrogênio inorgânico dissolvido (NID), fósforo total dissolvido, ortofosfato, fósforo total (PT) e razão molar N:P apresentaram diferença significativa entre tratamentos no período experimental (RM ANOVA 2-fatores: $p<0,05$). Com base na comparação múltipla das médias entre tratamentos, verificou-se que pH, condutividade, PDT e PT nos tratamentos A, P, S e F foram significativamente diferentes do controle (Tukey: $p< 0,01$). A razão molar N:P da água nos tratamentos A, P e F diferiu significativamente do controle (Tukey: $p< 0,05$). A concentração de OD diferiu significativamente entre controle e tratamentos A, P e S (Tukey: $p< 0,01$) e entre o tratamento F e tratamentos A e S (Tukey: $p< 0,05$). A concentração de NID teve diferença significativa entre controle e tratamento F (Tukey: $p< 0,05$). Temperatura, nitrogênio total e radiação subaquática não apresentaram diferença significativa entre tratamentos.

As razões Luz:NID e Luz:PO_4 apresentaram diferenças significativas entre tratamentos durante o período experimental (RM ANOVA 2-fatores: $p<0,05$; Figura 4). A razão Luz:NID no controle foi significativamente diferente dos tratamentos P, S e F (Tukey: $p< 0,05$). A razão Luz:PO_4 no controle foi significativamente dos tratamentos P, S e F (Tukey: $p< 0,01$).

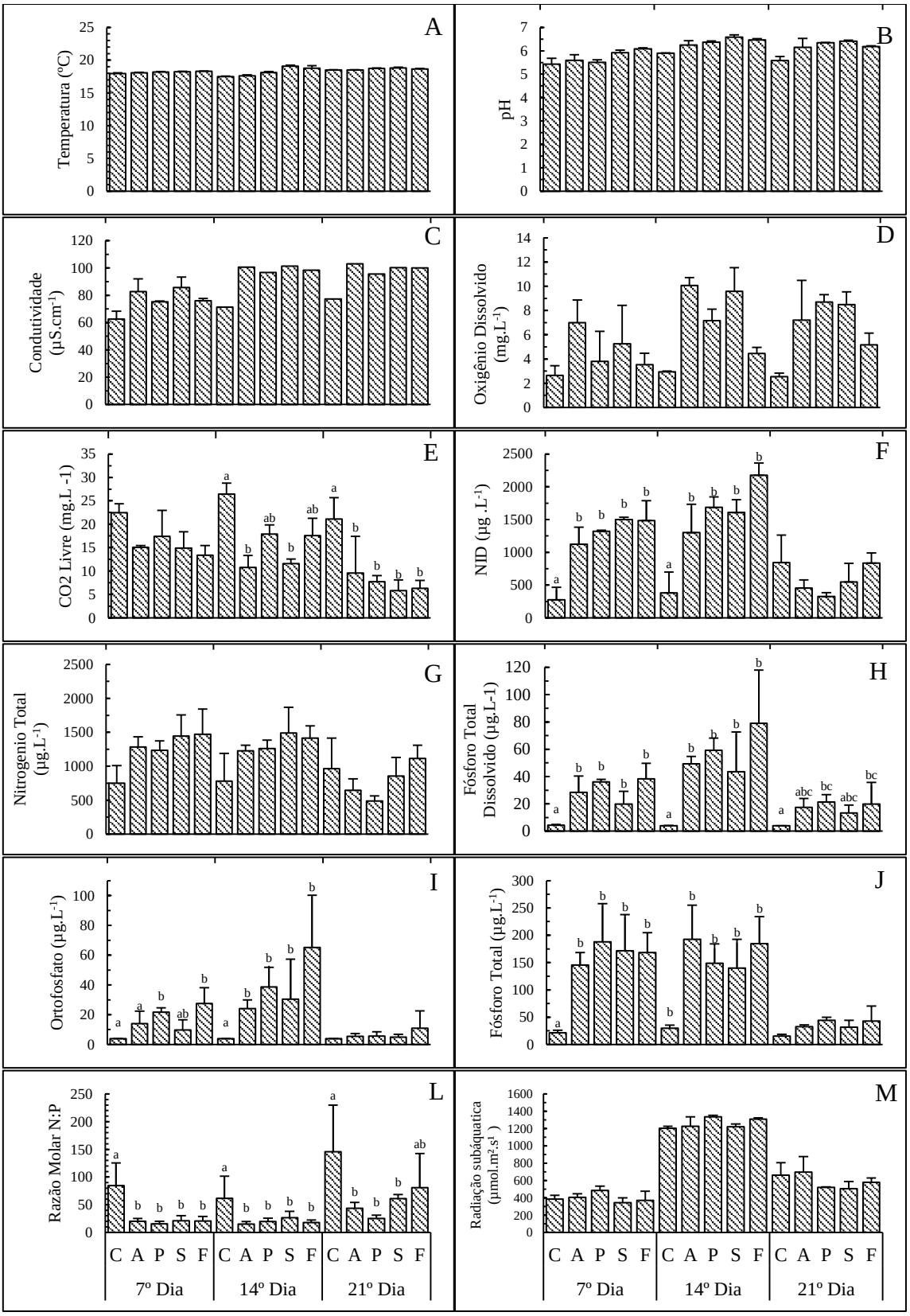

Figura 3. Valores médios e desvio padrão (n=3) da temperatura (A), pH (B), condutividade (C), oxigênio dissolvido (D), CO_2 livre (E), nitrogênio inorgânico dissolvido (NID, F), nitrogênio total (G), fósforo total dissolvido (H), ortofosfato (I), fósforo total (J), razão molar N:P (L) e radiação subaquática (M) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P).

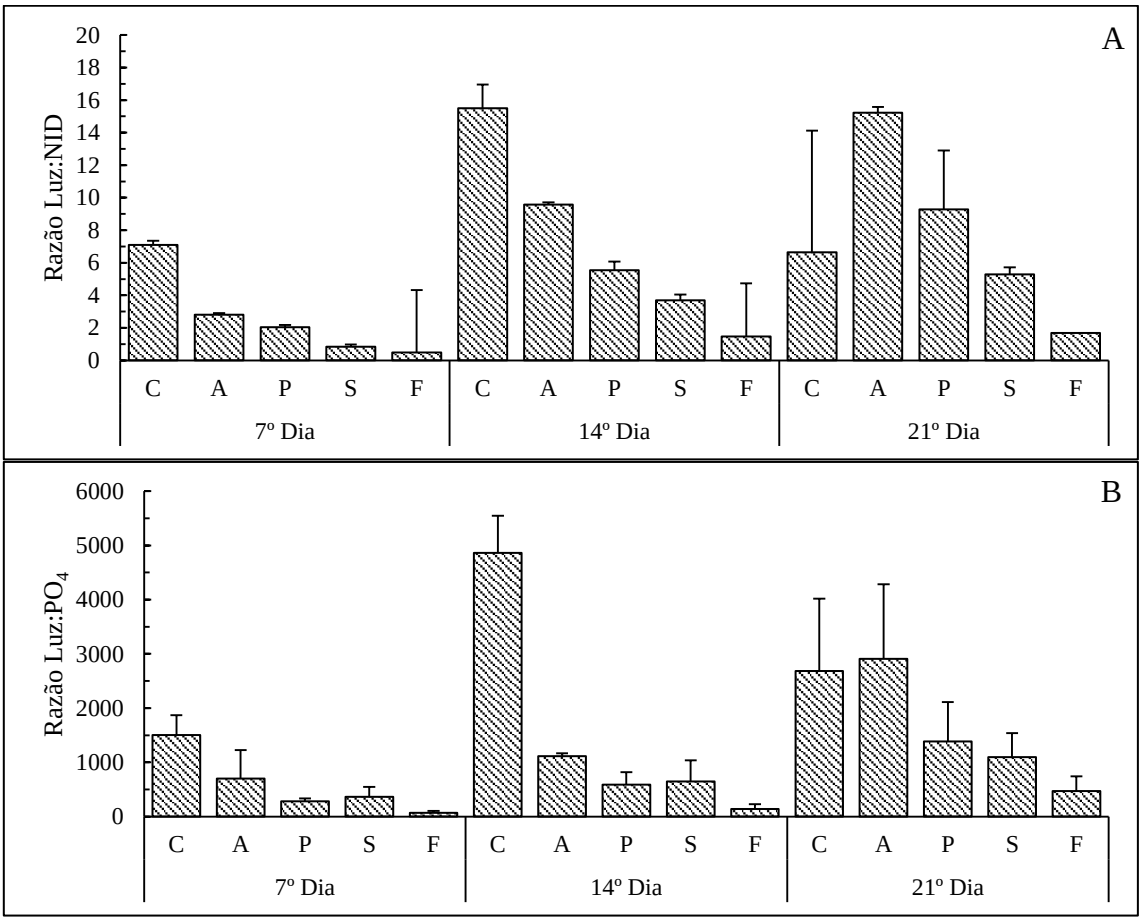

Figura 4. Valores médios e desvio padrão (n=3) da razão Luz:NID (nitrogênio inorgânico dissolvido, A) e da razão Luz:PO_4 (Ortofosfato, B) nos tratamentos nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P).

3.1 Variáveis bióticas

Atributos Estruturais do Fitoplâncton e Epipélon

No fitoplâncton, o maior valor de biomassa (clorofila *a*) foi registrado no tratamento Aberto (A) no 7º e 14º dia do período experimental (Figura 5.A). O valor médio da concentração da clorofila *a* e densidade total foi diferente estatisticamente entre tratamentos (Kruskal-Wallis: p >0,004), mas o biovolume e diversidade de Shannon não apresentaram diferenças entre tratamentos. A clorofila *a* no tratamento Aberto, P e S com adição combinada de N e P diferiu significativamente do controle (Tukey: p< 0,05). A maior densidade total foi observada no tratamento sombreado com adição combinada de N e P (Figura 5.C), enquanto o maior biovolume total foi encontrado no tratamento aberto com adição combinada de N e P (Figura 5.E). A densidade total no controle foi diferente do tratamento aberto, o qual também diferiu

do tratamento F (Tukey: $p < 0,05$). Quanto à diversidade de Shannon, o tratamento fortemente sombreado (F) teve o maior valor no 21º do período experimental (Figura 5.G).

O epipélon apresentou o maior valor de clorofila *a* no tratamento F, de biovolume total no tratamento S e de densidade total no tratamento P no 7º dia, enquanto a maior diversidade foi registada no tratamento S no 21º dia (Figuras 5B, D, F e H). Apesar dos valores médios de biomassa, densidade e biovolume total terem sido maiores nos tratamentos com variação de luz do que no controle, nenhuma diferença significativa foi encontrada.

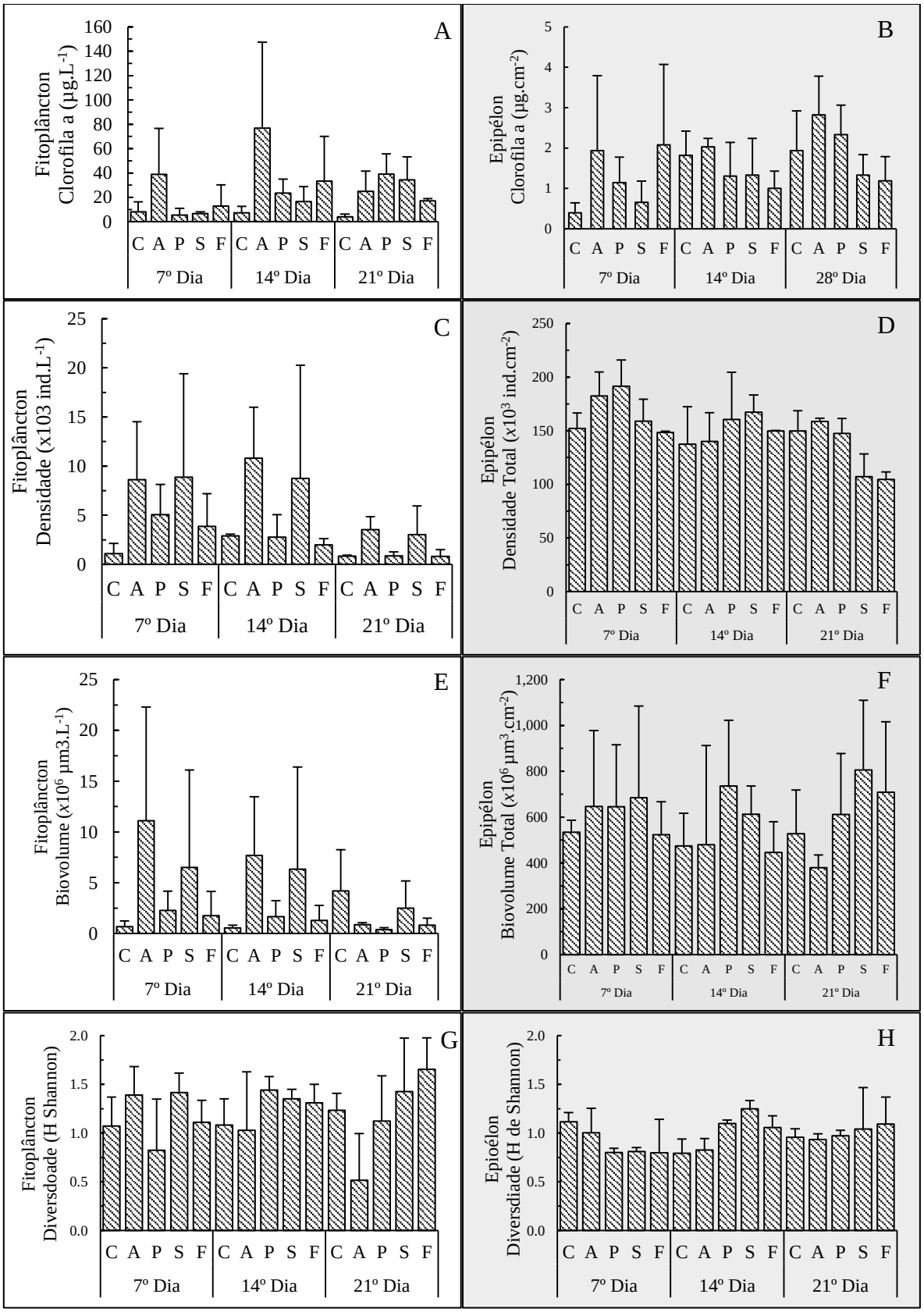

Figura 5. Valores médios e desvio padrão (n=3) da clorofila *a*, densidade total, biovolume total e diversidade de espécies do fitoplâncton (A, C, E, G) e do epipélon (B, D, F, H) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P).

Estrutura taxonômica do Fitoplâncton e Epipélon

Foram registradas 52 espécies algais no período amostral, o fitoplâncton foi composto de 36 espécies no controle e diferentes tratamentos de adição combinada de N e P e variação de luz. A riqueza média nos tratamentos foi de 8 espécies, sendo a maior riqueza registrada no tratamento fortemente sombreado, 11 espécies, no 21º dia do período experimental. No epipélon foram encontradas de 35 espécies algais em todos os tratamentos. A riqueza média nos tratamentos foi de 8 espécies, sendo a maior riqueza, 12 espécies, registrada no tratamento fortemente sombreado no 14º dia do período experimental. 17 espécies foram exclusivas do fitoplâncton, 16 espécies exclusivas do epipélon e 19 espécies foram compartilhadas entre as duas comunidades (Figura 6).

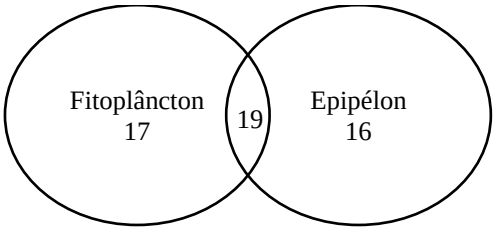

Figura 6. Diagrama de Venn mostrando as espécies comuns do fitoplâncton e epipélon durante o período experimental.

A densidade das espécies descritoras do fitoplâncton nos tratamentos mudou em relação ao controle (Figura 7A). Em relação ao controle, a *Chromulina elegans* foi abundante em todos os tratamentos, sendo dominante no parcialmente sombreado. Esta espécie manteve a dominância somente no controle no 14º dia, pois a abundância nos demais tratamentos foi extremamente reduzida. *Cryptomonas erosa* foi dominante no controle (7d), aberto (7d) e no parcialmente sombreado (21d), mas a densidade flutuou grandemente entre os tratamentos e dias. No 14º dia, *Discostella stelligera* foi abundante no tratamento aberto e dominante no tratamento sombreado, *Trachelomonas volvocinopsis* foi abundante no tratamento sombreado e *Synura* sp. no fortemente sombreado. No 21º dia ocorreu a retomada do crescimento com dominância de *C. erosa* no controle e nos tratamentos aberto e parcialmente sombreado, enquanto nos tratamentos sombreado e fortemente sombreado ocorreu aumento da contribuição de outras espécies, tais como *Micractinium* sp. (S) e *Chromulina pygmaea* (F). No tratamento fortemente sombreado não houve dominância de nenhuma espécie. No epipélon, a espécie dominante foi *Gloeocystis vesiculosa* com contribuição de 65% a 82% em todos os tratamentos (Figura 6.B). A PERMANOVA 2-Fatores mostrou que a estrutura do fitoplâncton foi significativamente diferente entre tratamentos ($F= 3,05$, $p<0,001$) e no tempo ($F= 3,11$, $p<0,05$) e a estrutura de algas epipélicas foi diferente entre tratamentos ($F= 1,34$, $p<0,05$) e no tempo ($F= 2,90$, $p<0,001$) com efeitos da interação de ambos os fatores ($F= 1,90$, $p<0,001$).

Em relação ao biovolume das espécies do fitoplâncton (Figura 8.A), no 7º dia houve a dominância de *Peridinium umbonatum* em todos os tratamentos, exceto no tratamento aberto onde a dominância foi de *Peridinium gatunense*. No 14º dia, o *P. umbonatum* manteve a dominância apenas no controle, mas nos demais tratamentos o biovolume foi reduzido a menos de 5%. Verificou-se elevado biovolume *D. stelligera* no tratamento aberto e sombreado, *Haplotaenium minutum* no tratamento P e *Synura* sp. no tratamento F. As maiores mudanças em relação ao controle foram observadas no 21º dia, com dominância de *P. gatunenses* no controle, elevada abundância de *C. erosa* no tratamento A, *D. stelligera* no tratamento P, *Micractinium* sp. no tratamento S e *Closterium* sp.1 no tratamento F. No epipélon, houve a flutuação do biovolume relativo de *G.is vesiculosa*, *Pinnularia* cf *viridis* e *Stauroneis phoenicenteron* no 7º e 14º (Figura 8.B). Contudo, verificou-se que a composição de espécies foi mais sensível no 21º devido ao aumento do biovolume relativo da espécie *S. phoenicenteron* nos tratamentos P, S e F.

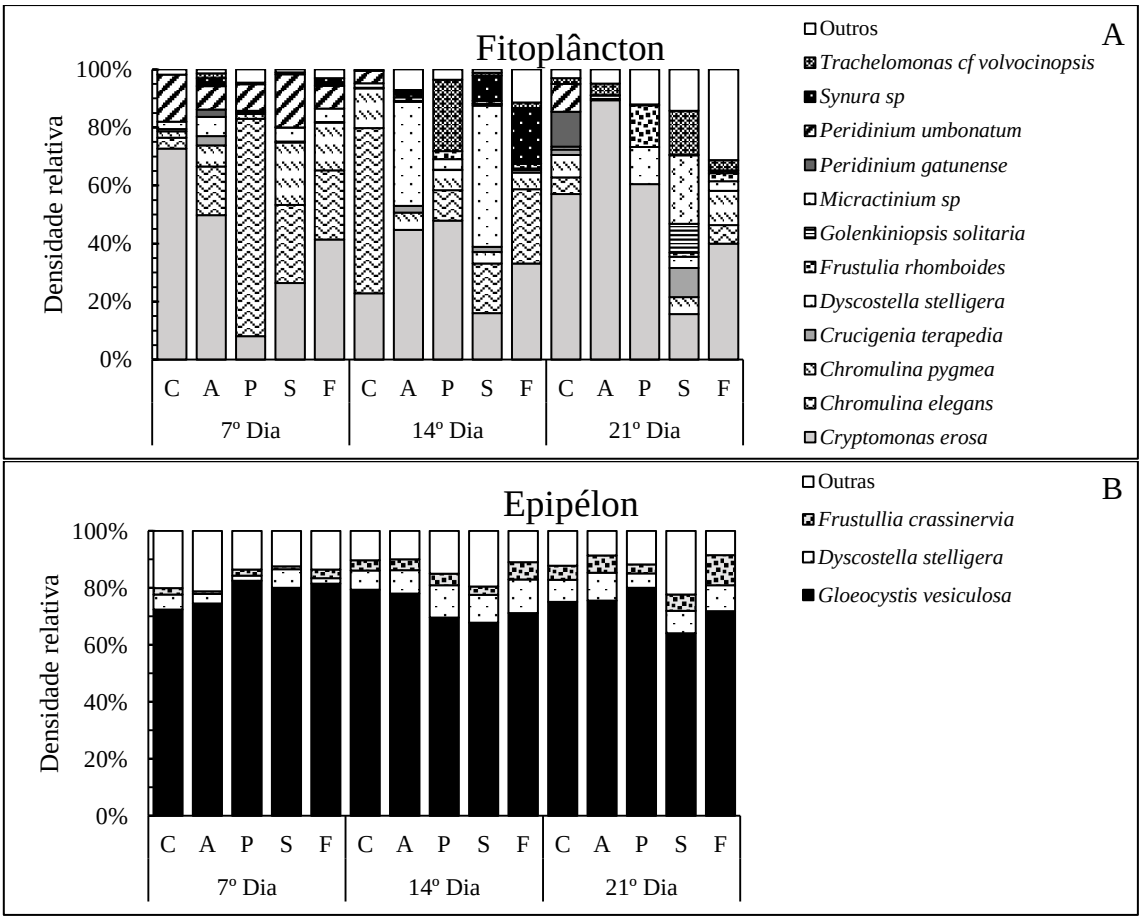

Figura 7. Densidade relativa do Fitoplâncton (A) e Epipélon (B) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P).

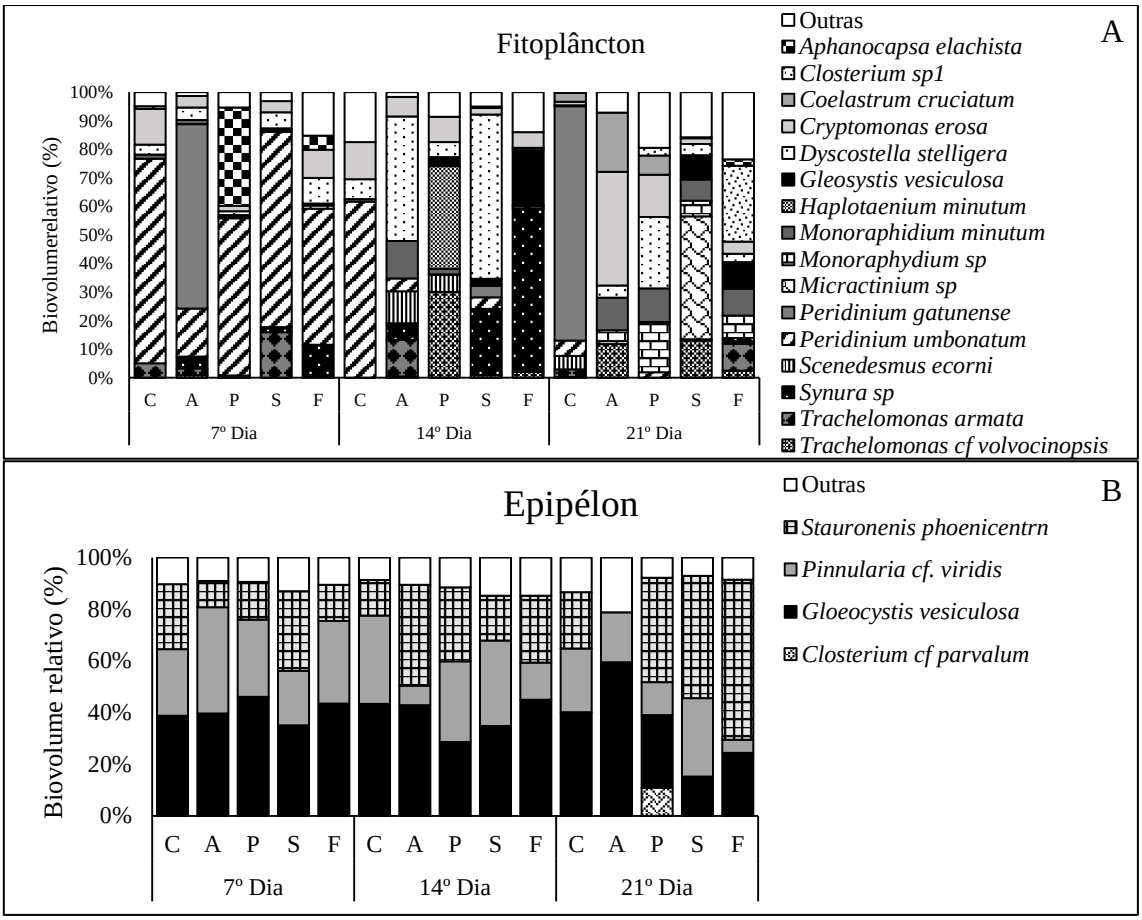

Figura 8. Biovolume relativo do Fitoplâncton (A) e Epipélon (B) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P).

A RDA foi realizada com 5 variáveis ambientais e o biovolume total das espécies do fitoplâncton (Figura 9, Tabela 1 e 3). Os autovalores para o eixo 1 (5,915) e 2 (3,582) explicaram 26,4% da variabilidade total dos dados. A correlação espécie-ambiente de Pearson para o eixo 1 (r = 0,943) e 2 (r = 0,956) indicou forte relação entre a distribuição de espécies e as variáveis ambientais. O teste de randomização foi estatisticamente significativo para os eixos 1 e 2 ($p < 0,05$), mostrando que são passiveis de interpretação. Os tratamentos foram alinhados no eixo 1 principalmente em relação à disponibilidade de luz e quantidade de material particulado na água. O alinhamento dos tratamentos no eixo 2 foi em relação a disponibilidade de nutrientes e da razão luz:PO_4. O coeficiente de correlação de Pearson mostrou que o percentual (r = 0,57) de luz foi a variável ambiental mais importante na ordenação do lado positivo do eixo 1 e o material particulado (r = -0,57) para o lado negativo. A ordenação do eixo 2 (Tabela 1) mostrou que, além do material particulado (r = -0,48), o nitrato (r = 0,42)

também foi importante variável para ordenação dos tratamentos e espécies nos eixos. Além disso no eixo 1 é possível notar o efeito do período experimental, pois os controles e tratamentos do 7º e 14º dia no período experimental foram ordenados no lado negativo e os tratamentos com maior sombreamento (>50%) no lado positivo. Verificou-se que no lado positivo do eixo 1 *Closterium* sp.2 (r= 0,77) foi a espécie mais associada aos tratamentos no 14º e 21º dia, enquanto no lado negativo *P. umbonatum* (r= 0,84) foi mais correlacionada ao controle e tratamentos do 7º dia. No lado positivo do eixo 2, a espécie *Trachelomonas volvocinopsis* demonstrou maior associação aos tratamentos A e P e no lado negativo *Closteriopsis acicularis* (r= -0,47) foi associada ao controle no 7º e 14º dia e aos demais tratamentos do 7º dia.

A RDA realizada com o biovolume total das espécies do epipélon e 5 variáveis ambientais (Figura 10, Tabela 2 e 3), com autovalores para o eixo 1 (5,486) e 2 (2,828) explicaram 23,8% da variabilidade total dos dados. A correlação espécie-ambiente de Pearson para o eixo 1 (r = 0,921) e 2 (r = 0,924) indicou forte relação entre a distribuição de espécies e as variáveis ambientais. O teste de randomização foi estatisticamente significativo para os eixos 1 e 2 ($p < 0,05$), mostrando que são passiveis de interpretação. O coeficiente de correlação de Pearson mostrou que o percentual de sombreamento e o material particulado foram as variáveis ambientais mais importantes na ordenação do eixo 1 e 2 (Tabela 2). No lado positivo do eixo 1, verificou-se maior com associação ao material particulado com eixo (r= 0,60), enquanto o percentual de sombreamento teve maior correlação com eixo 2 (r= -0,78). Controle e tratamentos do 7º e 14º dia foram ordenados no lado positivo de eixo 1 e os tratamentos do 21º dia no lado negativo. Os controles e tratamentos com menores valores de sombreamento do 7º, 14º e 21º dia foram ordenados no lado positivo, enquanto os tratamentos com maior valor de sombreamento ficaram no lado negativo. No lado positivo do eixo 1, *Encyonema* cf. *mesianum* (r= 0,79) foi a espécie mais associada ao controle e tratamentos no 7º e 14º dia (r= 0,79), enquanto no lado negativo *Eunotia sudetica* foi mais associada aos tratamentos S e F do 21º dia (r= -0,72). No lado positivo do eixo 2, *Phormidium* sp. demonstrou a maior associação ao controle no 7º dia (r= 0,51), e no lado negativo *Closterium parvalum* foi a espécie com maior correlação com o eixo (r= -0,38) e foi associada aos tratamentos A do 7º e 14º dia e tratamento S do 7º e 14º dia. A RDA ordenou as espécies em função de escala temporal, evidenciando guilda de espécies associadas aos com atenuação de luz no 21º dia.

Tabela 1. Coeficientes de correlação de Pearson das variáveis ambientais com os dois primeiros eixos da RDA para comunidade de espécies do fitoplâncton.

Variável Ambiental	Código	Eixo 1	Eixo 2
Percentual de Sombreamento	luz	0,579	-0,297
Ortofosfato	po4	-0,085	0,187
Razão Luz:PO_4	rlp	-0,058	0,307
Material Particulado	mpt	-0,579	-0,489
Nitrato	no3	0,068	0,420

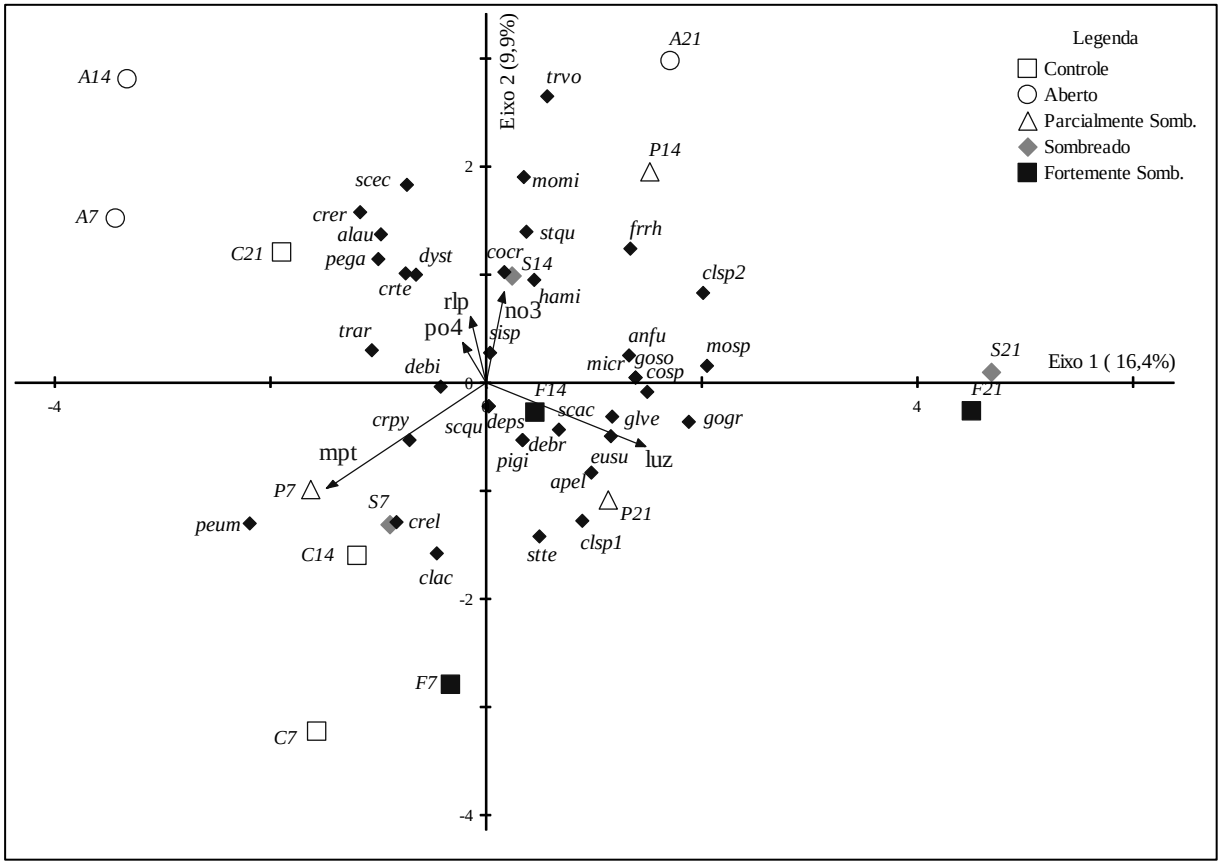

Figura 9. RDA do biovolume das espécies fitoplanctônicas e variáveis abióticas nos tratamentos com adição combinada de N e P e variação de luz. Abreviações: C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P e o número representa o dia de coleta. Os códigos dos vetores encontram-se na Tabela 1 e das espécies na Tabela 3.

Tabela 2 Coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis ambientais dos dois primeiros eixos da RDA para comunidade de espécies do epipélon.

Variável Ambiental	Código	Eixo 1	Eixo 2
Percentual de Sombreamento	luz	0,095	-0,785
Ortofosfato	po4	0,344	-0,113
Razão Luz:PO_4	rlp	-0,401	0,195
Material Particulado	mpt	0,603	0,051
Nitrato	no3	0,138	-0,316

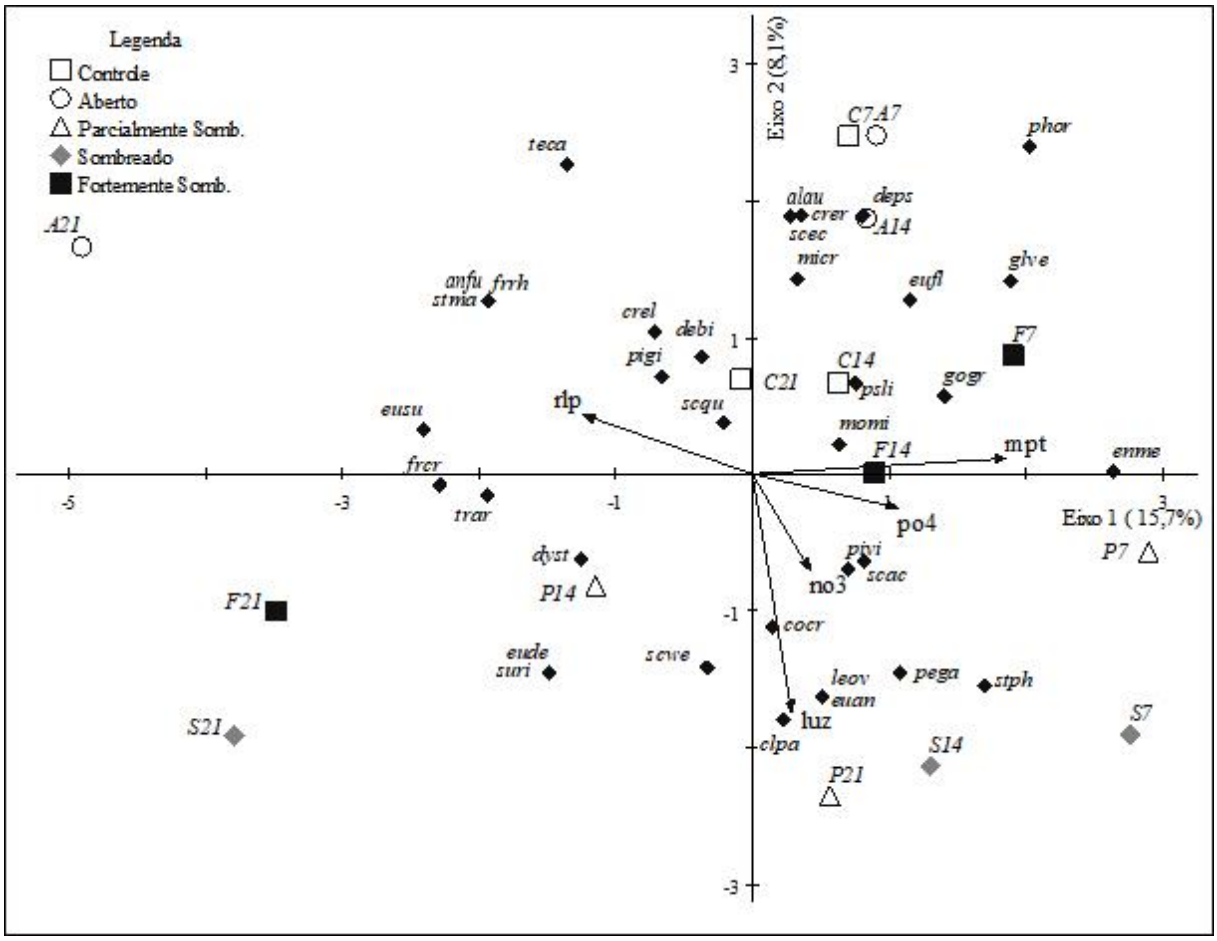

Figura 10. RDA do biovolume das espécies de algas epipélicas e variáveis abióticas nos tratamentos com adição combinada de N e P e variação de luz. Abreviações: C, controle; A, aberto com adição combinada de N e P; P, parcialmente sombreado (30%) com adição combinada de N e P; S, sombreado (50%) com adição combinada de N e P; F, fortemente sombreado (70%) com adição combinada de N e P e o número representa o dia de coleta. Os códigos dos vetores encontram-se na Tabela 2 e das espécies na Tabela 3.

Tabela 3. Correlação de Pearson (r) do biovolume das algas planctônicas e epipélicas com os eixos 1 e 2 da RDA e seus respectivos códigos.

Táxons	Código	Fitoplâncton		Epipélon	
		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
Aulacoseira sp.	alau	-0,378	0,411	0,083	0,406
Ankistrodesmus fusiformis	anfu	0,510	0,077	-0,580	0,274
Aphanocapsa elachista	apel	0,377	-0,250	-	-
Closteriopsis acicularis	clac	-0,177	-0,471	-	-
Closterium cf *parvulum*	clpa	-	-	0,067	-0,388
Closterium sp.1	clsp1	0,342	-0,384	-	-
Closterium sp.2	clsp2	0,774	0,250	-	-
Coelastrum cruciatum	cocr	0,063	0,307	0,044	-0,241
Cosmarium sp.1	cosp	0,575	-0,025	-	-
Chromulina elegans	crel	-0,318	-0,387	-0,215	0,224
Chromulina pygmaea	crpy	-0,273	-0,159	-	-
Crucigenia tetrapedia	crte	-0,289	0,302	-	-
Cryptomonas erosa	crer	-0,449	0,473	0,083	0,406
Desmodesmus bicaudatus	debi	-0,164	-0,010	-0,112	0,184
Desmodesmus brasiliensis	debr	0,129	-0,159	-	-
Desmodesmus pseudodenticulatus	deps	0,008	-0,067	0,242	0,407
Discostella stelligera	dyst	-0,250	0,298	-0,375	-0,134
Encyonema cf. *mesianum*	enme	-	-	0,794	0,004
Euastrum ansatum	euan	-	-	0,154	-0,352
Eunotia desmogonioides	eude	-	-	-0,447	-0,314
Eunotia flexuosa	eufl	-	-	0,346	0,274
Eunotia sudetica	eusu	0,446	-0,149	-0,723	0,070
Frustulia crassinervia	frcr	-	-	-0,685	-0,019
Frustulia rhomboides	frrh	0,515	0,37	-0,580	0,274
Gleocystis vesiculosa	glve	0,451	-0,092	0,568	0,306
Golenkiniopsis solitaria	goso	0,533	0,015	-	-
Gomphonema gracile	gogr	0,724	-0,110	0,421	0,123
Haplotaenium minutum	hami	0,172	0,285	-	-
Lepocinclis ovum	leov	-	-	0,154	-0,352
Micractinium sp.	micr	0,533	0,015	-	-
Micrasterias sp.	micr	-	-	0,099	0,307
Monoraphidium minutum	momi	0,133	0,57	0,191	0,047
Monoraphidium sp.	mosp	0,79	0,048	-	-
Peridinium gatunense	pega	-0,383	0,342	0,327	-0,314
Peridinium umbonatum	peum	-0,844	-0,391	-	-
Phormidium sp.	phor	-	-	0,612	0,515
Pinnularia gibba	pigi	0,129	-0,159	-0,198	0,154
Pinnularia cf. *viridis*	pivi	-	-	0,211	-0,149
Pseudanabaena limnetica	psli	-	-	0,225	0,142
Scenedesmus acutus f. *alternans*	scac	0,258	-0,132	0,244	-0,138
Scenedesmus ecornis	scec	-0,283	0,550	0,107	0,408
Scenedesmus quadricauda	scqu	0,01	-0,066	-0,063	0,081
Scenedesmus westii	scwe	-	-	-0,099	-0,305

Sinura sp	sisp	0,012	0,083	-	-
Staurastrum margaritaceum var *margaritaceum*	stma	-	-	-0,580	0,274
Staurastrum quadrangulare	stqu	0,142	0,418	-	-
Staurastrum tetracerum	stte	0,189	-0,425	-	-
Stauroneis phoenicenteron	stph	-	-	0,510	-0,333
Surirella sp.	suri	-	-	-0,447	-0,314
Tetraedron caudatum	teca	-	-	-0,407	0,488
Trachelomonas armata	trar	-0,407	0,089	-0,581	-0,033
Trachelomonas cf *volvocinopsis*	trvo	0,217	0,794	-	-

4. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que o enriquecimento por N e P tem efeito sobre a estrutura taxonômica do fitoplâncton e do epipélon, mas que a disponibilidade de luz assume importante papel em condições de alta disponibilidade de nutrientes. A disponibilidade luz e de nutrientes foram fatores determinantes da estrutura do fitoplâncton e do epipélon, pois refletiram mudanças na dominância das espécies e abundância das descritoras. Diferentemente de Steinman *et al* (2016), os efeitos do enriquecimento foram pronunciados, mas os efeitos da luz não foram observados. Os nossos resultados mostram a importância de estudos desse tipo para o conhecimento da dinâmica da comunidade de algas perifíticas.

Em relação as espécies descritoras, a alta disponibilidade de nutrientes mudou a estrutura taxonômica do fitoplâncton (C/A), mas o aumento do sombreamento (tratamentos P, S e F) alterou a estrutura em relação ao controle e ao tratamento aberto. A alta disponibilidade de luz e nutrientes favoreceu o aumento da densidade de *Chromulina elegans* e *Cryptomonas erosa*, as quais foram substituídas com atenuação da luz em mais de 50%. Segundo Jones (2000) e Olrik (1998), as espécies dos gêneros *Cryptomonas* e *Chromulina* podem ser beneficiadas quando há alta disponibilidade de nutrientes e luz, pois são mixotróficas com maior dependência de luz, o que não as impede de competir em ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes. A elevada atenuação da luz favoreceu o aumento da densidade de *Discostella stelligera* e *Micractinium* sp. no tratamento sombreado e *Synura* sp. e *Trachelomonas volvocinopsis* no fortemente sombreado. Espécies como *Micractinum sp. Synura* sp. e *T. volvocinopsis* podem consideradas bem adaptadas à ambientes com baixas intensidades luminosas e alta concentração de material particulado em suspensão, o que justifica sua presença nos tratamentos com maior sombreamento (Costa *et al.* 2016, Padisák *et al.* 2003). Em termos de biovolume, as espécies descritoras também responderam claramente ao enriquecimento no 14° e 21º dia, quando houve a substituição do gênero *Peridinium* por *Discostella stelligera* e *Cryptomonas erosa*. Mudanças mais evidentes foram observadas com

o aumento da atenuação da luz, pois espécies descritoras diferentes foram encontradas em cada tipo de tratamento. Portanto, as espécies descritoras responderam as alterações de luz e nutrientes, formando guildas associadas às diferentes condições experimentais.

Quanto às espécies descritoras do epipélon, as mudanças na estrutura taxonômica em função da adição de nutriente e da variação de luz foram mais discretas durante o período experimental, sendo mais evidente no 21º dia. A espécie com dominância em densidade epipélon foi *Gloeocystis vesiculosa*, a qual esteve presente em todos os tratamentos durante o período experimental. Outras espécies também estiveram presentes como descritoras nos diferentes tipos de tratamentos, por exemplo, *Discostella stelligera* e *Frustulia crassinervia*. *Frustulia crassinervia* apresentou aumento no tratamento fortemente sombreado. *D. stelligera F. crassinervia* são consideradas r-estrategistas e podem ter elevada amplitude ecológica, o que garantiria sua presença em ambientes com menor intensidade luminosa, mas rico em nutrientes (Biggs *et al.* 1998; Ferrari 2010). Quando consideramos o biovolume algal, ainda que a presença de *Gloeocystis vesiculosa* tenha sido significativa, a presença de *Stauroneis phoenicenteron* ao longo período experimental tornou-se claramente importante nos tratamentos com aumento no sombreamento (>25%). *S. phoenicenteron* é descrita como uma espécie bem adaptada a baixa disponibilidade de luz e, também, de nutrientes.

Quando avaliamos as análises ordenação foi possível verificar o efeito do gradiente de luz, tanto para espécies do fitoplâncton, quanto para espécies do epipélon. No caso do fitoplâncton, *Peridinium umbonatum* e *Closteriopsis acicularis* foram as espécies mais relacionadas aos controles e, também, os tratamentos no 7º dia. Por outro lado, *Trachelomonas volvocinopsis* foi a espécie mais associada ao tratamento aberto, mostrando um efeito maior a adição de nutrientes. No epipélon, a espécie *Encyonema* cf. *mesianum* foi mais relacionada aos primeiros momentos do experimento (controle e tratamentos do 7º e 14º dia) e fortemente associada aos maiores valores de material particulado, e *Eunotia sudetica* esteve mais associada aos tratamentos com maior sombreamento (>50%).

Analisando os tratamentos sobre o ponto de vista da razão Luz:Nutrientes, evidenciou-se que a razão Luz:PO_4 foi melhor associada ao aumento da biomassa, riqueza e abundância do fitoplâncton (Luz:PO_4= 1.100) e epipélon (Luz:PO_4= 365). O aumento do fitoplâncton esteve diretamente ligado ao aumento de nutrientes na coluna d'água, sendo o maior potencial de desenvolvimento do fitoplâncton encontrado no tratamento com alta disponibilidade luz e nutrientes. O epipélon, por outro lado, se mostrou mais sensível às alterações na disponibilidade de luz, com uma estrutura taxonômica mais adaptadas a captação de luz.

Conclui-se que o efeito da variação na disponibilidade de luz tem forte impacto sobre as mudanças no fitoplâncton e epipélon, pois altera os atributos e a estrutura taxonômica destas

comunidades. A luz foi considerada importante fator para a estruturação das comunidades, sendo que os valores da razão luz:PO_4 maiores do que 1000 promoveram o aumento do fitoplâncton, enquanto valores menores do que 365 proporcionaram maior desenvolvimento do epipélon. Este trabalho colabora como base para futuros trabalhos com a razão luz:nutriente, a qual pode auxiliar no entendimento das inter-relações entre fitoplâncton e epipélon, visando principalmente a presença de epipélon fotossintético. O maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre a estrutura e da dinâmica do epipélon e do fitoplâncton são fundamentais para a recuperação e conservação dos ecossistemas rasos tropicais.

APÊNDICE

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão dos dados limnológicos (n=3) nos tratamentos de variação de luz e adição combinada de nitrogênio e fósforo (C, Controle; A, Aberto; P, Parcialmente sombreado; S, Sombreado; F, Fortemente sombreado) durante o período experimental.

	7 dias					14 dias					21 dias				
	C	A	P	S	F	C	A	P	S	F	C	A	P	S	F
Temperatura (ºC)	17,9	18,0	18,1	18,2	18,3	17,5	17,6	18,1	19,0	18,7	18,4	18,5	18,7	18,8	18,6
	±0,1	±0,1	±0,1	±0,1	0	±0,1	±0,1	±0,1	0±,1	±0,4	0	0	±0,1	±0,1	±0,1
pH	5,4	5,59	5,5	5,9	6,1	5,9	6,2	6,3	6,5	6,4	5,5	6,1	6,3	6,4	6,1
	±0,2	±0,2	±0,1	±0,1	0	0	±0,2	±0,1	±0,1	0	±0,2	±0,3	0	0	0
Condutividade ($\mu S.cm^{-1}$)	62,6	82,6	75,3	85,6	76,0	71,3	100,6	96,6	101,3	98,3	77,3	103,0	95,6	100,3	100,0
	±5,6	±9,2	±0,5	±7,6	±1,7	±4,9	±10,1	±1,1	±6,0	±1,5	±6,5	±13,9	±1,5	±5,7	±3,6
Alcalinidade ($mEq.L^{-1}$)	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,7	0,6	0,7	0,6
	0	±0,1	0	±0,1	0	0	±0,1	0	±0,1	0	0	±0,1	0	±0,1	0
Radiação Subaquática ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$)	194,0	221,9	278,3	197,1	209,9	628,0	858,1	963,8	870,7	955,6	346,9	455,0	305,8	356,4	420,2
	±47,5	±34,1	±25,8	±15,4	±50,3	±88,5	±174,6	±65,7	±135,9	±45,1	±171,9	±95,1	±52,8	±103,5	±125,1
Oxigênio Dissolvido ($mg.L^{-1}$)	2,6	6,9	3,8	5,2	3,5	2,9	10,0	7,1	9,6	4,4	2,5	7,2	8,7	8,5	5,1
	±0,7	±1,8	±2,4	±3,1	±0,9	±0,1	±0,6	±0,9	±1,9	±0,5	±0,3	±3,2	±0,6	±1,0	±0,9
Nitrogênio Inorgânico Dissolvido ($\mu g.L^{-1}$)	274,2	1124,6	1321,5	1501,2	1485,3	382,4	1299,9	1684,7	1606,8	2176,4	844,1	456,1	324,9	549,4	836,7
	±191,9	±259,9	±15,6	±35,3	±301,5	±317,2	±434,5	±161,6	±197,7	±187,6	±418,9	±121,2	±59,7	±283,1	±155,0
Nitrogênio Total ($\mu g.L^{-1}$)	750,4	1283,9	1232,6	1444,2	1470,2	780,1	1225,5	1261,2	1490,3	1412,6	963,0	646,8	488,7	855,6	1114,5
	±258,8	±148,9	±141,8	±311,1	±370,8	±407,9	±84,0	±122,2	±379,9	±182,7	±451,0	±167,3	±74,8	±273,2	±196,6
Fósforo Dissolvido Total ($\mu g.L^{-1}$)	4,3	28,4	36,0	19,8	38,2	4,1	49,2	59,3	43,5	79,0	4,0	17,4	21,4	13,3	19,8
	±0,5	±11,9	±1,8	±9,2	±11,4	±0,1	±5,5	±8,9	±29,1	±38,9	0	±6,6	±5,3	±5,8	±15,8
Ortofosfato ($\mu g.L^{-1}$)	4,0	14,0	21,7	9,7	27,5	4,0	24,0	38,5	30,4	65,1	4,0	5,4	5,6	5,0	11,0
	0	±8,4	±2,9	±6,9	±10,4	0	±5,8	±13,1	±26,8	±35,0	0	±1,8	±2,9	±1,7	±11,6
Fósforo Total ($\mu g.L^{-1}$)	21,2	145,6	187,8	171,5	168,4	29,8	192,3	148,8	139,9	184,5	15,2	32,7	44,0	31,8	42,6
	±4,8	±22,6	±69,9	±66,1	±36,3	±5,5	±62,7	±35,5	±52,6	±49,4	±3,4	±3,0	±5,6	±12,6	±27,6
Razão N:P	84,4	20,0	15,6	20,9	20,3	61,2	15,1	19,6	26,3	17,7	145,5	43,5	24,9	60,8	80,8
	±41,1	±5,1	±4,5	±9,3	±8,5	±40,1	±4,7	±6,1	±11,5	±4,6	±84,2	±10,4	±5,9	±7,5	±61,8
CO_2 Livre ($mg.L^{-1}$)	22,4	15,0	17,4	14,9	13,3	26,4	10,7	17,9	11,6	17,5	21,1	9,5	7,7	5,8	6,2
	±1,8	±0,4	±5,5	±3,4	±2,0	±2,3	±2,5	±1,9	±0,1	±3,7	±4,6	±7,8	±1,3	±2,2	±1,6
Material Particulado ($mg.L^{-1}$)	16,7	13,5	14,8	17,8	12,1	17,2	12,1	8,9	12,1	9,3	16,6	9,6	16,3	10,9	9,2
	±2,0	±6,4	±5,1	±9,4	±4,7	±2,7	±6,7	±1,5	±6,4	±3,6	±3,5	±0,5	±4,7	±1,9	±0,9

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a literatura e nossos resultados podemos ressaltar alguns pontos sobre a entrada de nutrientes nos ecossistemas aquáticos e sua importância para a conservação e restauração deste ambiente.

Primeiro ponto, o enriquecimento isolado de P e combinado por N e P teve efeito positivo e significativo sobre o fitoplâncton e negativo sobre o epipélon. O efeito negativo sobre o epipélon está ligado ao aumento exponencial do potencial fotossintético fitoplâncton, o que mostra como está é uma comunidade sensível a entrada dos nutrientes. Outro ponto a se levar em consideração é que o aumento do fitoplâncton leva ao sombreamento, ou redução na disponibilidade de luz na coluna d'água, o que torna a luz um fator limitante para o epipélon. Para finalizar, levar em conta a razão Luz:Nutriente foi substancial pra entender a relação inversa que há entre o fitoplâncton e o epipélon.

Segundo ponto, a luz é um fator importante na mudança do fitoplâncton e epipélon, visto que ela pode alterar os atributos e a estrutura destas comunidades. Essa mudança em atributos e estrutura de comunidades e principalmente visto em virtude da variação na disponibilidade de luz. Quando consideramos a relação luz e nutrientes, os altos valores da razão Luz:Nutriente favoreceu a comunidade fitoplanctônica, e por outro lado, valores menores favoreceram a comunidade algal no epipélon.

Concluindo, a disponibilidade de nutrientes altera a relação entre fitoplâncton e epipélon, o enriquecimento um fator que reduz o potencial fotossintético do epipélon, porém são necessários maiores estudos para identificar a razão ideal no qual desenvolvimento do epipélon fotossinteticamente ativo é superior ao do fitoplâncton. Ainda que este trabalho contribua significativamente como base trabalhos futuros com a razão Luz:Nutriente. Ainda que este trabalho auxilie no entendimento das inter-relações entre fitoplâncton e epipélon, é necessário maior conhecimento sobre as espécies, principalmente o entendimento sobre sua autoecologia. Do ponto de vista da restauração e conservação o maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre a estrutura e da dinâmica do epipélon e do fitoplâncton são fundamentais para a recuperação e conservação dos ecossistemas rasos tropicais, visando principalmente a presença de epipélon fotossintético, dada sua importância na contenção de nutrientes nos ecossistemas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bellinger, E.G. & Siege, D.C. 2010. Freshwater algae identification and use as bioindicators. John Wiley & Sons, Ltd. The atrium, southern gate, Chichester, West Sussex UK: 271.

Biggs, B.J.F. 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. Freshwater Biology 33: 419-438.

Biggs, B.J.F.; Stevenson, R.J. & Lowe, R.L. 1998. A habitat matrix conceptual model for stream periphyton. Archiv für Hydrobiologie 143, 21-56.

Bjork-Ramberg, S. 1984. Species composition and biomass of an epipelic algal community in a subartic lake before and during lake fertilization. Holarctic Ecology 7: 195-201.

Casartelli, M.R. & Ferragut, C. 2015. Variação sazonal da estrutura da comunidade de algas perifíticas em *Panicum repens* em um reservatório raso. Rodriguésia 66(3): 745-757.

Cano, M.G., Casco, M.A., Solari, L.C., Mac Donagh, M.E., Gabellone, N.A., Claps, M.C. 2008. Implications of rapid changes in chlorophyll-a of plankton, epipelon, and epiphyton in a Pampean shallow lake: an interpretation in terms of a conceptual model. Hydrobiologia 614: 33-45.

Carrick, H.J., Aldridje, F.J. & Schelske, C.L. 1993. Wind influences phytoplankton biomass and composition in a shallow, productive lake. Limnology and Oceanography 38: 1179-1192.

Casco, M.A., Mac Donagh, M.E., Cano, M.G., Solari, L., Claps, M.C. & Gabellone, N. 2009. Phytoplankton and epipelon responses to clear and turbid phases in a seepage lake (Buenos Aires, Argentina). International Review of Hydrobiology 94:153-168.

Costa, M. R. A., Attayde, J. L., & Becker, V. 2016. Effects of water level reduction on the dynamics of phytoplankton functional groups in tropical semi-arid shallow lakes. Hydrobiologia 778: 75-89.

Darchambeaua, F., Sarmento, H. & Descy, J.P. 2014. Primary production in a tropical large lake: the role of phytoplankton composition. Science of the Total Environment 473-474: 178-188.

Dodds, W.K. 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. Journal of Phycology 39: 840-849.

Dodds, W.K. & Priscu, J.C. 1990. Mesocosm studies on the influence of phosphate enrichment on ammonium and nitrate flux in a oligotrophic lake. Hydrobiologia 206:235-243.

Downing J.A., Prairie Y.T., Cole J.J., Duarte C.M., Tranvik L.J., Striegl R.G., McDowell W.H., Kortelainen P., Caraco N.F., Melack J.M. & Middelburg J.J. 2006. The global abundance and size distribution of lakes, ponds, and impoundments. Limnology and Oceanography 51(5):2388-2397.

Ferragut, C. & Bicudo, D.C. 2012. Effect of N and P enrichment on periphytic algal community succession in a tropical oligotrophic reservoir. Limnology 13:131–141.

Ferragut, C., Lopes, M.R.M., Bicudo, D. & Bicudo, C.E.M. 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) do Lago do IAG, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo. Hoehnea, São Paulo, 32(2): 137-184.

Ferrari, F. 2010. Estrutura e dinâmica da comunidade de algas planctônicas e perifíticas (com ênfase nas diatomáceas) em reservatórios oligotrófico e hipertrófico (Parque Estadual Das Fontes do Ipiranga, São Paulo). Tese de Doutorado. UNESP, Rio Claro.

Flödder, S., Combüchen, A., Pasternak, A. & Hillebrand, H. 2006. Competition between pelagic and benthic microalgae for phosphorus and light. Aquatic Science 68:425-433.

Genkai-Kato, M., Vadeboncoeur, Y., Liboriussen, L. & Jeppesen, E. 2012. Benthic–planktonic coupling, regime shifts, and whole-lake primary production in shallow lakes. Ecology 93(3): 619–631.

Goldsborough, L.G., McDougal, R.L. & North, A.K. 2005. Periphyton structure, diversity and colonization. In: M.E. Azim, M.C.M. Beveridge, A.A. Van Dam, &. M.C.J. Verdegem, (eds.), Periphyton: Ecology, exploitation and management. CABI Publishing, Cambridge, pp. 71-83.

Goldsborough, L.G. & Robinson, G.G.C. 1996. Pattern in wetlands. In: R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds.). Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. Academic Press, San Diego, pp. 77–117.

Golterman, H.L. & Clymo, R.S. 1971. Methods for chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, International Biological Program, Oxford.

Golterman, H.L., Clymo, R.S. & Ohmstad, M.A.M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Hammer, O., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4: 1-9.

Hansson, L.A. 1988. Effects of competitive interactions on the biomass development of planktonic and periphytic algae in lakes. Limnology and Oceanography 33:121-128.

Havens, K.E., East, T.L., Meeker, R.H., Davis, W.P. & Steinman, A.D. 1996. Phytoplankton and periphyton responses to in situ experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. Journal of Plankton Research 18, 551-566.

Havens, K.E., East, T.L., Rodusky, A.J. & Sharfstein, B. 1999. Littoral periphyton responses to nitrogen and phosphorus: an experimental study in a subtropical lake. Aquatic Botany 63: 267-290.

Havens, K.E.; James, R.T.; East, T.L.; Smith, V.H. 2003. N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. Environmental Pollution 122:379-390.

Hill, W.R. 1996. Effects of Light. In: R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds.). Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. Academic Press, San Diego, pp. 121–146.

Hill, W.R. & Fanta, S.E. 2008. Phosphorus and light simultaneously limit benthic algal growth at subsaturating irradiances. Freshwater Biology 53,215–225.

Hill, W.R., Fanta, S.E. & Roberts, B.J. 2009. Quantifying phosphorus and light effects in stream algae. Limnology and Oceanography 54, 368-380.

Hill, W.R., Roberts, B.J., Francoeur, S.N. & Fanta, S.E. 2011. Resource synergy in stream periphyton communities. Journal of Ecology 99: 454–463.

Hillebrand, H., Durselen, C.D., Kirschtel, D., Pollingher, U. & Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. Journal of Phycology 35: 403-424.

Huszar, V.L.M., Bicudo, D.C., Giani, A., Ferragut, C., Martinelli, L.A. & Henry, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifíton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. In: F. Roldam, D. César & M. Marinho (eds.). Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais. RiMa Editora, São Carlos, 243-260.

Huszar, V.L.M., Caraco, N.F., Roland, F. & Cole, J. 2006. Nutrient–chlorophyll relationships in tropical-subtropical lakes: do temperate models fit? Biogeochemistry 79(1-2): 239-250.

Jones, R. I. 2000. Mixotrophy in planktonic protists: an overview. Freshwater Biology 45; 219-226.

Lampert, W. & U. Sommer, 2007. Limnoecology: the ecology of lakes and streams. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford. 324 p.

Liboriussen, L. & Jeppesen, E. 2009. Periphyton biomass, potential production and respiration in a shallow lake during winter and spring. Hydrobiologia 632: 201-210.

Licursi, M., Gómez, N. & Sabater, S. 2016. Effects of nutrient enrichment on epipelic diatom assemblages in a nutrient-rich lowland stream, Pampa Region, Argentina. Hydrobiologia766:135–150

Mackereth, F.J.H., Heron, J. & Talling, J.F. 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. Titus Wilson and Son Ltda, Kendall.

McCune, B. & Mefford, M. J. 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6.0 MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.

Murkin, Pollard, J.B., Stainton, M.P., Boughen, J.A., and Titman, R.D. 1994. Nutrient additions to wetlands in the inter-lake region of Manitoba, Canada: Effects of periodic additions throughout the growing season. Hydrobiologia 280:1980–1994.

O'Donnell, D. R., Wilburn, P., Silow, E, A., Yampolsky, L, Y. & Litchman, E. 2017. Nitrogen and phosphorus colimitation of phytoplankton in Lake Baikal: Insights from a spatial survey and nutrient enrichment experiments. Limnology and Oceanography 62 (4):1383-1392.

Oliveira, D.E, Ferragut, C. & Bicudo, D.C. 2010. Relationships between environmental factors, periphyton biomass and nutrient content in Garças Reservoir, a hypereutrophic tropical reservoir in southeastern Brazil. Lakes & Reservoirs: Research and Management 15: 129-137.

Olrik, K. 1998. Ecology of mixotrophic flagellates with special reference to Chrysophyceae in Danish lakes. In: Phytoplankton and Trophic Gradients. Springer Netherlands, 329-338.

Padisák, J., G. Borics, G. Fehér, I. Grigorszky, I. Oldal, A. Schmidt & Z. Zámbóné-Doma, 2003. Dominant species, functional assemblages and frequency of equilibrium phases in late summer phytoplankton assemblages in Hungarian small shallow lakes. Hydrobiologia 502: 157–168.

Pasternak A., Hillebrand H. & Flöder S. 2009. Competition between benthic and pelagic microalgae for phosphorus and light–long-term experiments using artificial substrates. Aquatic Science 71:238–249

Persson G.S., Holmgren K., Jansson M., Lundgren A., Nyman B., Solander D. & Anell C. 1977. Phosphorus and nitrogen and the regulation of lake ecosystems: Experimental approaches in subarctic Sweden, p. I19. In: Proc. Circumpolar Conf. Northern Ecology. Ottawa. PRIDDLE, J., I.

Peterson, C.G. & Stevenson, R.J. 1990. Post-spate development of epilithic algal communities in different current environments. Canadian Journal of Botany 68: 2092-102.

Peterson, C.G. 1996. Response of benthic algal communities to natural physical disturbance. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds) Algal ecology: freshwater benthic ecosystems. Academic Press, San Diego, p. 375-402.

Philips, E.J., Cichra, M., Havens, K., Hanton, C., Badylak, S., Rueter, B., Randall, M. & Hansen, P. 1997. Relationships between phytoplankton dynamics and the availability of light and nutrients in a shallow sub-tropical lake. Journal of Plankton Research 19: 319-342.

Reynolds, C.S. & Davies, P.S. 2001. Sources and bioavailability of phosphorus fractions in freshwater: a British perspective. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 76:27-64.

Round, F.E. 1973. The Biology of the Algae. Edward Arnold, London. 278 p.

Sánchez, M.L., Pérez, G.L., Izaguirre, I. & Pizarro, H. 2013. Influence Of underwater light climate on periphyton and phytoplankton communities in shallow lakes from the Pampa plain (Argentina) with contrasting steady states. Journal of Limnology 72(1): 62-78.

Sand-Jensen, K. & Borum, J. 1991. Interactions among phytoplankton periphyton and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. Aquatic Botany 41: 137-175.

Santos, S.A.M, Santos, TR, Furtado, M.S., Henry, R. & Ferragut, C. (prelo). Periphyton nutrient content, biomass and algal community on artificial substrate: response to experimental nutrient enrichment and the effect of its interruption in a tropical reservoir. Limnology 19: 209-218.

Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. Hydrobiologia 114: 177-187.

Smith, V.H. & Schindler, D.W. 2009. Eutrophication science: where do we go from here? Trends in Ecology and Evolution 24: 201–207.

Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. Limnology and Oceanography 14: 799-801.

Souza, M.L.; PELLEGRINI, B. G.; Ferragut, C. 2015 Periphytic algal community structure in relation to seasonal variation and macrophyte richness in a shallow tropical reservoir. Hydrobiologia 755:183-196.

Steinman, A., Abdimalik, M., Ogdahl M. E. & Oudsema M. 2016. Understanding planktonic vs. benthic algal response to manipulation of nutrients and light in a eutrophic lake. Lake and Reservoir Management 32:402–409.

Stevenson, R.J. 1996. An Introduction to Algal Ecology in Fresh water Benthic Hábitats. In: R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds.). Algal ecology: freshwater benthic ecosystems. Academic Press, San Diego, p. 3-30.

Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R. 1960. A manual of seawater analysis. Bulletin Fisheries Research Board of Canada 125: 1-185.

Systat Software, Inc. 2008. SigmaPlot for windows version 11, San Jose California USA, <www.systatsoftware.com>.

Tavernini, S., Pierobon, E. & Viaroli P. 2011. Physical factors and dissolved reactive silica affect phytoplankton community structure and dynamics in a lowland eutrophic river (Po River, Italy). Hydrobiologia 669: 213–225.

Tundisi, J.G. 2003. Água no século XXI. Enfrentando a escassez. Instituto Internacional de Ecologia. São Carlos, 246p.

Vadeboncoeur Y., Lodge, D.M. & Carpenter, S.R. 2001.Whole-lake fertilization effects on distribution of primary production between benthic and pelagic habitats. Ecology 82: 1065-1077.

Vadeboncoeur, Y. & Steinman, A.D. 2002. Periphyton Function in Lake Ecosystems. The Scientific World Journal 1-20.

Ward, D.P., Pettit, N.E. Adame, M., Douglas, M.M., Setterfield, S.A & Bunn, S.E. 2016. Seasonal spatial dynamics of floodplain macrophyte and periphyton abundance in the Alligator Rivers region (Kakadu) of northern Australia. Ecohydrology 9(8): 1675-1686.

Werner, P. & Köhler, J. 2005. Seasonal Dynamics of Benthic and Planktonic Algae in a Nutrient- Rich Lowland River (Spree, Germany). International Review of Hydrobiology 90: 1-20.

Wetzel, R.G. 1983. Recommendation for the future research on periphyton. In: Wetzel, R.G. (ed.). Periphyton of freshwater ecosystems development. Florida: The Hague. Dr. W. Junk Publishers, p. 339-346.