

RICHARD WILANDER LAMBRECHT

**Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão  
luz:nutriente sobre a estrutura da comunidade  
de algas perifíticas em reservatório mesotrófico  
raso**

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

RICHARD WILANDER LAMBRECHT

**Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão  
luz:nutriente sobre a estrutura da comunidade  
de algas perifíticas em reservatório mesotrófico  
raso**

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**

Lambrecht, Richard Wilander

L226e      Efeitos do enriquecimento por N e P e da razão luz: nutriente sobre a estrutura da comunidade de algas perifíticas em reservatório mesotrófico raso / Richard Wilander Lambrecht -- São Paulo, 2018.  
61p. il.

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

Bibliografia.

1. Experimento. 2. Mesocosmos. 3. Perifiton. I. Título.

CDU: 582.26

Dedico este trabalho a todos que  
passara por minha vida, àqueles que  
ficaram e àqueles que sempre apoiaram  
e compreenderam esta trajetória cheia  
de ausências pessoais.

“Da soturna jornada  
Pelas brumosas sendas  
Da anestesia,  
Não guardei memória.  
Sou um pêndulo que oscila  
Dos limites da vida  
Aos limites da morte.  
Rubros lobos me espreitam silentes,  
Numa densa garoa vermelha  
Que lateja no ritmo da febre.  
Venho à tona, por segundos,  
E volto ao limo do sono.  
Da sede, brota em meu sonho uma fonte:  
Água fria em chão de pedra.  
No fundo, uma alga se espreguiça  
E essa alga sou eu.  
Luminosa alegria de olhar!  
De todos os lados, o apelo do verde,  
Da vida verde e serena.  
Aquele cipreste  
Que gesticula e dança,  
Acorda-me na lembrança  
Reminiscências vegetais:  
Pequenino fremir de relva  
No dorso dos campos;  
Altos pinheiros imóveis;  
Floresta oceânica e múrmura.  
Festivo apelo do verde,  
Da vida verde e serena.  
Ventura elementar de estar ao sol,  
Viva e sem dor. ”

(Helena Kolody, Limiar I e II, 1957).

## Agradecimentos

Muitos contribuíram de diversas maneiras com este trabalho, com a minha formação profissional e pessoal, para estes quero deixar o meu reconhecimento e agradecimento. Porém, alguns acabaram deixando marcas especiais, cabendo agradecimentos nominais:

À Dra. Carla Ferragut, que me propiciou esta experiência de desenvolver este trabalho. Por ter me orientado com paciência e dedicação. Por ter me repassando valiosos ensinamentos sobre o mundo acadêmico, me ensinando como ser um profissional, e me qualificando para tal. Sigo tendo muito a aprender.

À excelente e sempre bem-disposta equipe do Laboratório de Ecologia Aquática: Ana Margarita, Ângela Maria, Camila Araújo, Diego Tavares, Elaine Bartozek, Elton Lehmkuhl, Gisele Marquardt, Krysna Moraes, Livia Costa, Lucineide Santana, Luyza, Maria Auxiliadora (Dorinha), Mayara Casartelli, Ruan Oliveira, Samantha Faustino, Simone Oliveira, Simone Wengrat, Stéfano Zorzal, Thiago dos Santos. Obrigada pela preciosa ajuda nos dias de coleta, pelos ensinamentos, pela convivência, amizade e por terem trilhado este caminho antes de mim ou comigo, e tê-lo preparado de alguma forma.

À Dra. Marisa Domingos disponibilizar o veículo do seu projeto para as inúmeras idas ao Lago das Ninféias.

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.

À Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo por fornecer dos dados climatológicos

A CAPES pela bolsa de mestrado concedida durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Ecologia Terrestre, do alojamento e demais núcleos de pesquisa do Instituto de Botânica pela amizade, descontração e companheirismo. Obrigado por compartilhar momentos únicos comigo.

Aos meus pais Eusébio e Lidia, e o meu irmão Eliakim, pelo constante apoio, incentivo e compreensão, principalmente nos momentos de ausência.

Aos meus amigos não acadêmicos por tentarem compreender essa “loucura” de continuar estudando “pra sempre”.

Aos meus amigos inteirados com as engrenagens da academia que sempre me apoiaram e seguem me incentivando, muito obrigado.

Ao Cleto Kaveski Peres, a Thais Riolfi Peres e a Clarinha pela amizade sincera, sempre me fazendo acreditar que era possível, muito obrigado mesmo.

Ao Diego por compartilhar comigo essa jornada no mestrado, por sempre estar presente, por esta rica troca de conhecimentos sobre a ecologia, sobre a vida e sobre a tecnologia, muito obrigado.

À Laís Petri por ser essa pessoa maravilhosa e por me mostrar sempre os caminhos mais objetivos, tanto pessoal quanto profissionalmente, por ser esta pessoa tão querida, e estar sempre presente, minha gratidão.

À Mayara Casartelli por sempre me ensinar, auxiliar, tirar dúvidas e me mostrar o quão maravilhoso o estudo da ecologia do perifiton pode ser. Pelas intermináveis e prazerosas conversas sobre ciência, ética e academia, me fizeram um profissional muito melhor. Pelos desabafos e conselhos pessoais do dia a dia, que permitiram seguir em frente e me tornaram um ser humano melhor. Por me ensinar de forma tão paciente e didática todas as análises químicas da água e química e biológicas do perifiton. Minha eterna gratidão.

À Samantha Faustino pelos seus ensinamentos pessoais e profissionais, pelo companheirismo e amizade, minha gratidão.

E a todos os meus amigos, professores e colegas que de uma forma ou de outra contribuíram nesta caminhada do conhecimento, não vou citar nomes para não cometer nenhuma injustiça, já que foram tantos.

## ÍNDICE

|                                                                                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Resumo Geral .....</b>                                                                                                                    | <b>1</b>  |
| <b>General Sumary .....</b>                                                                                                                  | <b>3</b>  |
| <b>Introdução Geral.....</b>                                                                                                                 | <b>5</b>  |
| <b>Capítulo 1: Efeitos do enriquecimento por N e P e de sua interrupção sobre a biomassa e estequiometria N:P do perifíton .....</b>         | <b>8</b>  |
| <b>Resumo .....</b>                                                                                                                          | <b>8</b>  |
| <b>1 Introdução.....</b>                                                                                                                     | <b>9</b>  |
| <b>2 Material e Métodos .....</b>                                                                                                            | <b>11</b> |
| 2.1 Área de Estudo .....                                                                                                                     | 11        |
| 2.2 Delineamento experimental.....                                                                                                           | 11        |
| 2.3 Variáveis analisadas .....                                                                                                               | 13        |
| 2.3.1 Variáveis climáticas .....                                                                                                             | 13        |
| 2.3.2 Variáveis físicas e químicas .....                                                                                                     | 13        |
| 2.3.3 Perifíton.....                                                                                                                         | 14        |
| 2.4 Tratamento dos dados.....                                                                                                                | 15        |
| <b>3 Resultados .....</b>                                                                                                                    | <b>16</b> |
| 3.1 Variáveis climáticas .....                                                                                                               | 16        |
| 3.2 Variáveis físicas e químicas da água.....                                                                                                | 16        |
| 3.3 Perifíton.....                                                                                                                           | 18        |
| <b>4. Discussão .....</b>                                                                                                                    | <b>20</b> |
| <b>Capítulo 2: Efeitos do sombreamento e das mudanças na razão Luz:Nutriente sobre os atributos da comunidade de algas perifíticas. ....</b> | <b>22</b> |
| <b>Resumo .....</b>                                                                                                                          | <b>22</b> |
| <b>1 Introdução.....</b>                                                                                                                     | <b>23</b> |
| <b>2 Material e Métodos .....</b>                                                                                                            | <b>25</b> |
| 2.1 Área de estudo.....                                                                                                                      | 25        |
| 2.2 Delineamento experimental.....                                                                                                           | 25        |
| 2.3 Variáveis analisadas .....                                                                                                               | 26        |
| 2.3.1 Variáveis climáticas .....                                                                                                             | 26        |
| 2.3.2 Variáveis físicas e químicas .....                                                                                                     | 26        |
| 2.3.3 Perifíton.....                                                                                                                         | 27        |
| 2.4 Tratamento dos dados.....                                                                                                                | 28        |
| <b>3 Resultados .....</b>                                                                                                                    | <b>30</b> |
| 3.1 Variáveis climáticas .....                                                                                                               | 30        |
| 3.2 Variáveis físicas e químicas da água.....                                                                                                | 30        |



|                                               |           |
|-----------------------------------------------|-----------|
| 3.3 Atributos da estrutura do Perifíton ..... | 33        |
| <b>4 Discussão .....</b>                      | <b>43</b> |
| <b>ANEXO.....</b>                             | <b>47</b> |
| <b>Conclusão Geral .....</b>                  | <b>50</b> |
| <b>Referências Bibliográficas .....</b>       | <b>51</b> |

## Resumo Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos dois principais fatores determinantes para a comunidade perifítica: os nutrientes e a luz. Para atingir esse objetivo foram realizados dois experimentos, em mesocosmos de fundo aberto, o que permitiu a obtenção de respostas mais próximas das condições naturais, com a inclusão das comunidades do plâncton e do epipélon. Os experimentos foram desenvolvidos no Lago das Ninfas que está situado em São Paulo, Brasil. Este reservatório tem características mesotróficas e possui uma extensa região litorânea com elevada abundância de macrófitas aquáticas, local onde foram instalados os experimentos. No primeiro experimento foram avaliados os efeitos do enriquecimento combinado e isolado por nitrogênio (N) e fósforo (P) e de sua interrupção sobre o incremento da biomassa e estequiometria N e P do perifíton ao longo do processo de colonização (28 dias). Foram instalados doze mesocosmos, nos quais foram inseridos substratos artificiais inertes e padronizados, tanto em tamanho quanto em complexidade estrutural, para a colonização. O experimento consistiu de quatro tratamentos em tréplica, em um não houve enriquecimento (controle) e os demais foram enriquecidos de forma isolada ou combinada com nitrogênio e/ou fósforo. As medidas das variáveis físicas, químicas e do perifíton foram realizadas no período com enriquecimento (7º e 14º dia) e no período sem enriquecimento (28º dia). As amostragens foram semanais, com monitoramentos das condições da água dos mesocosmos a cada dois dias. Foram analisados a clorofila *a*, a massa seca livre de cinzas (MSLC) e conteúdo de N e P do perifíton. Os resultados mostraram que o enriquecimento combinado por N e P favoreceu o incremento de biomassa, tornando a comunidade predominantemente autotrófica. A elevada perda de biomassa e aumento dos componentes heterótrofos após a interrupção do enriquecimento evidenciou a importância dos nutrientes e de sua estequiometria para o crescimento algal perifítico. A razão molar N:P do perifíton indicou que o perifíton foi primariamente limitado por P, sendo bastante indicativa do potencial de limitação algal. A resposta positiva e significativa do perifíton em uma razão luz e fósforo total do ambiente (Luz:PT) menor do que 10 mostrou que esta razão pode auxiliar no entendimento e nas previsões do desenvolvimento da comunidade. Concluiu-se que o perifíton foi sensível ao enriquecimento e a sua interrupção, sendo respostas do perifíton associada à razão luz:PT da água. O segundo estudo experimental teve objetivo de avaliar o efeito da variação na disponibilidade de luz sobre a biomassa e estrutura taxonômica da comunidade de algas perifíticas, em condição de elevada disponibilidade de nutrientes. Foram instalados 15 mesocosmos, onde foram inseridos substratos artificiais para colonização do perifíton. O tempo de colonização do perifíton foi 21 dias, sendo realizadas amostragens semanais, intercaladas

com monitoramentos a cada dois dias. A água dos mesocosmos foi enriquecida com N e P para garantir ausência de limitação na água, tendo como base a razão molar N:P igual ou próxima a 16:1. A manipulação da disponibilidade luminosa foi realizada por meio da sobreposição de malhas com diferentes capacidades de retenção luminosa, até atingirmos 25%, 50% e 75% de sombreamento. Esta combinação de malhas foi instalada na parte superior de cada mesocosmo. Além das variáveis físicas e químicas da água e do cálculo das razões entre luz e nutrientes, foram avaliadas a biomassa (clorofila *a* e massa seca livre de cinzas - MSLC), a composição de espécies, a densidade, o biovolume algal, a riqueza e a diversidade de espécies. Os nossos resultados mostraram que a comunidade sofreu os efeitos da variação da disponibilidade luminosa, mesmo que associada ao enriquecimento. Os resultados da clorofila *a*, da MSLC e da densidade total do perifíton reforçam o importante papel dos nutrientes, bem como indicam que a luz tem um importante papel para o desenvolvimento da comunidade. Esse resultado mostra ainda que nos tratamentos em que houve a adição de nutrientes a comunidade se desenvolveu melhor, e que em situações em que a incidência luminosa é reduzida a 25% ou menos a luz passa a ser um fator limitante para o desenvolvimento da comunidade. Por fim, os resultados mostraram que o enriquecimento (combinado por N e P) favoreceu o incremento de biomassa, da densidade, da riqueza e da diversidade de espécies, e que de maneira geral os atributos da comunidade foram influenciados negativamente por elevadas reduções na disponibilidade luminosa.

## General Summary

The objective of the present study was evaluated the effects of the two main driver factors for the periphytic community: nutrients and light. In order to reach this objective, two experiments were carried out, in open-bottom mesocosms, which allowed the obtaining of responses closer to natural conditions, with the inclusion of the plankton and epipelon communities. The experiments were developed in Ninfias Lake that is located in São Paulo, Brazil. This reservoir has mesotrophic characteristics and an extensive littoral region with high abundance of aquatic macrophytes, site of the experiments. In the first experiment, we evaluate the effects of combined and isolated enrichment by N and P and its interruption on the increment of the biomass and N and P stoichiometry in the periphyton throughout the colonization process (28 days). Samples were taken weekly, and monitoring samples were carried out every two days. Chlorophyll a, MSLC and N and P content of the periphyton were analyzed. The results showed that the combined N and P enrichment favored the increase of biomass, making the community predominantly autotrophic. The high loss of biomass and increase of the heterotrophic components after interruption of the enrichment evidenced the importance of the nutrients and their stoichiometry for the periphytic algal growth. The periphyton N:P molar ratio indicated that was primarily limited by P, being quite indicative of the algal limiting potential. The positive and significant response of the periphyton in an environment Light:PT ratio of less than 10 showed that this ratio may aid in the understanding and predictions of community development. It was concluded that the periphyton was sensitive to enrichment and its interruption, being responses of the periphyton associated with the Light:PT ratio of water. The second experimental study had the objective of evaluate the effect of the variation in light availability on the biomass and taxonomic structure of the algal community in the periphyton in condition of high nutrient availability. Fifteen mesocosms were installed, where artificial substrates were inserted for colonization of the periphyton. The colonization time of the periphyton was 21 days, and weekly samplings were performed, interspersed with monitoring every two days. The mesocosms were enriched with nitrogen (N) and phosphorus (P) to guarantee absence of water limitation, based on the N:P molar ratio equal to or close to 16:1. The manipulation of light availability was achieved by overlapping meshes with different light retention capacities, until we achieved 25%, 50% and 75% shading. This combination of meshes was installed at the top of each mesocosm. In addition to the physical and chemical variables of the water and the calculation of the ratios between light and nutrients, biomass (Chlorophyll a and ash-free dry mass - MSLC), species composition, density, algal biovolume and diversity of species were measured. Our results showed the effects of the variation of the

luminous incidence on periphyton, even if associated to the enrichment. The results of chlorophyll *a*, MSLC and total periphyton density reinforce the important role of nutrients as well as indicate that light plays an important role in community development. This result also shows that in the treatments in which the nutrients were added the community developed better, and that in situations where the light incidence is reduced to 25% or less light becomes a limiting factor for community development. Finally, the results showed that the enrichment (combined with N and P) favored the increase of biomass, density, species richness and diversity, and that in general the attributes of the community were negatively affected by high reductions in incidence luminous

Palavras-chave: chlorophyll *a*, mesocosms, periphytic N:P molar ratio, Light:Nutrients ratio

## Introdução Geral

As algas, em geral, são importantes produtores primários dos ecossistemas aquáticos, particularmente nos ecossistemas lacustres rasos onde àquelas de hábito perifítico representam a maior contribuição para a produção primária total (Sigeo 2004), chegando a contribuir com cerca de 90% da produtividade (Wetzel 1990). Dada esta importância, qualquer variação na taxa de produção primária trará reflexos para o ecossistema, afetando as teias alimentares, a estrutura das comunidades, os ciclos biogeoquímicos e a bioacumulação de contaminantes ambientais (Smith 2003, Hill & Larsen 2005).

Diversos trabalhos mostraram que algas respondem prontamente às alterações ambientais, principalmente frente à eutrofização artificial (Schindler 1978, Carpenter *et al.*, 1987, 2001; Downing *et al.* 1990, Elser *et al.* 1990, Jeppesen *et al.* 2000). Contudo, poucos estudos de enriquecimento abordaram as mudanças para as algas perifíticas (Vadeboncoeur *et al.* 2002; Liboriussen & Jeppesen, 2003), principalmente em região tropical (Ferragut & Bicudo 2012). O perifíton é definido como uma “complexa comunidade de microbiota constituída por algas, bactérias, fungos, animais e detritos orgânicos e inorgânicos, que se encontra associada a substratos submersos orgânicos ou inorgânicos, vivos ou mortos” (Wetzel 1983). De acordo com o clássico estudo de Wetzel (1983), o perifíton deveria ser usado em estudos de recuperação de ecossistemas aquáticos, pois possui como características respostas rápidas e diretas ao estresse ambiental e às mudanças abióticas da água, tais como: hábito sésil, ciclo de vida curto, alta taxa de renovação e estratégias oportunistas de vida (Biggs 1996, Lowe & Pan 1996). A comunidade perifítica tem importante papel no funcionamento dos ecossistemas aquáticos, principalmente devido à predominância de componentes autótrofos e por realizar o intercâmbio entre os componentes químicos, físicos e biológicos na cadeia alimentar (Lowe & Pan 1996).

Dado o papel das algas perifíticas na produção primária, torna-se importante a compreensão das variáveis abióticas que regulam o desenvolvimento desta comunidade. Dentre os fatores abióticos determinantes da estrutura e funcionamento do perifíton estão a disponibilidade de nutrientes e luz, mas o efeito combinado da luz e dos nutrientes é pouco explorado, principalmente para o perifíton (Hill *et al.* 2009). Apesar do reconhecido efeito da disponibilidade de luz sobre a biomassa dos autótrofos (Hill 1996), a maioria dos trabalhos tem assumido que os nutrientes por si só são os recursos basais para os produtores primários, assim, estudos enfocando o papel da luz tem recebido muito menos atenção (Rosemond 1993, Hillebrand & Kahlert 2001, Hillebrand 2002). Embora, a luz e os nutrientes tenham sido investigados como recursos isolados, menos atenção tem sido dirigida para os seus efeitos

combinados sobre os produtores primários, como o perifíton (Eriksson *et al.* 2007, Hill *et al.* 2011). No entanto, os efeitos da luz e os nutrientes podem ser interativos, sendo que o aumento de um recurso limitante poderá aumentar a procura pelo outro (Taulbee *et al.* 2005, Liess *et al.* 2009, Sanches *et al.* 2011). Na verdade, os efeitos interativos entre luz e nutrientes podem ser mais importantes do que os seus efeitos independentes sobre a produção primária e, consequentemente, sobre a biomassa dos produtores primários (Eriksson *et al.* 2007, Sanches *et al.* 2011).

Alguns trabalhos abordaram a temática da relação luz-nutrientes, mas a grande maioria foi realizado em ecossistemas lóticos (Hill & Fanta 2008, Hill *et al.* 2009, Fanta *et al.* 2010 e Hill *et al.* 2011) e ecossistemas lênticos, mas de águas negras (Sanches *et al.* 2011). O conhecimento dos efeitos da relação luz-nutriente sobre a comunidade perifítica pode trazer suporte para o entendimento da dinâmica do crescimento algal e, assim, subsidiar estratégias de manejo, conservação e restauração de ecossistemas lênticos rasos tropicais. Nesse sentido, estudos que buscam o maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre as mudanças na estrutura da comunidade perifítica são fundamentais para o maior entendimento do funcionamento de lagos e reservatórios rasos tropicais e, consequentemente, melhorar os programas de recuperação e conservação destes ecossistemas.

Considerando os fatores ambientais que reduzem a disponibilidade de luz para o perifíton, as macrófitas aquáticas podem reduzir significativamente a luz que deveria atingir a comunidade (Sand-Jensen & Borum 1991, Meerhoff *et al.* 2007). Estudos que levam em consideração a inter-relação entre os produtores primários trazem uma visão mais holística sobre o funcionamento do ecossistema (eg. Liboriussen & Jeppesen 2003). O complexo perifíton-macrófita desempenha reconhecido papel para o funcionamento dos ecossistemas rasos (Scheffer *et al.* 1993, Liboriussen & Jeppesen 2006, Souza *et al.* 2015). As macrófitas podem influenciar direta ou indiretamente o desenvolvimento e a estrutura das comunidades algais perifíticas alterando a disponibilidade de nutrientes (pela senescência, decomposição, excreção e transferência de nutrientes do sedimento para a coluna d'água) e de disponibilidade de luz (sombreamento) (Carignan & Kalff 1980, Burkholder 1996, Meerhoff *et al.* 2007, Souza *et al.* 2015).

A disponibilidade de luz e de nutrientes são os principais fatores determinantes da variabilidade da comunidade de algas perifíticas, mas o efeito combinado destes fatores é pouco conhecido e inexistente em reservatório tropical (Vadeboncoeur & Steinman 2002).

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de entender os efeitos isolados dos nutrientes e combinados da luz e dos nutrientes sobre a comunidade de algas perifíticas. Para atingir este objetivo geral o estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo serão

abordados os efeitos dos nutrientes sobre a biomassa da comunidade de algas perifíticas. No segundo capítulo serão abordados os efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre a comunidade ficoperifítica. Cada um dos capítulos está intitulado conforme segue:

Capítulo 1: Efeitos do enriquecimento por N e P e de sua interrupção sobre a biomassa e estequiometria N:P do perifíton

Capítulo 2: Efeitos do sombreamento e das mudanças na razão Luz:Nutriente sobre os atributos da comunidade de algas perifíticas.



## Capítulo 1: Efeitos do enriquecimento por N e P e de sua interrupção sobre a biomassa e estequiometria N:P do perifíton

### Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do enriquecimento combinado e isolado por N e P e de sua interrupção sobre o incremento da biomassa e estequiometria N e P do perifíton ao longo do processo de colonização (28 dias). O experimento foi realizado em mesocosmos de fundo aberto, o qual permite a obtenção de respostas mais próximas das condições naturais. O experimento de enriquecimento isolado e combinado de N e P foi realizado em mesocosmos *in situ*. Doze mesocosmos foram instalados na região litorânea rasa do reservatório. Em cada um dos mesocosmos foram inseridos substratos artificiais inertes e padronizados, tanto em tamanho quanto em complexidade estrutural. O experimento consistiu de tratamentos com adição combinada e isolada de N e P controle. As coletas regulares para a amostragem das variáveis físicas, químicas e do perifíton foram realizadas no período com enriquecimento (7º e 14º dia) e no período sem enriquecimento (28º dia). Os atributos estruturais analisados foram clorofila *a*, MSLC e conteúdo de N e P do perifíton. Os resultados mostraram que o enriquecimento combinado por N e P favoreceu o incremento de biomassa, tornando a comunidade predominantemente autotrófica. A elevada perda de biomassa e aumento dos componentes heterótrofos após a interrupção do enriquecimento evidenciou a importância dos nutrientes e de sua estequiometria, no caso razão N:P próxima de 16, para o crescimento algal perifítico. A razão molar N:P do perifíton indicou que o perifíton foi primariamente limitado por P, sendo bastante indicativa do potencial de limitação algal. A resposta positiva e significativa do perifíton em uma razão Luz:PT do ambiente menor do que 10 mostrou que esta razão pode auxiliar no entendimento e nas previsões do desenvolvimento da comunidade. Concluiu-se que o perifíton foi sensível ao enriquecimento e a sua interrupção, sendo respostas do perifíton associada à razão luz:PT da água.

Palavras-chave: clorofila *a*, mesocosmos, razão molar N:P do perifíton, razão Luz:Nutrientes

## 1 Introdução

O desenvolvimento da comunidade perifítica é dependente de diversos fatores ambientais (Stevenson 1996). Um dos principais fatores abióticos que afetam a comunidade de algas perifíticas é a disponibilidade de nutrientes (Stevenson 1996, Kahlert & Petterson, 2002). Os principais nutrientes que limitam o desenvolvimento da comunidade perifítica são o nitrogênio (N) e o fósforo (P). Atualmente, uma das fontes de nutrientes em ecossistemas aquáticos continentais impactados é antrópica, e este aporte desencadeia o processo de eutrofização artificial ou cultural (Schindler 2008, 2012). Em geral, a alta disponibilidade de nutrientes leva a sua assimilação pelas comunidades algais, e consequentes alterações na estrutura e funcionamento do ecossistema e das demais comunidades aquáticas (Smith 2003, Hill & Larsen 2005, Cross et al. 2005). Neste contexto, algumas características contribuem para a utilização do perifíton em estudos de avaliação da qualidade da água e de recuperação de ecossistemas aquáticos continentais (Gaiser *et al.* 2006, Gaiser 2009), como a sua presença na maioria dos habitats e o hábito sésil. Estas características favorecem respostas rápidas frente ao estresse ambiental e às mudanças abióticas da água (Biggs 1996, Lowe & Pan 1996, McCormick & Stevenson 1998).

Historicamente, diversos experimentos de enriquecimento (com N e P) foram desenvolvidos com diferentes abordagens, tais como avaliação do acúmulo de biomassa (Tank & Dodds 2003), mudanças na composição química e estequiometria celular (Frost *et al.* 2005) e espécies descritoras (Pan *et al.* 2000). Estes trabalhos demonstram o importante papel da comunidade perifítica para a detecção precoce do processo de eutrofização e a sua utilização na proposição de metas de monitoramento e recuperação de ecossistemas impactados (McCormick & Stevenson 1988, McCormick *et al.* 2001).

A nível global, a distribuição espacial dos trabalhos experimentais de enriquecimento que inclui o perifíton está fortemente centrada em ecossistemas aquáticos temperados, principalmente os lóticos (Francouer *et al.* 1999, Dodds *et al.* 2002). Apesar de menos frequentes, inúmeros estudos sobre os efeitos do enriquecimento sobre o perifíton foram realizados em ecossistemas lênticos (DeNicola *et al.* 2006; Luttenton & Lowe 2006, Ferragut & Bicudo 2009, 2010; Mahdy *et al.* 2015; Cao *et al.* 2017). Muitos estudos realizados em ambientes tropicais estão centrados em planícies de inundação (a exemplo dos Everglades da Flórida: Vymazal *et al.* 1994, McCormick & Stevenson 1988, McCormick *et al.* 2001; Havens *et al.* 1996, 1999, Zimba 1998, Pan *et al.* 2000). No que tange aos trabalhos desenvolvidos no Brasil, os trabalhos experimentais de enriquecimento desenvolvidos mesmo que escassos, refletem a heterogeneidade de ecossistemas aquáticos continentais existentes, sendo

desenvolvidos em: riacho (Mendes & Barbosa 2002), em lagoas marginais (Engle & Melack 1993) e em reservatórios (Cerrao *et al.* 1991, Ferragut & Bicudo 2009, 2010, 2012, Fermino *et al.* 2011). Dentre os trabalhos realizados em reservatórios, a maioria teve foco na identificação do nutriente limitante do desenvolvimento algal, bem como a identificação de guildas de espécies representativas das condições ambientais.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do enriquecimento combinado e isolado por N e P e de sua interrupção sobre o incremento da biomassa e estequiometria N e P do perifíton ao longo do processo de colonização (28 dias). O experimento foi realizado em mesocosmos de fundo aberto, o qual permite a obtenção de respostas mais próximas das condições naturais. Apesar do habitat distinto, o fitoplâncton compete por luz e nutrientes com o perifíton, sendo ambos potencialmente limitados por P no reservatório estudado (Fonseca & Bicudo 2010; Fermino *et al.* 2011; Ferragut *et al.* 2011). Além disso, estudos mostraram que a elevada biomassa fitoplanctônica pode acarretar o sombreamento do perifíton (e.g. Borduqui & Ferragut 2011). Conforme Hill & Fanta (2008), a interação luz e nutriente pode explicar o desenvolvimento do perifíton. Nesse sentido, a nossa hipótese é que a resposta do perifíton ao enriquecimento pode ser relacionada com a razão Luz:Nutrientes, sendo o aumento do fitoplâncton um fator de sombreamento do perifíton, o qual se tornará predominantemente heterotrófico. Além disso, pretendemos responder as seguintes perguntas: a) O potencial de limitação do perifíton muda com o tempo de colonização (inicial e avançado)? b) A interrupção do enriquecimento promove perda de biomassa? c) Considerando que o enriquecimento pode alterar a razão luz:nutriente, qual a razão favorece o maior incremento de biomassa?

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Área de Estudo

O experimento foi desenvolvido no Lago das Ninfeias que está situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) ( $23^{\circ}38'20.08''$  S,  $46^{\circ}37'19.29''$  W), sendo um dos principais reservatórios deste parque, que se situa em uma região altamente urbanizada da cidade de São Paulo (Figura 1). Este reservatório foi formado pelo barramento do Córrego Pirarungaua e possui como objetivo o paisagismo do Jardim Botânico (Bicudo *et al.* 2002). Possui área superficial de 5.433 m<sup>2</sup>, apresenta profundidades máxima e média de 3,6 m e 1,3 m, respectivamente (Bicudo *et al.* 2002). Este reservatório tem características mesotróficas e possui uma extensa região litorânea com elevada abundância de macrófitas aquáticas (Bicudo *et al.* 2002). O clima regional predominante é o tropical (Conti & Furlan, 2003) e é classificado dentro do Sistema Internacional de Köppen como mesotérmico e de inverno seco (Cwa e Cwb respectivamente).

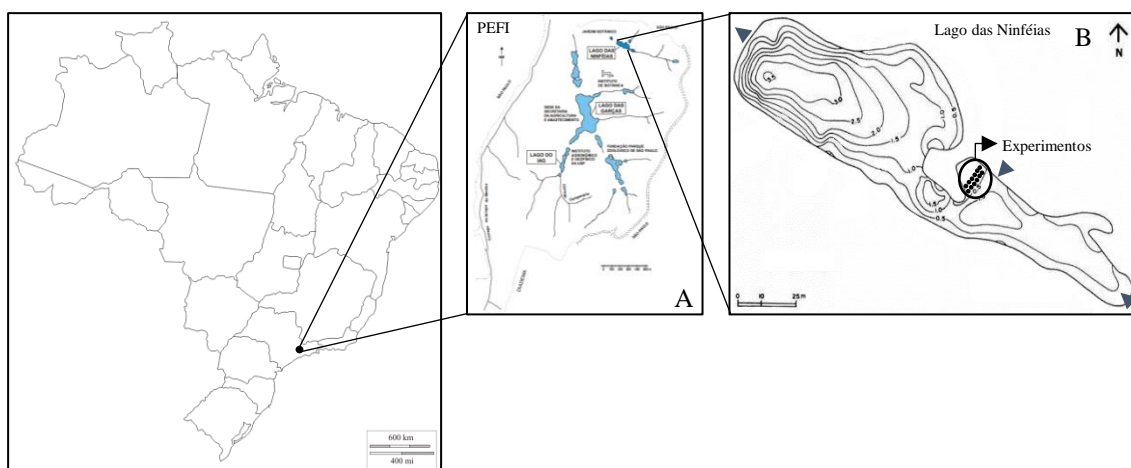


Figura 1. Mapa do Brasil destacando a localização aproximada no Estado e Município de São Paulo do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (A, modificado de Bicudo *et al.* 2002) e o mapa batimétrico do Lago das Ninfeias com destaque para o local de instalação dos experimentos (B, modificado de Bicudo *et al.* 2002).

### 2.2 Delineamento experimental

O experimento de enriquecimento isolado e combinado de N e P foi realizado em mesocosmos *in situ*. Cada mesocosmo, constituído por um tubo de PVC aberto nas duas extremidades, possui 120 cm de altura e 50 cm de diâmetro, perfazendo 235,61L de capacidade total. Por serem mesocosmos abertos nas extremidades, sua instalação permitiu o isolamento de uma porção da coluna água e a integração das comunidades algais, aproximando as respostas das condições naturais. Doze mesocosmos foram instalados na região litorânea rasa do

reservatório (cerca de 80 cm de profundidade, Figura 1B) com igual disponibilidade de luz. A instalação dos mesocosmos no litoral considerou a direção do fluxo de água para evitar possíveis contaminações entre os tratamentos e a sua localização na mesma condição de luminosidade. O experimento foi desenvolvido no período mais seco do ano para evitar efeitos adversos, tais como: a diluição dos nutrientes e a remoção da comunidade perifítica do substrato artificial. Os mesocosmos foram instalados no dia 11 de julho de 2016, passaram por sete dias de aclimação, com início do experimento dia 18 de julho de 2016 e coletas no 7º dia do experimento (25/07/2016), 14º dia do experimento (01/08/2016) e 28º dia do experimento (15/08/2016).

Em cada um dos mesocosmos foram inseridos substratos artificiais inertes e padronizados, tanto em tamanho quanto em complexidade estrutural. As algas perifíticas foram analisadas em substrato artificial para evitar a influência do substrato vivo (composição química e microtopografia) sobre a comunidade (Burkholder & Wetzel 1990, Murdock & Dodds 2007, Bergey 2008). Cada um dos mesocosmos recebeu cinco substratos inertes, os quais foram instalados verticalmente para a colonização da comunidade perifítica. Os substratos eram constituídos de folhas de acetado (7cm x 15cm, e 210cm<sup>2</sup>) recortadas de modo a aumentar a complexidade estrutural. De acordo com Casartelli & Ferragut (2017), a maior complexidade estrutural está associada a maior biomassa da comunidade perifítica, garantindo biomassa suficiente para a análise dos atributos da comunidade. Os substratos foram fixados a 25 cm de profundidade a fim de evitar fotoinibição para alguns grupos algais (Hill 1996). As amostragens foram realizadas no 7º, 14º e 28º dia após o início do experimento, pois com base em estudos anteriores este é o tempo necessário para a comunidade atingir a maturidade (ex. Carrick & Lowe 1988), como também observado no reservatório (Casartelli *et al.* 2016). Nos dias de coleta foi realizado um sorteio para a amostragem aleatória do substrato.

O experimento consistiu de quatro tratamentos em tréplica, onde uma triplicata de mesocosmos não foi enriquecida (controle) e as demais foram enriquecidas. Os tratamentos tiveram os seguintes objetivos e foram designados como: C, controle, ausência de enriquecimento; N+, adição isolada de nitrogênio, razão molar N:P>16 e condição P-limitante; P+, adição isolada de fósforo, razão molar N:P<16 e condição N-limitante; NP+, adição combinada de nitrogênio e fósforo, razão molar N:P=16 e condição de ausência de limitação por nutrientes. A razão ótima teve como base a razão molar N:P igual ou próxima de 16:1, conforme proposto por Redfield (1958).

Antes do início do experimento, uma amostragem foi realizada para determinação das concentrações de nitrogênio e fósforo dissolvido na água dos mesocosmos. Com base na concentração de NID e P-PO<sub>4</sub> 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 proposta para cada um dos tratamentos. Os sais utilizados para o enriquecimento foram o fosfato monobásico de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) e o nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ). A fim de responder o questionamento sobre a perda de biomassa quando cessado o enriquecimento, após o décimo sexto dia do experimento não houve mais enriquecimento. Desta forma, o período de interrupção do enriquecimento foi de 12 dias.

As coletas regulares para a amostragem das variáveis físicas, químicas e do perifíton foram realizadas no período com enriquecimento (7° e 14° dia) e no período sem enriquecimento (28° dia). Foram realizadas coletas de monitoramento a cada dois dias, nos intervalos de amostragem, para determinação, manutenção da razão molar N:P da água e acompanhamento das condições. Todas as amostragens foram realizadas no período da manhã.

Tabela 1. Quantidade de cada nutriente adicionado (em  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de N e/ou P) nos tratamentos no período com enriquecimento, e os dias em que o enriquecimento foi realizado.

|            | 1° Dia |     |                    | 9° Dia |     |                     | 16° Dia |     |                     | 23° Dia |     |                     |
|------------|--------|-----|--------------------|--------|-----|---------------------|---------|-----|---------------------|---------|-----|---------------------|
| Tratamento | N      | P   | Amostragem: 7° Dia | N      | P   | Amostragem: 14° Dia | N       | P   | Amostragem: 21° Dia | N       | P   | Amostragem: 28° Dia |
| C          | 0,0    | 0,0 |                    | 0,0    | 0,0 |                     | 0,0     | 0,0 |                     | 0,0     | 0,0 |                     |
| N+         | 45,2   | 0,0 |                    | 1,3    | 0,0 |                     | 6,8     | 0,0 |                     | 0,0     | 0,0 |                     |
| P+         | 0,0    | 4,5 |                    | 0,0    | 0,9 |                     | 0,0     | 0,4 |                     | 0,0     | 0,0 |                     |
| NP+        | 45,2   | 4,5 |                    | 1,3    | 0,9 |                     | 6,8     | 0,4 |                     | 0,0     | 0,0 |                     |

## 2.3 Variáveis analisadas

### 2.3.1 Variáveis climáticas

Foram obtidos dados de temperatura do ar e a precipitação pluviométrica acumulada mensal, as quais foram fornecidas pela Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo (IAG), localizada a cerca de 800 metros do local de estudo ([estacao.iag.usp.br](http://estacao.iag.usp.br)).

### 2.3.2 Variáveis físicas e químicas

Utilizando frascos de polietileno, amostras (1,5L) de água da subsuperfície foram coletadas manualmente nos mesocosmos de cada tratamento no período experimental. Foram determinadas no laboratório as seguintes variáveis abióticas: alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido, nitrogênio inorgânico dissolvido (NID, soma das formas dissolvidas), nitrito e nitrato (Mackereth *et al.* 1978), amônio (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 de fibra de vidro (Whatman GF/F), sob baixa pressão ( $\leq 0,5$  atm). A partir destes filtros foi extraída a clorofila *a* do fitoplâncton (Marker *et al.*, 1980, Sartory & Grobbelaar, 1984). Amostras para a determinação do oxigênio dissolvido foram coletadas em frascos de vidro âmbar e fixadas para posterior análise no laboratório (Golterman *et al.* 1978).

As seguintes variáveis abióticas foram medidas *in situ*: temperatura, condutividade elétrica e pH (sonda multiparâmetros, Horiba) e radiação subaquática (luxímetro Li-Cor LI-250A).

Conforme Fanta *et al.* (2010), a partir da concentração de fósforo total – (PT) e valores de radiação subaquática foi calculada a razão entre a disponibilidade de luz e o fósforo total (RLPT) na água dos tratamentos.

### 2.3.3 Perifíton

A biomassa do perifíton em substrato artificial foi obtida pela raspagem do material perifítico aderido, utilizando pincel e jatos de água destilada. Todo o material raspado foi homogeneizado e separado em duas alíquotas para quantificação de clorofila *a* e massa seca livre de cinzas (MSLC). A raspagem do material perifítico para as análises da composição química foi feita utilizando pincel e jatos de água ultrapura.

Para a obtenção da clorofila *a* corrigida da feofitina, uma alíquota de cada amostra foi filtrada em filtro de fibra de vidro Whatman GF/F sob baixa pressão ( $\leq 0,5$ atm). A extração da clorofila *a* foi realizada utilizando etanol 90% (Marker *et al.*, 1980, Sartory & Grobbelaar, 1984). A determinação da massa seca livre de cinzas (MSLC) foi realizada pela filtração de uma alíquota de cada amostra em filtro de fibra de vidro Whatman GF/C sob baixa pressão ( $\leq 0,5$ atm). A determinação da MSLC foi realizada conforme o APHA (2012). A partir dos resultados da clorofila *a* e da massa seca livre de cinzas foi calculado o Índice Autotrófico da comunidade, que consiste na razão entre os valores de MSLC e a clorofila-*a*. Este índice foi calculado para a avaliação da contribuição dos componentes autotróficos e heterotróficos no perifíton. Este índice apresenta limite teórico de 200, assim, valores superiores a 200 indicam predominância de heterótrofos e valores inferiores de autótrofos (APHA 2005).

A determinação do conteúdo de fósforo total (Andersen 1976, Pompêo & Moschini-Carlos 2003) e nitrogênio total (Umbreit *et al.* 1964) foi realizada com as amostras em triplicatas. O conteúdo de N e P foi expresso por porcentagem de unidade de massa seca. Avaliação do estado nutricional do perifíton foi feito por meio da estequiometria N:P com base na razão molar de Redfield (1958). Os conteúdos de N e P do perifíton foram determinados apenas no 14º e 28º dia devido à pouca quantidade de matéria orgânica no início da de colonização.

## 2.4 Tratamento dos dados

Para determinação eventual da diferença significativa das médias das variáveis abióticas e bióticas entre tratamentos foi realizada análise de variância com medidas repetidas (ANOVA-RM;  $\alpha < 0,05$ ), com teste *a posteriori* (Tukey) de comparação múltipla de médias para detecção de diferença significativa entre tratamentos ( $p < 0.05$ ). Antes da realização da análise, foram testadas a normalidade e homogeneidade das variâncias dos dados. Os dados foram transformados em  $\text{Log}_{10}(X+1)$  sempre que necessários. Esta análise foi realizada no programa estatístico Sigma Plot 12.0.



### 3 Resultados

#### 3.1 Variáveis climáticas

No período de realização do experimento, a temperatura média do ar foi de 16,1 °C, a precipitação pluviométrica média diária foi de 0,37mm e a precipitação acumulada durante o período experimental foi de 12,9 mm, características climáticas de um inverno frio e seco.

#### 3.2 Variáveis físicas e químicas da água

A Tabela 2 traz as condições limnológicas nos tratamentos do experimento, mostrando a média, o desvio padrão (DP) e o resultados da ANOVA de medidas repetidas dois fatores para as variáveis. De acordo os resultados da ANOVA (Tabela 2), todos os nutrientes analisados apresentaram diferenças significativas entre tratamentos e no tempo, assim como a razão NT:PT da água e a biomassa do fitoplâncton.

No período experimental de enriquecimento, os maiores valores da razão Luz:PT foram encontrados no controle e no tratamento N+ do 7º e 14º dia (Figura 3). Após a interrupção no enriquecimento, o maior valor da razão Luz:PT foi encontrado no controle. As maiores quantidades de material particulado (MP) em suspensão foram encontradas nos tratamentos P+ e NP+ do 7º e 14º dia (Figura 3).

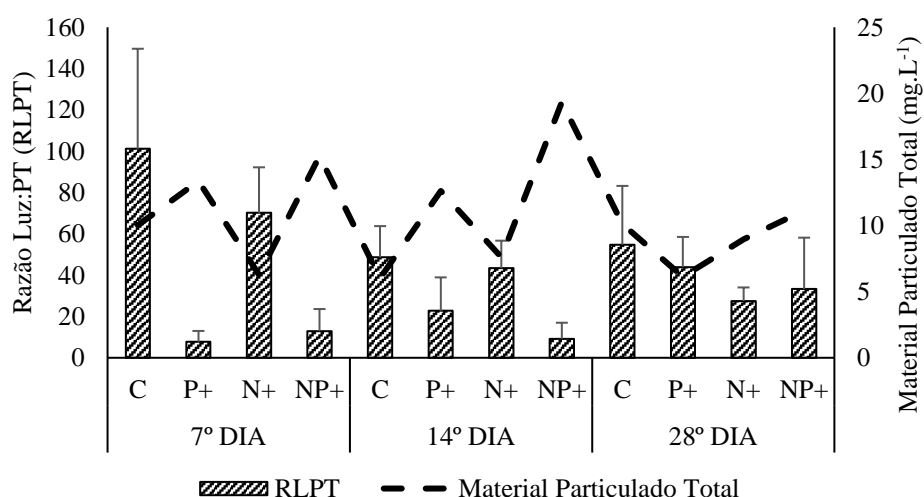


Figura 3. Variação do material particulado em suspensão e da razão Luz:PT (n = 3; DP) nos tratamentos com adição combinada e isolada de N e P durante o período experimental (C – Controle; N<sup>+</sup>, adição isolada de nitrogênio; P<sup>+</sup>, adição isolada de fósforo; NP<sup>+</sup>, adição combinada de nitrogênio e fósforo).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das variáveis limnológicas, da biomassa do fitoplâncton e densidade total do zooplâncton (n=3) nos tratamentos do experimento. Resultados da ANOVA-RM para os fatores enriquecimento e tempo. Abreviações: ns – não significativo,  $p < 0,05$  e  $p < 0,001$  – significativo, x – não atende as premissas da ANOVA.

| Amostragem                                     | 7º Dia             |                     |                     |                     | 14º Dia            |                     |                     |                    | 28º Dia            |                     |                     |                    | Anova 2-fatores Medidas Repetidas |       |           |
|------------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------------------------|-------|-----------|
| Tratamento                                     | C                  | P                   | N                   | NP                  | C                  | P                   | N                   | NP                 | C                  | P                   | N                   | NP                 | Tratamento                        | Tempo | Interação |
| Temperatura (°C)                               | 15,56<br>(±0,06)   | 16,22<br>(±0,24)    | 15,83<br>(±0,1)     | 16,47<br>(±0,22)    | 16,13<br>(±0,05)   | 16,84<br>(±0,21)    | 16,34<br>(±0,18)    | 17,4<br>(±0,43)    | 15,89<br>(±0,13)   | 16,57<br>(±0,14)    | 16,01<br>(±0,15)    | 16,92<br>(±0,73)   | <0,05                             | <0,05 | ns        |
| pH                                             | 5,32<br>(±0,24)    | 5,99<br>(±0,19)     | 5,75<br>(±0,1)      | 6,24<br>(±0,19)     | 5,98<br>(±0,3)     | 6,17 (±0,13)        | 6,19<br>(±0,03)     | 6,3<br>(±0,11)     | 6,14<br>(±0,33)    | 6,52<br>(±0,07)     | 6,49<br>(±0,1)      | 6,38<br>(±0,02)    | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )           | 69,67<br>(±0,58)   | 65,33<br>(±7,23)    | 68,33<br>(±3,51)    | 67,67<br>(±1,15)    | 81,67<br>(±5,51)   | 79 (±7,94)          | 75,67<br>(±5,51)    | 75,67<br>(±2,52)   | 97 (±7)            | 87<br>(±14,73)      | 78<br>(±8,89)       | 85<br>(±2,65)      | ns                                | <0,05 | ns        |
| Luz a 25cm (Água)                              | 1997,3<br>(±819,1) | 1354,9<br>(±930,9)  | 1382,4<br>(±345,1)  | 1527,5<br>(±1290,1) | 1007,8<br>(±524,9) | 1683,0<br>(±1052,4) | 758,1<br>(±162,2)   | 910,1<br>(±769,0)  | 884,0<br>(±662,3)  | 1171,3<br>(±491,7)  | 1580,5<br>(±1978,4) | 1099,7<br>(±858,9) | ns                                | ns    | ns        |
| OD (mg.L <sup>-1</sup> )                       | 8,65<br>(±0,27)    | 11,06<br>(±2,39)    | 7,26<br>(±0,51)     | 11,95<br>(±0,41)    | 6,67<br>(±0,85)    | 6,26 (±0,89)        | 6,26<br>(±0,91)     | 10,41<br>(±2,79)   | 5,5<br>(±0,81)     | 5,01<br>(±1,35)     | 5,54<br>(±1,68)     | 5,39<br>(±0,21)    | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| NID (µg .L <sup>-1</sup> )                     | 109,84<br>(±37,46) | 23 (±0)             | 633,95<br>(±30,22)  | 240,28<br>(±222,69) | 53,18<br>(±15,22)  | 23,09<br>(±0,16)    | 410,92<br>(±101,97) | 24,31<br>(±2,27)   | 30,16<br>(±11,25)  | 24,07<br>(±1,86)    | 86,94<br>(±50,58)   | 24,61<br>(±2,79)   | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| NT (µg .L <sup>-1</sup> )                      | 528,28<br>(±60,24) | 383,92<br>(±64,02)  | 1142,58<br>(±59,16) | 666,96<br>(±51,09)  | 470,52<br>(±47,41) | 518,39<br>(±74,34)  | 742,79<br>(±83,99)  | 921,58<br>(±307,6) | 499,25<br>(±45,91) | 381,1<br>(±69,44)   | 612,81<br>(±100,08) | 821,05<br>(±36,92) | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| PDT (µg .L <sup>-1</sup> )                     | 4 (±0)             | 15,46<br>(±0,83)    | 4 (±0)              | 18,72<br>(±4,64)    | 4 (±0)             | 9,77 (±1,84)        | 4 (±0)              | 15,01<br>(±5,23)   | 4 (±0)             | 4 (±0)              | 4 (±0)              | 4,13<br>(±0,13)    | x                                 | x     | x         |
| P-PO <sub>4</sub> (µg .L <sup>-1</sup> )       | 4,96<br>(±1,67)    | 4,2<br>(±0,34)      | 4 (±0)              | 6,17<br>(±0,88)     | 4 (±0)             | 4,35 (±0,37)        | 4 (±0)              | 5,39<br>(±1,27)    | 4 (±0)             | 4 (±0)              | 4 (±0)              | 4 (±0)             | x                                 | x     | x         |
| PT (µg .L <sup>-1</sup> )                      | 20,19<br>(±4,81)   | 178,15<br>(±17,29)  | 20,05<br>(±1,63)    | 137,84<br>(±37,77)  | 19,81<br>(±4,43)   | 91,62<br>(±29,64)   | 17,86<br>(±2,12)    | 136,6<br>(±64,79)  | 14,91<br>(±3,62)   | 26,15<br>(±2,34)    | 16,57<br>(±3,81)    | 32,44<br>(±1,29)   | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| Razão NT:PT                                    | 60,14<br>(±11,41)  | 4,91<br>(±1,05)     | 127,11<br>(±5,71)   | 11,18<br>(±2,01)    | 56,51<br>(±16,09)  | 13,37<br>(±2,51)    | 94,83<br>(±16,92)   | 15,81<br>(±2,54)   | 82,17<br>(±24,42)  | 35,09<br>(±8,75)    | 87,98<br>(±19,53)   | 58,01<br>(±4,27)   | <0,05                             | <0,05 | <0,05     |
| CO <sub>2</sub> Livre (mg.L <sup>-1</sup> )    | 11,59<br>(±1,32)   | 13,15<br>(±10,17)   | 9,46<br>(±0,92)     | 6,02<br>(±0,96)     | 13,05<br>(±1,43)   | 12,03<br>(±3,38)    | 10,73<br>(±1,36)    | 6,35<br>(±2,66)    | 11,74<br>(±1,31)   | 9,77<br>(±3,18)     | 8,1<br>(±0,93)      | 10,85<br>(±1,45)   | <0,05                             | ns    | ns        |
| MPT (mg.L <sup>-1</sup> )                      | 10,03<br>(±1,42)   | 13,37<br>(±2,02)    | 6,27<br>(±1,42)     | 15,27<br>(±3,2)     | 6,02<br>(±1,56)    | 12,62(±6,65)        | 7,62<br>(±1,29)     | 19,33<br>(±4,39)   | 10,12<br>(±0,35)   | 6,13<br>(±0,55)     | 8,97<br>(±2,95)     | 11,13<br>(±2,42)   | x                                 | x     | x         |
| RLPT                                           | 101,21<br>(±48,37) | 7,80<br>(±5,19)     | 70,13<br>(±22,06)   | 12,93<br>(±10,66)   | 48,63<br>(±15,11)  | 22,79<br>(±16,14)   | 43,40<br>(±13,29)   | 9,18<br>(±7,79)    | 54,75<br>(±28,46)  | 43,93<br>(±14,58)   | 27,46<br>(±6,60)    | 33,29<br>(±24,86)  | <0,05                             | ns    | ns        |
| Biomassa do Fitoplâncton (µg.L <sup>-1</sup> ) | 9,37<br>(±1,83)    | 30,21<br>(±19,37)   | 7,62<br>(±3,09)     | 93,64<br>(±29,01)   | 5,27<br>(±0,88)    | 25,63<br>(±19,24)   | 7,91<br>(±1,52)     | 51,72<br>(±29,62)  | 3,30<br>(±1,10)    | 4,12<br>(±2,38)     | 5,13<br>(±5,07)     | 10,53<br>(±9,64)   | <0,05                             | <0,05 | ns        |
| Razão N:P do Perifiton                         | 139,96<br>(±17,04) | 465,35<br>(±408,98) | 280,25<br>(±7,57)-  | 271,13<br>(±180,60) | -                  | -                   | -                   | -                  | 69,33<br>(±19,44)  | 303,33<br>(±101,45) | 201,87<br>(±109,54) | 431,32<br>(±43,78) | <0,05                             | ns    | ns        |

### 3.3 Perifíton

No período de enriquecimento, a resposta da clorofila *a* do perifíton no tratamento P+ e NP+ foi significativamente diferente do controle no 7º dia, no 14º dia detectou-se diferença apenas entre tratamento NP+ e controle (Figura 4A). Após 12 dias de interrupção do enriquecimento, a biomassa não apresentou diferença significativa entre tratamentos e o controle. Em relação ao pico de biomassa de cada tratamento, verificou-se que a perda foi de 61,3%, 0,0% e 92,1%, nos tratamentos P, N e NP, respectivamente.

Com base na resposta da clorofila *a*, a comunidade de algas no perifíton foi co-limitada por N e P no período de enriquecimento (7º e 14º dia), sendo o P um importante nutriente. Após a interrupção do enriquecimento, nenhuma resposta significativa do perifíton foi detectada, sendo os valores muito similares ao controle do início do processo de colonização.

O perifíton apresentou predomínio dos componentes autotróficos nos tratamentos P+ e NP+ e heterotróficos no controle e tratamento N+ no 7º dia de colonização (Figura 4B). Apenas o perifíton desenvolvido no tratamento NP+ apresentou predominância de componentes autotróficos no 14º dia de colonização. Após a interrupção do enriquecimento, o perifíton foi predominantemente heterotrófico em todos os tratamentos.

Com base na razão molar N:P (Redfield, 1958), a razão molar NP do perifíton indicou P-limitação ( $NP > 16$ ) no 14º e 28º dia em todos os tratamentos, sendo a amplitude de 69 a 465 (Figura 4C). A maior limitação por P foi detectada no perifíton do tratamento P+ no 14º dia.

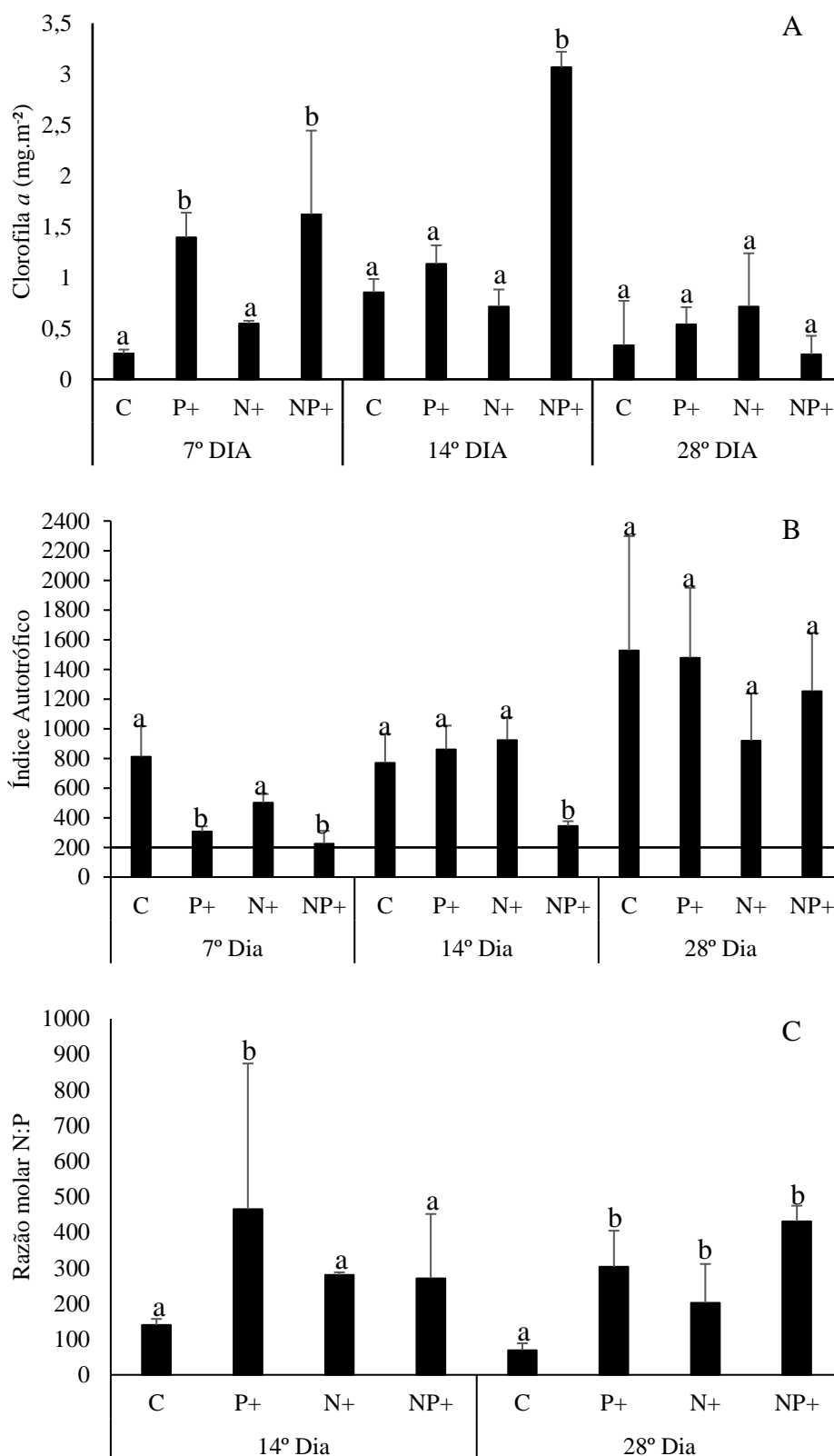


Figura 4. Variação dos valores médios ( $n=3$ ,  $\pm$  DP) da clorofila *a* (A), índice autotrófico (B) e razão molar N:P (C) do perifíton nos tratamentos com adição combinada e isolada de N e P no período experimental (C – Controle; N<sup>+</sup>, adição isolada de nitrogênio; P<sup>+</sup>, adição isolada de fósforo; NP<sup>+</sup>, adição combinada de nitrogênio e fósforo; Figura B: linha indica o limiar entre autotrofia e heterotrofia). Diferenças demonstradas não consideram interação de fatores.

#### 4. Discussão

Os resultados mostram o efeito do enriquecimento combinado e isolado por N e P e da interrupção do enriquecimento sobre o incremento da biomassa e estequiometria N e P do perifíton ao longo do processo de colonização (28 dias). Evidenciou-se resposta positiva da biomassa do perifíton frente ao enriquecimento isolado de P e combinado por N e P, mostrando a importância do P para desenvolvimento da comunidade algal, como observado em outros estudos (Ferragut e Bicudo 2012, Fermino *et al.* 2011, Ferragut *et al.* 2010). Assim, torna-se evidente a sensibilidade da biomassa do perifíton à variação na disponibilidade de nutrientes na água. A comunidade ficoperifítica respondeu ao enriquecimento mesmo em um ambiente com intrínseca interação competitiva entre as comunidades devido à elevada biomassa do fitoplâncton e epipélton (Tavares, D.A., dados não publicados), além da elevada abundância do zooplâncton (Castilho, M.C., dados não publicados).

Após a interrupção do enriquecimento, o perifíton respondeu de forma negativa, ou seja, houve perda de biomassa em todos os tratamentos quando comparados aos seus respectivos tratamentos no período de enriquecimento. Experimentalmente, o efeito negativo da interrupção do enriquecimento sobre o perifíton foi evidenciado por Santos *et al.* (2017). Essa resposta do perifíton ressalta a importância dos nutrientes como fator determinante para o desenvolvimento da comunidade, assim como descrito por Smith (1982), Bothwell (1985), Pan and Lowe (1994), Dodds *et al.* (1997), Francouer *et al.* (1999), Biggs (2000), Maberly *et al.* (2002), Tank & Dodds (2003). No período sem enriquecimento (12 dias), a biomassa da comunidade apresentou valores que não a distinguem do controle, indicando que após o distúrbio (aporte de nutrientes) a comunidade de algas perifíticas apresentou baixa capacidade de manutenção da biomassa adquirida.

Considerando o perifíton no tempo mais avançado da colonização (14 dias), os nossos resultados mostraram que a adição combinada de N e P favoreceu o aumento de biomassa e mudou significativamente a proporção entre seus componentes autótrofos e heterótrofos no perifíton. O perifíton foi predominantemente autótrofo no tratamento com adição combinada N e P, mas após a interrupção do enriquecimento houve predominância dos componentes heterótrofos, como ocorreu no controle e demais tratamento. Estes resultados indicam que aporte de nutrientes favorece o componente autotrófico da comunidade perifítica, particularmente no ecossistema oligo-mesotrófico estudado. Portanto, o enriquecimento por nutrientes altera as relações dentro da matriz perifítica, o que certamente, tem implicações na cadeia trófica (Danger *et al.* 2008). Conforme M.C. Castilho (dados não publicados), a comunidade zooplanctônica respondeu ao enriquecimento combinado e isolado por N e P. As

maiores densidades totais de zooplâncton foram encontradas nos tratamentos com adição de fósforo (P+ e NP+), acompanhando os resultados encontrados para biomassa perifítica.

A razão molar N:P do perifíton mostrou claramente que a comunidade é primariamente limitada por fósforo ( $N:P > 16$ ). Apesar do perifíton desenvolvido no controle apresentar P-limitação, verificou-se que o enriquecimento apenas aumentou a limitação por P no perifíton nos dois tempos de colonização (inicial e avançado). A maioria dos estudos reportam que o P é nutriente limitante primário nos reservatórios da área de estudos (Ferragut & Bicudo 2009, 2012, Fermino *et al.* 2011). Estes resultados evidenciam a condição co-limitante no perifíton. Conforme Fermino *et al.* (2011), o perifíton é co-limitado por N e P no inverno no reservatório estudado.

Comparando com o controle, os maiores valores de biomassa foram encontrados nos tratamentos NP+, onde a razão luz:PT esteve entre 9 e 10, indicando que o melhor desenvolvimento da comunidade esteve associado aos maiores valores de luz e de fósforo. Os maiores valores de biomassa do perifíton foram associados aos menores valores da razão luz:PT e aos maiores valores de material particulado e da clorofila *a* do fitoplâncton no período experimental. Tal situação poderia explicar a redução de 10% na disponibilidade de luz, mas a razão luz:PT mostrou indícios de que a interação entre a luz e a disponibilidade de fósforo numa razão de 10:1 foi suficiente para aumentar o incremento de biomassa algal. Conforme Hill *et al.* 2009, que encontraram que a comunidade perifítica em ecossistema lótico apresentou respostas ais consistentes com a razão luz:fósforo menor do que 10

Finalmente, os resultados mostraram que o enriquecimento combinado por N e P favoreceu o incremento de biomassa, tornando a comunidade predominantemente autotrófica. A elevada perda de biomassa e aumento dos componentes heterótrofos após a interrupção do enriquecimento evidenciou a importância dos nutrientes e de sua estequiometria, no caso razão N:P próxima de 16, para o crescimento algal perifítico. Contudo, a razão molar N:P do perifíton indicou que o perifíton foi primariamente limitado por P, sendo bastante indicativa do potencial de limitação algal. A resposta positiva e significativa do perifíton em uma razão Luz:PT do ambiente menor do que 10 mostrou que esta razão pode auxiliar no entendimento e nas predições do desenvolvimento da comunidade, como reportado em outros estudos (Hill *et al.* 2009, Fanta *et al.* 2010, Hill *et al.* 2011). Contudo, mais estudos são necessários para identificação da razão ótima do crescimento algal perifítico e de seus limiares nos ecossistemas tropicais. Assim, concluiu-se que o perifíton foi sensível ao enriquecimento e a sua interrupção, sendo respostas do perifíton associada à razão luz:PT da água.

## **Capítulo 2: Efeitos do sombreamento e das mudanças na razão Luz:Nutriente sobre os atributos da comunidade de algas perifíticas.**

### **Resumo**

O objetivo do presente estudo foi avaliar experimentalmente o efeito da variação na disponibilidade de luz sobre a biomassa e estrutura taxonômica da comunidade de algas perifíticas, em condição de elevada disponibilidade de nutrientes, visando relacionar as respostas da comunidade às mudanças da razão luz:nutrientes. Para avaliar os efeitos da disponibilidade de luz e nutrientes sobre o perifíton foram instalados 15 mesocosmos na região litorânea do Lago das Ninfas. Em cada mesocosmo foram inseridos substratos artificiais para colonização do perifíton. O tempo de colonização do perifíton foi 21 dias, sendo realizadas amostragens semanais, intercaladas com monitoramentos das condições dos mesocosmos a cada dois dias. Os mesocosmos foram enriquecidos com nitrogênio (N) e fósforo (P) para garantir ausência de limitação na água, tendo como base a razão molar N:P igual ou próxima a 16:1. A manipulação da disponibilidade luminosa foi realizada por meio da sobreposição de malhas com diferentes capacidades de retenção luminosa, até atingirmos 25%, 50% e 75% de sombreamento. Esta combinação de malhas foi instalada na parte superior de cada mesocosmo. Além das variáveis físicas e químicas da água e do cálculo das razões entre luz e nutrientes, foram avaliadas a biomassa (clorofila *a* e massa seca livre de cinzas - MSLC), composição de espécies, densidade, biovolume algal, riqueza e diversidade de espécies. Os nossos resultados mostraram que a comunidade sofreu mudanças estruturais com a variação da incidência luminosa, mesmo em elevada disponibilidade de nutrientes. Os resultados da clorofila *a*, da MSLC e da densidade total do perifíton reforçam o importante papel dos nutrientes, bem como indicam que a luz tem um importante papel para o desenvolvimento da comunidade. Esse resultado mostra ainda que nos tratamentos em que houve a adição de nutrientes a comunidade apresentou melhor desenvolvimento, e que em situações em que a incidência luminosa é reduzida a 25% ou menos a luz passa a ser um fator limitante para o desenvolvimento da comunidade. Por fim, os resultados mostraram que em uma situação sem limitação por nutrientes, a comunidade foi favorecida, tendo aumento de biomassa, densidade, riqueza e diversidade de espécies, e que de maneira geral os atributos da comunidade foram influenciados negativamente pelas elevadas reduções na incidência luminosa.

Palavras-chave: espécies algais, ficoperifíton, mesocosmos, razão Luz:Nutrientes

## 1 Introdução

As algas perifíticas tem importante papel ecológico no funcionamento dos ecossistemas aquáticos, principalmente em lagos e reservatórios rasos, o que torna importante a compreensão dos fatores ambientais que regulam o desenvolvimento da comunidade. Dentre os fatores abióticos determinantes da estrutura e funcionamento do perifíton estão a disponibilidade de nutrientes e luz, mas o efeito combinado da luz e dos nutrientes é ainda pouco explorado, principalmente para o perifíton (Hill *et al.* 2009; Sanches *et al.* 2011). Apesar do reconhecido efeito da disponibilidade de luz sobre a biomassa dos autótrofos (Hill 1996), a maioria dos trabalhos tem assumido que os nutrientes por si só são recursos basais para os produtores primários, assim, estudos enfocando o papel da luz tem recebido muito menos atenção (Rosemond 1993, Hillebrand & Kahlert 2001, Hillebrand 2002). Embora, a luz e os nutrientes tenham sido investigados como recursos individuais, menos atenção tem sido dirigida para os seus efeitos combinados sobre os produtores primários, como o perifíton (Eriksson *et al.* 2007, Hill *et al.* 2011). No entanto, os efeitos da luz e os nutrientes podem ser interativos, onde o aumento de um recurso limitante poderá aumentar a procura pelo outro (Taulbee *et al.* 2005, Liess *et al.* 2009, Sanches *et al.* 2011). Na verdade, os efeitos interativos entre luz e nutrientes podem ser mais importantes do que os seus efeitos independentes sobre a produção primária e, conseqüentemente, sobre a biomassa produtor primário (Eriksson *et al.* 2007, Sanches *et al.* 2011).

Alguns trabalhos relataram os efeitos da razão luz-nutrientes no perifíton (Stern *et al.* 1997), mas a grande maioria foi realizado em ecossistemas lóticos (Hill & Fanta 2008, Hill *et al.* 2009, Fanta *et al.* 2010, Hill *et al.* 2011). Poucos estudos sobre este tema foram realizados em ecossistemas lênticos, como o de Sanches *et al.* (2011) em lagoa de águas negras. O conhecimento dos efeitos da relação luz-nutriente sobre a comunidade perifítica pode trazer suporte para o entendimento da dinâmica do crescimento algal e, assim, subsidiar estratégias de manejo, conservação e restauração de ecossistemas lênticos rasos tropicais (Lewis 2000). Em condições naturais, a disponibilidade de luz para o perifíton pode ser reduzida pelo sombreamento causado pela elevada quantidade de material particulado em suspensão (fitoplâncton, zooplâncton e outros) e cobertura de macrófitas aquáticas (Borduqui & Ferragut 2012, Souza *et al.* 2015). Nesse sentido, estudos que buscam o maior entendimento dos efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre as mudanças na estrutura da comunidade perifítica são fundamentais para o maior entendimento do funcionamento de lagos e reservatórios rasos tropicais e, conseqüentemente, podem melhorar os programas de recuperação e conservação destes ecossistemas.



Considerando os fatores ambientais que reduzem a disponibilidade de luz para o perifíton, as macrófitas aquáticas assumem importante papel, pois podem reduzir significativamente a luz que deveria atingir a comunidade (Sand-Jensen & Borum 1991, Meerhoff et al. 2007). Estudos que levam em consideração a inter-relação entre os produtores primários trazem uma visão mais holística sobre o funcionamento do ecossistema (eg. Liboriussen & Jeppesen 2003). O complexo perifíton-macrófita desempenha reconhecido papel para o funcionamento dos ecossistemas rasos (Scheffer *et al.* 1993, Liboriussen & Jeppesen 2006, Souza *et al.* 2015). As macrófitas podem influenciar direta ou indiretamente o desenvolvimento e a estrutura das comunidades algais perifíticas alterando a disponibilidade de nutrientes (pela senescência, decomposição, excreção e transferência de nutrientes do sedimento para a coluna d'água) e de disponibilidade de luz (sombreamento) (Carignan & Kalff 1980, Burkholder 1996, Meerhoff *et al.* 2007, Souza *et al.* 2015).

Além do papel das macrófitas no funcionamento dos lagos rasos (Scheffer 1991, Scheffer e van Nes 2007) e da acentuada variação anual da cobertura de macrófitas (Souza *et al.* 2015), estudos mostram que a elevada abundância de macrófitas afetam a luminosidade incidente sobre a comunidade perifítica, modificando a estrutura taxonômica e reduzindo o incremento de biomassa (Souza et al. 2015, Pelegrini & Ferragut, no prelo). Reconhecidamente a disponibilidade de nutrientes é um fator determinante do desenvolvimento da comunidade perifítica (ex. Ferragut & Bicudo 2009). A disponibilidade de luz e de nutrientes são os principais fatores determinantes da variabilidade da comunidade de algas perifíticas (Vadeboncoeur & Steinman 2002), mas o efeito combinado destes fatores é pouco conhecido, e inexistente em reservatório tropical. Grande parte da variabilidade da biomassa do perifíton pode ser explicada pela razão luz:nutrientes, que foi observada em alguns estudos (Hill *et al.* 2009, Sanchez *et al.* 2011). Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da variação na disponibilidade de luz sobre a biomassa e estrutura taxonômica da comunidade de algas perifíticas, em condição de elevada disponibilidade de nutrientes, visando relacionar as respostas das assembleias algais às mudanças da razão luz:nutrientes. Especificamente, pretende-se avaliar o efeito do sombreamento sobre a similaridade na composição de espécies, diversidade, espécies descritoras, bem como identificar guildas associadas à variação na disponibilidade de luz. A nossa primeira hipótese é que maior biomassa e mudanças na estrutura taxonômica da comunidade de algas perifíticas ocorrerá em condições de alta disponibilidade de nutrientes e luz, mas a atenuação da luz reduzirá o efeito da disponibilidade de nutrientes sobre o perifíton. A nossa segunda hipótese é que a mudança da razão luz:nutrientes pela atenuação da luz pode ser indicativa do maior incremento de biomassa e alterações na estrutura taxonômica no perifíton.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Área de estudo

O experimento foi desenvolvido no Lago das Ninféias que está situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) (23°38'20.08" S, 46°37'19.29" W), assim como descrito no Capítulo 1 da presente dissertação.

### 2.2 Delineamento experimental

Para avaliar os efeitos da disponibilidade de luz e nutrientes sobre o perifíton foram instalados 15 mesocosmos na região litorânea do Lago das Ninféias no dia 4 de setembro de 2016. Para a instalação foi considerada a ausência de macrófitas dentro dos mesocosmos. Após sete dias de aclimação, 5 substratos artificiais (lâminas de acetato) para colonização do perifíton foram inseridos em cada mesocosmos. A duração do experimento foi de 21 dias, sendo a amostragem da água e do perifíton realizadas no 7º dia (16/09/2016), 14º dia (23/09/2016) e 21º dia (30/09/2016). A amostragem do perifíton foi aleatorizada através do sorteio do substrato a ser coletado.

O experimento consistiu-se de cinco tratamentos em tréplica. Em todos os tratamentos, exceto no controle, foram adicionados nitrogênio e fósforo. Conforme os resultados apresentados no Capítulo 1, a comunidade apresentou co-limitação por N e P, sendo o fósforo foi o nutriente limitante primário, justificando a adição combinada dos dois nutrientes. A adição de nutrientes teve como objetivo garantir ausência de limitação na água, e teve como base a razão molar N:P igual ou próxima a 16:1 (Redfield 1958). A determinação da variação da incidência luminosa, que configurou os tratamentos foi baseada em dados de um estudo prévio (Santos, T.R., dados não publicados), em que a variação anual da cobertura de macrófitas no Lago das Ninféias foi de 20 a 80%. Assim cada tratamento consistiu na adição de nutrientes (NP) e na manipulação da incidência luminosa sobre a comunidade perifítica. A variação da disponibilidade luminosa foi testada previamente e realizada por meio da sobreposição de malhas (sombrite) com diferentes capacidades de retenção luminosa, até atingirmos 25%, 50% e 75% de sombreamento. Esta combinação de malhas foi instalada na parte superior de cada mesocosmo. A luz mensurada foi a radiação fotossinteticamente ativa (PAR). As características de cada um dos tratamentos foram as seguintes: **C: Controle** – sem adição de nutrientes e sem manipulação da luminosidade; **A: Aberto** – adição de nutrientes (N e P) e entrada de 100% da luminosidade incidente; **P: Parcialmente sombreado** – adição de nutrientes (N e P) e entrada de 75% da luminosidade incidente; **S: Sombreado** – adição de nutrientes (N e P) e entrada de

50% da luminosidade incidente e **F: Fortemente Sombreado** - adição de nutrientes (N e P) e entrada de 25% da luminosidade.

As coletas regulares para a amostragem das variáveis físicas, químicas e biológicas foram realizadas nos 7º, 14º e 21º dias do período experimental em todos os tratamentos e trélicas. Adicionalmente, para garantir a manutenção da razão molar N:P da água dos tratamentos foram realizadas coletas de monitoramento a cada dois dias nos intervalos das amostragens regulares. Todas as amostragens foram realizadas no período da manhã.

## 2.3 Variáveis analisadas

### 2.3.1 Variáveis climáticas

Foram obtidos dados de temperatura do ar e precipitação pluviométrica diária e acumulada, fornecidas pela Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo (IAG), localizada a cerca de 800 metros do local de estudo ([estacao.iag.usp.br](http://estacao.iag.usp.br)).

### 2.3.2 Variáveis físicas e químicas

Amostras (1,5L) de água da subsuperfície foram coletadas manualmente nos mesocosmos de cada tratamento no período experimental. A partir destas amostras de água foram analisadas em laboratório as seguintes variáveis abióticas: alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido, nitrogênio inorgânico dissolvido (NID, soma das formas dissolvidas), nitrito e nitrato (Mackereth *et al.* 1978), amônio (Solorzano 1969), ortofosfato e fósforo total dissolvido (Strickland & Parsons 1960), nitrogênio total e fósforo total (Valderrama 1981). Além disto como medida de interferência na incidência luminosa (principalmente pela turbidez e refração) sobre a comunidade perifítica foram mensuradas a biomassa fitoplanctônica (clorofila *a* – Marker *et al.*, 1980, Sartory & Grobblelar, 1984) e o material particulado em suspensão (APHA 2005). Amostras para a determinação do oxigênio dissolvido foram coletadas em frascos de vidro âmbar e fixadas para posterior análise no laboratório d (Golterman *et al.* 1978).

As seguintes variáveis abióticas foram medidas *in situ*: temperatura, condutividade elétrica e pH (sonda multiparâmetros, Horiba) e radiação solar aérea e subaquática (subsuperfície e a 25 cm de profundidade) (luxímetro Li-Cor LI-250A).

A partir dos resultados das análises químicas e das medidas de radiação subaquática incidente sobre a comunidade perifítica (a 25 cm de profundidade) foi realizada a divisão simples entre luz e nitrogênio inorgânico dissolvido (Razão Luz:Nitrogênio – RLN), entre luz e ortofosfato (Razão Luz:Ortofosfato – RLP), entre luz e fósforo total (Razão

Luz:FósforoTotal– RLPT) e entre nitrogênio total e fósforo total (Razão Nitrogênio:Fósforo – RNP). A partir da diferença entre a luz mensurada logo acima dos mesocosmos (aqui chamada de luz aérea) e a luz incidente sobre a comunidade foi calculado o coeficiente de atenuação da luz (CoALuz). Para quantificar o efeito de sombreamento das malhas, foi realizada a mensuração da luz com e sem cobertura a cobertura das malhas, formando a variável sombreamento (Somb). Todas as medidas de luz foram tomadas no período da manhã.

### 2.3.3 Perifíton

O material perifítico aderido ao substrato artificial foi removido pela raspagem com pincéis e jatos de água destilada, com volume total utilizado padronizado. Após a raspagem, a amostra foi homogeneizada e subdividida em alíquotas para a determinação dos atributos da comunidade. Foram avaliados os seguintes atributos estruturais da comunidade perifítica: biomassa (clorofila *a* e massa seca livre de cinzas - MSLC), composição de espécies, densidade, biovolume algal, riqueza e diversidade de espécies. A determinação da clorofila *a* corrigida da feofitina seguiu a metodologia proposta por Marker *et al.* (1980) e adaptada por Sartory & Grobbelaar (1984) e da massa seca livre de cinzas (MSLC) seguiu a metodologia descrita por APHA (2012).

A determinação qualitativa das algas perifíticas foi realizada utilizando amostras fixadas com formalina 4%. A análise das amostras foi realizada em microscópio binocular (Zeiss Axioscop) e ocular para medição. A identificação taxonômica foi baseada principalmente em publicações referentes ao PEFI (Sormus & Bicudo 1994, Azevedo *et al.* 1996, Bicudo 1996, Bicudo *et al.* 1998, Bicudo *et al.* 1999, Bicudo *et al.* 2003, Ferragut *et al.* 2005, Araújo & Bicudo 2006, Tucci *et al.* 2006, Godinho *et al.* 2010) e o sistema de classificação das espécies foi aquele utilizado por Guiry e Guiry (2018). A análise quantitativa foi realizada com as amostras fixadas com lugol acético a 1%. A análise foi realizada em microscópio invertido (Zeiss Axiovert), seguindo a metodologia de Utermöhl (1958) e respeitando o tempo de sedimentação determinado por Lund *et al.* (1958). A contagem foi feita em transectos e o limite de contagem foi estabelecido pela curva de rarefação de espécies e pela contagem mínima de 100 indivíduos da espécie mais abundante na amostra (Ferragut *et al.* 2013). O biovolume algal ( $\mu\text{m}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ ) foi obtido a partir de Fonseca *et al.* (2014), que lista a maioria das espécies da área de estudo. Para os táxons ausentes neste trabalho, o cálculo foi baseado nas formas geométricas descritas em Hillebrand *et al.* (1999), e medida de ao menos 15 espécimes. Espécies com biovolume e densidade relativa maior ou igual a 10% do total da amostra foram consideradas espécies descritoras. Espécies com biovolume e densidade relativa maior ou igual a 50% foram

consideradas dominantes e as aquelas que superaram o valor médio das populações de cada amostra foram consideradas abundantes.

A medida de diversidade adotada foi o Índice de Shannon para a diversidade alfa (Magurran 2004). Para a riqueza foi quantificado o número de espécies na amostra.

## 2.4 Tratamento dos dados

Para análise das diferenças entre tratamentos das variáveis abióticas e bióticas foi realizada uma análise de variância com dois fatores e medidas repetidas (RM-ANOVA-2 fatores), com teste de *a posteriori* (teste de Tukey) de comparação múltipla para diferença significativa ( $p < 0.05$ ). Todas as premissas para a realização da análise foram testadas previamente. Em casos onde não foram atendidas as premissas da análise, os dados foram transformados [ $\text{Log}_{10}(X+1)$ ]. Caso a transformação não tenha sido suficiente, a análise não foi aplicada. A análise foi realizada no programa estatístico Sigma Plot 12.0. A avaliação conjunta dos dados limnológicos foi feita pela análise de componentes principais (PCA), partindo de uma matriz de covariância e com os dados logaritimizados [ $\text{Log}_{10}(X+1)$ ].

A influência do tempo e dos tratamentos (atenuação da incidência luminosa) e da interação destes fatores sobre a composição de espécies da comunidade foi verificada através da análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA 2-fatores). Foram utilizados os dados logaritimizados, similaridade de Bray-Curtis e 9.999 permutações no programa Past 3.15 (Hammer *et al.* 2001).

O grau de similaridade na composição de espécies de algas perifíticas entre tratamentos e no tempo foi determinada pela análise hierárquica de agrupamento. Nesta análise foi utilizada a matriz de densidade de espécies e o método de UPGMA (método de agrupamento pareado não ponderado com média aritmética e índice de similaridade de Bray-Curtis). O resultado é apresentado na forma de um dendrograma com o respectivo coeficiente cofenético. A análise foi realizada no programa estatístico PAST 3.15 (Hammer *et al.* 2011).

Para avaliar conjuntamente a densidade de algas perifíticas e as variáveis abióticas em cada tratamento foi realizada análise de correspondência destendenciada (DCA) e, posteriormente, análise de redundância (RDA). A análise de redundância (RDA) foi realizada com base na identificação de um gradiente curto pela análise de correspondência canônica (DCA) da densidade algal, indicando que a relação da densidade algal com o gradiente ambiental apresentou resposta linear (Birks 2010). A matriz de dados bióticos e abióticos foi utilizada com os dados logaritimizados [ $\text{Log}_{10}(X+1)$ ]. A fim de manter a representatividade das espécies na comunidade, foram selecionadas aquelas com contribuição maior ou igual a 0,5% da densidade total. A seleção das variáveis abióticas foi através de uma análise de

componentes principais (PCA), visando selecionar as variáveis mais representativas do gradiente de luz e nutriente. Estas análises foram realizadas no programa estatístico PC-ORD 6.0 (McCune & Mefford, 2011).

### 3 Resultados

#### 3.1 Variáveis climáticas

No período de realização do experimento, a temperatura média do ar foi de 17,5 °C, precipitação pluviométrica acumulada de 24,6 mm, com média diária de 0,82 mm. A chuva mais considerável ocorreu dois dias após a primeira amostragem (18/09/2016), e foi de 9,7mm.

#### 3.2 Variáveis físicas e químicas da água

As Tabelas 1 e 2 trazem as condições limnológicas e de luminosidade e sua associação com os nutrientes em cada um dos tratamentos, mostrando as médias, o desvio padrão e os resultados da Anova de dois fatores e medidas repetidas.

De acordo os resultados da Anova (Tabelas 1 e 2), a maior parte das variáveis analisadas e testadas, apresentaram resultados significativos para os fatores (tempo e tratamentos) e para a sua interação.

Destaca-se as variáveis associadas aos nutrientes, como nitrogênio inorgânico dissolvido (NID), nitrito ( $\text{NO}_2$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ), fósforo total dissolvido (PDT), ortofosfato ( $\text{PO}_4$ ) e fósforo total (PT), e as variáveis associadas a luminosidade, como coeficiente de atenuação da luz (CoALuz), luz na subsuperfície (LuzSub), luz incidente sobre o perifíton (LuzPeri) e efeito de sombreamento da malha instalada (Somb). As razões Luz:NID e Luz: $\text{PO}_4$  também apresentaram resultado significativo para os fatores (tempo e tratamentos) e sua interação.

A Figura 1, traz graficamente os resultados da razão entre luz incidente sobre a comunidade perifítica (a 25 cm de profundidade) e o fósforo total (LuzPeri:PT), com redução da razão com a diminuição da incidência luminosa.

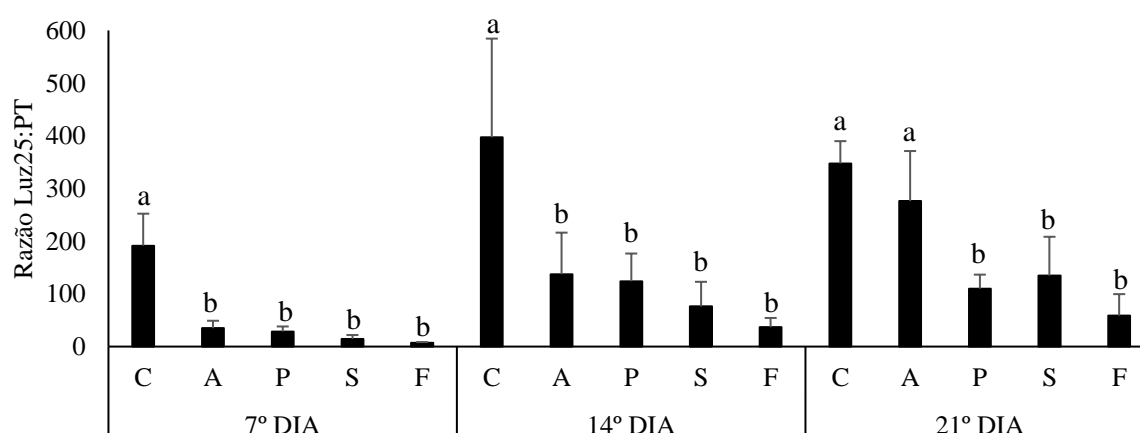


Figura 1. Variação da razão LuzPeri:PT (n = 3; DP) (C- controle, A- aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado). Tratamentos indicados com mesma letra apresenta valor médio sem diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das variáveis limnológicas (n=3) e os resultados da ANOVA RM para os fatores tratamento e tempo do experimento. Abreviações: ns: resultado não significativo,  $p < 0,05$ : diferença significativa, x: resultados para a variável não atendem as premissas da ANOVA.

| Amostragem                                     | 7º Dia    |           |           |           |           | 14º Dia   |           |           |           |           | 21º Dia   |           |          |           |           | Resultados da ANOVA RM |       |           |
|------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|------------------------|-------|-----------|
| Tratamento                                     | C         | A         | P         | S         | F         | C         | A         | P         | S         | F         | C         | A         | P        | S         | F         | Tratamento             | Tempo | Interação |
| CO <sub>2</sub> Livre (mg.L <sup>-1</sup> )    | 21,15     | 14,15     | 16,37     | 14,04     | 12,60     | 24,89     | 10,15     | 16,84     | 10,91     | 16,52     | 19,85     | 9,00      | 7,26     | 5,47      | 5,92      | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
| <sup>1)</sup>                                  | (±1,76)   | (±0,35)   | (±5,21)   | (±3,23)   | (±1,91)   | (±2,18)   | (±2,41)   | (±1,83)   | (±0,92)   | (±3,49)   | (±4,31)   | (±7,38)   | (±1,24)  | (±2,14)   | (±1,58)   |                        |       |           |
| Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )           | 62,67     | 82,67     | 75,33     | 85,67     | 76,00     | 71,33     | 100,67    | 96,67     | 101,33    | 98,33     | 77,33     | 103,00    | 95,67    | 100,33    | 100,00    | x                      | x     | x         |
|                                                | (±5,69)   | (±9,29)   | (±0,57)   | (±7,64)   | (±1,73)   | (±4,93)   | (±10,07)  | (±1,15)   | (±6,03)   | (±1,53)   | (±6,51)   | (±13,89)  | (±1,53)  | (±5,69)   | (±3,61)   |                        |       |           |
| NID (µg .L <sup>-1</sup> )                     | 274,20    | 1124,64   | 1321,57   | 1501,22   | 1485,38   | 382,47    | 1299,92   | 1684,78   | 1606,85   | 2176,49   | 844,16    | 456,15    | 324,97   | 549,47    | 836,74    | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
|                                                | (±191,94) | (±259,94) | (±15,67)  | (±35,38)  | (±301,53) | (±317,20) | (±434,56) | (±161,67) | (±197,72) | (±187,60) | (±418,99) | (±121,27) | (±59,75) | (±283,11) | (±155,05) |                        |       |           |
| NT (µg .L <sup>-1</sup> )                      | 750,48    | 1283,96   | 1232,66   | 1444,24   | 1470,29   | 780,18    | 1225,55   | 1261,28   | 1490,31   | 1412,66   | 963,03    | 646,83    | 488,71   | 855,64    | 1114,52   | ns                     | <0,05 | ns        |
|                                                | (±258,82) | (±148,92) | (±141,81) | (±311,15) | (±370,81) | (±407,97) | (±84,07)  | (±122,21) | (±379,94) | (±182,71) | (±451,06) | (±167,36) | (±74,89) | (±273,26) | (±196,68) |                        |       |           |
| OD (mg.L <sup>-1</sup> )                       | 2,64      | 6,98      | 3,80      | 5,25      | 3,53      | 2,94      | 10,07     | 7,16      | 9,59      | 4,44      | 2,53      | 7,21      | 8,71     | 8,50      | 5,17      | <0,05                  | <0,05 | ns        |
|                                                | (±0,79)   | (±1,88)   | (±2,47)   | (±3,17)   | (±0,94)   | (±0,07)   | (±0,64)   | (±0,95)   | (±1,95)   | (±0,52)   | (±0,30)   | (±3,27)   | (±0,60)  | (±1,03)   | (±0,97)   |                        |       |           |
| PDT (µg .L <sup>-1</sup> )                     | 4,31      | 28,48     | 36,07     | 19,85     | 38,24     | 4,09      | 49,27     | 59,30     | 43,57     | 79,05     | 4,00      | 17,41     | 21,43    | 13,34     | 19,89     | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
|                                                | (±0,54)   | (±11,96)  | (±1,80)   | (±9,28)   | (±11,48)  | (±0,15)   | (±5,50)   | (±8,94)   | (±29,11)  | (±38,96)  | (±0,00)   | (±6,61)   | (±5,35)  | (±5,82)   | (±15,89)  |                        |       |           |
| pH                                             | 5,43      | 5,59      | 5,50      | 5,91      | 6,08      | 5,90      | 6,24      | 6,36      | 6,58      | 6,46      | 5,58      | 6,14      | 6,34     | 6,41      | 6,18      | x                      | x     | X         |
|                                                | (±0,25)   | (±0,24)   | (±0,11)   | (±0,12)   | (±0,05)   | (±0,01)   | (±0,19)   | (±0,06)   | (±0,10)   | (±0,05)   | (±0,17)   | (±0,38)   | (±0,01)  | (±0,04)   | (±0,03)   |                        |       |           |
| P-PO <sub>4</sub> (µg .L <sup>-1</sup> )       | 4,00      | 13,99     | 21,73     | 9,72      | 27,58     | 4,00      | 24,03     | 38,56     | 30,46     | 65,10     | 4,00      | 5,43      | 5,68     | 5,00      | 11,01     | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
|                                                | (±0,00)   | (±8,37)   | (±2,92)   | (±6,90)   | (±10,49)  | (±0,00)   | (±5,88)   | (±13,19)  | (±26,78)  | (±35,02)  | (±0,00)   | (±1,88)   | (±2,91)  | (±1,74)   | (±11,63)  |                        |       |           |
| PT (µg .L <sup>-1</sup> )                      | 21,24     | 145,60    | 187,87    | 171,57    | 168,48    | 29,87     | 192,35    | 148,85    | 139,98    | 184,57    | 15,19     | 32,77     | 44,07    | 31,87     | 42,68     | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
|                                                | (±4,88)   | (±22,58)  | (±69,99)  | (±66,10)  | (±36,34)  | (±5,57)   | (±62,75)  | (±35,52)  | (±52,69)  | (±49,40)  | (±3,49)   | (±3,07)   | (±5,69)  | (±12,61)  | (±27,62)  |                        |       |           |
| Razão NT:PT da água                            | 84,48     | 20,04     | 15,63     | 21,00     | 20,39     | 61,27     | 15,13     | 19,65     | 26,33     | 17,71     | 145,56    | 43,59     | 24,98    | 60,85     | 80,81     | <0,05                  | <0,05 | ns        |
|                                                | (±41,13)  | (±5,13)   | (±4,56)   | (±9,36)   | (±8,55)   | (±40,15)  | (±4,74)   | (±6,16)   | (±11,56)  | (±4,63)   | (±84,19)  | (±10,40)  | (±5,94)  | (±7,52)   | (±61,86)  |                        |       |           |
| Temperatura (°C)                               | 17,97     | 18,05     | 18,17     | 18,21     | 18,32     | 17,50     | 17,62     | 18,11     | 19,09     | 18,75     | 18,49     | 18,51     | 18,73    | 18,82     | 18,64     | x                      | x     | x         |
|                                                | (±0,10)   | (±0,08)   | (±0,08)   | (±0,09)   | (±0,01)   | (±0,06)   | (±0,14)   | (±0,15)   | (±0,14)   | (±0,42)   | (±0,05)   | (±0,04)   | (±0,06)  | (±0,12)   | (±0,08)   |                        |       |           |
| Material                                       |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |          |           |           |                        |       |           |
| Particulado em Suspensão (mg.L <sup>-1</sup> ) | 16,69     | 13,53     | 14,82     | 17,84     | 12,18     | 17,24     | 12,10     | 8,95      | 12,13     | 9,37      | 16,67     | 9,64      | 16,32    | 10,93     | 9,23      | ns                     | ns    | ns        |
|                                                | (±2,07)   | (±6,49)   | (±5,10)   | (±9,43)   | (±4,75)   | (±2,76)   | (±6,78)   | (±1,53)   | (±6,48)   | (±3,60)   | (±3,53)   | (±0,58)   | (±4,79)  | (±1,92)   | (±0,92)   |                        |       |           |



Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das variáveis de luminosidade (n=3) e os resultados da ANOVA RM para os fatores tratamento e tempo do experimento. Abreviações: ns: resultado não significativo,  $p < 0,05$ : diferença significativa, x: resultados para a variável não atendem as premissas da ANOVA.

| Amostragem                                                 | 7º Dia                |                     |                    |                     |                     | 14º Dia               |                      |                     |                     |                     | 21º Dia              |                       |                     |                     |                     | Resultados da ANOVA RM |       |           |
|------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------|-------|-----------|
| Tratamento                                                 | C                     | A                   | P                  | S                   | F                   | C                     | A                    | P                   | S                   | F                   | C                    | A                     | P                   | S                   | F                   | Tratamento             | Tempo | Interação |
| CoALuz (%)                                                 | 66,99<br>(±5,51)      | 60,50<br>(±14,11)   | 66,61<br>(±4,99)   | 79,40<br>(±5,47)    | 89,51<br>(±3,12)    | 69,77<br>(±11,57)     | 39,94<br>(±18,04)    | 58,33<br>(±8,16)    | 75,08<br>(±7,97)    | 84,98<br>(±2,79)    | 73,81<br>(±6,72)     | 58,48<br>(±7,33)      | 70,51<br>(±4,59)    | 75,89<br>(±4,45)    | 92,19<br>(±2,78)    | <0,05                  | <0,05 | ns        |
| Luz Ar ( $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$ )            | 384,53<br>(±44,43)    | 404,83<br>(±41,60)  | 484,36<br>(±51,09) | 342,87<br>(±55,60)  | 368,73<br>(±108,72) | 1202,40<br>(±22,93)   | 1227,13<br>(±107,24) | 1334,80<br>(±17,78) | 1221,33<br>(±33,00) | 1309,07<br>(±14,51) | 661,67<br>(±143,81)  | 695,60<br>(±179,45)   | 520,47<br>(±6,90)   | 505,27<br>(±82,79)  | 891,80<br>(±544,63) | ns                     | <0,05 | ns        |
| Luz Subsuperfície ( $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ) | 194,06<br>(±47,55)    | 221,95<br>(±34,16)  | 193,24<br>(±12,22) | 90,43<br>(±16,18)   | 49,94<br>(±6,13)    | 628,07<br>(±88,58)    | 858,17<br>(±174,63)  | 666,30<br>(±61,46)  | 420,90<br>(±40,41)  | 223,86<br>(±35,84)  | 346,97<br>(±171,95)  | 455,00<br>(±95,12)    | 215,06<br>(±49,74)  | 162,37<br>(±27,20)  | 99,31<br>(±25,16)   | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
| Luz Peri ( $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$ )          | 128,39<br>(±33,78)    | 156,93<br>(±47,18)  | 160,03<br>(±6,25)  | 69,75<br>(±16,25)   | 36,45<br>(±4,00)    | 362,70<br>(±137,37)   | 736,30<br>(±220,86)  | 555,23<br>(±101,44) | 303,10<br>(±91,07)  | 196,33<br>(±34,32)  | 167,12<br>(±16,49)   | 291,38<br>(±96,91)    | 153,67<br>(±25,74)  | 120,81<br>(±25,05)  | 60,16<br>(±12,54)   | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
| MPT ( $\text{mg.L}^{-1}$ )                                 | 16,69<br>(±2,06)      | 13,53<br>(±6,49)    | 14,82<br>(±5,10)   | 17,84<br>(±9,43)    | 12,18<br>(±4,75)    | 17,24<br>(±2,76)      | 12,10<br>(±6,79)     | 8,95<br>(±1,53)     | 12,13<br>(±6,48)    | 9,37<br>(±3,60)     | 16,67<br>(±3,53)     | 9,64<br>(±0,58)       | 16,32<br>(±4,79)    | 10,93<br>(±1,92)    | 9,23<br>(±0,92)     | ns                     | ns    | ns        |
| Razão LuzPeri:NID                                          | 1442,79<br>(±1747,48) | 192,99<br>(±17,12)  | 169,68<br>(±7,54)  | 64,88<br>(±13,84)   | 35,45<br>(±8,66)    | 4968,34<br>(±7266,85) | 801,88<br>(±82,32)   | 459,46<br>(±43,92)  | 273,39<br>(±111,20) | 128,09<br>(±32,33)  | 350,36<br>(±221,77)  | 997,38<br>(±613,13)   | 664,20<br>(±27,45)  | 396,45<br>(±287,65) | 100,71<br>(±7,30)   | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
| Razão LuzPeri:PO4                                          | 995,02<br>(±261,85)   | 447,02<br>(±249,33) | 230,96<br>(±31,60) | 280,73<br>(±148,21) | 45,68<br>(±19,18)   | 2810,93<br>(±1064,64) | 941,61<br>(±116,75)  | 473,66<br>(±126,86) | 529,60<br>(±380,29) | 120,92<br>(±83,50)  | 1295,21<br>(±127,84) | 1907,02<br>(±1095,17) | 988,16<br>(±473,68) | 815,59<br>(±340,50) | 289,40<br>(±176,57) | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |
| Razão LuzPeri:PT                                           | 191,45<br>(±60,75)    | 34,84<br>(±14,12)   | 28,67<br>(±9,47)   | 14,51<br>(±7,42)    | 6,93<br>(±1,67)     | 396,96<br>(±187,47)   | 137,26<br>(±78,96)   | 123,86<br>(±52,70)  | 76,23<br>(±46,66)   | 36,78<br>(±17,55)   | 347,46<br>(±42,38)   | 276,02<br>(±95,03)    | 109,89<br>(±26,61)  | 113,63<br>(±40,01)  | 58,83<br>(±40,66)   | <0,05                  | <0,05 | ns        |
| Biomassa Fitoplâncton ( $\mu\text{g.m}^{-3}$ )             | 5,92<br>(±5,91)       | 32,18<br>(±30,91)   | 4,16<br>(±4,01)    | 16,36<br>(±18,58)   | 9,51<br>(±12,79)    | 5,42<br>(±3,67)       | 63,17<br>(±57,66)    | 17,84<br>(±8,62)    | 49,26<br>(±61,31)   | 24,93<br>(±26,87)   | 2,95<br>(±1,58)      | 20,35<br>(±12,91)     | 29,55<br>(±11,72)   | 28,74<br>(±15,99)   | 13,09<br>(±1,07)    | ns                     | ns    | ns        |
| Sombreamento ( $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$ )      | 0,00<br>(±0,00)       | 0,00<br>(±0,00)     | 85,09<br>(±27,72)  | 106,70<br>(±1,65)   | 160,00<br>(±44,33)  | 0,00<br>(±0,00)       | 0,00<br>(±0,00)      | 297,50<br>(±32,24)  | 449,83<br>(±105,94) | 731,81<br>(±35,21)  | 0,00<br>(±0,00)      | 0,00<br>(±0,00)       | 90,77<br>(±5,29)    | 194,03<br>(±109,45) | 320,89<br>(±100,30) | <0,05                  | <0,05 | <0,05     |

### 3.3 Atributos da estrutura do Perifíton

A análise das características estruturais da comunidade perifítica (clorofila *a*, MSLC, densidade total, biovolume total, riqueza de espécies e índice de Shannon) mostra que houve diferenças significativas. Todas as características mostraram diferenças temporais, exceto o biovolume total. A interação dos fatores foi significativa para a MSLC, densidade total, riqueza de espécies e índice de Shannon (teste de Tukey  $p < 0,05$ , Figura 2A-F, Tabela 3).

Os valores médios da clorofila *a*, da MSLC e da densidade total do perifíton no 7º dia (início do processo de colonização) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Tais variáveis apresentaram diferença significativa entre o tratamento aberto e os demais no 14º dia. Já no 21º dia, a média da clorofila *a*, MSLC e densidade total nos tratamentos aberto, parcialmente sombreado e sombreado foram diferentes do controle e do tratamento fortemente sombreado.

No 7º dia (início da colonização), a média do biovolume total não foi significativamente diferente entre tratamentos e controle. Contudo, um pico de biovolume foi observado no tratamento fortemente sombreado, ocasionado pela elevada abundância de *Peridinium gatunense*. Para o 14º dia, o biovolume total no tratamento aberto foi diferente dos demais tratamentos e do controle. No 21º dia (estágio mais avançado da colonização), todos os tratamentos diferiram significativamente do controle, e mostram tendência de queda associada a diminuição da incidência luminosa.

Em relação à média da riqueza de espécies também ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos e no tempo. No 7º dia de amostragem, a riqueza no tratamento aberto e o fortemente sombreado foram significativamente diferentes dos demais tratamentos e do controle. Apesar da tendência observada no 7º dia se manter, não houve diferenças significativas entre tratamentos e tempo no 14º e no 21º dia.

A diversidade de espécies, mensurada pelo índice de Shannon, apresentou diferenças significativas nos tratamentos, no tempo e na interação desses fatores. Para o 7º dia, houve diferença do tratamento aberto, em função dos demais tratamentos e do controle. No 14º dia, a riqueza nos tratamentos aberto, parcialmente sombreado e sombreado diferiu do controle, e a média no tratamento fortemente sombreado diferiu dos demais tratamentos e do controle. Já no 21º dia, a média da riqueza em todos os tratamentos diferiu do controle.

Tabela 3. Resultados da RM-ANOVA de 2 Fatores para detecção de diferença significativa da média dos atributos estruturais do perifíton entre tratamentos, tempo e a interação destes fatores.

|                            | Tratamento | Tempo    | Interação |
|----------------------------|------------|----------|-----------|
| Atributo                   | <i>p</i>   | <i>p</i> | <i>p</i>  |
| Clorofila <i>a</i>         | 0,021      | <0,001   | 0,127     |
| Massa Seca Livre de Cinzas | 0,042      | <0,001   | 0,006     |
| Densidade Total            | 0,031      | <0,001   | 0,003     |
| Biovolume Total            | 0,019      | 0,634    | 0,163     |
| Riqueza                    | 0,046      | 0,013    | 0,006     |
| Índice de Shannon          | <0,001     | <0,001   | 0,019     |

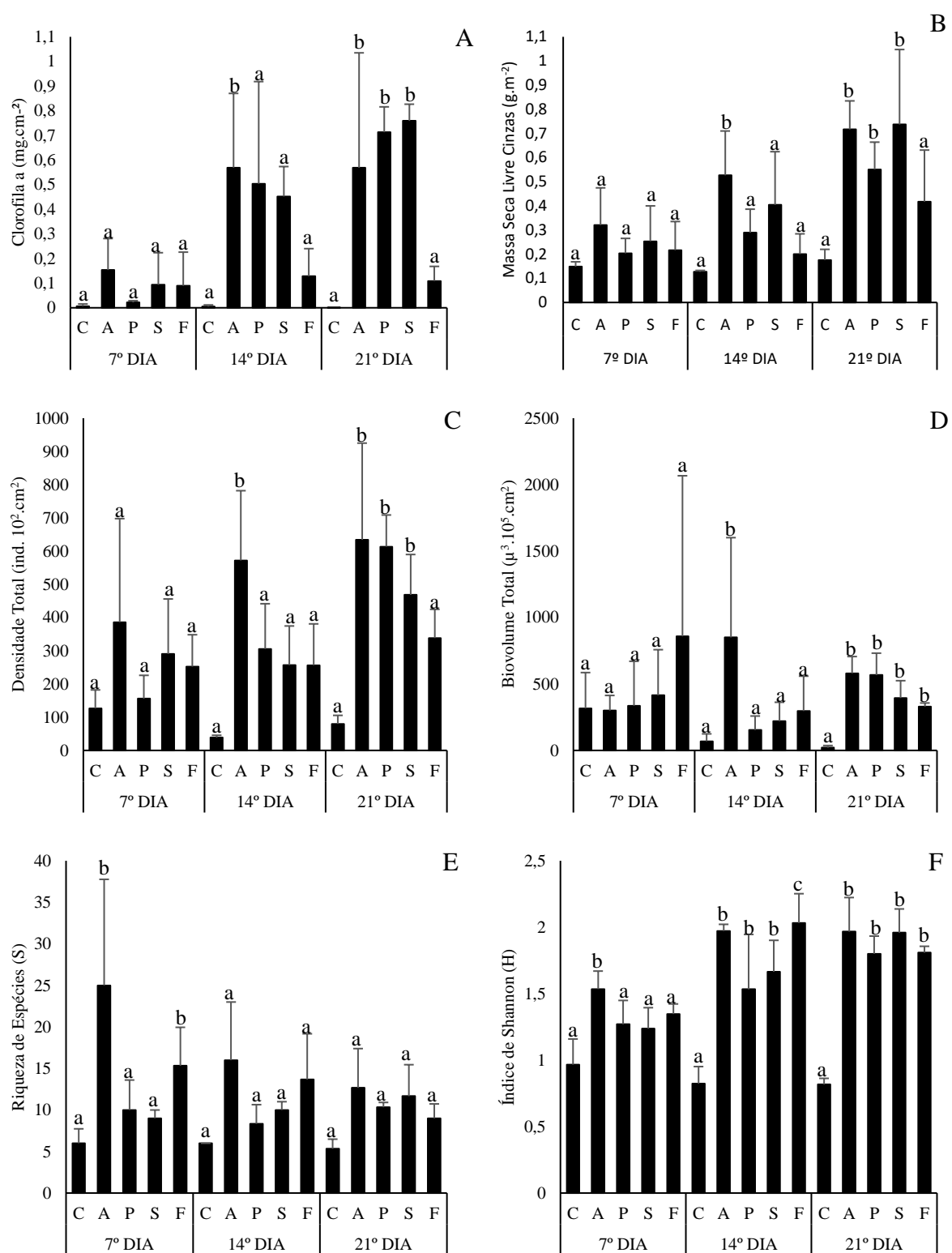


Figura 2. Variação dos valores médios (n=3, ± DP) da clorofila *a* (A), massa seca livre de cinzas (B), densidade total (C), biovolume total (D), riqueza de espécies (E) e diversidade de espécies (F) nos tratamentos durante o período experimental (C- controle, A- aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado). Tratamentos indicados com mesma letra apresenta valor médio sem diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.3 Estrutura taxonômica da comunidade de algas perifíticas

Foram identificadas 94 espécies de algas perifíticas nos tratamentos durante o período experimental (Anexo I). Deste total, em todo o experimento, 29 espécies foram identificadas no controle, 70 espécies no tratamento aberto, 32 espécies no tratamento parcialmente sombreado, 30 espécies no tratamento sombreado e 43 espécies no tratamento fortemente sombreado.

A estrutura taxonômica em termos de densidade algal (PERMANOVA 2 Fatores) apresentou diferenças significativas entre tratamentos ( $F=5,48$ ,  $p<0,05$ ) e no tempo ( $F=5,03$ ,  $p<0,05$ ), porém sem interação destes fatores ( $F=1,21$ ,  $p=0,16$ ).

A análise de agrupamento realizada com a matriz de densidade com 94 espécies de algas perifíticas mostrou a formação de dois grupos maiores ao nível de 40% de similaridade: controles e demais tratamentos (Figura 3). Verificou-se a formação de um agrupamento dos tratamentos com baixa luminosidade (50% e 25%) ao nível de 75% de similaridade. O coeficiente cofenético foi de 0,9099 pouca distorção na formação do dendrograma.

Foram consideradas espécies descritoras, aquelas que representavam mais de 10% da densidade total da amostra. Foi possível identificar 11 espécies descritoras da comunidade de algas perifíticas nos diferentes tratamentos no período experimental (Tabela 4, Figura 4). *Chromulina* cf. *elegans* foi a espécie dominante comum a todos os tratamentos e em todos os dias de amostragem. *Chromulina* cf. *elegans* e *Chromulina* cf. *pygmaea* foram espécies dominantes no controle no 7º dia, enquanto no 14º e 21º dia essas espécies foram substituídas por outras espécies, tais como *Gomphonema* sp., *Eunotia pseudosudetica*, *Monoraphidium griffithii* e *Chlamydomonas epibiotica*.

Chlorophyceae, Zygnematophyceae e Bacillariophyceae foram as classes algais mais representativas em todos os tratamentos (Figura 5). A classe Zygnematophyceae apresentou redução de sua contribuição nos tratamentos com redução de luz (P, S e F tratamentos) no período mais avançado da colonização



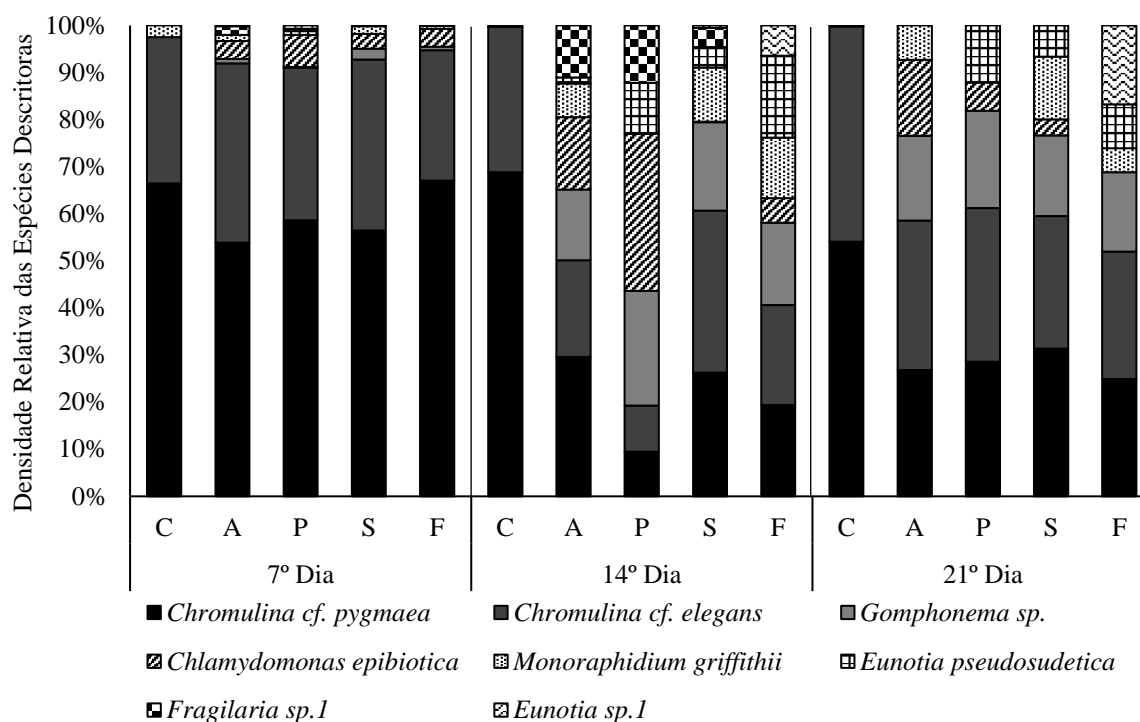


Figura 4. Variação da densidade relativa das espécies descritoras de algas perifíticas (n = 3) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C- controle, A- aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado).

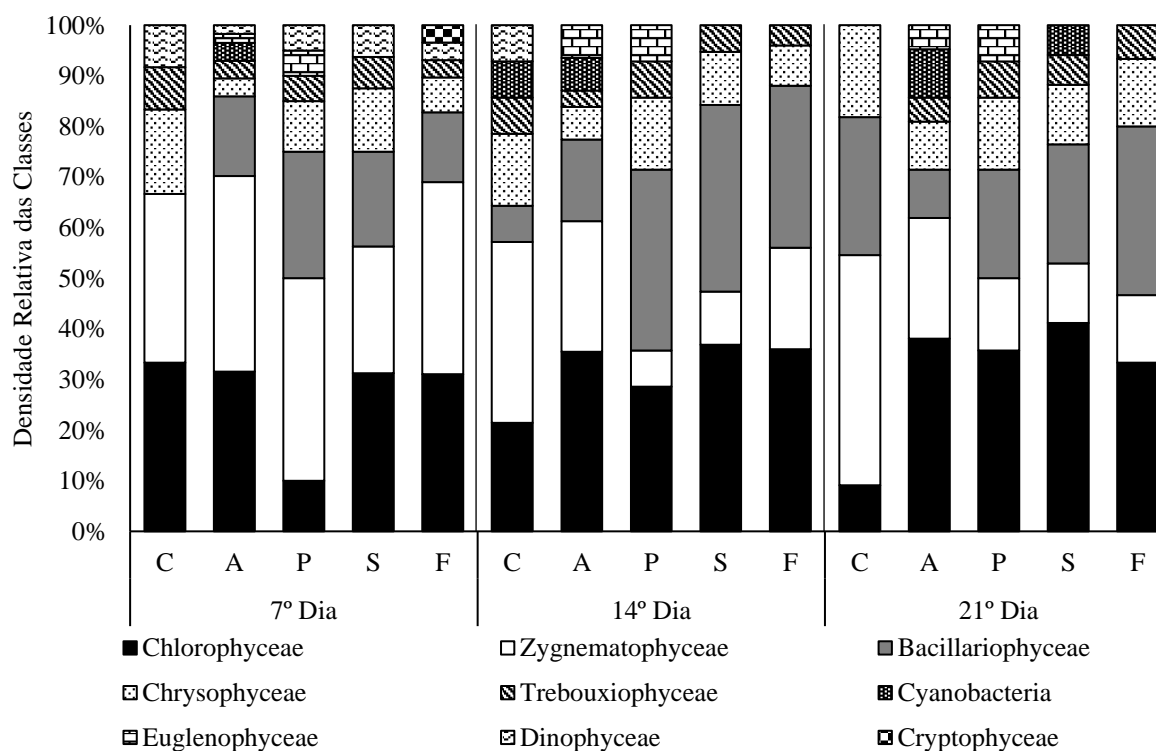


Figura 5. Variação da densidade relativa das classes algais no perifíton (n = 3) nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental (C- controle, A- aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado).

A análise de redundância (RDA) foi realizada com a matriz de densidade de espécies (> 0,5% da densidade total, Tabela 6) e 6 variáveis abióticas (Figura 6, Tabela 5). A soma das explicabilidade dos dois primeiros eixos foi de 26,4%. A ordenação das variáveis bióticas e abióticas mostrou que as espécies dos controles e do 7º dia de amostragem foram associadas aos menores valores do coeficiente de atenuação da luz (CoALuz) e maiores valores de (CO<sub>2</sub>) no lado negativo do eixo 1. No lado positivo do eixo 1, as espécies relacionadas aos tratamentos do 14º e 21º dia de amostragem foram associadas aos baixos valores de CO<sub>2</sub> livre e de material particulado em total (MPT). A ordenação das variáveis bióticas e abióticas mostrou que as espécies dos tratamentos do 7º dia de amostragem e a maioria dos tratamentos do 14º dia de amostragem foram associadas aos maiores valores de fósforo total (PT) e nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) no lado positivo do eixo 2. No lado negativo do eixo 2, as espécies dos controles e dos tratamentos sombreados (14º e 21º dia) e aberto (14º dia) foram associadas aos maiores valores do coeficiente de atenuação de luz (CoALuz) e material particulado em suspensão (MPT).

As espécies mais associadas aos controles foram *Cosmarium margaritatum*, *Staurostrum triangularis*, *Chroococcus minutus* e *Scenedesmus ecornis*. A espécie mais associada aos tratamentos com atenuação de luz no 7º dia de amostragem foi *Peridinium gatunense*. No 7º dia, *Chlamydomonas sordida* e *Chlamydomonas planctogloea* foram associadas ao tratamento aberto e *Closterium cf. incurvum*, *Closterium diana*, *Pleurotaenium cf. caldense* e *Eunotia sp.2* foram associadas aos tratamentos parcialmente e fortemente sombreado. No 14º dia, *Coelastrum astroideum* foi mais associada aos tratamentos aberto e sombreado. *Scenedesmus acutus* foi mais associada ao tratamento parcialmente sombreado. *Chlamydomonas sagittula* foi mais associada ao tratamento fortemente sombreado. No 21º dia, *Oedogonium sp.*, foi mais associada ao tratamento aberto. *Chlamydomonas epibiotica* foi mais associada ao tratamento parcialmente sombreado. *Ankistrodesmus fusiformis* foi mais associada ao tratamento sombreado e *Gomphonema sp.* foi mais associada ao tratamento fortemente sombreado. Se consideramos cada tratamento em todo o período experimental, *Chlamydomonas sordida*, *Coelastrum astroideum* e *Oedogonium sp.* foram mais associadas ao tratamento aberto. *Peridinium gatunense*, *Closterium diana*, *Scenedesmus acutus* e *Chlamydomonas epibiotica* foram mais associadas ao tratamento parcialmente sombreado. *Peridinium gatunense*, *Coelastrum astroideum* e *Ankistrodesmus fusiformis* foram mais associadas ao tratamento sombreado. *Closterium cf. incurvum*, *Pleurotaenium cf. caldense*, *Eunotia sp.2*, *Chlamydomonas sagittula* e *Gomphonema sp.* foram mais associadas ao tratamento fortemente sombreado.



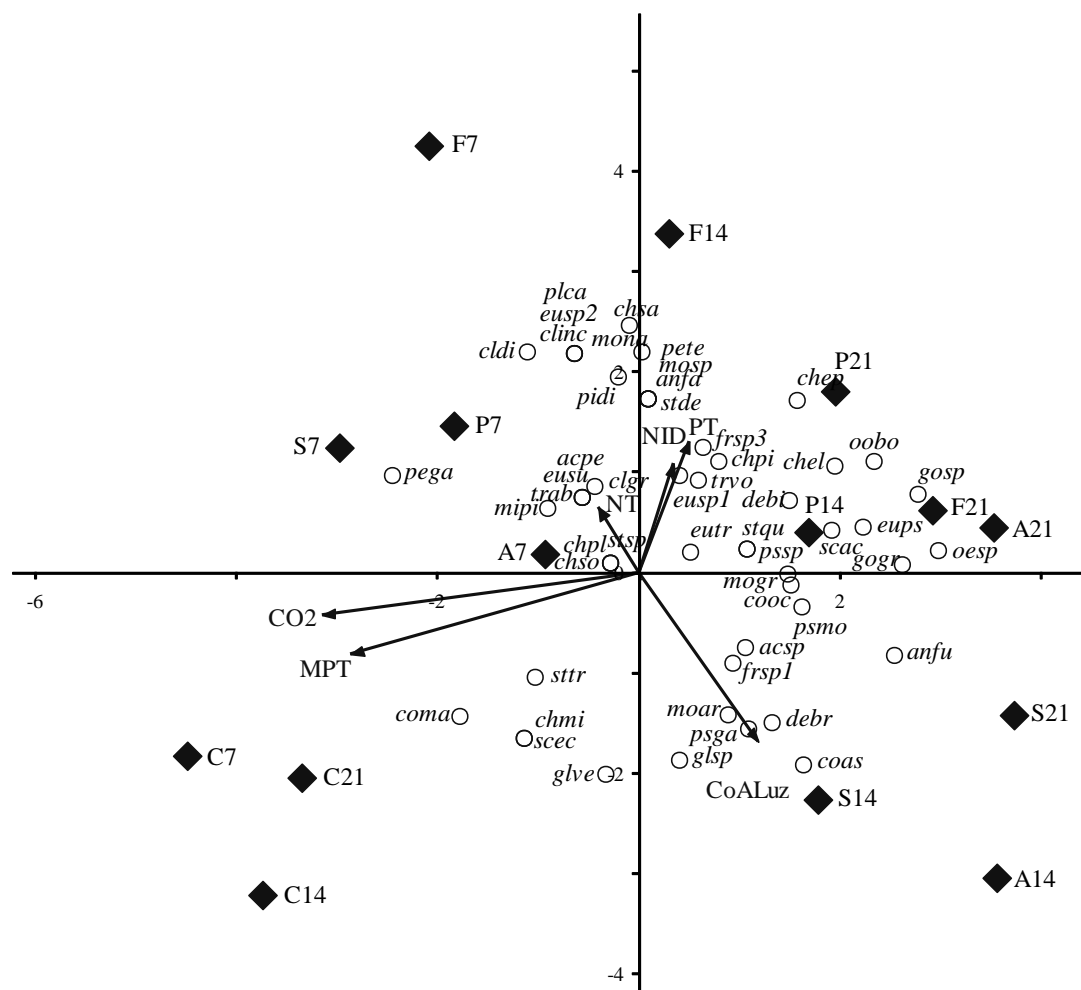


Figura 6. Análise de Redundância (RDA) da densidade das espécies (> 0,5% da densidade total) e 6 variáveis abióticas nos tratamentos com diferenças na disponibilidade de luz no período experimental. Abreviações: C – controle, A – aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado, números indicam data de amostragem. Abreviações dos vetores, conforme Tabela 5 e das espécies conforme Tabela 6.

Tabela 5. Correlação das variáveis com os eixos 1 e 2 da RDA, e abreviações utilizadas.

| Variável                             | Código | Correlações |        |
|--------------------------------------|--------|-------------|--------|
|                                      |        | Eixo 1      | Eixo 2 |
| Carbono Orgânico Livre               | CO2    | -0,818      | -0,141 |
| Coefficiente de Atenuação de Luz (%) | CoALuz | 0,308       | -0,566 |
| Fósforo Total                        | PT     | 0,13        | 0,441  |
| Material Particulado em Suspensão    | MPT    | -0,745      | -0,27  |
| Nitrogênio Inorgânico Dissolvido     | NID    | 0,091       | 0,367  |
| Nitrogênio Total                     | NT     | -0,103      | 0,222  |

Tabela 6. Correlação de Pearson (r) da densidade das espécies (mais de 0,5% da densidade da amostra) da comunidade de algas perifíticas com os eixos 1 e 2 da RDA, bem como os valores médios da densidade total das espécies (n=3). Abreviações: C – controle, A – aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado.

| Espécies                              | Código | r de Pearson |        | Densidade Total |       |      |       |       |         |       |      |      |      |         |       |       |       |      |
|---------------------------------------|--------|--------------|--------|-----------------|-------|------|-------|-------|---------|-------|------|------|------|---------|-------|-------|-------|------|
|                                       |        |              |        | 7º Dia          |       |      |       |       | 14º Dia |       |      |      |      | 21º Dia |       |       |       |      |
|                                       |        | Eixo 1       | Eixo 2 | C               | A     | P    | S     | F     | C       | A     | P    | S    | F    | C       | A     | P     | S     | F    |
| <i>Achnanthidium</i> sp.              | acsp   | 0,328        | -0,179 | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 0       | 64    | 0    | 202  | 61   | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Actinotaenium perminutum</i>       | acpe   | -0,174       | 0,179  | 0               | 0     | 48   | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Ankistrodesmus falcatus</i>        | anfa   | 0,028        | 0,415  | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 67   | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Ankistrodesmus fusiformis</i>      | anfu   | 0,783        | -0,197 | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 0       | 601   | 0    | 354  | 112  | 0       | 591   | 0     | 365   | 328  |
| <i>Chlamydomonas epibiotica</i>       | chep   | 0,489        | 0,409  | 0               | 1207  | 929  | 837   | 805   | 0       | 7514  | 9387 | 32   | 1135 | 12      | 7985  | 3192  | 1310  | 0    |
| <i>Chlamydomonas planctogloea</i>     | chpl   | -0,088       | 0,022  | 0               | 43    | 0    | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Chlamydomonas sagitula</i>         | chsa   | -0,027       | 0,59   | 0               | 3217  | 290  | 494   | 1321  | 0       | 0     | 164  | 0    | 0    | 0       | 2052  | 537   | 0     | 0    |
| <i>Chlamydomonas sordida</i>          | chso   | -0,088       | 0,022  | 0               | 285   | 0    | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Chromulina</i> cf. <i>elegans</i>  | chel   | 0,6          | 0,251  | 3591            | 12054 | 4404 | 9767  | 5876  | 1142    | 10022 | 2752 | 7804 | 4572 | 3552    | 15807 | 17345 | 10719 | 7858 |
| <i>Chromulina</i> cf. <i>pygmaea</i>  | chpi   | 0,246        | 0,264  | 7689            | 17067 | 7975 | 15174 | 14224 | 2544    | 14459 | 2670 | 5948 | 4175 | 4208    | 13326 | 15205 | 11944 | 7236 |
| <i>Chroococcus</i> cf. <i>minutus</i> | chmi   | -0,353       | -0,394 | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 8       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Closterium</i> cf. <i>gracille</i> | clgr   | -0,133       | 0,205  | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 8       | 0     | 0    | 0    | 90   | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Closterium</i> cf. <i>incurvum</i> | clinc  | -0,198       | 0,52   | 0               | 0     | 0    | 0     | 35    | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Closterium diana</i>               | cldi   | -0,34        | 0,525  | 0               | 0     | 0    | 40    | 127   | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Coelastrum astroideum</i>          | coas   | 0,505        | -0,458 | 0               | 0     | 0    | 167   | 0     | 8       | 344   | 0    | 193  | 0    | 9       | 278   | 0     | 301   | 117  |
| <i>Cosmarium margaritatum</i>         | coma   | -0,548       | -0,344 | 34              | 0     | 0    | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 18      | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Cosmarium ocellatum</i>            | cooc   | 0,469        | -0,031 | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 8       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 589   | 335   | 494   | 0    |
| <i>Desmodesmus bicaudatus</i>         | debi   | 0,462        | 0,17   | 0               | 0     | 0    | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 161  | 291  | 0       | 557   | 0     | 0     | 305  |
| <i>Desmodesmus brasiliensis</i>       | debr   | 0,409        | -0,358 | 0               | 134   | 0    | 0     | 0     | 0       | 659   | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 322   | 0    |
| <i>Eunotia</i> cf. <i>sudetica</i>    | eusu   | -0,174       | 0,179  | 0               | 0     | 339  | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0       | 0     | 0     | 0     | 0    |
| <i>Eunotia pseudosudetica</i>         | eups   | 0,69         | 0,107  | 0               | 0     | 176  | 0     | 0     | 0       | 595   | 3044 | 954  | 3737 | 0       | 0     | 6449  | 2535  | 2713 |
| <i>Eunotia</i> sp.1                   | eusp1  | 0,127        | 0,231  | 0               | 54    | 95   | 0     | 0     | 0       | 0     | 0    | 115  | 1382 | 9       | 0     | 0     | 0     | 4862 |



## 4 Discussão

Os resultados mostraram o efeito da variação da incidência luminosa, associado a ausência de limitação por nutrientes sobre os atributos estruturais da comunidade perifítica (clorofila *a*, MSLC, densidade total, biovolume total, riqueza de espécies e índice de Shannon) ao longo do processo de colonização. A PERMANOVA mostrou que existe diferença significativa entre os tratamentos e o tempo, e a análise de agrupamento (UPGMA) mostrou que as espécies apresentaram estruturação taxonômica mais semelhante entre si nos tratamentos com adição de nutrientes e naqueles com os maiores níveis de sombreamento. Evidenciou-se que ambos os fatores têm um importante papel na estruturação taxonômica do componente autotrófico da comunidade perifítica, assim como encontrado por Hill *et al.* (2011).

A resposta positiva da clorofila *a*, MSLC e densidade total do perifíton reforçam a importância dos nutrientes para o desenvolvimento do perifíton, bem como indicam que a luz tem um importante papel no desenvolvimento da comunidade. Esses resultados mostraram também que o maior desenvolvimento da comunidade ocorreu nos tratamentos com adição de nutrientes, e que em situações em que a incidência luminosa foi reduzida a menos de 50%, a luz tornou-se um fator limitante. Estes resultados corroboraram os resultados encontrados por Hill *et al.* (2011) e Hill & Fanta (2008), que evidenciaram que a comunidade perifítica é co-limitada por nutriente e por luz em ecossistema lóticos, e que aparentemente surgem efeitos sinérgicos entre estes recursos, onde a disponibilidade de um favorece a utilização do outro.

Os resultados do biovolume total indicaram que no início da colonização (7º dia) mesmo com forte atenuação da luz nenhuma diferença significativa foi detectada entre tratamentos. Já com o passar do tempo, no 14º dia a comunidade apresentou biovolume maior no tratamento sem atenuação de luz e com enriquecimento. A comunidade nos estádios mais avançados de colonização apresentou os maiores valores de biovolume em condições de alta disponibilidade de N e P e luz (tratamento aberto), e tendência de diminuição com a diminuição da incidência luminosa. Esta tendência na diminuição encontrada no último dia de colonização, é uma resposta muito similar àquela encontrada por Hill *et al.* (2009), que encontraram que o biovolume algal foi menor em situações de baixa luminosidade, onde o suprimento inadequado de luz reduz a fixação de carbono.

Considerando a estrutura taxonômica, o tratamento aberto com alta disponibilidade de luz e nutrientes apresentou os maiores valores de riqueza e diversidade de espécies, mostrando que a limitação imposta pelo ecossistema foi quebrada, e que os nutrientes são fatores determinantes para a estruturação taxonômica da comunidade. Contudo, evidenciou-se também o aumento da riqueza e diversidade de espécies com o aumento da atenuação da luz (tratamento

fortemente sombreado e sombreado). Este resultado reforça os indícios de que eventos que geram maiores sombreamentos sobre a comunidade (aumento da biomassa fitoplanctônica e/ou da cobertura de macrófitas) podem favorecer maior riqueza e diversidade de espécies. Esse aumento pode ser em função do favorecimento de *fitness* adaptativos distintos, indicando que o aumento do sombreamento favorece espécies mais tolerantes a baixa luminosidade, com características mixotróficas como *Chlamydomonas sagitula*, ou características para aumentar a eficiência na captação de luz, como *Oedogonium* sp. e para espécies de diatomáceas, que não são afetadas significativamente pela limitação por luz em condição de alta disponibilidade de luz, como *Gomphonema* sp., assim como reportado por Rier *et al.* (2006) para ecossistemas lóticos.

A avaliação das espécies descritoras mostrou que *Chromulina* cf. *elegans* e *Chromulina* cf. *pygmaea* foram dominantes no início do período experimental (7 dias) em todos os tratamentos e no controle durante todo o período experimental. O gênero *Chromulina* caracteriza-se por apresentar elevada razão superfície:volume, o que permite maior absorção de nutrientes (Haphey-Wood 1988), por serem flageladas podem se movimentar na busca por melhores condições tanto de nutriente como de luz (Sommer 1988). Além disso, essas espécies são mixotróficas, podendo alternar entre autotrofia, heterotrofia e fagotrofia (Sandgren 1988, Ferragut & Bicudo 2012). Um compartilhamento maior de espécies descritoras na estruturação da comunidade foi observado no tratamento aberto e com atenuação de luz. Porém, foi possível verificar que no gradiente de luz, ou seja, do tratamento aberto até o fortemente sombreado ocorreu aumento na quantidade de espécies descritoras que contribuíram para a estruturação da comunidade. Portanto, detectou-se aumento da diversidade e riqueza de espécies. Este resultado sugere que, mesmo em condições ótimas de disponibilidade de nutrientes, a luz pode desempenhar um importante papel sobre a dinâmica da comunidade algal. Assim, a variação na incidência luminosa também tem efeito sobre a estrutura da comunidade, assim como os nutrientes, conforme reportado por Hill *et al.* (2011) para perifíton em sistema lótico.

A mudança na estrutura taxonômica foi evidenciada em nível de classes algais. Na fase mais avançada do processo de colonização (14º e 21º dia), a densidade relativa de Bacillariophyceae aumentou com o aumento do sombreamento, enquanto para Zygnematophyceae reduziu concomitantemente a contribuição. O aumento da contribuição da classe Bacillariophyceae também foi encontrado no estudo de Rier *et al.* (2006) que encontraram que a assembleia de diatomáceas sofreu poucos efeitos da limitação por luz. Estes resultados demonstram a sensibilidade da estrutura taxonômica do perifíton, em nível de classes algais, à redução da incidência luminosa.

Os resultados da análise de redundância mostraram a formação de uma guilda de espécies mais associadas ao início da colonização e dominada por espécies mixotróficas (*Chlamydomonas sordida* e *Chlamydomonas planctogloea*) e comumente encontradas no sedimento (*Peridinium gatunense*). Este resultado pode evidenciar a resposta da comunidade ao distúrbio inicial de instalação do experimento, mesmo tendo passado por um período de aclimação. No 14º dia de colonização os tratamentos com sombreamento inferior a 75% (A, P e S) apresentaram guildas de espécies dominadas por espécies sensíveis a baixa luminosidade como *Coelastrum astroideum* (Fernández *et al.* 2014). Já o tratamento com maior sombreamento apresentou espécies do gênero *Chlamydomonas* reconhecidamente mixotróficas. No 21º dia de colonização os tratamentos com sombreamento inferior a 75% apresentaram guilda de espécies caracterizada por clorofíceas, reconhecidamente de consumo luxuoso (Bolier *et al.* 1992). Já no tratamento com 25% de luz, a guilda associada foi dominada por diatomáceas, que conforme reportado por Rier *et al.* (2006), tendem a sofrer menos em condições de limitação por luz. Portanto, o aumento do sombreamento favoreceu o aumento de espécies R-estrategistas e mixotróficas.

Corroborando a primeira hipótese do presente trabalho, os resultados mostraram que o enriquecimento combinado por N e P e com elevada incidência luminosa favoreceu o aumento do incremento de biomassa (como encontrado no Capítulo 1 desta dissertação), da densidade, riqueza e diversidade de espécies. Contudo, a redução na disponibilidade luz a partir de 25% causou mudanças significativas nos atributos da comunidade e modificou a estrutura taxonômica em termos de composição de espécies, densidade de espécies, biovolume algal, espécies descritoras e classes algais em condições de alta disponibilidade de nutrientes. Mudanças mais evidentes na estrutura taxonômica foram detectadas quando atenuação da luz foi superior a 50% e a 75%. Além disso, a organização da estrutura da comunidade variou conforme o tempo de colonização e os níveis de sombreamento empregados em cada tratamento.

A segunda hipótese do trabalho, de que a mudança da razão luz:nutrientes pela atenuação da luz pode ser indicativa do maior incremento de biomassa e alterações na estrutura taxonômica no perifíton, foi parcialmente corroborada, uma vez que concomitantemente a diminuição da razão luz:nutrientes ocorreu a diminuição da biomassa da comunidade perifítica. Quanto às alterações na estrutura taxonômica, a redução da razão luz:nutrientes levou a mudanças na estrutura taxonômica da comunidade, mudanças estas em função das características adaptativas das espécies e classes algais presentes.

Por fim, conclui-se que os efeitos interativos e sinérgicos entre a disponibilidade de nutrientes e de luz atuaram sobre a comunidade perifítica, mostrando que os dois fatores atuam

fortemente no desenvolvimento da comunidade, e que a presença de um recurso favorece a utilização do outro. Estas alterações foram claramente evidenciadas pelas respostas do perifíton à diminuição da razão luz:nutriente com o aumento do sombreamento.

## ANEXO

Anexo 1. Lista de ocorrência das espécies por tratamento, e abreviação do nome das espécies utilizado nas análises multivariadas. Símbolos: X – ocorrência da espécie no tratamento. Letras em maiúsculo referem-se à ocorrência exclusiva da espécie no tratamento. Abreviações: C- controle, A- aberto, P – parcialmente sombreado, S – Sombreado e F – fortemente sombreado.

| Espécies                                                                             |       | Tratamento |   |   |   |   |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------|---|---|---|---|
|                                                                                      |       | C          | A | P | S | F |
| Bacillariophyceae                                                                    |       |            |   |   |   |   |
| <i>Achnantheidium</i> sp.                                                            | acsp  |            | X |   | X | X |
| <i>Eunotia pseudosudetica</i> Metzeltin, Lange-Bertalot & García-Rodríguez           | eups  |            | X | X | X | X |
| <i>Eunotia sudetica</i> Otto Müller                                                  | eusu  |            |   | P |   |   |
| <i>Eunotia</i> sp.1                                                                  | eusp1 | X          | X | X | X | X |
| <i>Eunotia</i> sp.2                                                                  | eusp2 |            |   |   |   | F |
| <i>Eunotia transfuga</i> Metzeltin & Lange-Bertalot                                  | eutr  |            | X | X |   |   |
| <i>Fragilaria</i> sp.1                                                               | frsp1 |            | X | X | X | X |
| <i>Fragilaria</i> sp.2                                                               | frsp2 |            | A |   |   |   |
| <i>Fragilaria</i> sp.3                                                               | frsp3 | X          |   |   | X | X |
| <i>Gomphonema gracile</i> Ehrenberg                                                  | gogr  | X          | X | X | X | X |
| <i>Gomphonema</i> sp.                                                                | gosp  | X          | X | X | X | X |
| <i>Pinnularia</i> cf. <i>divergens</i> W. Smith                                      | pidi  |            | X | X | X | X |
| <i>Stauroneis phoenicenteron</i> (Nitzsch) Ehrenberg                                 | stph  |            | A |   |   |   |
| <i>Stauroneis</i> sp.                                                                | stsp  |            | A |   |   |   |
| Chlorophyceae                                                                        |       |            |   |   |   |   |
| <i>Ankistrodesmus arcuatus</i> Korshikov                                             | moar  |            | A |   |   |   |
| <i>Ankistrodesmus bernardii</i> Komárek                                              | anbe  |            | A |   |   |   |
| <i>Ankistrodesmus densus</i> Korshikov                                               | ande  |            |   |   |   | F |
| <i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs                                         | anfa  |            | X |   | X | X |
| <i>Ankistrodesmus fusiformis</i> Corda                                               | anfu  |            | X |   | X | X |
| <i>Bulbochaetae</i> sp.                                                              | busp  |            | X | X |   |   |
| <i>Chlamydomonas epibiotica</i> Ettl                                                 | chep  | X          | X | X | X | X |
| <i>Chlamydomonas planctogloea</i> Skuja                                              | chpl  |            | A |   |   |   |
| <i>Chlamydomonas sagittula</i> Skuja                                                 | chsa  |            | X | X | X | X |
| <i>Chlamydomonas sordida</i> Ettl                                                    | chso  |            | A |   |   |   |
| <i>Desmodesmus armatus</i> (Chodat) E.Hegewald                                       | dear  |            | A |   |   |   |
| <i>Desmodesmus bicaudatus</i> (Dedusenko) P.M.Tsarenko                               | debi  | X          | X |   | X | X |
| <i>Desmodesmus brasiliensis</i> (Bohlin) E.Hegewald                                  | debr  |            | X |   | X |   |
| <i>Desmodesmus</i> cf. <i>denticulatus</i> (Lagerheim) S.S.An, T.Friedl & E.Hegewald | dede  |            | A |   |   |   |
| <i>Desmodesmus quadricauda</i> Turpin                                                | dequ  |            | A |   |   |   |
| <i>Desmodesmus spinosus</i> (Chodat) E.Hegewald                                      | desp  |            | A |   |   |   |
| <i>Gloeocystis</i> sp.                                                               | glsp  | X          | X |   | X |   |
| <i>Gloeocystis vesiculosa</i> Nägeli                                                 | glve  | X          | X |   | X | X |
| <i>Monoraphidium griffithii</i> (Berkeley) Komárková-Legnerová                       | mogr  | X          | X |   | X | X |
| <i>Monoraphidium nanum</i> (Ettl) Hindák                                             | mona  |            |   | X |   | X |



|                                                              |       |   |   |   |   |   |
|--------------------------------------------------------------|-------|---|---|---|---|---|
| <i>Oedogonium</i> sp.                                        | oesp  | X | X | X | X | X |
| <i>Pediastrum tetras</i> (Ehrenberg) Ralfs                   | pete  |   |   |   |   | F |
| <i>Scenedesmus acutus</i> Meyen                              | scac  |   | X | X | X | X |
| <i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat                | scec  | C |   |   |   |   |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turpin) Brébisson            | scqu  | C |   |   |   |   |
| <i>Selenastrum bibraianum</i> Reinsch                        | anbi  |   | X |   |   | X |
| <i>Tetradesmus obliquus</i> (Turpin) M.J.Wynne               | scob  |   |   |   |   | F |
| Cryptophyceae                                                |       |   |   |   |   |   |
| <i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg                           | crer  |   |   |   |   | F |
| Chrysophyceae                                                |       |   |   |   |   |   |
| <i>Chromulina</i> cf. <i>elegans</i> Doflein                 | chel  | X | X | X | X | X |
| <i>Chromulina</i> cf. <i>pygmaea</i> Nygaard                 | chpy  | X | X | X | X | X |
| Cyanophyceae                                                 |       |   |   |   |   |   |
| <i>Chroococcus minutus</i> (Kützing) Nägeli                  | chmi  | C |   |   |   |   |
| <i>Pseudanabaena</i> cf. <i>galeata</i> Böcher               | psga  |   | A |   |   |   |
| <i>Pseudanabaena</i> cf. <i>moniliformis</i> Komárek & Kling | psmo  |   | X |   | X |   |
| <i>Pseudanabaena</i> sp.                                     | pssp  |   | A |   |   |   |
| Dinophyceae                                                  |       |   |   |   |   |   |
| <i>Peridinium gatunense</i> Nygaard                          | pega  | X | X | X | X | X |
| Euglenophyceae                                               |       |   |   |   |   |   |
| <i>Trachelomonas abrupta</i> Svirenko [Swirenko]             | trab  |   |   | P |   |   |
| <i>Trachelomonas armata</i> (Ehrenberg) F.Stein              | trar  |   | X | X |   |   |
| <i>Trachelomonas hispida</i> (Perty) F.Stein                 | trhi  |   | A |   |   |   |
| <i>Trachelomonas lacustris</i> Drezepolski                   | trla  |   | A |   |   |   |
| <i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg) Ehrenberg         | trvo  |   | X | X |   |   |
| Trebouxiophyceae                                             |       |   |   |   |   |   |
| <i>Lemmermannia komarekii</i> (Hindák) C.Bock & Krienitz     | teko  |   | A |   |   |   |
| <i>Oocystis borgei</i> J.W.Snow                              | oobo  | X | X | X | X | X |
| Zygnematophyceae                                             |       |   |   |   |   |   |
| <i>Actinotaenium perminutum</i> (G.S.West) Teiling           | acpe  |   | X | X | X |   |
| <i>Closterium diana</i> Ehrenberg ex Ralfs                   | cldi  | X | X | X | X | X |
| <i>Closterium</i> cf. <i>gracile</i> Brébisson ex Ralfs      | clgr  | X | X | X |   | X |
| <i>Closterium</i> cf. <i>incurvum</i> Brébisson              | clinc |   | X |   |   | X |
| <i>Closterium</i> cf. <i>intermedium</i> Ralfs               | clint |   | A |   |   |   |
| <i>Closterium kuetzingii</i> Brébisson                       | clku  |   | A |   |   |   |
| <i>Closterium parvulum</i> Nägeli                            | clpa  |   |   |   |   | F |
| <i>Closterium setaceum</i> Ehrenberg ex Ralfs                | clse  |   |   |   | X | X |
| <i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris                      | coas  | X | X | X | X | X |
| <i>Coelastrum cruciatum</i> Schmidle                         | cocr  | X | X | X |   | X |
| <i>Cosmarium contractum</i> O.Kirchner                       | coco  |   | A |   |   |   |
| <i>Cosmarium depressum</i> Bailey                            | code  |   | A |   |   |   |
| <i>Cosmarium margaritatum</i> (P.Lundell) J.Roy & Bisset     | coma  | X |   | X |   |   |
| <i>Cosmarium ocellatum</i> Eichler & Gutwinski               | cooc  | X | X | X | X | X |
| <i>Cosmarium pachydermum</i> P.Lundell                       | copa  |   |   | X |   | X |
| <i>Cosmarium pseudoexiguum</i> Raciborski                    | cops  |   | A |   |   |   |
| <i>Cosmarium quadrifarium</i> P.Lundell                      | coqu  |   |   |   |   | F |
| <i>Cosmarium</i> cf. <i>subtumidum</i> Nordstedt             | cosu  | C |   |   |   |   |

|                                                                                 |       |    |    |    |    |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----|----|----|----|
| <i>Willea rectangularis</i> (A.Braun) D.M.John, M.J.Wynne & P.M.Tsarenko        | crre  |    | A  |    |    |    |
| <i>Euastrum ansatum</i> Ehrenberg ex Ralfs                                      | euan  | C  |    |    |    |    |
| <i>Micrasterias pinnatifida</i> Ralfs                                           | mipi  |    |    |    | S  |    |
| <i>Mougeotia</i> sp.                                                            | mosp  |    | X  |    |    | X  |
| <i>Octacanthium mucronulatum</i> (Nordstedt) Compère                            | stmu  |    |    | P  |    |    |
| <i>Pleurotaenium</i> cf. <i>caldense</i> Nordstedt                              | plca  |    |    |    |    | F  |
| <i>Spirogyra</i> sp.                                                            | spsp  |    | A  |    |    |    |
| <i>Stauroastrum</i> cf. <i>furcatum</i> Brébisson                               | stfu  |    | A  |    |    |    |
| <i>Stauroastrum laeve</i> Ralfs                                                 | stla  |    | A  |    |    |    |
| <i>Stauroastrum quadrangulare</i> Brébisson                                     | stqu  |    | X  | X  |    |    |
| <i>Stauroastrum tetracerum</i> Ralfs ex Ralfs                                   | stte  | X  | X  |    |    | X  |
| <i>Staurodesmus</i> cf. <i>convergens</i> (Ehrenberg ex Ralfs) S.Lillieroth     | stco  |    | A  |    |    |    |
| <i>Staurodesmus dejectus</i> (Brébisson) Teiling                                | stde  |    |    |    |    | F  |
| <i>Staurodesmus glaber</i> (Ralfs) Teiling                                      | stgl  | C  |    |    |    |    |
| <i>Staurodesmus octocornis</i> (Ehrenberg ex Ralfs) Stastny, Skaloud & Neustupa | ococ  | X  | X  | X  |    | X  |
| <i>Staurodesmus triangularis</i> (Lagerheim) Teiling                            | sttr  | X  | X  |    |    |    |
| <i>Staurodesmus</i> sp.1                                                        | stsp1 |    | A  |    |    |    |
| <i>Staurodesmus</i> sp.2                                                        | stsp2 |    | A  |    |    |    |
| <i>Staurodesmus</i> sp.4                                                        | stsp4 |    | A  |    |    |    |
| <i>Teilingia granulata</i> (J.Roy & Bisset) Bourrelly                           | tegr  |    | A  |    |    |    |
| Riqueza total por Tratamiento                                                   |       | 29 | 70 | 32 | 30 | 43 |
| Espécies exclusivas de cada tratamiento                                         |       | 6  | 30 | 3  | 1  | 9  |

## Conclusão Geral

De modo geral, verificamos os efeitos do enriquecimento isolado e combinado por N e P e os efeitos combinados da luz e dos nutrientes sobre os atributos estruturais do perifíton e estrutura taxonômicas da comunidade de algas perifíticas.

No primeiro experimento, a avaliação conjunta dos resultados da clorofila *a* e da razão molar N:P mostrou que perifíton apresentou colimitação, tendo o fósforo como nutriente limitante primário. As respostas da biomassa perifítica apresentou íntima relação com a razão luz:fósforo total, ressaltando a importância da inclusão da mensuração da luz nas amostragens do perifíton.

No segundo experimento, verificou-se a disponibilidade de luz tem um importante papel no desenvolvimento da comunidade perifítica, juntamente com a disponibilidade de nutrientes. Assim podemos afirmar que o perifíton pode ser limitado tanto pela luz quanto pelos nutrientes na região tropical, onde a disponibilidade de luz é teoricamente elevada. Assim, as avaliações da comunidade perifítica devem levar em consideração estes dois importantes fatores, bem como seus efeitos interativos e sinérgicos para o desenvolvimento da comunidade.

Por fim, concluímos que os estudos da comunidade perifítica, incluam a luz dentre as variáveis avaliadas, uma vez que quando a incidência luminosa é reduzida e a comunidade responde de forma diferente à quando exposta a diferentes intensidades de luminosidades. A avaliação da luz para a comunidade perifítica torna-se essencial em ecossistemas rasos com elevada abundância de macrófitas, que podem facilmente atingir sombreamentos superiores a 75% no ecossistema, ou em ecossistemas em desequilíbrio e dominados pela comunidade fitoplancônica. Tornando a luz um fator limitante para o desenvolvimento da comunidade, mesmo em situação de disponibilidade de nutrientes.

Sugerimos ainda que trabalhos futuros abordem essa temática da interação destes dois importantes recursos para a comunidade perifítica, particularmente a identificação da razão luz-nutriente ideal para o desenvolvimento da comunidade de algas perifíticas. Abordagens experimentais sejam executadas a fim de testar as variações interativas dos efeitos destes recursos sobre as algas perifíticas.

## Referências Bibliográficas

- Andersen, J.M. 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Research* 10: 329-331.
- APHA, AWWA & WEF. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- APHA, AWWA & WEF. 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Araújo, A. & Bicudo, C.E.M. 2006. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 22: Zygnemaphyceae (gêneros *Actinotaenium*, *Cosmarium* e *Heimansia*). *Hoehnea* 33: 219-237.
- Azevedo, M.T.P., Nogueira, N.M.C. & Sant'Anna, C.L. 1996. Criptógamas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 8: Cyanophyceae. *Hoehnea* 23: 1-38.
- Bergey, E.A. 2008. Does rock chemistry affect periphyton accrual in streams? *Hydrobiologia* 614: 141- 150.
- Bicudo, D.C. 1996. Algas epífitas do Lago das Ninféias, São Paulo, Brasil, 4: Chlorophyceae, Oedogoniophyceae e Zygnemaphyceae. *Revista Brasileira de Biologia* 56: 345-374.
- Bicudo, C.E.M., Sormus, L. & Schetty, S.P. 1998. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 11: Zygnemaphyceae (Desmidiaceae, 1: *Haplotaenium*, *Pleurotaenium*, *Tetmemorus* e *Triploceras*). *Hoehnea* 25: 33-43.
- Bicudo, C.E.M., Sormus, L. & Schetty, S.P. 1999. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 12: Zygnemaphyceae (Desmidiaceae, 2: *Desmidium*, *Groenbladia*, *Hyalotheca*, *Spondylosium* e *Teilingia*). *Hoehnea* 26: 75-85.
- Bicudo, C.E.M., Carmo, C.F., Bicudo, D.C., Henry, R., Pião, A.C.S., Santos, C.M. & Lopes, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. In: Bicudo, D.C., Forti, M.C. & Bicudo, C.E.M. (eds.). *Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo*. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, p. 141-158.
- Bicudo, C.E.M., Bicudo, D.C., Ferragut, C., Lopes, M.R.M. & Pires, P.R. 2003. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 17: Chrysophyceae. *Hoehnea* 30: 127-153.
- Biggs, B.J.F. 1996. Patterns in benthic algae of streams. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego, USA: p.31 - 56.

- Biggs, B.J.F. 2000. Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient-chlorophyll relationships for benthic algae. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 17-31.
- Birks, H.J.B. 2010. Numerical methods for the analysis of diatom assemblage data. In: J.P. Smol & E.F. Stoermer (eds). *The diatoms: Applications for the Environmental and Earth Science*, 2° ed. Editora Cambridge University Press, pp. 23-54.
- Bolier, G., De Koningh, M. C. J., Schmale, J. C., & Donze, M. 1992. Differential luxury phosphate response of planktonic algae to phosphorus removal. *Hydrobiologia*, 243:1:113-118.
- Borduqui, M & Ferragut, C. 2012. Factors determining periphytic algae succession in a tropical hypereutrophic reservoir. *Hydrobiologia* (The Hague. Print), v. 683, p. 109-122.
- Bothwell, M. L. 1985. Phosphorus limitation of lotic periphyton growth rates: An intersite comparison using continuous flow troughs (Thompson River System, British Columbia). *Limnology and Oceanography* 30:527-554.
- Burkholder, J.M. & Wetzel, R.G. 1990. Epiphytic alkaline phosphatase on natural and artificial plants in an oligotrophic lake: Re-evaluation of the role of macrophytes as a phosphorus source for epiphytes. *Limnology and Oceanography* 35: 736-747.
- Burkholder, J. M., 1996. Interactions of benthic algae with their substrata. In: Stevenson, R.J., Bothwell M.L. & Lowe R.L. (eds), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*. Academic Press, San Diego, USA: 253–297.
- Carignan, R. & Kalff J. 1980. Phosphorus sources for aquatic weeds: water or sediments? *Science* 207: 987–989.
- Cao Y., Olsen S. Gutierrez. F., Brucet S., Davidson T.A. Li W., Lauridsen T.L., Søndergaard M. & Jeppesen E. 2017. Temperature effects on periphyton, epiphyton and epipelton under a nitrogen pulse in low-nutrient experimental freshwater lakes. *Hydrobiologia*. 795:267-279.
- Carpenter S.R., Cole J.J., Hodgson J.R., Kitchell J.F., Pace M.L., Bade D., Cottingham K.L., Essington T.E., Houder J.N. & Schindler D.E. 2001. Trophic cascades, nutrients, and lake productivity: whole-lake experiments. *Ecological Monographs* 71: 163–186.
- Carpenter S.R., Kitchell J.F., Hodgson J.R., Cochran P.A., Elser J.J., Elser M.M., Lodge D.M., Kretchmer D., He X. & Vonende C.N. 1987. Regulation of lake primary productivity by food web structure. *Ecology* 68:1863– 1876.
- Carrick, H.J. & Lowe, R.L. 1988. Response of Lake Michigan benthic algae to in situ enrichment with Si, N and P. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 45: 271-279.

- Casartelli, M.R.; & Ferragut, C. 2017. The effects of habitat complexity on periphyton biomass accumulation and taxonomic structure during colonization. *HYDROBIOLOGIA*, v. 807, p. 233-246.
- Casartelli, M.R.; Lavagnolli, G.J. & Ferragut, C. 2016. Periphyton biomass accrual rate changes over the colonization process in a shallow mesotrophic reservoir. *Acta Limnologica Brasiliensia* (Online), v. 28, p. 9.
- Cerrao, G.C., Moschini, V.M., Santos M.J. & Rigolin, O. 1991. Efeito do enriquecimento artificial sobre a biomassa do perifiton em tanques artificiais na Represa do Lobo ("Broa"). *Rev. Brasil. Biol.*, v.51, p.71-78, 1991.
- Conti, J.B. & Furlan, S.A. 2003. Geoecologia: o clima, os solos e a biota. Pp. 67-237. In: Ross, J.L.S. (Org.). *Geografia do Brasil*. São Paulo, EDUSP.
- Cross W.F., Benstead J.P., Frost P.C. & Thomas S.A. 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: Recent progress and perspectives. *Freshwater Biology* 50(5):1895-1912.
- Danger, M., Lacroix, G., Oumarou, C., Benets, D. & Mériquet, J. 2008. Effects of food-web structure on periphyton stoichiometry in eutrophic lakes: a mesocosm study. *Freshwater Biology* 53:2089–2100.
- DeNicola, D.M., Eyto, E., Wemaere, A. & Irvine, K. 2006. Periphyton responses to nutrient addition in 3 lakes of different benthic productivity. *Journal of the North America Benthological Society* 25:3:616-613.
- Dodds, W.K., Smith, V.H. & Lohman, K. 2002. Nitrogen and phosphorus relationships to benthic algae biomass in temperate streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:5:865-874.
- Downing J.A., Plante C. & Lalonde S. 1990. Fish production correlated with primary productivity, not the morphoedaphic index. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47:1929–1936.
- Dodds, W.K., Smith, V.H. & Zander B. 1997. Developing nutrient targets to control benthic chlorophyll levels in streams: a case study of the Clark Fork River. *Water Research* 31:1738-1750.
- Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.H., Soto, D., Stiassny, M.L.J. & Sullivan, C.A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Review* 81:163-182.
- Elser J.J., Marzolf E.R. & Goldman C.R. 1990. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of

- experimental enrichments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47:1468–1477.
- Engle, D.L. & Melack, J.M. 1993. Consequences of riverine flooding for seston and the periphyton of floating meadows in a Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography*, v.38, n°.7, p.1500-1520.
- Eriksson, B.K., Rubach, A. & Hillebrand, H. 2007. Dominance by a canopy forming seaweed modifies resource and consumer control of bloom-forming macroalgae. *Oikos* 116:1211–1219.
- Fanta, S.E., Hill, W.R., Smith, T.B. & Roberts, B.J. 2010. Applying the light:nutrient hypothesis to stream periphyton. *Freshwater Biology* 55:931–940.
- Fermino, F.S., Bicudo, C.E.M & Bicudo, D.C. 2011. Seasonal influence of nitrogen and phosphorus enrichment on the floristic composition of the algal periphytic community in a shallow tropical, mesotrophic reservoir (São Paulo, Brazil). *Oecologia Australis* 15:476-493.
- Fernández, C., Cáceres, E.J. & Parodi, E.R. 2014. Phytoplankton Development in a Highly Eutrophic man-made Lake From the Pampa plain of Argentina – a functional Approach. *International Journal of Environmental Research* 8:1:1-14.
- Ferragut, C., Lopes, M.R.M., Bicudo, D.C., Bicudo, C.E.M. & Vercellino, I.S. 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). *Hoehnea* 32:137-184.
- Ferragut, C. & Bicudo, D.C. 2009. Efeito de diferentes níveis de enriquecimento por fósforo sobre a estrutura da comunidade perifítica em represa oligotrófica tropical (São Paulo, Brasil). *Revista Brasileira de Botânica* 32:571-585.
- Ferragut, C. & Bicudo, D.C. 2010. Periphytic algal community adaptive strategies in N and P enriched experiments in a tropical oligotrophic reservoir. *Hydrobiologia* 646:295-309.
- Ferragut, C., Rodello, A.F. & Bicudo, C.E.M. 2010. Seasonal variability of periphyton nutrient status and biomass on artificial and natural substrates in a tropical mesotrophic reservoir. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22:4:397-409.
- 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., Bicudo, D.C. & Vercellino, I.S. 2013. Amostragem e medidas de estrutura da comunidade perifítica. In: Schwarzbald, A., Burliga, A. & Torgan, L.C. (eds.). *Ecologia do perifíton*. Rima, São Carlos. p.157–177.

- Fonseca, B. M. & Bicudo, C. E. M. 2010. How important can the presence/absence of macrophytes be in determining phytoplankton strategies in two tropical shallow reservoirs with different trophic status? *Journal of Plankton Research* 32: 31–46.
- Fonseca, B.M., Ferragut, C., Tucci, A., Crossetti, L.O., Ferrari, F., Bicudo, D.C., Sant'Anna, C.L. & Bicudo, C.E.M. 2014. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. *Hoehnea* 41:9-30.
- Francoeur, S.N., Biggs, B.J.F., Smith, R.A. & Lowe, R.L. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society*. 18:242-260.
- Frost, P.C., Hillebrand, H. & Kahlert, M. 2005. Low algal carbon content and its effect on the C:P stoichiometry of periphyton. *Freshwater Biology* 50:1781-1785.
- Gaiser, E.E. 2009. Periphyton as an indicator of restoration in the Florida Everglades. *Ecological Indicators* 9:6:37-45.
- Gaiser, E.E., Childers, D.L., Jones, R.D., Richards, J.F., Scinto, L.J. & Trexler, J.C. 2006. Periphyton responses to eutrophication in the Florida Everglades: cross-system patterns of structural and compositional change. *Limnology and Oceanography* 51:1:617-630.
- Godinho, L.R., González, A.A.C & Bicudo, C.E.M. 2010. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Algas*, 30: Chlorophyceae (família Scenedesmaceae). *Hoehnea* 37: 513-553.
- Golterman, H.L. & Clymo, R.S. 1971. *Methods for chemical analysis of freshwaters*. Ed. Oxford and Edinburg, Blackwell Scientific Publications. International Biological Programmer. 166p.
- Golterman, H.L., Clymo, R.S. & Ohmstad, M.A.M. 1978. *Methods for physical and chemical analysis of freshwaters*. 2ª edition. Oxford: Blackwell Scientific Publications. International Biological Programmer. 213p. (Handbook, 8).
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2018. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4:1:9 pp.
- Haphey-Wood, C.M. 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. In: C.D. Sandgren (ed.). *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Havens, K.E., East, T.L., Meeker, R.H., & Davis, W.P. 1996. Phytoplankton and perifíton responses to in situ experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *J. Plankton. Res.*, v.18, nº.4, p.551–556.



- Hillebrand, H. 2002. Top-down versus bottom-up control of autotrophic biomass - a meta-analysis on experiments with periphyton. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 349–369.
- Hillebrand, H. & Kahlert, M. 2001. Effect of grazing and nutrient supply on periphyton biomass and nutrient stoichiometry in habitats of different productivity. *Limnology and Oceanography* 46:1881–1898.
- Hillebrand, H., Durselen, C.D., Kirschtel, D., Pollinger, U. & Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35:403–424.
- Hillebrand, H. & Sommer, V. 2000. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication. *Aquatic Botany* 67:221–223.
- Hill, W.R. 1996. Light effects. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.). *Algal ecology. Freshwater benthic ecosystems*. Academic press. San Diego, USA. p. 121–148.
- Hill, W.R. & Larsen, I.L. 2005. Solar radiation alters heavy metal concentrations in microalgal biofilms through growth dilution. *Environmental Science Technology* 39:1513–1518.
- 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* 54:1:368–380.
- 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.
- Jeppesen, E., Jensen, J.P., Søndergaard, M., Lauridsen, T. & Landkildehus, F. 2000. Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology* 45:201–218.
- Kahlert, M. & Petterson, K. 2002. The impact of substrate and lake trophicity on the biomass and nutrient status of benthic algae. *Hydrobiologia* 486:1998:161–169.
- Lewis, W.M. 2000. Basis for the protection and management of tropical lakes. *Lakes & Reservoirs*. V. 5, p. 35–48.
- Liboriussen, L. & Jeppesen, E. 2003. Temporal dynamics in epipelagic, pelagic and epiphytic algal production in a clear and a turbid shallow lake. *Freshwater Biology* 48:418–431.
- Liboriussen, L. & Jeppesen, E. 2006. Structure, biomass, production and depth distribution of periphyton on artificial substratum in shallow lakes with contrasting nutrient concentrations. *Freshwater Biology* 51:95–109.
- Liess, A., Lange, K., Schulz, F., Piggott, J.J., Matthaei, C.D. & Townsend, C.R. 2009. Light, nutrients and grazing interact to determine diatom species richness via changes to productivity, nutrient state and grazer activity. *Journal of Ecology* 97:326–336.

- Lowe, R.L. & Pan, Y. 1996. Benthic algal communities as biological monitors. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego, USA. pp. 705-739.
- Lund, J.W.G., Kipling, C. & Le-Cren, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia* 11:143-170.
- Luttenton, M.R. & Lowe, R.L. 2006. Response of a lentic periphyton community to nutrient enrichment at low N:P ratios. *Journal of Phycology* 42:1007-1015.
- Maberly, S.C., King, L., Dent, M.M., Jones, R.I. & Gibson, C.E. 2002. Nutrient limitation of phytoplankton and periphyton growth in upland lakes. *Freshwater Biology* 47:2136–2152.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J. & Talling, J.F. 1978. *Water analysis: some revised methods for limnologists*. Freshwater Biological Association, London, UK. 121p.
- Magurran, A.F. 2004. *Measuring Biological diversity*. Blackwell, Oxford.
- Mahdy, A., Hilt, S., Filiz, N., Beklioglu, M., Hejzlar, J., Ozkundakci, O., Papastergiadou, E., Scharfenberger, U., Sorf, M., Stefanidis, K., Tuvikene, L., Zinge, P., Søndergaard, M., Jeppesen, E. & Adrian, R. 2015. Effects of water temperature on summer periphyton biomass in shallow lakes: a pan-European mesocosm experiment. *Aquatic Science* 77:3:499-510.
- Marker, A.F.H., Nusch, H., Rai, H. & Riemann, B. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusion and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14: 91-106.
- McCormick, P.V., O'Dell, M.B., Shuford, R.B.E. III & Backus, J.G. 2001. Periphyton responses to experimental phosphorus enrichment in a subtropical wetland. *Aquatic Botany* 71:119-139.
- McCormick, P.V. & Stevenson, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology* 34:726-733.
- McCune, B. & Mefford, M.J. 2011. *PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data*.
- Meerhoff, M., Iglesias, C., De Mello, F.T., Clemente, J.M., Jensen, E., Lauridsen, T.L. & Jeppesen, E. 2007. Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behaviour of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes. *Freshwater Biology* 52: 1009-1021.
- Mendes, R.S. & Barbosa, F.A.R. 2002. Efeito do enriquecimento "in situ" sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia* 14:77-86.

- Murdock, J.N. & Dodds, W.K. 2007. Linking benthic algal biomass to stream substratum topography. *Journal of Phycology* 43: 449-460.
- 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. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 15:129–137.
- Pan, Y. & Lowe, R.L. 1994. Independent and interactive effects of nutrients and grazers on benthic algal community structure. *Hydrobiologia* 291:201-209.
- Pan, Y., Stevenson, R.J., Vaithiyathan, P., Slate, J. & Richardson, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, U.S.A. *Freshwater Biology* 44:2:339-353.
- Pompêo, M.L.M. & Moschini-Carlos, V. 2003. *Macrófitas aquáticas e perifíton: aspectos ecológicos e metodológicos*. Rima/Fapesp, São Carlos.
- Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist* 46:3:205-221.
- Rier, S.T., Stevenson, R.J. & LaLiberte, G.D. 2006. Photo-acclimation response of benthic stream algae across experimentally manipulated light gradients: A comparison of growth rates and net primary productivity. *Journal of Phycology*. 42: 560–567.
- Rodusky, A.J., Steinman, A.D., East, T.L., Sharfstein, B. & Meeker, R.H. 2001. Periphyton nutrient limitation and other potential growth-controlling factors in Lake Okeechobee, U.S.A. *Hydrobiologia* 448:27-39.
- Rosemond, A.D. 1993. Interactions among irradiance, nutrients, and herbivores constrain a stream algal community. *Oecologia* 94:585–594.
- Sanches, L.F., Guariento, R.D., Caliman, A., Bozelli, R.L. & Esteves, F.A. 2011. Effects of nutrients and light on periphytic biomass and nutrient stoichiometry in a tropical black-water aquatic ecosystem. *Hydrobiologia* 669:35–44.
- Sandgren, C.D. 1988. The ecology of chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. In: Sandgren, C.D. *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- 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, T.R.; Furtado, M.S.; Henry, R.; Ferragut, C. 2017. 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*, v. 19, p. 209-218.

- Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114:177-187.
- Scheffer, M. 1991. Fish and Nutrients Interplay Determines Algal Biomass: A Minimal Model. *Oikos* 62(3): 271-282.
- Scheffer, M., Hosper, S.H., Meijer, M.L., Moss, B. & Jeppesen, E. 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology & Evolution* 8:275–279.
- Scheffer, M. & van Nes, E.H. 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative regime driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia* 584: 455-466.
- Schindler, D.W. 1978. Factors regulating phytoplankton production and standing crop in the world's freshwaters. *Limnology and Oceanography* 23:478–486.
- Schindler, D.W.; Hecky, R.E.; Findlay, D.L.; Strain, M.P.; Parker, B.R.; Paterson, M.J.; Beaty, K.G. & Kasian, S.E.M. 2008. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America – PNAS* 105(32): 11254-11258.
- Schindler, D.W. 2012. The Dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *Proceedings of the Royal Society B*, 279(1746): 4322-4333.
- Sigee, D.C. 2004. *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the freshwater environment*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK. 524 p.
- Smith, V.H. 1982. The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: as empirical and theoretical analysis. *Limnology and Oceanography* 27:1101–1112.
- Smith, V.H. 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems - a global problem. *Environmental Science and Pollution Research* 10:126–139.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14:799-801.
- Sommer, U. 1988. Some size relationships in phytoflagellate motility. *Hydrobiologia* 161: 125–131.
- Sormus, L. & Bicudo, C.E.M. 1994. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 6: Zygnemaphyceae (Closteriaceae). *Hoehnea* 21: 75-92.
- 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.

- Sterner, R.W., Elser, J.J., Fee, E.J., Guildford, S.J. & Chrzanowski, T.H. 1997. The light:nutrient ratio in lakes: The balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *The American Naturalist* 150: 6:663-684. DOI: 10.1086/286088.
- Stevenson, R.J. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habits. In: R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego, pp. 3-30.
- Strayer, D.L. & Dudgeon, D. 2010. Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society* 29:344-358.
- Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R. 1960. A manual of seawater analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 125:1-185.
- Tank, J.L. & Dodds, W.K. 2003. Nutrient limitation of epilithic and epixylic biofilms in ten North American streams. *Freshwater Biology* 48:1031–1049.
- Taulbee W.K., Cooper S.D. & Melack J.M. 2005. Effects of nutrient enrichment on algal biomass across a natural light gradient. *Archiv für Hydrobiologie* 164:449–464.
- Umbreit, W.W., Burris, R.H. & Stauffer, J.F. 1964. *Manometric methods applicable to the study of tissue metabolism*. Burgess Publishing Company, Minneapolis.
- Utermohl, H. 1958. Zur Vervollkommen der quantitative phytoplankton: metodik. *Internationale Vereinigung Theoretische und Angewandte Limnologie* 9:1-38.
- Vadeboncoeur Y., Zanden M.J.V. & Lodge D.M. 2002. Putting the lake back together: reintegrating benthic pathways into food web models. *BioScience* 52:1:44–54.
- Vadeboncoeur, Y. & Steinman, A.D. 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *Scientific World Journal* 2:1-20.
- Valderrama, G.C. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10:2:109-112.
- Wetzel, R.G. 1983. *Periphyton of freshwater ecosystems development*. The Hague. Dr. W. Junk Publishers. 346p. (Developments Hydrobiology, 17).
- Wetzel, R. 1990. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *International Association of Theoretical and Applied Limnology* 24:6-24.
- Wetzel, R.G. 1996. Benthic algae and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds). *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego, USA. pp.641-667.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. 3 ed. Academic Press, San Diego.
- Winter, J.G. & Duthie, H. C. 2000. Epilithic diatoms as indicators of stream total N and total P concentrations. *Journal of the North American Benthological Society* 19:32-49.

Zimba, P.V. 1998. The use of nutrient enrichment bioassays to test for limiting factors affecting epiphytic growth in Lake Okeechobee, Florida: confirmation of nitrogen and silica limitation. Arch. Hydrobiol., v.141, n°4, p.459-468.