

LUYZA MAYARY AMARAL SILVA

Efeitos do enriquecimento e da diluição da água eutrófica sobre a biomassa e estrutura do fitoplâncton e do epipélton

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria de Infraestrutura e 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.

SÃO PAULO
2019

LUYZA MAYARY AMARAL SILVA

Efeitos do enriquecimento e da diluição da água eutrófica sobre a biomassa e estrutura do fitoplâncton e do epipélton

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria de Infraestrutura e 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.

ORIENTADORA: DRA. CARLA FERRAGUT

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

Silva, Luyza Mayary Amaral Silva
S586e Efeitos do enriquecimento e da poluição da água eutrófica sobre a
biomassa e estrutura do fitoplâncton e do epipélon / Luyza Mayary Amaral
Silva -- São Paulo, 2019.
64p.; il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de
Infraestrutura e Meio Ambiente, 2019.
Bibliografia.

1. Biovolume algal. 2. Mesocosmo em fundo aberto. 3. Reservatório
eutrófico I.Título.

CDU: 582.26

*À toda minha família e amigos, por todo amor,
incentivo e compreensão.
Dedico.*

*“Apesar das grandes coisas
Que se jogam contra mim,
Eu resisto e existo.
Apesar das grandes coisas
Que se bloqueiam de mim,
Eu invisto e me faço visto.*

*Apesar das grandes coisas
Que se jogam contra mim,
Sou alegrias e risadas?
Apesar das grandes coisas
Que se jogam contra mim,
Com falas e caras amareladas...*

*Apesar das grandes coisas
Que se jogam contra mim,
Sigo na direção de minhas escolhas”*

*Apesar das Grandes Coisas
(Adilson Teyu)*

Agradecimentos

Para a realização deste trabalho, precisei da ajuda de inúmeras pessoas que a fizeram de muitas formas possíveis e, assim, gostaria de expressar meu sincero respeito e agradecimento. Agradeço:

À minha orientadora, Dra. Carla Ferragut, pela orientação, por todos os ensinamentos, conselhos, “puxões de orelhas” e, principalmente, pela paciência. Sua ajuda frente as minhas indecisões foi o que me fez continuar e desenvolver meu trabalho da melhor forma possível. Obrigada por confiar a mim o desenvolvimento deste estudo, foi um privilégio trabalhar com uma profissional de muita ética que se dedica e ama o que faz.

À Dra. Denise, pela disposição de seu acervo particular, pelos conselhos, pelas contribuições e disposição de tempo para compartilhar seus conhecimentos sobre limnologia e perifíton e, por sempre acreditar no meu trabalho.

À Dra. Marta Lamparelli, à Dra. Ilka Vercellino e à Dra. Denise Bicudo pelas valiosas contribuições feitas no exame de qualificação.

Ao Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo, pela disposição do seu maravilhoso acervo particular e pela ajuda com as dificuldades taxonômicas. Foi um imenso prazer conhecer e aprender com um dos maiores nomes da Botânica do país.

Ao Dr. Raoul Henry por ter permitindo que eu participasse da disciplina “Ecologia de Rio e Riachos” na Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu – SP e, assim, contribuir para o meu conhecimento. Sou imensamente grata por poder conhecer e aprender com um dos maiores nomes da Limnologia do país.

À todos os pesquisadores, alunos e funcionários do Núcleo de Pesquisas em Ecologia, pelo apoio e convivência no desenvolvimento do trabalho.

Ao Diego Tavares, Richard Wilander, e Ruan Cordeiro por estarem ao meu lado durante toda a elaboração, definição e execução deste trabalho, principalmente pela ajuda na colocação do experimento no lago. Não teria conseguido sem vocês.

Ao Diego por me ensinar e me ajudar a coletar o sedimento e, além de tudo, por me ajudar com as análises no final do dia.

Ao Ruan, pela ajuda que vai desde montagem, colocação e retirada do experimento, pela ajuda com a lavagem dos mesocosmos, por ficar comigo o dia todo no instituto para realizações das muitas análises que fizemos e pela amizade.

À Dra. Marisa Domingos disponibilizar o veículo do seu projeto para as inúmeras coletas no Lago das Garças.

Á Maria Auxiliadora (Dorinha), pela ajuda e cuidado com as vidrarias e com as análises de clorofila-*a*. Com certeza aprendi muito com você e sou muito grata pela sua amizade e preocupação durante todo esse tempo.

À Amariles Souza, e Marli dos Santos pela ajuda dada nos dias de coleta, pela dedicação e cuidado com as vidrarias e por estarem sempre prontas a ajudar.

Aos amigos e membros da equipe do Laboratório de Ecologia Aquática: Ana Margarita, Angela Maria, Camila Araújo, Elaine Bartozek, Elton Lenhkuhl, Lívia Costa, Paloma Cerqueira, Simone Oliveira, Thiago Santos e Verônica Ribeiro. Agradeço imensamente pela ajuda nos dias de coleta, pela convivência, ensinamentos e amizade.

Aos amigos e membros da equipe do Laboratório de Ecologia Terrestre: Débora, Douglas, Gisele, Marcela, Marina, Milton, Omar, Regina e Vilmar. Obrigada pela convivência e amizade.

Á Mayara Casartelli e Samantha Faustino, pelos ensinamentos e conselhos. Posso afirmar com toda certeza que aprendi muito com vocês. Obrigada por sempre me apoiarem e torcerem por mim, pelos almoços e cafés compartilhados com muitas conversas e risadas. Sou imensamente grata pela amizade de vocês.

Á Cassia Bazi, por toda ajuda, pelos almoços, caronas, conversas e conselhos. Obrigada por tudo, por torcer por mim e, por sempre, me colocar pra cima quando estava mal.

Á Krysna Morais por compartilhar momentos bons e ruins, pelas conversas, conselhos e ajudas. Obrigada por se importar, por sempre me apoiar e torcer por mim mesmo distante.

Á Laís, pelos conselhos, amizade e por fazer o tempo que passamos em Angatuba ser uma das viagens mais divertidas que eu tive. Agradeço muito por ter te conhecido e ter compartilhado momentos maravilhosos com você.

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.

Á equipe da Infraestrutura e manutenção do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pela ajuda nos dias de coleta. Especialmente agradeço aos funcionários Marcelo, Wilson e Francisco pela ajuda com barco, pelas conversas durante as coletas e pela amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo pelo acolhimento e pelas disciplinas oferecidas que foram essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Instituto Astronômico e Geofísico da USP, pelo fornecimento dos dados climáticos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa cedida durante o período de execução deste trabalho.

À toda minha família, pelo apoio, incentivo e compreensão. Agradeço especialmente minha tia Marly e meu pai Wlandekis, pela paciência, ajuda, apoio e incentivo nas minhas decisões. Agradeço todo dia por vocês estarem na minha vida.

À minha mãe Dalva, tudo que tenho e sou hoje devo a ela que sozinha me criou. Obrigada por todo amor, por todas as lições, incentivos, paciência e por sempre tentar me mostrar o caminho certo. Você é um exemplo de força e superação e sempre será meu espelho. Obrigada por ser minha mãe.

Ao Cesar, por toda ajuda, conversas, conselhos, por me estimular a ser uma pessoa melhor, por estar comigo em momentos bons e ruins e por me incentivar todos os dias a seguir em frente nas minhas decisões. Sou imensamente grata por você fazer parte da minha vida.

Ao Marcio e Mayara, por toda força, incentivo e por serem meus amigos por tantos anos e nunca terem desistido da nossa amizade, principalmente nos meus momentos de ausência.

Aos meus amigos Adilson, Gabriel e todos do Bloco da Moça, por terem me ajudado a seguir este último ano com muita diversão e risada, sem vocês teria sido muito mais difícil.

Índice

RESUMO GERAL.....	1
GENERAL SUMMARY.....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
Capítulo 1: Respostas da clorofila- <i>a</i> do epipelon às mudanças na razão N e P da água e sua relação com o fitoplâncton em um reservatório eutrófico	
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
2.1. Área de estudo.....	10
2.2. Delineamento experimental.....	11
2.3. Variáveis analisadas.....	16
2.4. Tratamento dos dados.....	16
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Variáveis abióticas.....	17
3.2. Análise dos componentes principais.....	17
3.3. Clorofila- <i>a</i> do fitoplâncton e do epipelon.....	24
4. DISCUSSÃO.....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
Capítulo 2: Respostas da clorofila- <i>a</i> e estrutura taxonômica do epipelon à oligotrofização e de suas relações com o fitoplâncton	
1. INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
2.1. Área de Estudo.....	33
2.2. Delineamento Experimental.....	33
2.3. Variáveis analisadas.....	36
2.4. Tratamento dos dados.....	37
3. RESULTADOS.....	38
3.1. Variáveis abióticas.....	38
3.2. Fitoplâncton.....	42
3.3. Epipelon.....	44
3.4. Análise conjunta das algas epipélicas e das variáveis ambientais.....	48
4. DISCUSSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CONCLUSÃO GERAL.....	56

RESUMO GERAL

O epipélon fotossinteticamente ativo tem importante papel na interceptação de fósforo em muitos ecossistemas, o que pode contribuir para a manutenção de lagos e reservatórios rasos recuperados. Contudo, o conhecimento sobre ecologia do epipélon tem ainda muitas lacunas, principalmente em lagos e reservatórios rasos tropicais. Nesse sentido, o presente estudo avaliou experimentalmente o efeito do enriquecimento combinado e isolado por N e P e da oligotrofização sobre o epipelon e suas relações com o fitoplâncton em um reservatório raso eutrófico (Lago das Garças PEFI, São Paulo). Assim, dois experimentos foram realizados em mesocosmos de fundo aberto na região litorânea em julho e agosto. As amostragens foram realizadas no 7º e no 14º dia do período experimental. No experimento de enriquecimento, evidenciou-se que o enriquecimento combinado e isolado por N e P teve efeito positivo sobre a quantidade de material particulado em suspensão, incluindo o fitoplâncton, e sobre a atenuação da luz em curto intervalo de tempo. Mudanças no potencial de limitação do fitoplâncton não aumentou a disponibilidade de luz para o epipelon, pois a atenuação da luz permaneceu alta durante todo o período experimental (78-98%). No experimento de oligotrofização (25%, 50% e 75% de diluição da água), os tratamentos com os diferentes tipos de diluição promoveram a redução da disponibilidade de nutrientes e o aumento da disponibilidade de luz, o que refletiu na redução da biomassa e biovolume fitoplanctônico e aumento no epipélon. Mudanças na estrutura do fitoplâncton e do epipélon foram encontradas com o aumento da oligotrofização. As espécies de algas epipélicas foram associadas aos diferentes graus de oligotrofização, como *Pediastrum simplex*, *Frustilia crassinervia* e *Desmodesmus intermedius*, as quais foram associadas aos tratamentos com 25% e 50% de diluição. Concluiu-se que mudanças na estequiometria N e P tiveram efeito sobre a biomassa do fitoplâncton, mas a mudança teve pouco ou nenhum efeito significativo sobre a biomassa do epipélon, principalmente devido à limitação por luz. Contudo, a oligotrofização teve efeito positivo sobre a biomassa e densidade algal e mudou a estrutura do epipélon, favorecendo o desenvolvimento de um epipélon fototrófico. Os resultados mostraram que o epipélon respondeu rapidamente aos tratamentos de oligotrofização, sugerindo que o desenvolvimento do epipélon pode contribuir para a manutenção da oligotrofização de lagos e reservatórios restaurados.

Palavras-Chave: biovolume algal, concentração de clorofila-a, composição de espécies, mesocosmos de fundo aberto, reservatório eutrófico.

GENERAL SUMMARY

The photosynthetic activity of epipelton plays an important role in the in phosphorus interception in many ecosystems, which may contribute to the maintenance of recovered lakes and shallow reservoirs. However, the epipelton ecology knowledge still has many gaps, especially in tropical shallow lakes and reservoirs. In this sense, this study evaluated experimentally the effect of combined and isolated N and P enrichment and oligotrophication on the epipelton and its relationships with phytoplankton in a shallow eutrophic reservoir (Lago das Garças, PEFI, São Paulo). Thus, two experiments were carried out in open-bottomed mesocosms in the littoral zone during the July and August/2017. The samplings were performed on the 7th and 14th day of the experimental period. In the enrichment experiment, the combined and isolated N and P enrichment had a positive effect on the suspended particulate matter, including phytoplankton, and the light attenuation. attenuation did not decrease increase with changes in the phytoplankton limiting potential, as the light attenuation remained high throughout the experimental period (78-98%). In the oligotrophication experiment (25%, 50% and 75% water dilution), treatments with different types of dilution promoted the reduction of nutrient availability and increased light availability, which reflected in the reduction of phytoplankton biomass and biovolume and increase in the epipelton. Changes in phytoplankton and epipelton structure were found with increasing water dilution. Epipellic algae species were associated with different degrees of oligotrophication, such as *Pediastrum simplex*, *Frustilia crassinervia* and *Desmodesmus intermedius*, which was associated with 25% and 50% dilution treatments. We concluded that changes in N and P stoichiometry had effects on phytoplankton biomass, but the change had little or no significant effect on epipelton biomass, mainly due to light limitation. However, oligotrophication had positive effect on the epipelton algal biomass and density and changed the structure community, favoring the development of the epipelton photosynthetically active. Our findings showed that the epipelton responded rapidly to the dilution treatments, suggesting the development of the epipelton may contribute to the maintenance of oligotrophication of restored ponds and reservoirs.

Keywords: algal biovolume, chlorophyll-a concentration, species composition, open-bottomed mesocosms, eutrophic reservoir

INTRODUÇÃO GERAL

Os limitados recursos de água doce no mundo são explorados e degradados em uma velocidade alarmante pelas atividades humanas. Há anos a eutrofização é um dos efeitos mais bem documentados do impacto de atividades humanas sobre os ecossistemas aquáticos (Wetzel 1993). A eutrofização é o termo usado para descrever os efeitos biológicos resultantes do aumento da concentração de nutrientes no sistema aquático, geralmente, de nitrogênio e fósforo, mas podendo ser causada por outros nutrientes tais como sílica, potássio, cálcio, ferro e manganês (Harper 1992). Fósforo e nitrogênio são conhecidos como os principais limitantes da produção primária e da biomassa em comunidades de plantas aquáticas (Kalff 2002). Preocupações crescentes no início de 1960 sobre a os efeitos da eutrofização em lagos recreativos culminou em uma conferência em 1967, onde houve um consenso de que o fósforo e nitrogênio eram elementos responsáveis pela floração do fitoplâncton (Kalff 2002). Atualmente, segundo Schindler (2008, 2012), a eutrofização é o problema da qualidade da água mais difundido na Terra, pois causa a proliferação de algas nocivas, mortandade de peixes e muitos problemas relacionados à água doce e mares, adjacentes às áreas com elevada densidade populacional humana. A sobrecarga de nutrientes implica em uma relação entre a quantidade do nutriente que entra numa dada massa d'água e a resposta desta entrada (Wetzel 1993). Segundo Wetzel (1993), em geral, a sobrecarga de nutrientes parece ultrapassar a capacidade de suporte de equilíbrio do ecossistema aquático, gerando a eutrofização. Porém, o que acontece hoje, na realidade, é que os ecossistemas aquáticos estão em desequilíbrio no que diz respeito a suas características químicas, físicas e biológicas da água, que o homem deseja usar para diferentes fins.

A eutrofização pode ser natural ou artificial. Em condições naturais, pode ser um processo lento e contínuo, resultante do aporte de nutrientes trazidos pelas chuvas e águas superficiais que desgastam e lavam a superfície terrestre, sem interferência das atividades humanas (Fernandes & Esteves 2011). A eutrofização artificial ou cultural é induzida pelo homem e pode ter diferentes origens, tais como: efluentes domésticos, industriais e agrícolas (Fernandes & Esteves 2011; Smith *et al.* 1999). Portanto, é necessário compreender e avaliar as respostas químicas e biológicas dos ecossistemas aquáticos para que possamos mitigar ou até mesmo prevenir os efeitos dos impactos ambientais. Desta forma, atualmente, o grande desafio mundial é reverter a eutrofização, ou seja, implementar a oligotrofização em ecossistemas enriquecidos. Oligotrofização é o processo de redução da concentração de nutrientes de um corpo d'água (Stockner *et al.* 2000). Existem numerosos relatos sobre os resultados de processos de restauração de lagos em região temperada (ex. Jeppesen *et al.* 2007). Em um estudo de longa duração com 22 lagos de regiões temperada,

evidenciou-se que um novo estado de equilíbrio foi alcançado entre 10-15 anos para a disponibilidade de fósforo e após 5 a 10 anos para a de nitrogênio (Jeppesen *et al.* 2007). Em região subtropical e tropical, o conhecimento sobre a oligotrofização e seus efeitos é ainda extremamente escasso (Chen *et al.* 2013).

Estudos experimentais de oligotrofização realizados no Brasil e que incluíram as comunidades algais são poucos e dentre eles destaca-se a dissertação de Barcelos (2003) e os artigos de Crossetti & Bicudo (2005a-b) que juntamente desenvolveram um experimento em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo, Brasil). Tais estudos reportaram mudanças nas comunidades fitoplanctônicas e perifíticas em função das alterações das condições tróficas (eutrófica, mesotrófica e oligotrófica). Outro estudo, este observacional, relatou que o ambiente estava em fase de transição com base na estrutura do fitoplâncton e alguns fatores ambientais, os quais indicavam melhoria na qualidade da água do Lago Paranoá (Philomeno 2007). Porém, outros fatores ambientais indicavam que o sistema estava retornando à condição eutrófica. Recentemente, Batista & Fonseca (2018) verificaram que a comunidade fitoplanctônica indicava a condição meso-eutrófica no Lago Paranoá. No caso do restaurado Lago Paranoá, evidenciou-se que apenas a redução de nutriente da coluna d'água não foi suficiente para manutenção da oligotrofização. Assim, pesquisas voltadas ao desenvolvimento de mecanismos que mantenham a oligotrofização são fundamentais, como por exemplo, o desenvolvimento do epipélon fotossinteticamente ativo. Segundo Liboriussen & Jeppesen (2006), o desenvolvimento do epipélon pode aumentar a possibilidade de sucesso na restauração de lagos e reservatórios rasos, uma vez que o desenvolvimento do epipélon fotossinteticamente ativo pode reduzir a liberação de fósforo do sedimento para a coluna d'água.

Em ecossistemas aquáticos, as algas podem estar associadas a algum substrato ou livres na coluna d'água (Bellinger & Sigeo 2010). As algas que vivem suspensas na coluna d'água são chamadas de fitoplâncton e as algas que estão associadas à algum tipo de substrato são chamadas de perifíton. A comunidade perifítica é classificada de acordo com o tipo de substrato, sendo a comunidade perifítica aderida a um sedimento não consolidado denominada de epipélon (Fernandes & Esteves 2011; Poulíčková *et al.* 2014). Poulíčková *et al.* (2014) pesquisaram no ISI (15/01/2013) o número de artigos com as palavras chaves algas planctônicas/plâncton, epipélon/algas epipélicas, epifíton/algas epifíticas e verificaram a proporção de 62:32:4 para algas planctônicas, epifíticas e epipélicas, respectivamente. Portanto, estudos voltados à comunidade epipélica são ainda muito escassos.

Segundo Poulíčková *et al.* (2014), os principais fatores determinantes do desenvolvimento do epipélon são profundidade, temperatura, disponibilidade de luz e nutriente e o tipo de sedimento.

O epipélon pode ter uma distribuição heterogênea no ecossistema e, dependendo da sua posição no ecossistema, os fatores ambientais podem atuar diferentemente (Pouličková *et al.* 2014). A estrutura da comunidade epipélica pode variar espacialmente e temporalmente em termos de grupos algais, como Chlorophyceae, Euglenophyceae, Cyanobacteria e Bacillariophyceae, e de espécies (ex. Cano *et al.* 2016; Santos 2017; Tavares 2018). O epipélon participa da ciclagem de nutrientes, contribui para a biodiversidade local, pode ser base da cadeia alimentar e contribuir para a produtividade primária dos ecossistemas aquáticos (Dodds 2003; Vadeboncoeur & Steinman 2002). Estudos mostraram que a disponibilidade de luz é o fator primário para o desenvolvimento do epipélon em lagos temperados de diferentes profundidades e tamanhos (Vadeboncoeur *et al.* 2014). Desta forma, em lagos eutróficos, a biomassa do fitoplâncton pode impor para as algas epipélicas uma limitação de luz, o que pode reduzir sua produtividade, o que não ocorre em lagos oligotróficos, onde a baixa densidade do fitoplâncton permite que a luz alcance os sedimentos e, assim, o epipélon pode manter a alta taxa de produção fotossintética (Vadeboncoeur & Steinman 2002). Em um lago raso nos Pampas, Cano *et al.* (2008) mostraram que a biomassa do epipélon pode ser dominante em relação às demais comunidades algais em grande parte do ano.

Como a relação entre a disponibilidade de nutrientes e luz na coluna d'água mantém o equilíbrio entre os autótrofos, então, mudanças na relação luz:nutriente pode promover o efetivo sucesso da oligotrofização. Considerando a importância da relação fitoplâncton-epipélon no processo de restauração de lagos e reservatórios eutrofizados (Liboriussen & Jeppesen 2006; Genkai-Kato *et al.* 2012), o objetivo geral do presente estudo é avaliar o efeito do enriquecimento combinado e isolado por N e P e da oligotrofização sobre as mudanças da biomassa e da estrutura taxonômica do fitoplâncton e do epipélon. A abordagem deste estudo é pioneira por integrar simultaneamente as respostas do fitoplâncton e epipélon ao processo de oligotrofização e enriquecimento. Além disso, o estudo contribuirá com informações sobre a relação fitoplâncton-epipélon em condição eutrófica (Lago das Garças, PEFI, São Paulo), contribuindo para o melhor entendimento dessa relação em reservatórios tropicais.

A presente dissertação encontra-se dividida em dois capítulos:

1. Respostas da clorofila-a do epipelon às mudanças na razão N e P da água e sua relação com o fitoplâncton em um reservatório eutrófico
2. Respostas da clorofila-a e estrutura taxonômica do epipélon à oligotrofização e de suas relações com o fitoplâncton

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barcelos, E. M.** 2003. Avaliação do perifíton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado, UNESP Rio Claro, Rio Claro.
- Batista, B. D. & Fonseca, B. M.** 2018. Fitoplâncton da região central do Lago Paranoá (DF): uma abordagem ecológica e sanitária. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.23 n.2, 229-241.
- Bellinger, E.G. & Siegel, D.C.** 2010. Freshwater algae identification and use as bioindicators. John Wiley & Sons, Ltd. The atrium, southern gate, Chichester, West Sussex UK: 271.
- Cano, M.G., Casco, M.A., Solari, L.C., Mac Donagh, M.E., Gabbellone, N.A., Claps, M.C.** 2008. Implications of rapid changes in chlorophyll-a of plankton, epipelon, and epiphyton in a Pampean shallow lake: an interpretation in terms of a conceptual model. *Hydrobiologia* 614: 33-45.
- Chen F., T. Shu, Jeppesen, E., Liu Z. & Chen Y.** 2013. Restoration of a subtropical eutrophic shallow lake in China: effects on nutrient concentrations and biological communities. *Hydrobiologia* 718: 59-71.
- Crossetti, L. O. & Bicudo C. E. M.** 2005. Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia* 541: 71–85.
- Dodds, W.K.** 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- Dodds, W.K.** 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- Esteves, F.A.** 2011. Fundamentos de Limnologia. 3 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 826 p.
- Genkai-Kato, M., Vadeboncoeur, Y., Liboriussen, L. & Jeppesen, E.** 2012. Benthic–planktonic coupling, regime shifts, and whole-lake primary production in shallow lakes. *Ecology* 93(3): 619–631.
- Harper, D.** 1992. Eutrophication of Freshwaters: Principles, Problems and Restoration. Chapman and Hall: London, UK, 1992.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Meerhoff, M., Lauridsen, T. L. & Jensen, J. P.** 2007. Shallow lake restoration by nutrient loading reduction—some recent findings and challenges ahead. *Hydrobiologia* 584:239–252
- Kalff, J.** 2002. Limnology: Inland Water Ecosystems. Upper Saddle River, NJ Prentice Hall, 608 p.

- 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.
- 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.
- Naumann, E.** 1921. Einige Grundlinien der regionalen Limnologie. *Lund Universitets Arsskrift* N.F 17:1-22.
- Philomeno, M. G.** 2007. A comunidade fitoplanctônica e a restauração o Lago Paranoá, Brasília-DF. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Pouličková, A., Dvořák, P., Mazalová, P. & Hašler, P.** 2014. Epipellic microphototrophs: an overlooked assemblage in lake ecosystems. *Freshwater Science* 33(2):513–523.
- Smith, V. H., Tilman, G.D., & Nekola, J.C.** 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution* 100:179-196.
- Stockner, J. G., Rydin, E. & Hyenstrand P.** 2000. Cultural Oligotrophication: Causes and Consequences for Fisheries Resources, *Fisheries*, 25:5, 7-14.
- Vadeboncoeur, Y. & Steinman, A.D.** 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *The Scientific World Journal*, 1-20.
- Vadeboncoeur, Y., Devlin, S.P., McIntyre, P.B. & Vander Zanden, M.J.** 2014. Is there light after depth? Distribution of periphyton chlorophyll and productivity in lake littoral zones. *Freshwater Science* 33(2): 524–536.
- Wetzel, R.G.** 1983. *Limnology*. 2 ed. Saunders College Publishing. San Diego

Capítulo 1

Respostas da clorofila-*a* do epipelon às mudanças na razão N e P da água e sua relação com o fitoplâncton em um reservatório eutrófico

1. INTRODUÇÃO

O epipelon tem papel fundamental na dinâmica de nutrientes no ecossistema, pois atua na ciclagem de nutriente (Dodds 2003). O sedimento colonizado por algas epipélicas pode reduzir diretamente as concentrações de nutrientes na coluna de água devido à oxidação da camada superficial do sedimento e, conseqüente, imobilização dos nutrientes (Wetzel 2001; Dodds 2003). Destaca-se o importante papel das algas epipélicas na retenção de fósforo no sedimento, o que pode contribuir grandemente para a manutenção de ecossistemas que foram oligotrofizados (Libouriussen & Jeppesen 2006; Genkai-Kato *et al.* 2012). Trabalhos evidenciaram a importância da comunidade de algas epipélicas para a produtividade primária e biomassa total em lagos rasos de ambientes temperados (Libouriussen & Jeppesen 2003; Vadeboncoeur *et al.* 2003; Genkai-Kato *et al.* 2012) e tropicais (Cano *et al.* 2008; Casco *et al.* 2009).

A distribuição do epipelon pode ser afetada principalmente pela profundidade da coluna de água, disponibilidade de luz, temperatura e tipo de sedimento em lagos e reservatórios rasos temperados e subtropicais (Cano *et al.* 2008; Spears & Jones 2010; Poulíčková *et al.* 2014; Vadeboncoeur *et al.* 2014). Segundo Yang *et al.* (2009), a profundidade da coluna de água é uma variável integrada e correlacionada com a luz, temperatura e outras variáveis ambientais. A disponibilidade de luz, perturbação do habitat e limitação de nutrientes foram todos identificados como fatores determinantes da variação sazonal na biomassa de algas do sedimento (Peterson & Hoagland 1990). Em lagos eutróficos rasos de região temperada, a limitação da comunidade algal por nutrientes pode ser menos importante do que a limitação por luz (Vadeboncoeur & Lodge 2000). Spears *et al.* (2010) observaram que o pico de clorofila-*a* do epipelon ocorreu durante os períodos de maior atenuação de luz, aparentemente devido à redução na biomassa fitoplanctônica. Assim, fatores bióticos também podem atuar sobre o desenvolvimento da comunidade de algas epipélicas, como a elevada abundância de fitoplâncton e macrófitas aquáticas. Em reservatório mesotrófico tropical, estudos relataram que o fitoplâncton e o perifíton foram potencialmente colimitados, mas por diferentes fatores, uma vez que o efeito negativo da elevada biomassa fitoplanctônica reduziu a disponibilidade de luz para a comunidade epipélica (Santos 2017; Tavares

2018). Para Vadeboncoeur *et al.* (2001), o enriquecimento dos lagos reduz a produção primária da comunidade bentônica devido à redução da disponibilidade de luz.

A avaliação de como o balanço dos elementos químicos, principalmente nitrogênio e fósforo, é afeta os organismos no ecossistema é conhecida como estequiometria ecológica (Cross *et al.* 2005). Essa ideia é baseada na razão de disponibilidade dos elementos para os organismos afeta suas transformações no ecossistema (Frost *et al.* 2005). Desta forma, a avaliação dos efeitos da estequiometria N e P sobre as mudanças na biomassa do epipélton e do fitoplâncton pode propiciar o maior entendimento do potencial de limitação algal, principalmente em ecossistemas eutróficos, onde o fitoplâncton pode afetar negativamente o desenvolvimento do epipélton. Além disso, o fitoplâncton vive na interface entre os compartimentos, podendo ser acoplado a múltiplos ciclos de nutrientes (Klausmeier *et al.* 2008) e, assim, interferir direta ou indiretamente sobre o epipélton.

A redução da disponibilidade de nutrientes na água, principalmente o fósforo, é um dos fatores mais importante no controle da eutrofização e na manutenção de processos de restauração de lagos rasos eutróficos (Sondergaard *et al.* 2001). Assim, considerando o papel do epipélton fotossinteticamente ativo na retenção de fósforo no sedimento (Dodds *et al.* 2003; Genkai-Kato *et al.* 2012), o presente estudo avaliou as respostas da clorofila-*a* do epipélton às mudanças na razão molar N e P da água em função do enriquecimento isolado e combinado por N e P em um reservatório eutrófico. Como estudos mostraram relação inversa entre a variação do epipélton e do fitoplâncton em lagos e reservatórios subtropicais e tropicais (Cano *et al.* 2008; Santos 2017, Tavares 2018), avaliou-se também a relação entre as respostas do epipélton e do fitoplâncton frente às mudanças na razão N:P. Especificamente, buscou-se identificar a condição nutricional para o maior desenvolvimento do epipélton no reservatório eutrófico estudado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

O Lago das Garças ($23^{\circ} 38' 40,6''\text{S}$ e $46^{\circ} 37' 28,0''\text{W}$) está localizado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) que situa-se na região sudeste do Município de São Paulo ($23^{\circ}38'20,03''\text{ S}$; $46^{\circ}37'19,20''\text{W}$) e apresenta altitude média de 798 m (Bicudo *et al.* 2002).

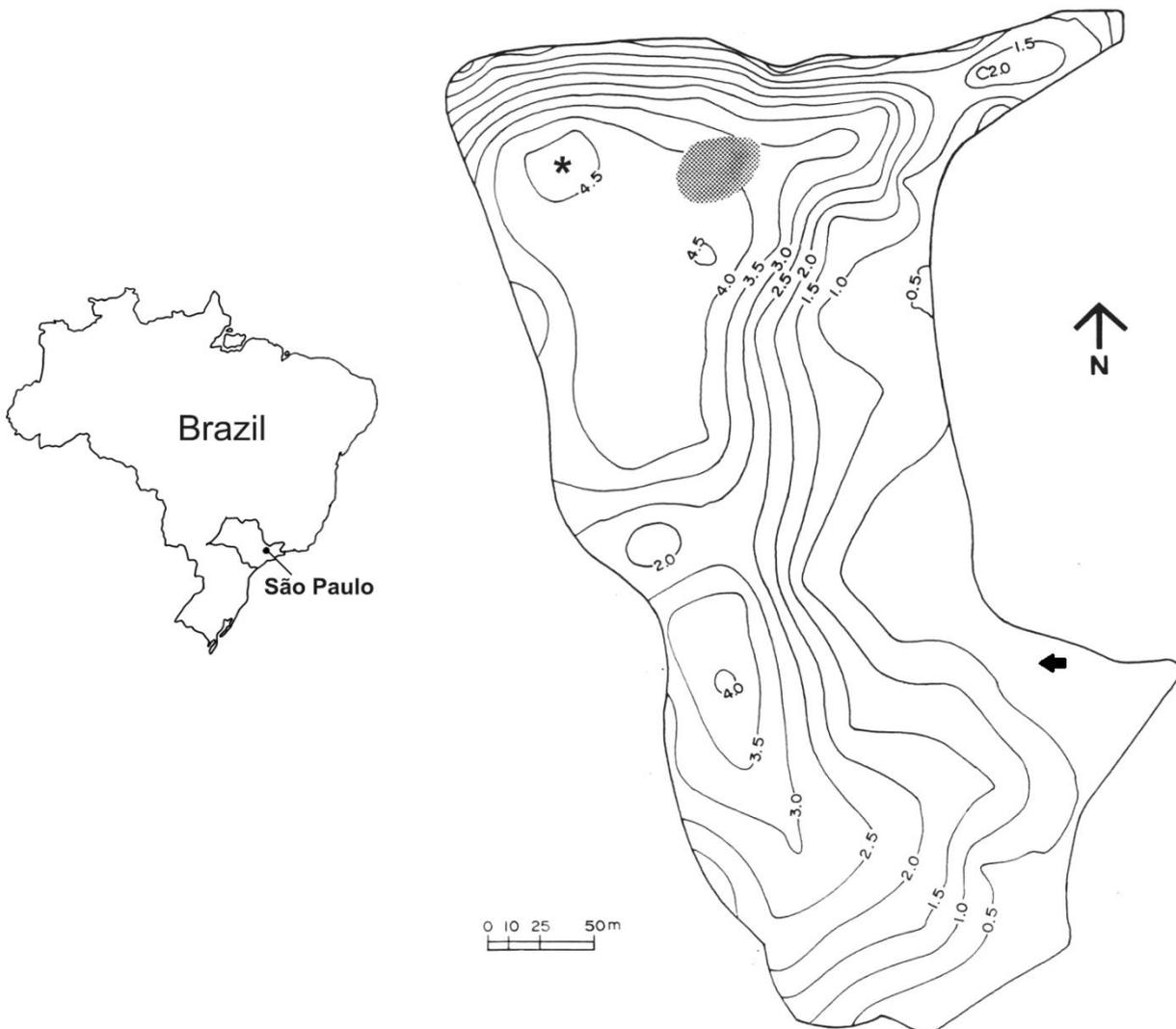


Figura 1. Localização do Lago das Garças e mapa batimétrico com a indicação do local (←) onde foi realizado o experimento (Bicudo *et al.* 2002).

O reservatório é um sistema com de área de 88.156 m^2 , volume de 188.785 m^3 , profundidade média de 2,1 metros e profundidade máxima de 4,7 metros (Bicudo *et al.* 2002). Segundo Bicudo *et al.* (2002), o Lago das Garças é um reservatório que foi construído para

acumular água para abastecimento da população da região sul da cidade de São Paulo, tal finalidade foi cessada, devido a poluição das águas causada pelo aumento da urbanização em seu entorno e por terem sido realizadas obras mais adequadas para o abastecimento de água na região. A condição eutrófica e a ocorrência de uma permanente floração do fitoplâncton foi reportada em estudos de longa duração no reservatório (Bicudo *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2018). O Lago das Garças foi escolhido para realização dos experimentos devido à sua característica eutrófica. O experimento foi realizado no período seco devido à baixa precipitação pluviométrica, o que minimiza os efeitos da chuva sobre o enriquecimento. Durante o período experimental (30 de junho – 21 de julho de 2017), a temperatura do ar variou de 10 – 19 °C e a precipitação total acumulada foi de 2,3 mm (Tabela 1).

Tabela 1. Valores mínimos, máximos, médios, desvio padrão (D.P.) e coeficiente de variação (C.V.) da temperatura do ar (°C) e precipitação pluviométrica (mm) no período experimental (30 de junho – 21 de julho de 2017).

Valores	Temperatura do ar (°C)	Precipitação Pluviométrica (mm)
Mínimo	10	0
Máximo	19	0,7
Média	15,1	0,1
D. P.	2,4	0,2
C. V. (%)	2,4	154,7

2.2. Delineamento experimental

Para avaliar o efeito da mudança na razão N:P da água sobre o epipélton e fitoplâncton foi realizado um experimento *in situ* de enriquecimento com a adição combinada e isolada de fósforo e nitrogênio na região litorânea. A realização do experimento ocorreu entre os dias 30 de junho e 20 de julho de 2017. Os mesocosmos foram instalados dia 30 de julho e o primeiro enriquecimento foi realizado no dia 7 de julho (1° dia do período experimental). O período de aclimação foi de seis dias para minimizar o efeito do revolvimento do sedimento sobre as comunidades algais. As amostragens das variáveis físicas, químicas e biológicas foram realizadas no 7° e 14° dia (14 de julho e 21 de julho, respectivamente). O resumo dos procedimentos realizados durante o período experimental encontra-se na tabela 2.

Tabela 2. Resumo dos procedimentos realizados durante o período experimental no ano de 2017. T refere-se ao tempo.

Data	Período Experimental	Procedimentos
30/junho	T0	Instalação dos mesocosmos
01/julho	T1	Período de Aclimação
02/julho	T2	
03/julho	T3	
04/julho	T4	
05/julho	T5	
06/julho	T6	
07/julho	T7	1° coleta de monitoramento e enriquecimento
10/julho	T10	2° coleta de monitoramento e enriquecimento
13/julho	T13	Amostragem do 7° dia
14/julho	T14	3° coleta de monitoramento e enriquecimento
17/julho	T17	4° coleta de monitoramento e enriquecimento
20/julho	T20	Amostragem do 14° dia

O experimento foi realizado em mesocosmos de fundo aberto, os quais foram constituídos de cilindros polivinil cloreto (PVC) de 50 cm de diâmetro, 120 cm de altura, com capacidade total de 235,61 litros (Figura 2). Na instalação, os mesocosmos foram empurrados até atingir a parte mais consolidada do sedimento (argila), evitando que a água do lago penetrasse no mesocosmo, o que poderia alterar o volume padronizado. O volume de água foi padronizado em 151 litros em todos mesocosmos. A instalação dos mesocosmos foi muito cuidadosa, visando minimizar a liberação de nutriente do sedimento para a coluna da água. No total foram enterrados 12 mesocosmos no lago, com uma distância de 1 metro um do outro para evitar contaminação oriunda do enriquecimento. Além disso, os mesocosmos foram posicionados no lago de modo a receber a mesma quantidade de radiação solar, precipitação e vento. Os mesocosmos foram instalados próximo da entrada de água da nascente (entrada 5), onde a floração de fitoplâncton apresenta menor intensidade, em relação às outras partes do lago (Borduqui & Ferragut 2012).



Figura 2. Cilindros de PVC usados como mesocosmos, sendo evidenciada a parte branca que ficou fora da água (1), parte branca que ficou enterrada com restos de argila (2) e parte escura com algas aderidas e outros materiais (3).

O experimento foi constituído de 4 tratamentos em tréplicas e distribuídos aleatoriamente no local de estudo. Os tratamentos foram determinados com base na razão molar N:P proposta por Redfield (1958) de N16:P1. Os tratamentos foram denominados de: **C**, controle, ausência de enriquecimento; **N+**, adição isolada de nitrogênio (condição P-limitante; N:P<16); **P+**, adição isolada de fósforo (condição N-limitante; N:P>16); **NP+**, adição combinada de nitrogênio e fósforo (condição de boa disponibilidade de N e P; N:P próxima de 16). Sais fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4) e o nitrato de amônio (NH_4NO_3) foram utilizados para o enriquecimento.

Coletas de monitoramento foram realizadas no 1º, 4º, 8º e 11º dia do período experimental para a manutenção da razão molar de N:P da água estabelecida nos tratamentos. Após avaliação dos resultados obtidos no monitoramento das condições ambientais, foi realizado o enriquecimento, sempre que necessário. Com base na concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido ($\text{NID} = \text{N-NH}_4 + \text{N-NO}_3 + \text{N-NO}_2$) e ortofosfato (P-PO_4), realizamos os cálculos para a determinação da quantidade de N e P que seriam adicionados em cada tratamento a fim de atingir a razão molar pretendida.

Como citado anteriormente, a quantidade de sais a ser colocado e foi estabelecida a partir do cálculo de enriquecimento oriundo das coletas de monitoramento. O cálculo seguiu os seguintes critérios: **1**– determinar a concentração de NID e P-PO_4 da água do lago através de uma coleta preliminar; **2** – passar a concentração de NID e $\text{P-PO}_4 \mu\text{gL}^{-1}$ para concentração molar (massa atômica: N = 14,006; P = 30,97); **3** – determinar a razão molar de N:P do lago; **4** – estabelecer a

razão molar N:P desejada em cada tratamento, tendo como referência um valor de boa disponibilidade.

A amostragem para análises químicas e biológicas seguiram metodologia específica. Amostras de água foram coletadas na subsuperfície de cada mesocosmo para análises das variáveis abióticas e do fitoplâncton (Figura 3). Em laboratório, as alíquotas foram separadas para a determinação da biomassa e das análises qualitativas e quantitativas do fitoplâncton.



Figura 3. Amostragem da água na superfície dos mesocosmos.

As amostras de sedimento para avaliação do epipélton foram coletadas nos mesocosmo por meio de tubo de acrílico (“*corer*”) de 17,3 centímetros de diâmetro. Como critério de amostragem, um quadrante era sorteado e o local anotado para evitar re-amostragem. No laboratório, as alíquotas foram separadas para a determinação da biomassa e das análises qualitativas e quantitativas do epipélton. Passo a passo da amostragem do epipélton (Figura 4A-F): A) o amostrador foi colocado até atingir a parte consolidada do sedimento; B) a água foi retirada por sucção de dentro do *corer* para minimizar a presença do fitoplâncton; C) O sedimento foi extrudado; D) Retirada de 1 cm da parte superficial do sedimento com amostrador de precisão.

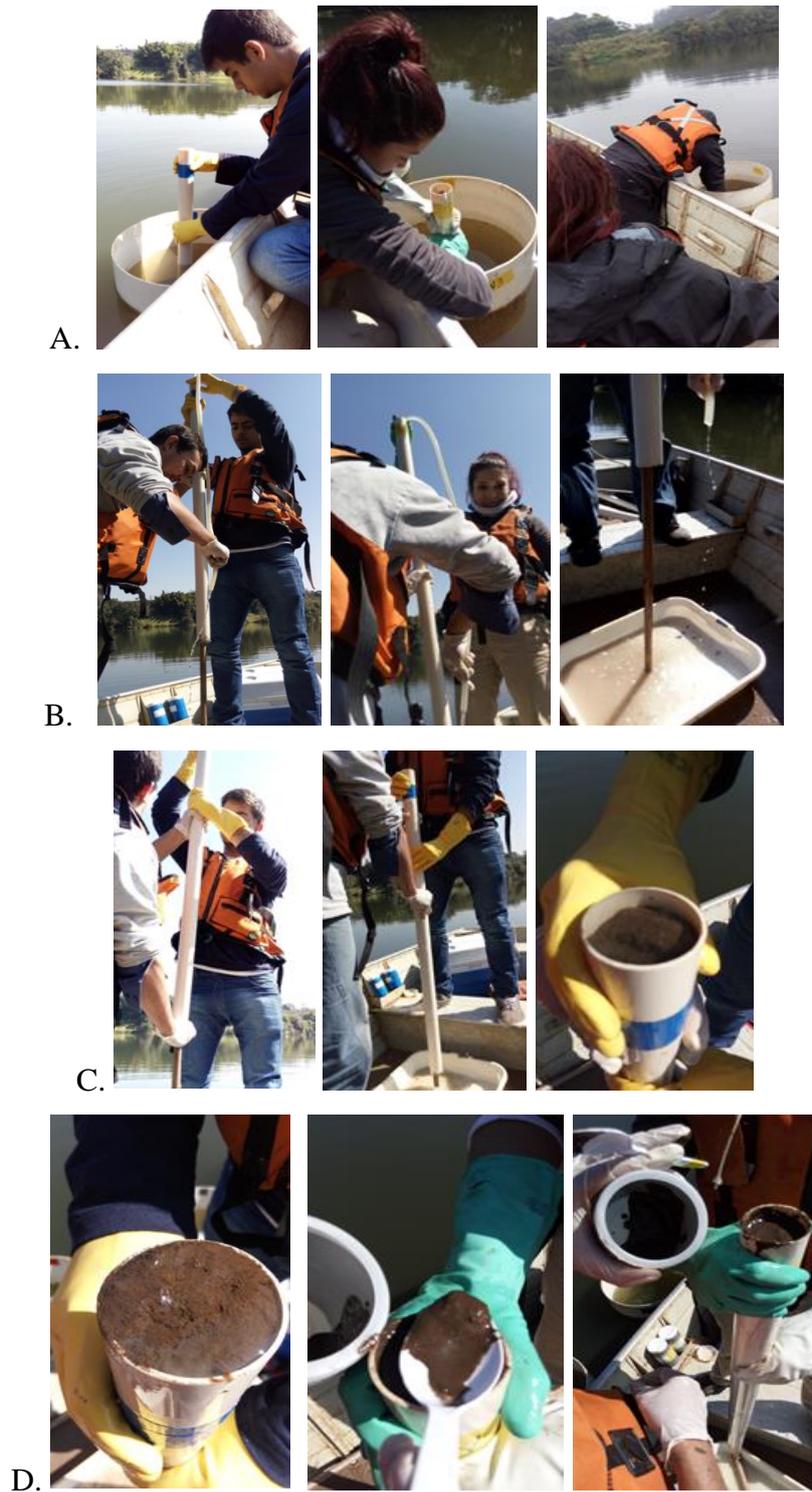


Figura 4. Imagens mostrando a sequência de procedimentos para a amostragem do epipélton nos mesocosmos.

2.4. Variáveis analisadas

As variáveis abióticas foram analisadas na água dos mesocosmos, sendo elas: temperatura, condutividade elétrica, pH e sólidos totais dissolvidos (TDS) (sonda subaquática multiparâmetros, Horiba U-50), radiação subaquática (luxímetro Li-Cor), oxigênio dissolvido (OD) (Golterman *et al.* 1978), alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido (CO₂ livre), nitrito e nitrato (Mackereth *et al.* 1978), nitrogênio amoniacal (Solorzano 1969), ortofosfato e fósforo total dissolvido (PDT) (Strickland & Parsons 1960), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) (Valderrama, 1981). As amostras para a fração dissolvida dos nutrientes foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/F) sob baixa pressão ($\leq 0,3$ atm) para posterior análise da clorofila-*a* do fitoplâncton. A atenuação da luz foi calculada conforme Wetzel & Likens (1991): $Atenuação\ da\ Luz = 100x \frac{(I_1 - I_2)}{I_1}$, onde: I_1 é a quantidade de luz da subsuperfície e I_2 do fundo.

A biomassa do fitoplâncton e do epipélton foi analisada por meio da concentração de clorofila-*a* no 7º e 14º dia do período experimental. Amostras de água e do epipélton foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/F) e a extração da clorofila-*a* (com a correção de feofitina) foi feita com etanol (90%), conforme Sartory & Grobblelar (1984). Amostras de água foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/C) para determinação do material particulado em suspensão. Os filtros contendo o material filtrado foi pesado e secado à 70°C na estufa até a obtenção de um peso constante (APHA 1995).

2.5. Tratamento dos dados

Os efeitos da adição isolada e combinada de nitrogênio e fósforo sobre as variáveis abióticas e bióticas foram analisados por meio de análise descritiva e representação gráfica dos dados. A média aritmética foi usada como medida de tendência central e o erro padrão como medida de dispersão.

Análise conjunta dos dados abióticos foi realizada através da análise de componentes principais (PCA), a qual foi realizada com matriz de covariância e dados logaritimizados no PCORD versão 6.0 (McCune & Mefford 2011).

Análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA 2-fatores) foi aplicada aos dados abióticos e abióticos para detecção de diferença mínima significativa entre tratamentos e o tempo. Para comparação múltipla de médias foi utilizado o Teste de Tukey. Sempre que necessário, os dados foram logaritimizados (logaritmo natural) para atender as premissas de normalidade e homogeneidade de variância dos dados. O programa estatístico utilizado para as análises de variância e significância foi o Sigma Stat 12.0.

3. RESULTADOS

3.4. Variáveis abióticas

A tabela 3 resume os dados abióticos nos diferentes tratamentos durante o período de estudo, bem como os resultados da RM-ANOVA.

As maiores concentrações de amônio e nitrato foram encontradas no tratamento N+ no 14° dia do período experimental. A maior concentração de N-NO₂ ocorreu no tratamento N+ no 7° dia do período experimental. As maiores concentrações de PT e PDT foram encontradas no tratamento NP+ no 14° dia do período experimental. Todos os valores de nitrogênio inorgânico dissolvido, PDT e PT tiveram diferenças significativas entre tratamentos. As maiores concentrações de OD foram encontradas no tratamento NP+ no 7° dia e diferença significativa foi detectada entre tratamentos e tempo. A temperatura da água apresentou diferença significativa. A concentração de CO₂ livre, nitrogênio total, P-PO₄ e silicato e os valores de pH não tiveram diferença significativa entre tratamento e tempo.

A quantidade do material particulado em suspensão não apresentou diferença significativa entre tratamentos, mas verificou-se diferença significativa entre os dias (RM-ANOVA 2 fatores: $F = 15,766$ $p = 0,004$; Figura 5A). A atenuação de luz foi significativamente diferente somente entre tratamentos (Figura 5B; RM-ANOVA 2 fatores: $F = 11,496$; $p = 0,003$), sendo os maiores valores encontrados no tratamento NP+ no 7° dia e nos tratamentos P+ e NP+ no 14° dia.

A razão N:P encontrada nos tratamentos no 7° e no 14° dia corroborou a proposta inicial, pois a razão foi maior que 16 no tratamento N+, menor do que 16 no tratamento P+ e próxima de 16 no tratamento NP+. A razão N:P apresentou diferença significativa entre tratamento (RM-ANOVA 2 fatores: $F = 233,315$; $p < 0,001$) e tempo (RM-ANOVA 2 fatores: $F = 10,348$; $p < 0,001$) (Figura 6).

3.5. Análise dos componentes principais

A análise dos componentes principais resumiu 77,88% da variabilidade dos dados abióticos nos dois primeiros eixos (Figura 7). A PCA evidenciou que as condições limnológicas pretendidas nos tratamentos foram mantidas durante o período experimental. O controle e tratamento N+ do 7° e 14° dia e o tratamento NP+ do 14° dia foram ordenados no lado negativo do eixo 1 e correlacionados à elevadas concentrações de nitrato e amônio ($r = > -0.8$). No lado oposto, o tratamento P+ do 7° e 14° dia e o tratamento NP+ do 7° dia foram correlacionados às maiores concentrações de ortofosfato. No eixo 2, o controle foi correlacionado com elevadas concentrações

de CO₂ livre no lado negativo, enquanto os tratamentos NP+ e N+ foram correlacionados à elevada concentração de NT e maiores valores de pH.

Tabela 3. Valores médios e erro padrão dos dados limnológicos (n=3) nos tratamentos (C - controle, N+ - adição de nitrogênio, P+ - adição de fósforo; NP+ - adição combinada de nitrogênio e fósforo) no 7° e 14° dia do período experimental. Resultados da ANOVA 2-fatores de medidas repetidas para determinação das diferenças significativas (valor de *p*) entre os tratamentos e tempo, onde *ns* refere-se a valores não significativos.

Variáveis	7° dia				14° dia				RM Anova 2-fatores	
	C	N+	P+	NP+	C	N+	P+	NP+	Tratamento	Tempo
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	12,9 (±4,5)	8,4 (±0,9)	1,3 (±0,7)	0,1 (±0,0)	113,8 (±65,5)	18,7 (±4,0)	7,5 (±0,4)	4,2 (±0,8)	ns	ns
Fósforo total (µg.L ⁻¹)	100,2 (±23,0)	85,8 (±8,1)	282,2 (±24,4)	388,7 (±9,1)	92,4 (±13,6)	227,4 (±11,5)	383,5 (±65,1)	432,9 (±41,9)	<0,001	0,004
Nitrogênio total (µg.L ⁻¹)	350,8 (±188,7)	1662,8 (±149,1)	266,3 (±79,5)	1183,5 (±52,6)	241,9 (±147,0)	1269,1 (±64,5)	587,0 (±220,0)	1355,6 (±334,1)	ns	ns
N-NH ₄ (µg.L ⁻¹)	247,5 (±92,8)	294,8 (±114,5)	11,0 (0,2)	10,8 (±0,0)	553,3 (±142,3)	631,8 (±149,2)	49,1 (±4,1)	341,5 (±15,2)	0,026	<0,001
N-NO ₂ (µg.L ⁻¹)	16,0 (±0,7)	443,8 (±20,9)	8,3 (±3,7)	406,4 (±67,3)	28,3 (±2,6)	257,7 (±6,9)	1,2 (±0,0)	172,1 (±17,7)	<0,001	0,003
N-NO ₃ (µg.L ⁻¹)	143,6 (±13,6)	859,6 (±56,5)	5,9 (±4,6)	337,1 (±12,9)	69,8 (±5,0)	1313,3 (±239,8)	14,4 (±3,6)	795,2 (±65,0)	<0,001	0,004
OD (mg.L ⁻¹)	6,7 (±0,5)	10,0 (±0,9)	10,9 (±0,4)	14,2 (±0,5)	5,9 (±0,0)	6,7 (±0,7)	6,0 (±1,2)	6,9 (±0,2)	<0,001	<0,001
PDT (µg.L ⁻¹)	14,2 (±0,7)	13,8 (±0,3)	60,3 (±18,5)	66,7 (±1,5)	13,9 (±0,5)	14,6 (±0,8)	124,3 (±20,4)	157,5 (±12,5)	<0,001	<0,001
pH	6,9 (±0,1)	7,0 (±0,0)	8,0 (±0,3)	8,9 (±0,0)	6,2 (±0,2)	6,8 (±0,1)	7,1 (±0,0)	7,4 (±0,1)	ns	ns
P-PO ₄ (µg.L ⁻¹)	1,6 (±0,1)	1,4 (±0,2)	29,1 (±16,8)	14,7 (±0,4)	1,2 (±0,1)	1,3 (±0,2)	104,9 (±21,5)	133,2 (±12,1)	ns	ns
Silicato (mg.L ⁻¹)	2,1 (±0,0)	2,0 (±0,1)	2,1 (±0,1)	2,0 (±0,1)	2,0 (±0,1)	1,8 (±0,2)	2,1 (±0,4)	1,8 (±0,1)	ns	ns
Temperatura da água (°C)	16,7 (±0,1)	16,6 (±0,0)	16,6 (±0,0)	16,7 (±0,0)	14,5 (±0,2)	14,9 (±0,0)	15,1 (±0,0)	15,4 (±0,1)	0,026	<0,001

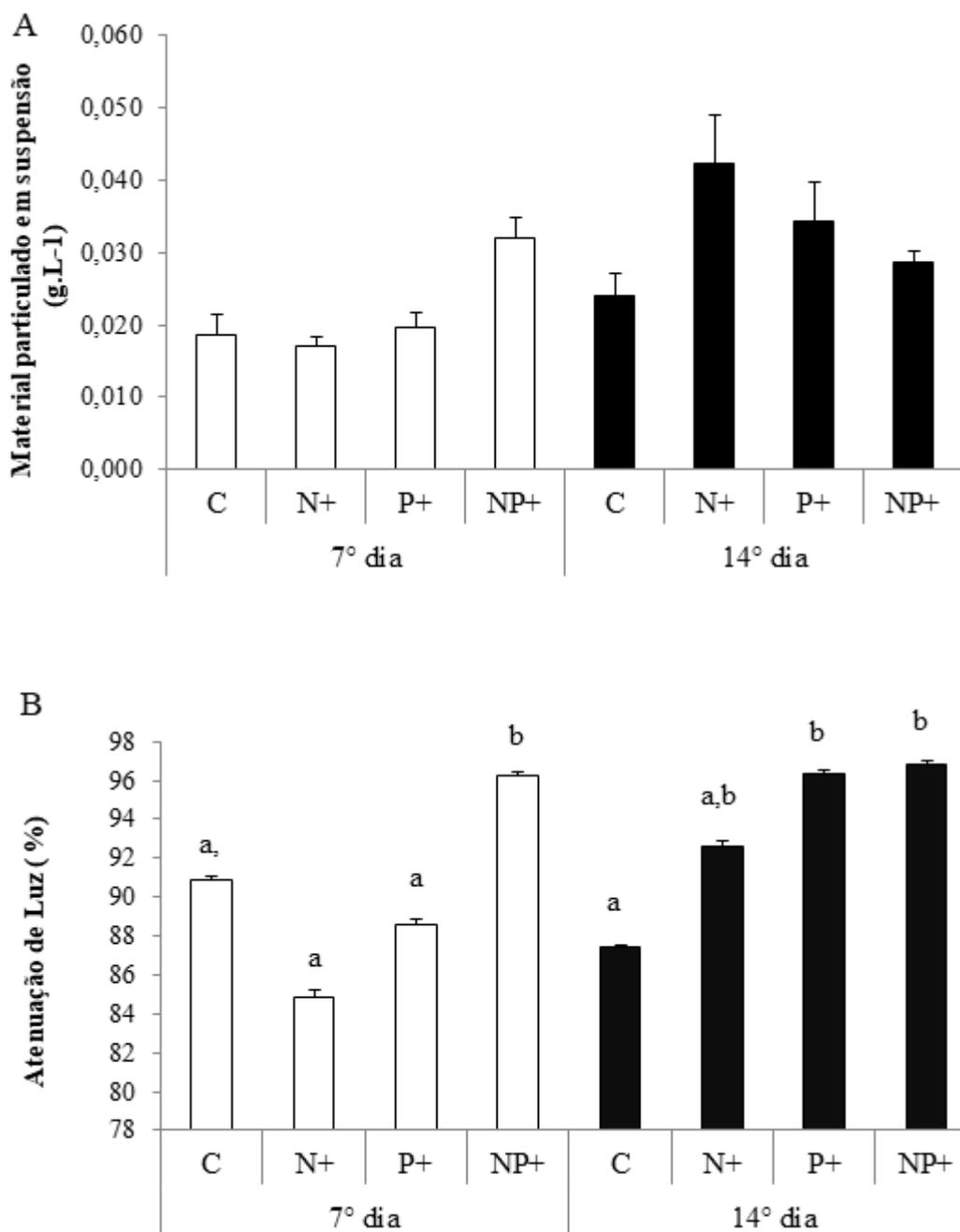


Figura 5. Concentração média ($n = 3$, Erro Padrão) do material particulado em suspensão (A) e da disponibilidade de luz (B) nos tratamentos (C = controle, N+ = adição de nitrogênio, P+ = adição de fósforo; NP+ = adição combinada de nitrogênio e fósforo) no 7º e 14º dia do período experimental. As letras iguais acima das barras indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p = 0,05$).

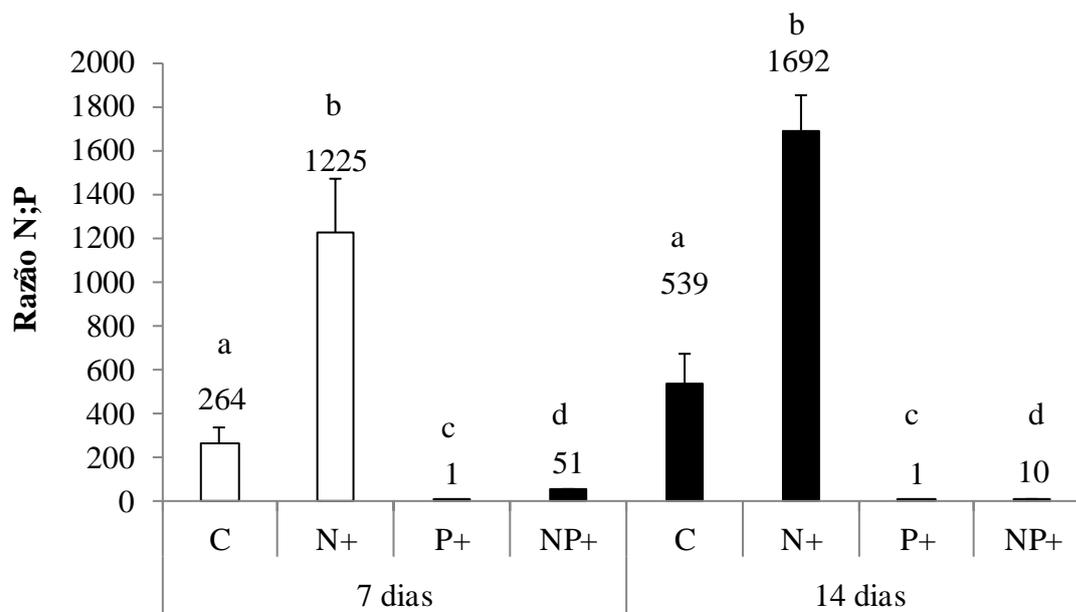


Figura 6. Razão molar de N:P ($n = 3$, Erro Padrão) nos tratamentos no 7^o e 14^o dia do período experimental (C = controle, N+ = adição de nitrogênio, P+ = adição de fósforo; NP+ = adição combinada de nitrogênio e fósforo). As letras iguais acima das barras indicam a ausência de diferença significativa entre tratamentos em cada dia pelo Teste de Tukey ($p = 0,05$).

Tabela 4. Correlação de Pearson das variáveis ambientais (r) com os eixos 1 e 2 da PCA e seus respectivos códigos.

Vetores	Código	Eixo 1	Eixo 2
CO2 Livre	CO2	-0,616	0,683
Atenuação de Luz	AtenLuz	0,179	-0,401
Temperatura	Temp	0,288	-0,357
pH	pH	0,551	-0,689
Condutividade Elétrica	Cond	-0,682	0,041
Sólidos Totais Dissolvidos	TDS	-0,672	0,024
Nitrato	NO3	-0,857	-0,485
Amônio	NH4	-0,825	0,382
Nitrogênio total	NT	-0,323	-0,798
Fósforo Total	PT	0,492	-0,605
Ortofosfato	PO4	0,479	-0,372
Silicato	Si	0,241	0,287

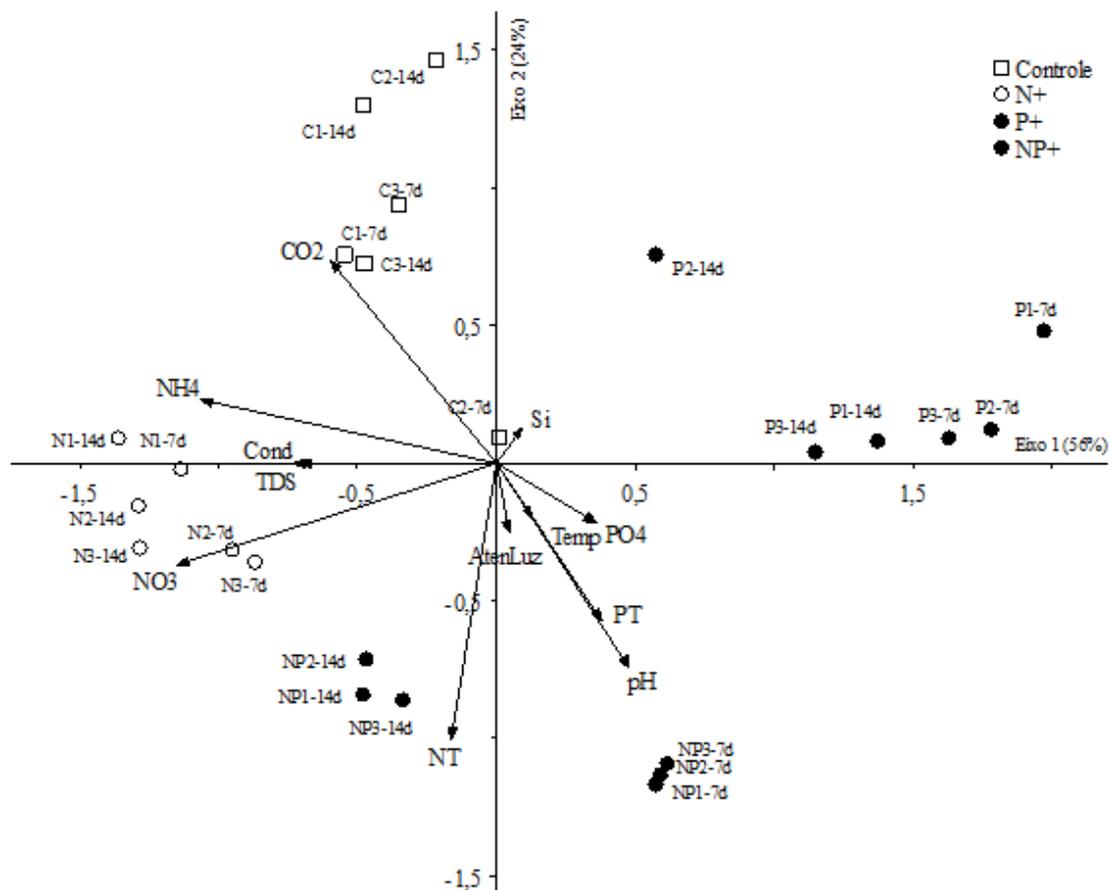


Figura 7. PCA dos dados abióticos dos tratamentos em tréplicas durante o período experimental. Unidades amostrais: a primeira letra representa o tratamento, o número representa a tréplica e números depois do traço indicam o dia de amostragem. Vetores: NH₄ - amônio, TDS - sólidos totais dissolvidos, NO₃ - nitrato, AtenLuz - atenuação da luz, Temp - temperatura, PT - fósforo total, NT - nitrogênio total, Cond - condutividade elétrica, pH - pH, CO₂ - CO₂ livre.

3.6. Clorofila-*a* do fitoplâncton e do epipélon

Em relação ao controle, a concentração de clorofila-*a* do fitoplâncton apresentou os maiores valores nos tratamentos P+ e NP+ no 7º dia do período experimental (Figura 8A, Tabela 5). A concentração de clorofila-*a* no tratamento NP+ foi três vezes maior do que a encontrada no tratamento P+ e seis vezes maior que a do controle. A concentração de clorofila-*a* apresentou diferença significativa entre tratamentos e tempo, mas nenhuma interação significativa foi encontrada entre tratamento e tempo. De acordo com a comparação múltipla de média, há diferença significativa na concentração de clorofila-*a* entre o tratamento NP+ e os demais tratamentos (Tukey: $p = <0,032$). No 14º dia do período experimental, a concentração de clorofila-*a* nos tratamentos N+ e P+ aumentaram em relação ao 7º dia, já no tratamento NP+ o valor de clorofila-*a* manteve-se elevado e maior do que no controle.

A concentração de clorofila-*a* do epipélon não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, mas diferença significativa foi detectada na escala temporal (Figura 8B; Tabela 5). Assim, a diferença da concentração média de clorofila-*a* entre os dias é maior do que seria esperado por acaso, pois existe diferença estatisticamente significativa. Além disso, nenhuma interação significativa foi encontrada entre os fatores. De acordo com a comparação múltipla de média, há diferença significativa na concentração de clorofila-*a* entre o tratamento N+ e os tratamentos P+ e NP+ no 7º dia do período experimental (Tukey: $p < 0,04$).

Tabela 5. Resultados da RM-ANOVA 2 fatores da clorofila-*a* do fitoplâncton entre tratamentos e dias do período experimental.

	Tratamento		Tempo		Interação entre fatores	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Clorofila- <i>a</i> do Fitoplâncton	20,0	<0,001	8,0	0,026	2	0,224
Clorofila- <i>a</i> do Epipélon	1,787	0,227	45,151	<0,001	2	0,183

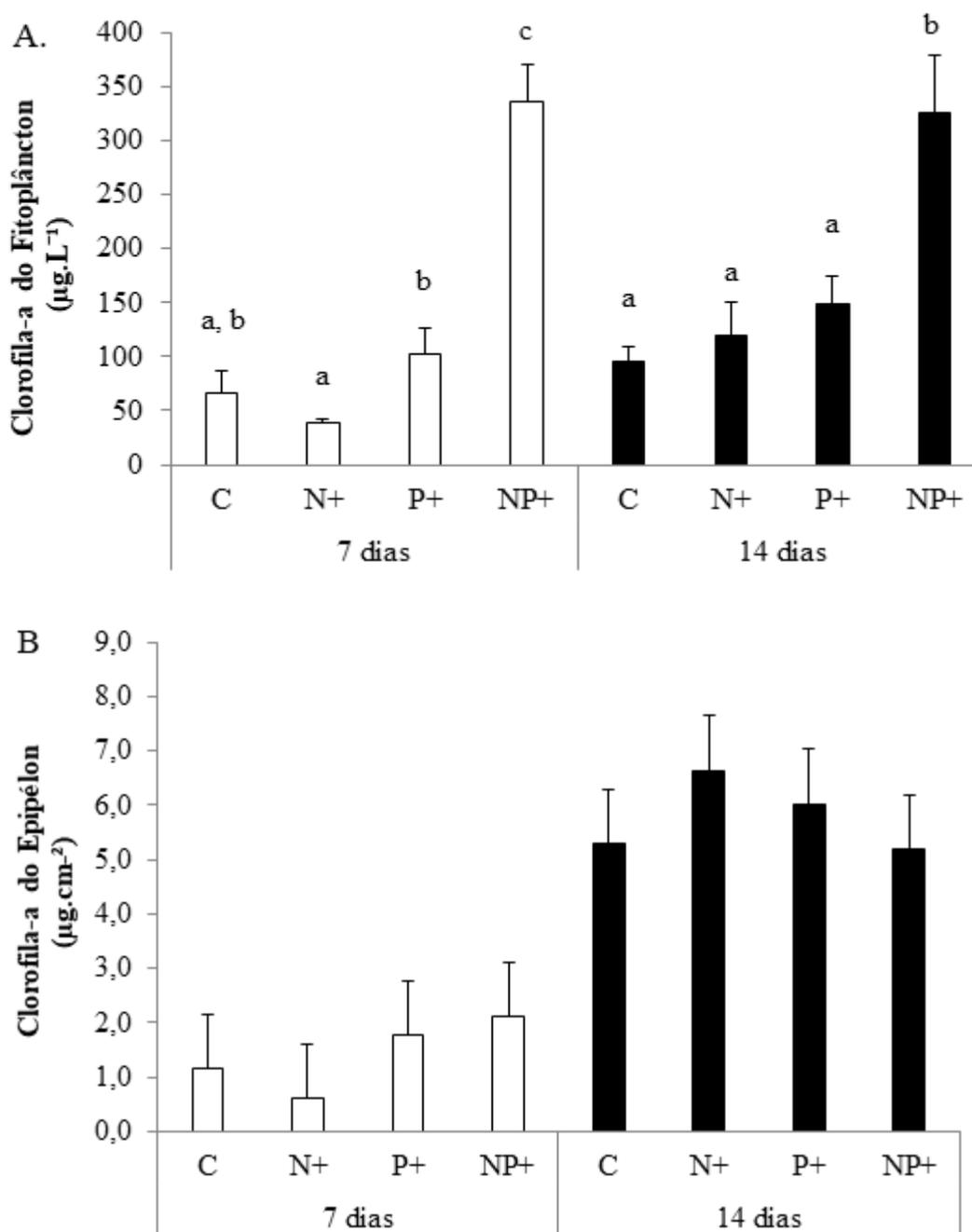


Figura 8. Valores médios e erro padrão ($n = 3$) da concentração de clorofila-*a* do fitoplâncton (A) e do epipélon (B) nos tratamentos (C = controle, N+ = adição de nitrogênio, P+ = adição de fósforo; NP+ = adição combinada de nitrogênio e fósforo) no 7º e 14º dia do período experimental. As letras iguais acima das barras indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos em cada dia pelo Teste de Tukey ($p = 0,05$).

4. DISCUSSÃO

A concentração de clorofila-*a* do fitoplâncton respondeu ao enriquecimento combinado e isolado por N e P em curto intervalo de tempo, enquanto a concentração de clorofila-*a* do epipelon não respondeu ao enriquecimento. Assim, o efeito do enriquecimento por N e P foi verificado somente sobre o fitoplâncton. Segundo Hwang *et al.* (1998), o fitoplâncton consegue assimilar os nutrientes mais facilmente do que outras comunidades algais, como o perifíton, sendo um ótimo competidor por recursos (Hecky & Kilham 1988; Wetzel 1983). Além da competição com o fitoplâncton, o desenvolvimento do epipelon fotossinteticamente ativo depende diretamente da disponibilidade de luz (Vadeboncoeur *et al.* 2014). No caso do reservatório estudado, a luz no fundo é praticamente ausente (Zeu média de 2,1 m, Crossetti *et al.* 2019), logo o desenvolvimento da comunidade algal sobre o sedimento é bastante restrita, como evidenciado no controle. Considerando que o enriquecimento teve efeito positivo sobre o fitoplâncton, as respostas do epipelon certamente estiveram associadas à baixa disponibilidade de luz, cuja atenuação variou de 78% a 98%.

No experimento realizado, o tempo foi um fator importante, pois houve diferença significativa entre o 7° e 14° dia período experimental. Conforme Santos (2017), o tempo de resposta da comunidade epipélica ao enriquecimento deve ser considerado, pois o período de 15 dias pode não ser suficiente para obtenção da resposta das comunidades de algas epipélicas em reservatório mesotrófico, principalmente devido à rápida resposta positiva do fitoplâncton. Diferente de como ocorre em lagos rasos mesotróficos, em lagos rasos eutróficos, o tempo de resposta do epipelon pôde ser visto no 14° dia. Desta forma no presente estudo, o tempo para o desenvolvimento do epipelon não foi um fator importante, mas sim a disponibilidade de luz, que não aumentou com a alteração da razão N:P nos tratamentos.

Considerando o potencial de limitação do crescimento algal, o fitoplâncton foi considerando colimitado por N e P. Segundo Maberly *et al.* (2002) e Huszar *et al.* (2006), a co-limitação é comumente encontrada. Além disso, o fósforo é tido como o nutriente limitante primário do crescimento algal em diferentes regiões, sendo elemento-chave na regulação da produtividade dos ecossistemas (Huszar *et al.* 2005). No presente estudo, o potencial de limitação por nutrientes do epipelon não foi identificado. Em lagos eutróficos rasos, a limitação por nutrientes pode ser menos importante do que a limitação de luz para o epipelon (Vadeboncoeur & Lodge 2000). Desta forma, além do sombreamento causado pela floração do fitoplâncton nos tratamentos enriquecidos, a falta de resposta do epipelon ao enriquecimento pode ter relação com o estoque de nutrientes presente no sedimento. Estudos relataram que os nutrientes do sedimento são mais importantes para as algas epipélicas do que

os nutrientes na coluna de água (Hansson 1992; Vinebrooke & Leavitt 1999). Em um estudo paleolimnológico no reservatório estudado, Costa-Böddeker et al. (2012) mostrou que com o decorrer dos anos a concentração de fósforo no sedimento aumentou. Portanto, no lago das Garças, a disponibilidade de nutrientes no sedimento, particularmente o fósforo, pode ser suficiente para suprir as necessidades do epipélon. Assim, a disponibilidade de nutrientes provavelmente não foi um fator limitante para o desenvolvimento do epipélon, pois o sedimento tem estoque de nutrientes (Dodds 2003) e a luz é geralmente o fator limitante (Vadeboncoeur et al. 2014; Poulíčková et al. 2014). Tal observação também verificada por Tavares et al. (2019) em reservatório mesotrófico.

Finalmente, evidenciou-se que o enriquecimento combinado e isolado por N e P teve efeito positivo sobre a quantidade de material particulado em suspensão, incluindo o fitoplâncton, e a atenuação da luz em curto intervalo de tempo. Mudanças no potencial de limitação do fitoplâncton não promoveram alterações suficientes na atenuação da luz, que permaneceu alta durante todo o período experimental (78-98%). Assim, concluímos que mudanças na estequiometria N e P alteram a biomassa fotossintética do fitoplâncton, mas apresentaram pouco ou nenhum efeito significativo sobre a biomassa do epipélon, principalmente devido à limitação por luz. Destaca-se que futuros estudos devem avaliar os efeitos das mudanças na estequiometria N e P sobre a estrutura taxonômica do epipélon e do fitoplâncton, pois a quantidade de clorofila-*a* varia grandemente entre os grupos algais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA, 1995.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Edition. 2540 D. Total Suspended Solids Dried at 103 -105C, p. 2-56.
- Bicudo, C.E.M., Carmo, C.F., Bicudo, D.C., Henry, R., Piao, A.C.S., Santos, C.M. & Lopes, M.R.M. 2002.** Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In:* D.C. Bicudo, M.C.Forti, & C.E.M. Bicudo (eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, pp. 141-158.
- Bicudo, D. C., Fonseca, B. M., Bini, L. M., Crossetti, L. O., Bicudo, C. E. M. & Araújo-Jesus, T. 2007.** Undesirable side-effects of water hyacinth control in a shallow tropical reservoir. *Freshwater Biology*. 52, 1120–1133.
- Bicudo, D.C., Fonseca, B.M., Bini, L.M., Crossetti, L.O., Bicudo, C.E.M. & Jesus, T.A. 2007.** Undesirable side-effects of water hyacinth control in a shallow tropical reservoir. *Freshwater Biology* 52: 1120-1133.
- Borduqui, M. & Ferragut, C. 2012.** Factors determining periphytic algae succession in a tropical hypereutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 683:109–122.
- Cano, M.G., Casco, M.A., Solari, L.C., Mac Donagh, M.E., Gbellone, N.A., Claps, M.C. 2008.** Implications of rapid changes in chlorophyll-a of plankton, epipelon, and epiphyton in a Pampean shallow lake: an interpretation in terms of a conceptual model. *Hydrobiologia* 614: 33-45.
- Carmo, C.F., Henry, R., Bicudo, D.C. & Bicudo, C.E.M. 2002.** A degradação da água nos reservatórios do PEFI. *In:* D.C. Bicudo, M.C. Forti & C.E.M. Bicudo (eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, pp. 271-296.
- Casco, M.A., Mac Donagh, M.E., Cano, M.G., Solari, L., Claps, M.C. & Gbellone, N. 2009.** Phytoplankton and epipelon responses to clear and turbid phases in a seepage lake (Buenos Aires, Argentina). *International Review of Hydrobiology* 94:153-168.
- Costa-Böddeker, S., Bennion, H., de Jesus, T. A., Albuquerque, A. L. S., Figueira, R. C., & Bicudo, D. D. C. (2012).** Paleolimnologically inferred eutrophication of a shallow, tropical, urban reservoir in southeast Brazil. *Journal of Paleolimnology*, 48(4), 751-766.
- Crossetti, L. O. & Carlos Bicudo, C. E. M. 2008.** Phytoplankton as a monitoring tool in a tropical urban shallow reservoir (Garças Pond): the assemblage index application. *Hydrobiologia* 610:161–173.

- Crossetti, L.O., de Campos Bicudo, D., Bini, L.M., Dala-Corte, R.B., Ferragut, C. & Bicudo, C.E.M.** 2019. Phytoplankton species interactions and invasion by *Ceratium furcoides* are influenced by extreme drought and water-hyacinth removal in a shallow tropical reservoir. *Hydrobiologia* 831:71-85.
- Dodds, W.K.** 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- Frost, P.C., Hillebrand, H. & Kahlert, M.** 2005. Low algal content and its effects on the C:P stoichiometry of lake and coastal periphyton. *Freshwater Biology* 50: 1800–1808.
- Genkai-Kato, M., Vadeboncoeur, Y., Liboriussen, L. & Jeppesen, E.** 2012. Benthic–planktonic coupling, regime shifts, and whole-lake primary production in shallow lakes. *Ecology* 93(3): 619–631.
- Golterman, H.L. & Clymo, R.S.** 1971. Methods for chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, International Biological Program, Oxford.
- Golterman, H.L., Clymo, R.S. & Ohmstad, M.A.M.** 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Hansson, L.A.** 1992. Factors regulating periphytic algal biomass. *Limnology and Oceanography* 37: 322-328.
- Hecky, R.E. & Kilham, P.** 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment *Limnology and Oceanography* 33: 796–822.
- Huszar, V.L.M., Bicudo, D.C., Giani, A., Ferragut, C., Martinelli, L.A. & Henry, R.** 2005. Subsídios para a compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifíton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. *In*: Roland, F., César, D. & Marinho, M. (ed.) Lições em Limnologia: Fronteiras conceituais. Rima Editora, São Carlos, Brazil, pp. 243-260.
- Huszar, V.L.M., Caraco, N.F., Roland, F. & Cole, J.** 2006. Nutrient–chlorophyll relationships in tropical-subtropical lakes: do temperate models fit? *Biogeochemistry* 79(1-2): 239-250.
- Hwang, S. J., Havens, K. E., & Steinman, A. D.** 1998. Phosphorus kinetics of planktonic and benthic assemblages in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology* 40(4): 729-745.
- Klausmeier, C.A., Litchman, E., Daufresne, T. & Levin, S.A.** 2008. Phytoplankton stoichiometry. *Ecological Research* 23: 479-485.
- Liboriussen, L. & Jeppesen, E.** 2003. Temporal dynamics in epipellic, pelagic and epiphytic algal production in a clear and a turbid shallow lake. *Freshwater Biology* 48: 418-431.

- 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 Biol.* 47: 2136-2152.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J. & Talling, J.F.** 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. Titus Wilson and Son Ltda, Kendall.
- Peterson, C. G. & Hoagland, K. D.** 1990. Effects of wind-induced turbulence and algal mat development on epilithic diatom succession in a large reservoir. *Archiv für Hydrobiologie.* 118(1):47-68.
- Pouličková, A., Dvořák, P., Mazalová, P. & Hašler, P.** 2014. Epipellic microphototrophs: an overlooked assemblage in lake ecosystems. *Freshwater Science.* 33(2):513–523.
- Redfield, A.C.** 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist* 46: 205-222
- Round, F. E.** 1961. The diatoms of a core from Esthwaite water. *New Phytologist.* 60(1):43-59.
- Sand-Jensen, K. & Borum, J.** 1991. Interactions among phytoplankton periphyton and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany* 41: 137-175.
- Santos, T.R.** 2017 Dinâmica da comunidade de algas planctônicas, perifíticas e metafíticas em reservatório tropical raso: um estudo observacional e experimental. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica, São Paulo, SMA. 124p.
- Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U.** 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- Solorzano, L.** 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14: 799-801.
- Søndergaard, M., Jensen, J.P. & Jeppesen, E.** 2001. Retention and Internal Loading of Phosphorus in Shallow, Eutrophic Lakes. *The Scientific World* 1: 427–442.
- Spears, B.M. & Jones, I.D.** 2010. The long-term (1979–2005) effects of the North Atlantic Oscillation on wind-induced wave mixing in Loch Leven (Scotland). *Hydrobiologia* 646:49-59.
- Spears, B.M., Carvalho, L., Perkins, R., O'Malley, M.B., Paterson, D.M.** 2010. The contribution of epipelton to total sediment microalgae in a shallow temperate eutrophic loch (Loch Leven, Scotland). *Hydrobiologia* 646:281–293.
- Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R.** 1960. A manual of seawater analysis. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 125: 1-185.
- Tavares, D.A., Lambrecht, R.W., de Almeida Castilho, M. C., Henry, R., & Ferragut, C.** (2019). Epipelton responses to N and P enrichment and the relationships with

- phytoplankton and zooplankton in a mesotrophic reservoir. *Aquatic Ecology*, 53(2), 303-314.
- Vadeboncoeur Y., Lodge, D.M. & Carpenter, S.R.** 2001. Whole-lake fertilization effects on distribution of primary production between benthic and pelagic habitats. *Ecology* 82: 1065-1077.
- Vadeboncoeur Y., Lodge, D.M. & Carpenter, S.R.** 2001. Whole-lake fertilization effects on distribution of primary production between benthic and pelagic habitats. *Ecology* 82: 1065-1077.
- Vadeboncoeur, Y. & Lodge, D. M.** 2000. Periphyton production on wood and sediment: substratum-specific response to laboratory and whole-lake nutrient manipulations. *The North American Benthological Society* 19(1):68–81.
- Vadeboncoeur, Y., Devlin, S.P., McIntyre, P.B. & Vander Zanden, M.J.** 2014. Is there light after depth? Distribution of periphyton chlorophyll and productivity in lake littoral zones. *Freshwater Science* 33(2): 524–536.
- Vadeboncoeur, Y., Jeppesen, E., Vander Zanden, M.J., Schierup, H.H., Christoffersen, K. & Lodge, D.M.** 2003. From Greenland to green lakes: cultural eutrophication and the loss of benthic energy pathways in lakes. *Limnology and Oceanography* 48:1408–1418.
- Valderrama, G.C.** 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109-112.
- Vinebrooke, R.D., & Leavitt, P.R.** 1999. Phyto-benthos and phytoplankton as potential indicators of climate change in mountain lakes and ponds: a HPLC-based pigment approach. *Journal of North American Benthological Society* 18: 14–32.
- Wetzel, R. G. & Likens, G. E.** 1991. *Análise Limnológica*. 2ª Edição, Springer Verlag, Nova Iorque
- Wetzel, R.G.** 1983. *Limnology*. 2 ed. Saunders College Publishing. San Diego.
- Wetzel, R.G.** 2001. *Limnology*. New York: Academic Press, 1006 p.
- Yang, H., Flower, R. J. & Battarbee, R. W.** 2009. Influence of environmental and spatial variables on the distribution of surface sediment diatoms in an upland loch, Scotland. *Acta Botanica Croatica* 68:189–202.

Capítulo 2

Respostas da clorofila-*a* e estrutura taxonômica do epipélon à oligotrofização e de suas relações com o fitoplâncton

1. INTRODUÇÃO

Apesar das comunidades algais contribuírem grandemente para a biodiversidade e para o funcionamento dos ecossistemas, há ainda inúmeras lacunas no conhecimento, principalmente, envolvendo as inter-relações entre as comunidades algais (fitoplâncton-epipélon-epifíton). O conhecimento sobre as interações entre as comunidades algais tem grande importância ecológica, uma vez que pode influenciar a produtividade primária total, a ciclagem de nutrientes e a transferência de energia através da rede alimentar (Vadeboncoeur *et al.* 2001; Liboriussen & Jeppesen 2006). As interações entre as comunidades algais estão diretamente relacionadas às tomadas de decisão e gestão ambiental (Havens *et al.* 1996), principalmente devido à rápida resposta algal aos impactos ambientais, como a eutrofização. Atualmente, o grande desafio mundial é reverter a eutrofização, ou seja, implementar a oligotrofização nos ecossistemas enriquecidos.

Em lagos eutróficos temperados, Genkai-Kato *et al.* (2012) demonstraram que o desenvolvimento do epipélon tem importante papel no controle da concentração de fósforo na coluna de água, pois atua na retenção do fósforo no sedimento e, conseqüentemente, pode diminuir o crescimento do fitoplâncton. Assim, o desenvolvimento do epipélon pode aumentar a possibilidade de sucesso na restauração de lagos e reservatórios rasos, como observado em lagos rasos temperados e de planície de inundação (Liboriussen & Jeppesen, 2006; Zheng & Stevenson 2006). Em lagos oligotróficos, a baixa densidade do fitoplâncton permite que a luz alcance os sedimentos e, assim, o epipélon pode manter a alta taxa de produção (Vadeboncoeur & Steinman 2002). Por outro lado, em lagos eutróficos, a elevada biomassa do fitoplâncton pode impor a limitação de luz às algas epipélicas, reduzindo a sua produtividade. O desenvolvimento do epipélon é bastante dependente da disponibilidade de luz, que pode ser diretamente controlada pela quantidade de material particulado em suspensão, cobertura de macrófitas aquáticas e pela biomassa fitoplanctônica (Vadeboncoeur *et al.* 2014, Santos 2017). O aumento da profundidade da zona eufótica pode influenciar a diminuição da disponibilidade de nutrientes sobre a produtividade, revelando-se um importante aspecto da histerese do processo de oligotrofização (Finger *et al.* 2013). Lagos

pequenos com profundidades entre 0,5 m a 1 m são consideradas ideais para o desenvolvimento de algas epipélicas, pois há luz suficiente para a realização da fotossíntese (Vadeboncouer *et al.* 2014). Desta forma, a comunidade epipélica tem importância no funcionamento do ecossistema, em especial, na região litorânea de lagos e reservatórios (Pouličková *et al.* 2008a-b), incluindo lagos tropicais (Santos, 2017).

O epipélon tem importante papel na manutenção de águas claras (Genkai-Kato *et al.* 2012) e na inter-relação entre as comunidades fitoplanctônicas e epipélicas (Santos 2017, Tavares 2018). Contudo, além do escasso conhecimento sobre a dinâmica do epipélon, pouco se sabe sobre o efeito da oligotrofização na estrutura taxonômica. Segundo Hasler *et al.* (2008), o epipélon pode contribuir grandemente com a diversidade aquática. A maioria dos estudos sobre a estrutura taxonômica do epipélon foi realizado em lagos rasos temperados (Lane *et al.* 2003; McMaster & Schindler 2005; Zheng & Stevenson 2006; Pouličková *et al.* 2008; Hasler *et al.* 2008). Em um lago subtropical, Cano *et al.* (2012, 2016) evidenciaram a alternância na dominância do epipélon e do fitoplâncton ao longo de um ano. Recentemente, Santos (2017) e Tavares (2018) avaliaram a estrutura do fitoplâncton e epipélon conjuntamente em reservatório mesotrófico, ambos reportaram a importância da variação da luz sobre o desenvolvimento do epipélon.

O presente estudo tem como objetivo analisar experimentalmente as respostas da biomassa e da estrutura taxonômica do epipélon e suas relações com o fitoplâncton em um gradiente de oligotrofização. Especificamente, pretende-se responder aos seguintes questionamentos: a) A oligotrofização pode promover a redução da biomassa fitoplanctônica e aumento da biomassa do epipélon? b) A oligotrofização pode mudar a composição de espécies do fitoplâncton e do epipélon? c) Há formação de diferentes guildas de espécies de algas epipélicas associadas aos graus de oligotrofização? O presente estudo contribui para o melhor entendimento da relação fitoplâncton-epipélon em reservatório eutrófico tropical.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

A área de estudo encontra-se descrita no capítulo 1.

2.2. Delineamento Experimental

Para avaliar o efeito da oligotrofização sobre o fitoplâncton e epipélon foi realizado um experimento *in situ* de diluição da concentração de nutrientes da água em mesocosmos de fundo aberto na região litorânea do Lago das Garças. Assim como ocorreu no experimento I,

o experimento II foi realizado no período seco, devido à baixa precipitação pluviométrica, que minimiza os efeitos da chuva sobre a oligotrofização. Durante o período experimental (4 de agosto – 23 de agosto de 2017), a temperatura do ar variou de 19,4 – 25,4 °C e a precipitação total acumulada neste período foi de 74,4 mm (Tabela 1).

Tabela 1. Valores mínimos, máximos, médios, desvio padrão (D.P.) e coeficiente de variação (C.V.) da temperatura do ar (°C) e precipitação pluviométrica (mm) no período experimental (4 de agosto – 23 de agosto de 2017).

Valores	Temperatura do ar (°C)	Precipitação Pluviométrica (mm)
Mínimo	19,4	0,0
Máximo	25,4	31,5
Média	22,6	3,7
D. P.	1,8	7,5
C. V. (%)	8,1	201,7

A realização do experimento ocorreu entre os dias 4 a 23 de agosto de 2017. Os mesocosmos foram colocados na água no dia 4 de agosto, o tempo de aclimação foi de 5 dias e os processos de diluição ocorreu no dia 10 de agosto (1º dia do período experimental). As amostragens das variáveis físicas, químicas e biológicas foram realizadas no 2º, 7º e 14º dia (11, 16 e 23 de agosto, respectivamente). O resumo dos procedimentos realizados durante o período experimental encontra-se na tabela 2.

Tabela 2. Resumo dos procedimentos realizados durante o período experimental no ano de 2017.

Período experimental	Data	Procedimentos
	04/agosto	Instalação dos mesocosmos
	05/agosto	
	06/ agosto	
	07/ agosto	Período de Aclimatação
	08/ agosto	
	09/ agosto	
1°	10/ agosto	Diluição dos tratamentos
2°	11/ agosto	Amostragem do 2° dia
7°	16/ agosto	Amostragem do 7° dia
14°	23/ agosto	Amostragem do 14° dia

Amostragens das variáveis físicas, químicas e biológicas foram realizadas em coletas regulares no 2°, 7°, 14° dia do período experimental. Amostragens para a avaliação da estrutura da comunidade do fitoplâncton e epipélton foram realizadas em coletas no 7°, 14° dia do período experimental.

O experimento II foi realizado com mesocosmos de fundo aberto, utilizados no experimento I, cujas características encontram-se descritas no Capítulo 1. Os mesocosmos foram inseridos no sedimento até atingir partes mais consolidadas do sedimento (argila), evitando que a água do lago penetrasse no interior mesocosmo, alterando o volume padronizado. Todo cuidado foi tomado ao instalar os mesocosmos, uma vez que pretendíamos minimizar a liberação de nutriente do sedimento para a coluna da água. No total foram instalados 12 mesocosmos no lago, com uma distância de 1 metro um do outro para evitar contaminação. Além disso, os mesocosmos foram posicionados no lago de modo a receber as mesmas quantidades de radiação solar, precipitação e vento. Por fim, os mesocosmos foram instalados no mesmo local do experimento I.

O experimento II foi constituído de 4 tratamentos em réplicas designados de: **C** – controle (ausência de diluição); tratamento **T1** – com diluição de 25% da água do mesocosmos; tratamento **T2** – com diluição de 50% da água do mesocosmos; tratamento **T3** –

com diluição de 75% da água do mesocosmos. A quantidade água específica de cada tratamento foi retirada do interior dos mesocosmos manualmente usando um balde de 5 litros. A diluição foi feita com água destilada, a qual foi transportada do laboratório para o campo em galões de polietileno devidamente esterilizados. O volume dos mesocosmos foi padronizado em 151 litros. Os métodos de amostragem da água e do epipélton encontram-se descritas no capítulo 1.

2.3. Variáveis analisadas

As variáveis abióticas foram analisadas na água dos mesocosmos, sendo elas: temperatura, condutividade elétrica, pH e sólidos totais dissolvidos (TDS) (sonda subaquática multiparâmetros Horiba U-50), radiação subaquática (luxímetro Li-Cor), oxigênio dissolvido (OD) (Golterman *et al.* 1978), alcalinidade (Golterman & Clymo 1971), formas de carbono inorgânico dissolvido (CO₂ livre), nitrito e nitrato (Mackereth *et al.* 1978), nitrogênio amoniacal (Solorzano 1969), ortofosfato e fósforo total dissolvido (PDT) (Strickland & Parsons 1960), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) (Valderrama 1981). As amostras para a fração dissolvida dos nutrientes foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/F) sob-baixa pressão ($\leq 0,3$ atm) para posterior análise da clorofila-*a* do fitoplâncton. A atenuação da luz foi calculada conforme Wetzel & Likens (1991): *Atenuação da Luz* = $100x \frac{(I_1 - I_2)}{I_1}$, onde: I_1 é a quantidade de luz da subsuperfície e I_2 do fundo.

A biomassa do fitoplâncton e do epipélton foi analisada por meio da concentração de clorofila-*a* no 7º e 14º dia do período experimental. Amostras de água e do epipélton foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/F) e a extração da clorofila-*a* (com a correção de feofitina) foi feita com etanol (90%), conforme Sartory & Grobblelar (1984). Amostras de água foram filtradas em filtro de fibra de vidro (Whatman GF/C) para determinação do material particulado em suspensão. Os filtros contendo o material filtrado foi pesado e secado à 70°C na estufa até a obtenção de um peso constante (APHA 1995). Além da clorofila-*a*, a estrutura taxonômica do fitoplâncton e das algas epipélicas foram analisadas no 7º e 14º dia do período experimental.

As amostras para análise taxonômica do epipélton e fitoplâncton foram fixadas com formalina 4% e analisadas no microscópio óptico (Zeiss Axioscop). A identificação taxonômica das algas teve como base, publicações regionais, principalmente, referentes ao PEFI, além de literatura internacional especializada, quando necessária. Para a análise quantitativa, as amostras das comunidades algais foram fixadas e preservadas em lugol acético e mantidas no escuro até o momento da análise. A contagem das algas foi realizada em microscópio invertido (Zeiss Axio Observer D1 com optovar 2.5X e captura de imagens),

com aumento de 400x, seguindo o método de Utermöhl (1958). A identificação taxonômica foi realizada em microscópio óptico (Zeiss Axioskop 2, com contraste de fase) e, também, através de imagens obtidas na câmera de alta resolução (Axiocam MRc Rev.3) e o tamanho das algas foi obtido no programa Axio Vision da Zeiss (Imaging Systems 4.7.2). O biovolume médio das espécies de algas foi obtido em Fonseca *et al.* (2014) e o biovolume das espécies ausentes foi estimado de acordo Hillebrand *et al.* (1999). Foram consideradas espécies dominantes aquelas com densidade maior do que 50% da densidade total e abundantes as espécies com densidade maior do que a densidade média da amostra.

2.4. Tratamento dos dados

Os efeitos dos três graus de oligotrofização sobre as variáveis abióticas e bióticas foram analisadas por meio de análise descritiva e representação gráfica dos dados. A média aritmética foi usada como medida de tendência central e o erro padrão como medida de dispersão.

Análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA 2-fatores) foi aplicada aos dados abióticos e bióticos para detecção de diferença mínima significativa entre tratamentos e o tempo. Para comparação múltipla de médias foi utilizado o Teste de Tukey. Sempre que necessário, os dados foram logaritimizadas (logaritmo natural) para atender as premissas de normalidade e homogeneidade de variância dos dados. O programa estatístico utilizado para as análises de variância e significância foi o Sigma Stat 12.0.

Análise conjunta dos dados foi realizada através da análise de componentes principais (PCA), a qual foi realizada com matriz de covariância e dados logaritimizadas no PCORD versão 6.0 (McCune & Mefford 2011).

A análise de redundância (RDA) foi selecionada para avaliar a relação entre os dados abióticos e as algas epipéllicas, pois a análise de correspondência canônica (DCA) apresentou gradiente de comprimento menor que 2, indicando que a relação do biovolume algal com o gradiente ambiental apresentou resposta linear (Birks 2010). A matriz ambiental da RDA foi executada com 14 espécies e cinco variáveis, as quais foram selecionadas em função do grau de importância na ordenação das unidades amostrais pela PCA. As espécies que contribuíram com mais de 5% da biovolume total na amostra foram usadas para elaborar a matriz de espécies. Os dados abióticos e biológicos foram transformados usando $\log x+1$. O teste de randomização foi executado e consideramos eixos interpretáveis aqueles com $p < 0,05$. As análises multivariadas foram feitas no programa PC-ORD 6.0 (McCune & Mefford 2011).

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis abióticas

A tabela 3 resume os dados abióticos nos diferentes tratamentos durante o período de estudo e os resultados da RM-ANOVA 2 fatores encontram-se na tabela 4.

Em relação ao controle, a concentração de amônio aumentou nos tratamentos diluídos no 2º dia do período experimental, mas as concentrações diminuíram em todos os tratamentos no 7º e 14º dia, exceto o tratamento 75%. A concentração de nitrito nos tratamentos diluídos foi sempre menor do que a do controle. O mesmo ocorreu com a concentração de nitrato no 2º e 14º dia. A concentração de amônio, nitrito e nitrato apresentaram diferença significativa entre tratamentos e dias. A concentração média de NT não apresentou diferença significativa entre tratamentos e dias.

A concentração de P-PO₄ esteve abaixo do limite de detecção do método (5 µg L⁻¹) na maioria dos tratamentos e dias. A concentração de PDT nos tratamentos diluídos foi menor do que a do controle no 2º dia, mas os valores aumentaram em todos os tratamentos no 14º dia. A concentração média de PDT apresentou diferença significativa entre tratamentos e dias. Em relação ao controle, a concentração de PT diminuí nos tratamentos diluídos no período experimental, sendo a diferença entre tratamento significativa.

As maiores concentrações de CO₂ livre foram encontradas no tratamento 75% no período experimental e a diferença foi significativa entre tratamentos e dias. A concentração de OD nos tratamentos diminuí durante o período experimental e a diferença foi significativa somente no tempo. Em relação ao controle, o pH diminuí nos tratamentos diluídos nos dois dias e diferença foi significativa detectada entre tratamentos. Apesar da pequena variação, temperatura foi menor nos tratamentos diluídos no 2º e 14º dia e as diferenças foram significativas entre tratamentos e dias.

A quantidade do material particulado em suspensão não apresentou diferença significativa entre tratamentos (RM-ANOVA: F= 3,442; *p*= 0,072), mas houve diferença entre dias (RM-ANOVA: F= 36,919; *p*= <0,001; Figura 1A). A atenuação de luz foi significativamente diferente entre tratamentos (Figura 1B; RM-ANOVA: F= 4,676; *p* = 0,036) e tempo (Figura 1B; RM-ANOVA: F= 63; *p*= <0,001), porém, os valores nos tratamentos 50% e 75% foram menores que o do controle somente no 14º dia (Figura 1B). A quantidade de luz foi sempre maior nos tratamentos diluídos do que no controle.

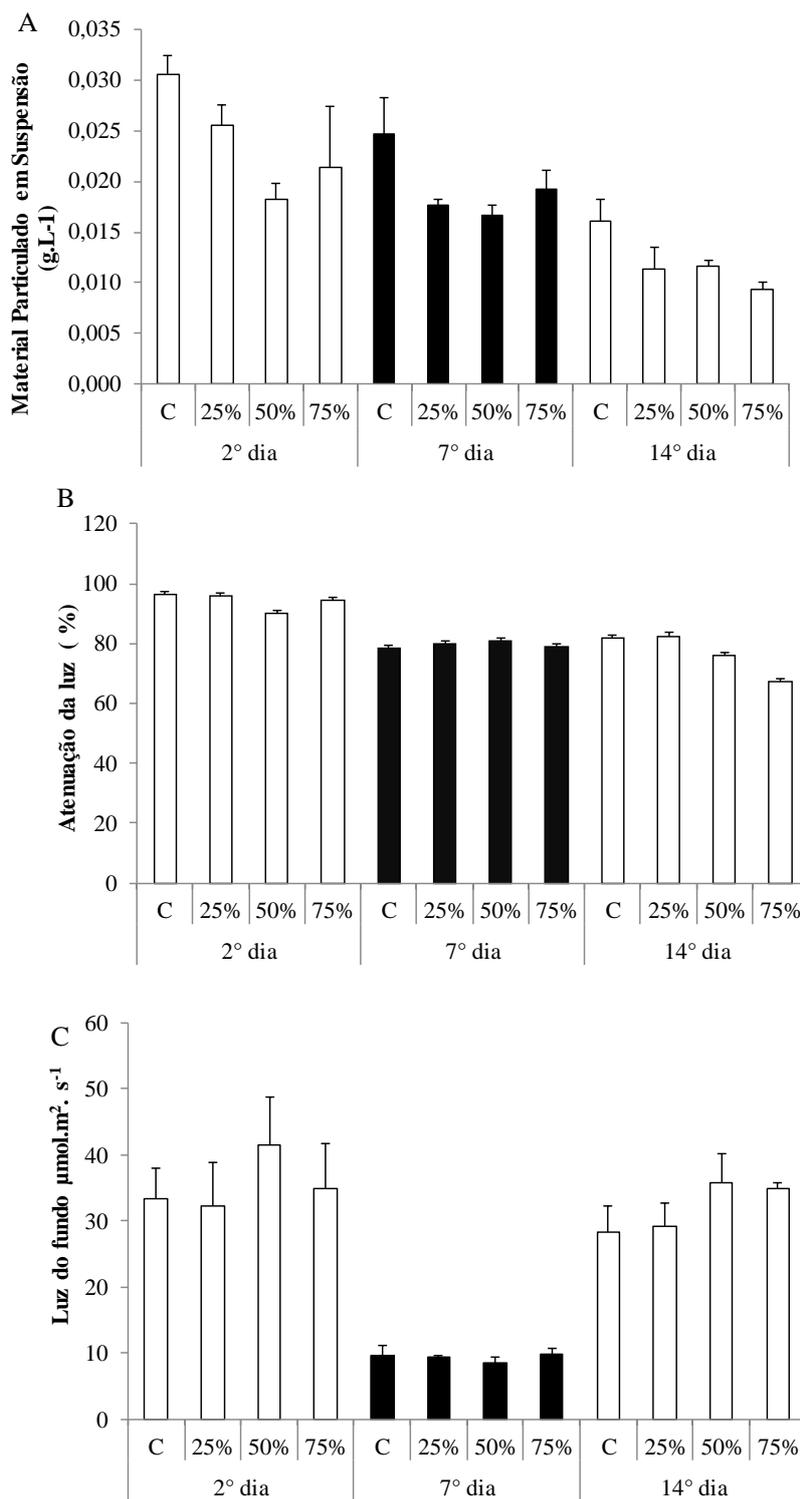


Figura 1. Valores médios e erro padrão (n = 3) da concentração de material particulado em suspensão (A), atenuação da luz (B) e quantidade de luz no fundo nos tratamentos (C) (C – controle; 25% - diluição de 25%; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 2º, 7º e 14º dia do período experimental.

Tabela 3. Valores médios e erro padrão dos dados limnológicos (n=3) nos tratamentos (C – controle; Tratamento 25% - diluição de 25% da água; Tratamento 50% - diluição de 50%; Tratamento 75% - diluição de 75%) no 2°, 7° e 14° dia do período experimental.

Variáveis	2° dia				7° dia				14° dia			
	C	25%	50%	75%	C	25%	50%	75%	C	25%	50%	75%
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	10,09 (±1,0)	8,94 (±2,4)	8,21 (±2,6)	19,68 (±11,0)	12,10 (±2,3)	11,62 (±2,8)	11,92 (±4,4)	30,04 (±20,6)	9,80 (±2,7)	12,42 (±2,5)	16,22 (±8,4)	52,08 (±41,9)
Fósforo total (µg.L ⁻¹)	120,5 (±61,3)	101,1 (±13,9)	76,7 (±14,1)	65,5 (±18,3)	87,2 (±9,5)	78,3 (±23,6)	74,3 (±5,3)	65,5 (±13,9)	81,5 (±29,1)	59,9 (±5,7)	68,0 (±2,7)	57,2 (±8,5)
Nitrogênio total (µg.L ⁻¹)	622,6 (±154,7)	1233,8 (±280,5)	363,4 (±63,7)	573,7 (±13,2)	1194,0 (±645,9)	1167,1 (±7,3)	426,1 (±261,6)	2039,1 (±34,2)	746,5 (±856,1)	1261,6 (±253,3)	550,0 (±306,9)	1998,5 (±51,1)
N-NH ₄ (µg.L ⁻¹)	332,6 (±55,9)	368,0 (±95,7)	341,8 (279,4)	617,0 (±129,0)	1078,0 (±216,8)	361,0 (±37,3)	368,4 (±75,0)	352,6 (±54,2)	1391,6 (±417,2)	1445,1 (±105,8)	440,5 (±233,8)	482,9 (±114,6)
N-NO ₂ (µg.L ⁻¹)	29,5 (±3,1)	19,5 (±1,6)	13,5 (±0,6)	9,2 (±2,7)	14,4 (±4,0)	10,2 (±1,7)	7,3 (±0,9)	5,3 (±0,3)	35,9 (±21,6)	17,0 (±4,0)	12,7 (±5,2)	5,7 (±0,9)
N-NO ₃ (µg.L ⁻¹)	198,3 (±25,3)	150,4 (±5,2)	120,4 (±15,0)	105,7 (±9,9)	76,3 (±11,7)	74,2 (±11,4)	68,7 (±9,6)	75,0 (±6,8)	59,8 (±33,8)	27,6 (±1,9)	42,6 (±6,0)	30,8 (±9,4)
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	7,9 (±1,2)	9,5 (±1,2)	8,3 (±1,0)	7,1 (±0,7)	3,0 (±0,6)	3,7 (±0,3)	4,1 (±0,1)	5,2 (±0,8)	5,3 (±0,6)	4,9 (±0,7)	3,8 (±0,2)	4,3 (±1,6)
PDT (µg.L ⁻¹)	23,3 (±0,5)	20,6 (±0,8)	17,1 (±1,1)	10,1 (±1,1)	15,8 (±0,9)	15,1 (±0,3)	15,2 (±1,0)	15,1 (±1,3)	15,8 (±0,2)	17,8 (±3,3)	17,7 (±0,5)	13,3 (±1,7)
pH	7,3 (±0,1)	7,0 (±0,2)	6,6 (±0,1)	5,7 (±0,2)	7,0 (±0,0)	6,9 (±0,0)	6,8 (±0,0)	6,4 (±0,2)	7,0 (±0,0)	6,9 (±0,0)	6,6 (±0,1)	6,3 (±0,1)
P-PO ₄ (µg.L ⁻¹)	4,3 (±0,4)	4,2 (±0,5)	4,2 (±0,1)	3,6 (±0,3)	3,9 (±0,4)	4,1 (±0,4)	4,1 (±0,1)	4,5 (±0,6)	2,9 (±0,8)	4,2 (±1,0)	5,1 (±0,6)	1,8 (±0,6)
Silicato (mg.L ⁻¹)	3,0 (±0,1)	2,5 (±0,2)	2,0 (±0,2)	1,9 (±0,4)	3,3 (±0,2)	2,8 (±0,1)	2,3 (±0,3)	2,1 (±0,2)	3,2 (±0,1)	3,2 (±0,0)	2,7 (±0,4)	2,3 (±0,2)
Temperatura da água (°C)	16,5 (±0,1)	16,3 (±0,0)	16,2 (±0,0)	16,0 (±0,1)	17,0 (±0,0)	17,0 (±0,0)	17,0 (±0,0)	17,0 (±0,0)	15,2 (±0,0)	15,1 (±0,0)	15,0 (±0,0)	14,9 (±0,1)

Tabela 4. Resultados da ANOVA 2-fatores de medidas repetidas dos dados limnológicos (n=3) nos tratamentos e tempo. *ns* refere-se à ausência de diferença significativa dos dados.

Variáveis ambientais	RM- ANOVA 2-fatores					
	Tratamento		Tempo		Interação	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	11,627	0,003	98,147	<0,001	20,475	<0,001
Fósforo total (µg.L ⁻¹)	2,149	<0,001	4,835	0,004	0,845	0,554
Nitrogênio total (µg.L ⁻¹)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
N-NH ₄ (µg.L ⁻¹)	8,115	0,008	49,559	<0,001	22,187	<0,001
N-NO ₂ (µg.L ⁻¹)	25,170	<0,001	24,810	<0,001	1,501	0,240
N-NO ₃ (µg.L ⁻¹)	5,680	0,022	435,306	<0,001	18,023	<0,001
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	0,680	0,588	112,992	<0,001	5,737	0,002
PDT (µg.L ⁻¹)	30,204	<0,001	11,007	<0,001	16,704	<0,001
pH	76,147	<0,001	3,379	0,060	16,180	<0,001
P-PO ₄ (µg.L ⁻¹)	7,644	0,01	4,429	0,029	7,652	<0,001
Silicato (mg.L ⁻¹)	14,537	0,001	63,391	<0,001	5,324	0,003
Temperatura da água (°C)	28,871	<0,001	4634,374	<0,001	10,195	<0,001

3.2. Fitoplâncton

Em relação ao controle, a concentração de clorofila-*a* do fitoplâncton diminuiu nos tratamentos diluídos em todos os dias (Figura 2A). A concentração média da clorofila-*a* do fitoplâncton apresentou diferença significativa entre tratamentos e dias (Tabela 5). No segundo dia, a média da clorofila-*a* no controle foi significativamente diferente da média no tratamento 50% e 75% (Tukey: $p = <0,032$), enquanto no 14º dia diferenças foram detectadas entre controle e tratamento 50% (Tukey: $p = <0,032$).

O biovolume total do fitoplâncton foi menor nos tratamentos diluídos do que no controle em todos os dias do período experimental (Figura 2B), sendo encontrada diferença significativa entre os tratamentos, mas não entre os dias (Tabela 5).

No fitoplâncton, foram identificadas 14 espécies no controle e nos diferentes tratamentos de diluição durante o período experimental.

Com base no biovolume, cinco espécies foram descritoras consideradas descritoras da comunidade (Figura 3). Embora o biovolume tenha diminuído com a oligotrofização, o *Ceratium furcoides* foi a espécie dominante em todos os tratamentos durante o período experimental (52,5% a 65,6%). A segunda espécie mais abundante foi *Microcystis aeruginosa* (6,5% a 24,4%).

Tabela 5. Resultados da RM-ANOVA 2 fatores dos atributos do fitoplâncton entre tratamentos e dias do período experimental.

	Tratamento		Tempo		Interação entre fatores	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Clorofila- <i>a</i>	11,048	0,003	26,053	<0,001	5,780	0,003
Biovolume total	9.579	0,005	0,411	0,539	2.993	0,096

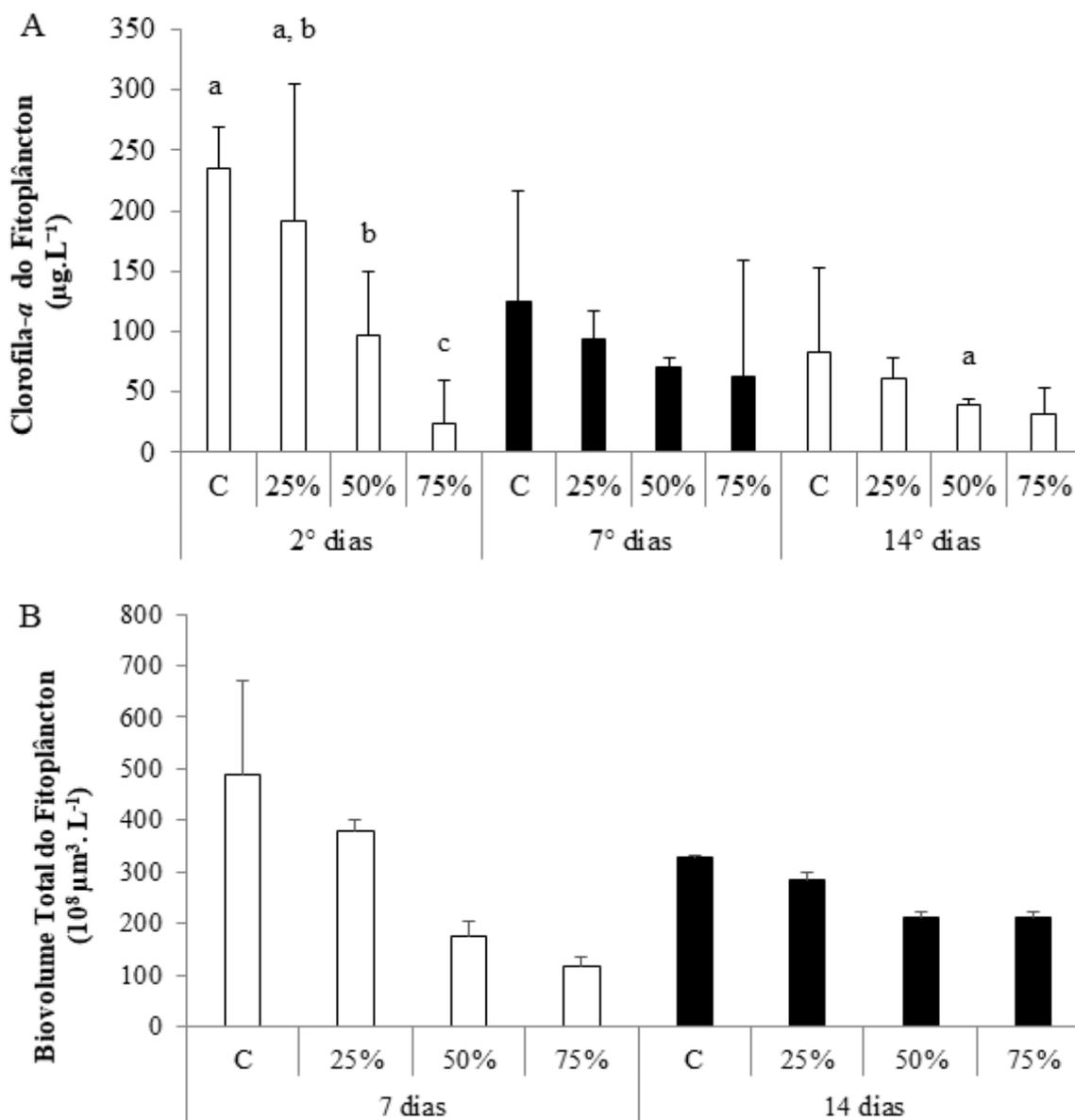


Figura 2. Clorofila-*a* e biovolume total do fitoplâncton nos tratamentos (C – controle; 25% - diluição de 25% da água; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 7° e 14° dia do período experimental. As letras iguais acima das barras indicam ausência de diferença significativa entre tratamentos em cada dia pelo Teste de Tukey ($p= 0,05$).

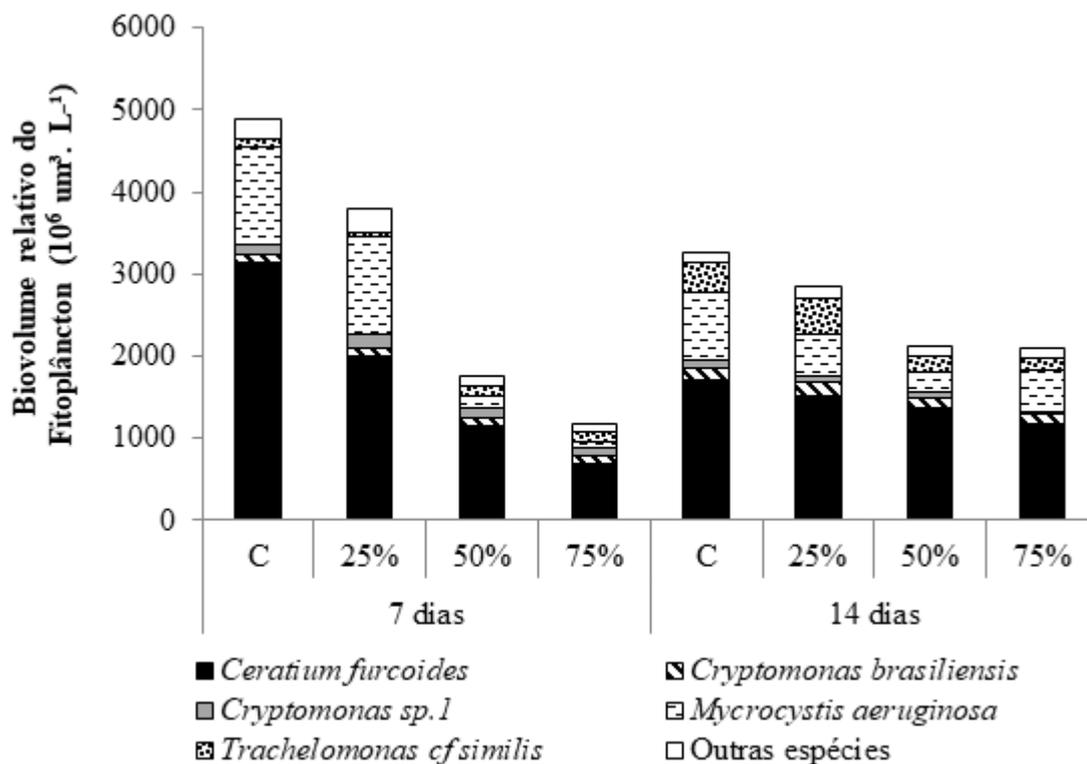


Figura 3. Biovolume relativo das espécies descritoras do fitoplâncton nos tratamentos (C – controle; 25% - diluição de 25% da água; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 7° e 14° dia do período experimental.

3.3. Epipélton

A concentração de clorofila-*a* do epipélton não apresentou diferença significativa entre tratamentos e tempo (Figura 4A; Tabela 6). Em relação ao controle, a densidade total do epipélton foi maior nos tratamentos diluídos no 7° e 14° dia do período experimental. A densidade total foi significativamente diferente entre os tratamentos e os dias, mas a interação entre os fatores não foi significativa (Figura 4B; Tabela 6). Diferenças significativas foram detectadas entre controle e tratamento 50% pelo teste de Tukey. O biovolume do epipélton não apresentou diferença significativa entre tratamentos, mas apresentou diferença significativa entre os dias e a interação entre os fatores foi significativa (Figura 4C; Tabela 6). Diferenças significativas foram detectadas entre controle e tratamento 75% pelo teste de Tukey.

No epipélton, foram encontradas 25 espécies algais em todos os tratamentos. Em densidade, cinco espécies foram descritoras: *Pinnularia divergens*, *Surirella linearis constricta*, *Trachelomonas curta*, *Trachelomonas sculpta* e *Trachelomonas volvocinopsis* (Figura 5). No 7° dia, *Trachelomonas curta* e *Trachelomonas volvocinopsis* foram as espécies de maior densidade em todos os tratamentos, mas a densidade destas espécies foi menor nos

tratamentos diluídos do que no controle. Estas espécies mantiveram a alta representatividade apenas nos tratamentos diluídos no 14º dia, pois no controle houve aumento da *T. sculpta*.

Em relação ao biovolume, seis espécies apresentaram elevada representatividade na estrutura do epipélon, são elas: *Closterium* sp.1, *Pinnularia divergens*, *Pinnularia viridiformis*, *Surirella linearis* var. *constricta*, *Trachelomonas smilis* e *Trachelomonas volvocinopsis*. *Pinnularia divergens* e *Surirella linearis* var. *constricta* foram as espécies de mais representativas em todos os tratamentos no 7º e no 14º dia.

Tabela 6. Resultados da RM-ANOVA 2 fatores dos atributos do epipélon entre tratamentos e dias do período experimental.

	Tratamento		Tempo		Interação entre fatores	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Clorofila- <i>a</i>	3,066	0,089	2,175	0,148	0,141	0,988
Densidade total	5.872	0,020	19.464	0,002	2.913	0,101
Biovolume total	1.605	0,263	14.381	0,004	10.362	0,004

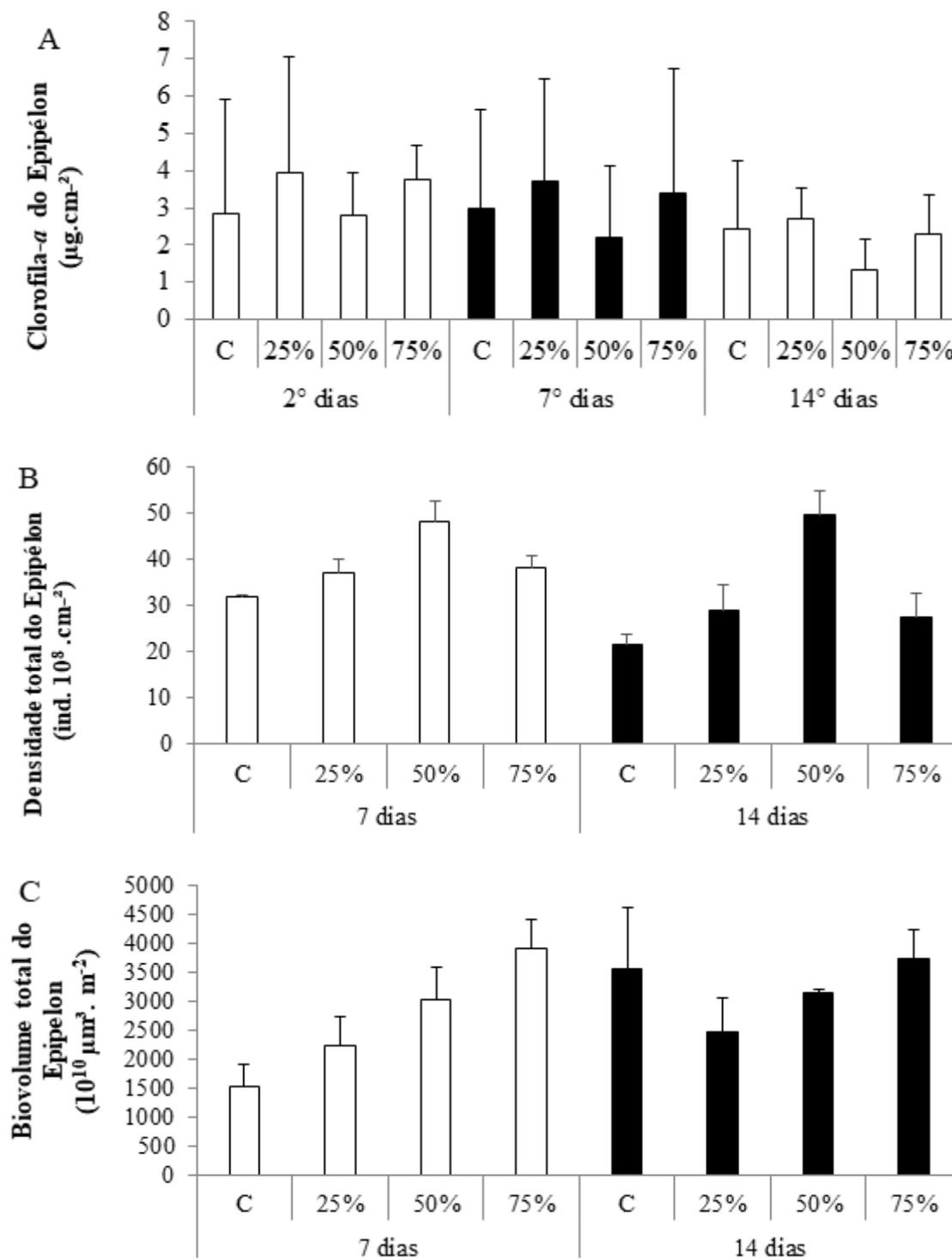


Figura 4. Clorofila-*a* (A), densidade total (B) e biovolume total (C) do epipélon nos tratamentos (C – controle; 25% - diluição de 25% da água; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 7° e 14° dia do período experimental.

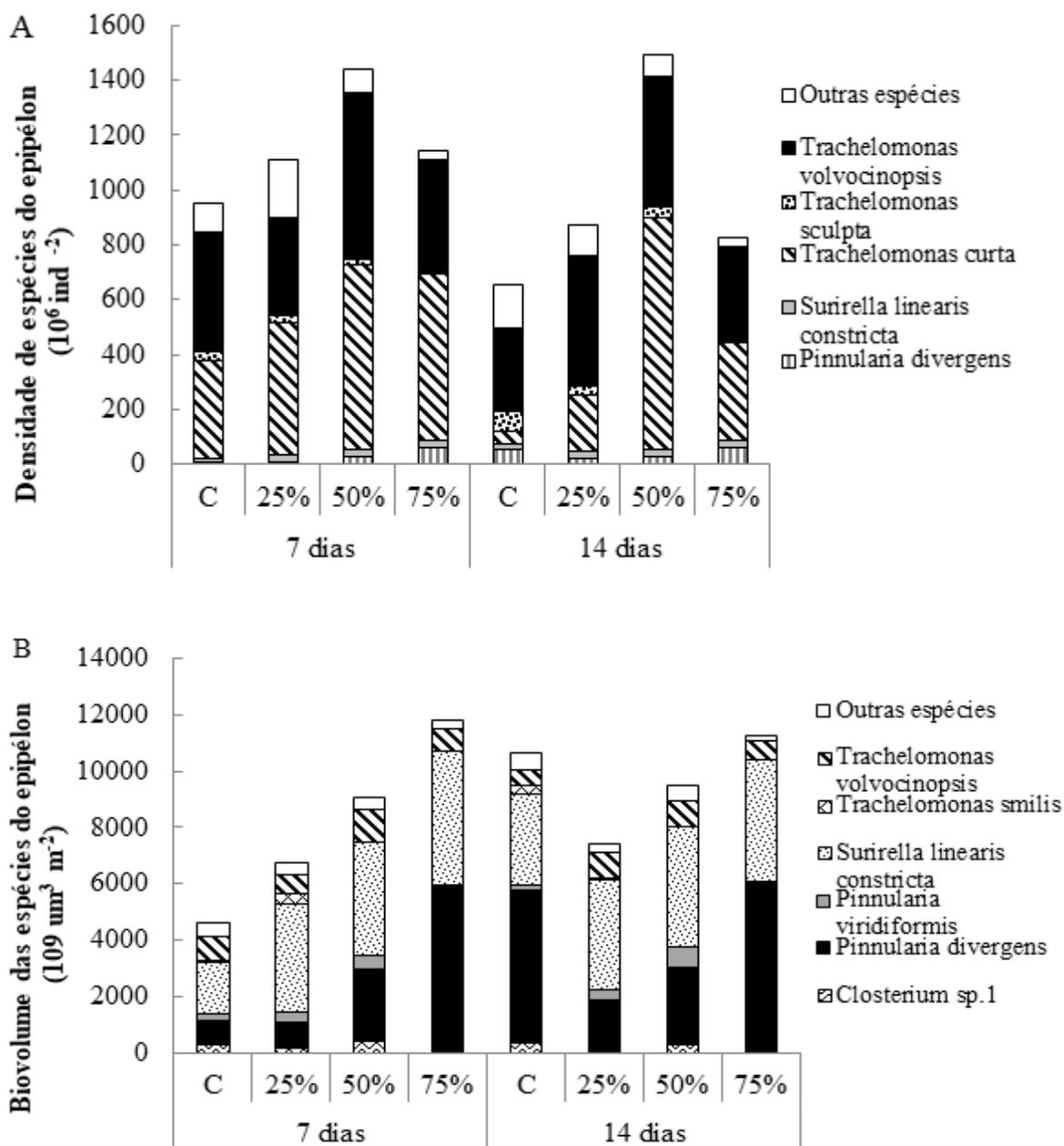


Figura 5. Densidade (A) e biovolume (B) das espécies descritoras (>5% do biovolume total) da comunidade de algas epipélicas nos tratamentos (C – controle; 25% - diluição de 25%; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 7º e 14º dia do período experimental.

3.4. Análise conjunta das algas epipéllicas e das variáveis ambientais

A análise conjunta de 25 espécies de algas epipéllicas e 5 variáveis ambientais foi realizada pela análise de redundância (Figura 6). Os autovalores do eixo 1 ($\lambda = 8,18$) e 2 ($\lambda = 5,63$) e a explicabilidade total dos dados no eixo 1 da RDA foi de 32,7% e no eixo 2 e 22,5%. A correlação de Pearson espécie-preditor foi alta para o eixo 1 ($r = 0,958$) e para o eixo 2 ($r = 0,899$), indicando forte relação entre a ordenação das espécies e dos preditores ambientais.

No eixo lado positivo do eixo 1, foram ordenados o controle e tratamento 25% nos dias 7 e 14 e o tratamento 50% no dia 7, os quais foram mais correlacionados aos elevados valores de pH ($r = -0,982$), NID ($r = 0,688$) e PT ($r = 0,732$). No lado negativo do eixo 1, foram ordenados os tratamentos 75% (7° e 14° dia) e 50% (14° dia), que foram correlacionados aos elevados valores de CO₂ livre ($r = -0,894$).

Considerando a característica centroide e a correlação com o eixo 1, as espécies mais associadas ao controle foram *Pinnularia* sp. 1 ($r = 0,671$), *Cosmarium margaritatum* ($r = 0,672$) e *Aphanocapsa incerta* ($r = 0,675$). Em relação aos tratamentos diluídos, as espécies *Pediastrum simplex* ($r = -0,892$), *Frustilia crassinervia* ($r = -0,672$) e *Desmodesmus intermedius* ($r = -0,673$), foram as mais associadas ao tratamento 25% no dia 7 e 14 ao tratamento 50% no dia 7. No lado negativo do eixo 1, as espécies *Pinnularia divergens* ($r = -0,566$), *Trachelomonas curta* ($r = -0,583$) e *Scenedesmus linearis* ($r = -0,681$) foram mais associada aos tratamentos 50% (14d) e tratamento 75%.

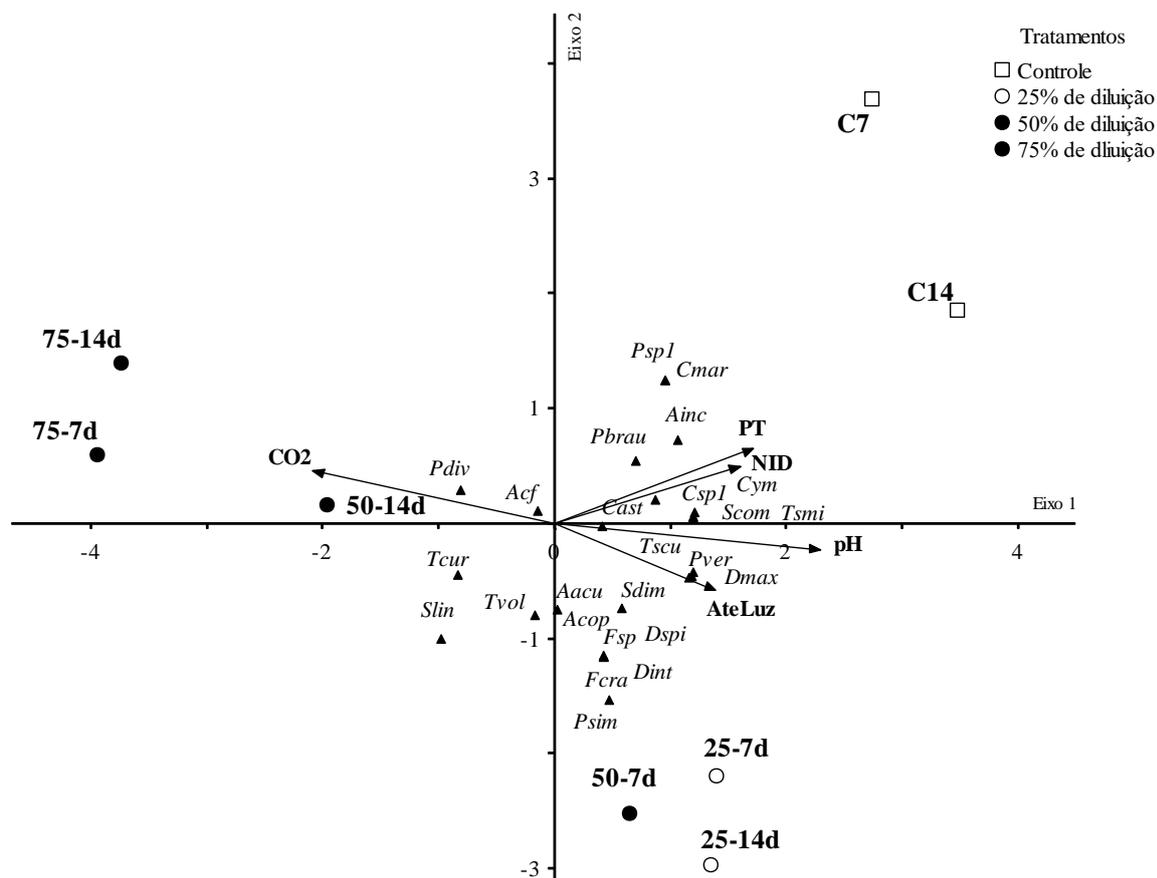


Figura 6. RDA do biovolume das espécies de algas epipélicas e cinco variáveis abióticas nos tratamentos (C – controle; 25% - diluição de 25%; 50% - diluição de 50%; 75% - diluição de 75%) no 7° e 14° dia do período experimental. Unidades amostrais: primeiros caracteres indicam o tratamento e 7d e 14d indicam os dias do período experimental. Vetores: AteLuz - Atenuação da luz; CO₂ - CO₂ livre; NID - Nitrogênio Inorgânico Dissolvido; PT - fósforo total, pH - pH. Os códigos das espécies encontram-se na tabela 7.

Tabela 7. Correlação de Pearson do biovolume das espécies do epipélton (r) com os eixos 1 e 2 da RDA e seus respectivos códigos.

Táxons	Código	Eixo 1	Eixo 2
<i>Achnantheidium</i> cf.	<i>Acf</i>	-0,103	0,063
<i>Acutodesmus acuminatus</i> (Lagerheim) & Tsarenko	<i>Aacu</i>	0,013	-0,434
<i>Amphora copulata</i> (Kützing) Schoeman & Archibald	<i>Acop</i>	0,298	-0,671
<i>Aphanocapsa incerta</i> (Lemmermann) G.Cronberg &	<i>Ainc</i>	0,745	0,422
<i>Closterium</i> sp.1	<i>Csp1</i>	0,612	0,122
<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris	<i>Cast</i>	0,291	-0,011
<i>Cosmarium margaritum</i> Wolle	<i>Cmar</i>	0,672	0,723
<i>Cymbella tropica</i> Krammer	<i>Cym</i>	0,835	0,029
<i>Desmodesmus maximus</i> (West & GS West) Hegewald	<i>Dmax</i>	0,828	-0,265
<i>Desmodesmus intermedius</i> (Chodat) E.Hegewald	<i>Dint</i>	0,298	-0,673
<i>Desmodesmus spinosus</i> (Chodat) E.Hegewald	<i>Dspi</i>	0,298	-0,671
<i>Fragilaria</i> sp.1	<i>Fsp</i>	0,298	-0,669
<i>Frustulia crassinervia</i> (Brébisson ex W.Smith) Lange-	<i>Fcra</i>	0,298	-0,672
<i>Pediastrum simplex</i> Meyen	<i>Psim</i>	0,326	-0,892
<i>Pinnularia brauniana</i> (Grunow) Studnicka	<i>Pbrau</i>	0,493	0,316
<i>Pinnularia divergens</i> W.Smith	<i>Pdiv</i>	-0,566	0,167
<i>Pinnularia</i> sp. 1	<i>Psp1</i>	0,671	0,726
<i>Pinnularia viridiformis</i> Krammer	<i>Pver</i>	0,811	-0,275
<i>Scenedesmus communis</i> E.Hegewald	<i>Scom</i>	0,843	0,058
<i>Scenedesmus dimorphus</i> (Turpin) Kützing	<i>Sdim</i>	0,409	-0,429
<i>Surirella linearis</i> var. <i>constricta</i> Grunow	<i>Slin</i>	-0,681	-0,584
<i>Trachelomonas similis</i> A. Stokes	<i>Tsim</i>	0,840	0,035
<i>Trachelomonas curta</i> A.M.Cunha	<i>Tcur</i>	-0,583	-0,260
<i>Trachelomonas sculpta</i> Balech	<i>Tscu</i>	0,833	-0,246
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Svirenko	<i>Tvol</i>	-0,119	-0,462

4. DISCUSSÃO

Os diferentes tipos de oligotrofização (tratamentos diluídos) promoveram a redução significativa da concentração de nutrientes (N e P), redução do pH e do material particulado em suspensão. Além disso, a quantidade de luz no fundo aumentou e a atenuação da luz diminuiu significativamente nos tratamentos diluídos, principalmente no 14º dia do período experimental. Dentro destas condições experimentais, evidenciou-se a redução da biomassa fotossintética e biovolume do fitoplâncton e o aumento da biomassa, densidade (tratamento 50%) e do biovolume algal (tratamento 75%) no epipélon nos tratamentos diluídos. Foi evidenciado o efeito negativo da oligotrofização sobre o fitoplâncton e o efeito positivo sobre o epipélon. A diminuição da biomassa fitoplanctônica e do material particulado, em geral, pode provavelmente ter aumentado a disponibilidade de luz (principalmente no tratamento 75%), a qual conseguiu penetrar nas camadas superficiais do sedimento, permitindo o maior desenvolvimento do epipélon. Conforme Vadeboncoeur & Steinman (2002), em lagos oligotróficos, a baixa densidade do fitoplâncton permite que a luz alcance os sedimentos e, assim, o epipélon pode manter a alta taxa de produção. Por outro lado, em lagos eutróficos, a biomassa do fitoplâncton pode impor limitação de luz sobre as algas epipélicas reduzindo a sua produtividade (Vadeboncoeur & Steinman 2002). Além disso, no capítulo 1 da dissertação, o enriquecimento teve efeito positivo sobre o fitoplâncton e ausência de resposta do epipélon, o que foi associado à manutenção da elevada atenuação da luz nos tratamentos, bem como pela maior ciclagem de nutrientes no fundo.

A oligotrofização não causou grandes mudanças na composição de espécie do fitoplâncton, mas, por outro lado, o biovolume de *Microcystis aeruginosa* nos tratamentos diluídos diminuiu cerca de 15% em relação ao controle. *Microcystis aeruginosa* é uma espécie que constantemente relacionada à ambientes eutrofizados (Jeong *et al.* 2003), incluindo no reservatório do presente estudo (Bicudo *et al.* 2007; Crossetti & Bicudo 2008). Crossetti & Bicudo (2005) afirmaram que *Microcystis aeruginosa* apresentou um declínio e foi substituída por outras espécies em tratamentos mesotróficos e oligotróficos. Recentemente, Crossetti *et al.* (2019) reportaram que a dominância de *M. aeruginosa* foi substituída por *Ceratium furcoides* em estudo de longa duração no reservatório estudado, sendo a alteração associado ao aumento da transparência da água e PT. Esta espécie permaneceu dominante em todos os tratamentos, portanto, a oligotrofização não promoveu a substituição desta espécie na estrutura do fitoplâncton, que considerada uma espécie invasora. Portanto, a biomassa e a contribuição relativa das espécies para a estrutura do fitoplâncton mudaram com a oligotrofização (tratamentos com diluição).

Apesar da densidade e do biovolume relativo evidenciaram a dominância de algumas espécies nos tratamentos, a composição de espécies do epipélon mudou com o efeito da oligotrofização no período experimental. A oligotrofização teve efeito positivo sobre a densidade de *Trachelomonas curta* e do biovolume de *Surirella linearis constricta*. Segundo Crossetti & Bicudo (2008), *Trachelomonas sculpta* e *Trachelomonas volvocinopsis* são favorecidas pela redução nutricional e pelo aumento da transparência.

Com base no biovolume, as espécies de algas epipélicas foram associadas aos diferentes graus de oligotrofização e ao controle. *Pediastrum simplex*, *Frustilia crassinervia* e *Desmodesmus intermedius* foram associadas aos tratamentos com 25% e 50% de diluição. *Scenedesmus linearis*, *Trachelomonas curta* e *Pinnularia divergens* associadas ao tratamento 50% e 75%. Portanto, os resultados mostraram a formação de guildas de espécies à oligotrofização.

Em resumo, os resultados evidenciaram que os tratamentos com os diferentes tipos de diluição promoveram a redução da disponibilidade de nutrientes e o aumento da disponibilidade de luz, o que refletiu na redução da biomassa e biovolume fitoplanctônico e aumento no epipélon. Mudanças na estrutura do fitoplâncton e do epipélon foram encontradas com o aumento da oligotrofização. Finalmente, conclui-se que a oligotrofização teve efeito sobre a biomassa e estrutura das comunidades algais e, principalmente, favoreceu o desenvolvimento do epipélon fototrófico, com o aumento da densidade algal com 50%. Considerando que o desenvolvimento do epipélon pode auxiliar na manutenção de processos de oligotrofização de lagos rasos temperados (Libouriussen & Jeppesen 2006; Genkai-Kato *et al.* 2012), o presente experimento evidenciou que a densidade algal no epipélon responde rapidamente ao processo de oligotrofização em reservatório raso tropical.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA.** 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Edition. 2540 D. Total Suspended Solids Dried at 103 -105C, p. 2-56.
- 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.
- Cano, M., Casco, M., Claps, M.** 2012. Effect of environmental variables on epiphyton in a Pampean lake with stable turbid-and clear-water states. *Aquatic Biology* 15: 47-59.
- Cano, M., Casco, M., Claps, M.** 2016. Epipelon dynamics in a shallow lake through a turbid-and a clear- water regime. *Journal of Limnology* 75(2): 355-368.
- Cano, M.G., Casco, M.A., Solari, L.C., Mac Donagh, M.E., Gabellone, N.A., Claps, M.C.** 2008. Implications of rapid changes in chlorophyll-a of plankton, epipelon, and epiphyton in a Pampean shallow lake: an interpretation in terms of a conceptual model. *Hydrobiologia* 614: 33-45.
- Crossetti, L. O. & Bicudo C. E. M.** 2005a. Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia* 541: 71-85.
- Crossetti, L. O. & Bicudo C. E. M.** 2008. Phytoplankton as a monitoring tool in a tropical urban shallow reservoir (Garças Pond): the assemblage index application, São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia* 610:161–173
- Finger, D., Wüest, A. & Bossard, P.** 2013. Effects of oligotrophication on primary production in peri-alpine lakes. *Water Resources Research*, 49(8), 4700-4710.
- 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(1): 9-30.
- Genkai-Kato, M., Vadeboncoeur, Y., Liboriussen, L. & Jeppesen, E.** 2012. Benthic–planktonic coupling, regime shifts, and whole-lake primary production in shallow lakes. *Ecology* 93(3): 619–631.
- Golterman, H.L. & Clymo, R.S.** 1971. Methods for chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, International Biological Program, Oxford.
- Golterman, H.L., Clymo, R.S. & Ohmstad, M.A.M.** 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- Hašler, P., Štěpánková, J., Špačková, J., Neustupa, J., Kitner, M., Hekera, P., Veselá, J. & Poulíčková, A.** 2008. Epipellic cyanobacteria and algae: a case study from Czech fishponds. *Fottea* 8:139–154.
- Havens, K.E., East, T.L., Meeker, R.H., Davis, W.P. & Steinman, A.D.** 1996. Phytoplankton and periphyton responses to in situ experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *Journal of Plankton Research* 18: 551-566.
- 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.
- Jacoby, J. M. et al.** 2000. Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*, Canadá. *J. Fisch. Aquat. Sci.*, v. 57, p. 231-240..
- Jeong K.-S., Kim D.-K., Whigham P. and Joo G.-J.** 2003. Modelling *Microcystis aeruginosa* bloom dynamics in the Nakdong River by means of evolutionary computation and statistical approach. *Ecol. Model.* 161(1–2): 1–149
- Lane, C.M., Taffs, K.H. & Corfield, J.L.** 2003. A comparison of diatom community structure on natural and artificial substrata. *Hydrobiologia* 493: 65–79.
- 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.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J. & Talling, J.F.** 1978. *Water analysis: some revised methods for limnologists.* Titus Wilson and Son Ltda, Kendall.
- McCune, B. & Mefford, M.J.** 2011. *PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data.*
- McMaster, N.L. & Schindler, D.W.** 2005. Planktonic and Epipellic Algal Communities and their Relationship to Physical and Chemical Variables in Alpine Ponds in Banff National Park, Canada. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 37(3): 337-347.
- Peterson, C.G. & Stevenson, R.J.** 1990. Post-spate development of epilithic algal communities in different current environments. *Canadian Journal of Botany* 68: 2092-102.
- Poulíčková, A., Hašler, P., Lysáková, M. & Spears, B.** 2008. The ecology of freshwater epipellic algae: an update. *Phycologia* 47: 437–450.
- Santos, T.R.** 2017 *Dinâmica da comunidade de algas planctônicas, perifíticas e metafíticas em reservatório tropical raso: um estudo observacional e experimental.* Tese de Doutorado. Instituto de Botânica, São Paulo, SMA. 124p.
- Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U.** 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- Shapiro, J., 1973. Blue-green algae: why they become dominant. *Science* 179: 382–984.

- Solorzano, L.** 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14: 799-801.
- Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R.** 1960. A manual of seawater analysis. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 125: 1-185.
- Tavares, D.A., Lambrecht, R.W., de Almeida Castilho, M. C., Henry, R., & Ferragut, C.** (2019). Epipelon responses to N and P enrichment and the relationships with phytoplankton and zooplankton in a mesotrophic reservoir. *Aquatic Ecology*, 53(2), 303-314.
- Utermohl, H.** 1958. Zur Vervollkomnung der quantitative phytoplankton: metodik. *Internationale Vereinigung Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- Vadeboncoeur Y., Devlin, S.P. McIntyre PB. & Vander Zanden, M. J.** 2014. Is there light after depth? Distribution of periphyton chlorophyll and productivity in lake littoral zones. *Freshwater Science* 33(2):524-536.
- Vadeboncoeur Y., Lodge, D.M. & Carpenter, S.R.** 2001. Whole-lake fertilization effects on distribution of primary production between benthic and pelagic habitats. *Ecology* 82: 1065-1077.
- Vadeboncoeur, Y. & Steinman, A.D.** 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *The Scientific World Journal*, 1-20.
- Wetzel, R. G. & Likens, G. E.** 1991. *Análise Limnológica*. 2ª Edição, Springer Verlag, Nova Iorque
- Zheng, L. & Stevenson, R. J.** 2006. Algal assemblages in multiple habitats of restored and extant wetlands. *Hydrobiologia*, 561: 221-238.

CONCLUSÃO GERAL

Considerando nossos resultados podemos ressaltar dois pontos sobre o experimento de enriquecimento e oligotrofização em reservatório raso eutrófico:

Primeiro ponto: evidenciou-se que o enriquecimento combinado e isolado por N e P teve efeito positivo sobre a quantidade de material particulado em suspensão, incluindo o fitoplâncton, e a atenuação da luz em curto intervalo de tempo. Mudanças no potencial de limitação do fitoplâncton não promoveram alterações suficientes na atenuação da luz, que permaneceu alta durante todo o período experimental (78-98%).

Segundo ponto: os tratamentos com os diferentes tipos de diluição promoveram a redução da disponibilidade de nutrientes e o aumento da disponibilidade de luz, o que refletiu na redução da biomassa e biovolume fitoplanctônico e aumento no epipélon. Assim, como mudanças na estrutura do fitoplâncton e do epipélon foram encontradas com o aumento da oligotrofização.

Desta forma, concluímos que mudanças na estequiometria N e P alteram a biomassa fotossintética do fitoplâncton, mas apresentaram pouco ou nenhum efeito significativo sobre a biomassa do epipélon, principalmente devido à limitação por luz. Enquanto, a oligotrofização teve efeito sobre a biomassa e estrutura das comunidades algais e, principalmente, favoreceu o desenvolvimento do epipélon fototrófico, com o aumento da densidade algal (50% de diluição). Destaca-se que futuros estudos devem avaliar os efeitos das mudanças na estequiometria N e P sobre a estrutura taxonômica do epipélon e do fitoplâncton, pois a quantidade de clorofila-*a* varia grandemente entre os grupos algais. Considerando que o desenvolvimento do epipélon pode auxiliar na manutenção de processos de oligotrofização de lagos rasos temperados (Libouriussen & Jeppesen 2006; Genkai-Kato *et al.* 2012), o presente experimento mostrou que o epipélon responde rapidamente ao processo de oligotrofização (7 dias) em reservatório raso tropical.

Assim, os resultados gerados podem subsidiar futuros processos de restauração de lagos e reservatórios eutróficos, particularmente em região tropical, onde tais estudos são escassos, mostrando que o desenvolvimento do epipélon pode ser uma alternativa. Além de entender melhor a dinâmica do epipélon, frente a disponibilidade de nutrientes e luz em lagos rasos eutróficos.