

RENATA APARECIDA COSTA

Avaliação das respostas do fitoplâncton e do epipélton submetidos à diferentes técnicas de restauração de ecossistemas eutróficos

Tese apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTORA em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2023

RENATA APARECIDA COSTA

Avaliação das respostas do fitoplâncton e do epipélton submetidos à diferentes técnicas de restauração de ecossistemas eutróficos

Tese apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTORA em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. CARLA FERRAGUT

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECAS E MAPOTECAS**

Costa, Renata Aparecida
C837a Avaliação das respostas do fitoplâncton e do epipélton submetidos à diferentes técnicas de restauração de ecossistemas eutróficos / Renata Aparecida Costa - - São Paulo, 2023.
115p.; il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, 2023.
Bibliografia.

1. Algas planctônicas. 2. Algas bentônicas. 3. Experimento mesocosmos.
I. Título.

CDU: 582.26

BANCA EXAMINADORA

Dra. Carla Ferragut (orientadora)

Dra. Luciane Oliveira Crossetti

Dr. Stéfano Zorzal de Almeida

Dr. João Alexandre Saviolo Osti

Dr. Raoul Henry

À Heloisa Medeiros Costa (in memoriam) e à Josefa Maria de Macêdo (in memoriam), minhas queridas avós, mulheres que não tiveram muitas escolhas na vida, mas que sempre nos iluminaram com muita alegria, sabedoria e amor.

Dedico

A GRANDE INVOCAÇÃO

Do ponto de luz na mente de Deus, que flua luz à mente dos homens, e que a luz desça à Terra. Do ponto de amor no coração de Deus, que flua amor ao coração dos homens, que Cristo retorne à Terra. Do centro onde a vontade de Deus é conhecida, que o propósito guie as pequenas vontades dos homens. Propósito que os mestres conhecem e servem. Do centro a que chamamos raça dos homens, que se realize o plano de amor e luz, e feche a porta aonde se encontra o mal. Que a Luz, o Amor e o Poder restabeleçam o Plano Divino sobre a Terra, hoje e por toda a eternidade.

AMÉM

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, por toda estrutura do curso de pós-graduação, ao Instituto de Pesquisas Ambientais (antigo Instituto de Botânica) e ao Núcleo de Pesquisa em Ecologia por toda infraestrutura e ambiente de trabalho. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro para a realização do projeto - Plano de Desenvolvimento Institucional de Pesquisa (PDIP): Desafios para a Conservação da Biodiversidade frente às Mudanças Climáticas, Poluição e Uso e Ocupação do Solo (processo nº 2017/50341-0), agradeço pela confiança e apoio financeiro com a bolsa de doutorado concedida (processo nº 2018/26686-0).

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me concedido esta oportunidade, e ter me abençoado com muita saúde e coragem em todos momentos. A possibilidade de estudar e dedicar-me ao doutorado, representa a conquista de uma etapa que me trouxe grande realização. À minha orientadora e grande profissional Dra. Carla Ferragut, acredito que a nossa parceria deu muito certo, você é responsável por trazer luz à minha vida acadêmica. Agradeço por aceitar a me orientar, por toda paciência, ensinamentos e confiança. Orientadora sempre presente e disposta a ajudar, sou muito grata e reconheço toda a sua colaboração.

Também, quero agradecer ao meu orientador de iniciação científica e mestrado Antonio Roberto Saad, grande mestre que me apresentou o mundo da ciência. Agradeço à Dra. Denise de Campos Bicudo e ao Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo, por todos ensinamentos e exemplo de humildade que me transmitiram. Agradeço à Dra. Andrea Tucci por ter me ajudado na taxonomia das algas. De modo geral, agradeço todos pesquisadores do Núcleo de Ecologia e do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, que de alguma forma sempre estiveram dispostos em ajudar. Agradeço à Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, por fornecer os dados climatológicos.

Agradeço todo o auxílio no laboratório e nas coletas à Maria Auxiliadora Pinto Costa da Silva, Francisco de Amorim Passos (querido Chico), Renildo Santos Costa, Marli Ferreira dos Santos e Geraldina Matilde Ferreira Campos. Aos amigos e profissionais Ruan de Oliveira Carneiro e Leonardo Tristão Silva vocês dois foram fundamentais na execução dos experimentos, análises laboratoriais e manejos, agradeço por compartilharem os dias de sol e chuva no barco, carregando muito peso e aguentando as minhas chatices, sou muito grata por toda colaboração e amizade de vocês. Agradeço à Simone, Barbara, Alex, Matheus, Jaques, Gisele e Darah que me ajudaram em algum momento de dificuldade. Agradeço todos amigos e amigas da ecologia terrestre e aquática e todos amigos do IPA.

Minha gratidão eterna aos meus pais Rubens Costa e Maria Aparecida de Macêdo Costa, ao meu irmão Rodrigo Costa, família é a base de tudo! Obrigada por me ensinar o caminho da retidão, por sempre me dar todo o suporte para realizar meus objetivos e nunca perder a fé. Aos meus avós maternos José Alfredo de Macêdo Filho (in memoriam) e Josefa Maria de Macêdo (in memoriam), avós paternos Francisco Costa (in memoriam) e Heloiza Medeiros Costa (in memoriam) que sempre me deram o exemplo de batalhar em direção aos objetivos e sonhos. Agradeço todos da minha família, em especial a Alice e a Melissa que representam o futuro da nossa família. Minha mais profunda gratidão, admiração e reconhecimento.

RESUMO

Lagos e reservatórios distribuídos no mundo estão sendo prejudicados com a eutrofização. A busca pela restauração de ecossistemas aquáticos eutrofizados é fundamental para o presente e futuro do meio ambiente em equilíbrio e de toda sua biodiversidade, assim como para a humanidade que necessita da água para múltiplos usos. O presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas do fitoplâncton e epipélon frente à quatro técnicas de restauração em reservatório eutrófico. Para atingir esse objetivo, foram realizados dois experimentos *in situ* em mesocosmos de fundo aberto na região litorânea do reservatório Lago das Garças. O experimento I aplicou quatro técnicas de restauração isoladamente e o experimento II combinou duas técnicas. O **experimento I** consistiu na aplicação das técnicas isoladas de aeração de fundo, floculante natural, macrófitas flutuantes e biorreator de perifíton. Cada técnica foi comparada ao controle, que apenas isolou a coluna d'água. Amostras da água, fitoplâncton e epipélon foram coletadas aos 3, 10, 17, 27 e 60 dias no período do verão. Manejos nas técnicas do biorreator de perifíton e macrófitas foram realizados. No **experimento II**, duas técnicas foram selecionadas com base no experimento anterior, principalmente, visando as respostas de redução do fósforo da água e aumento do crescimento do epipélon fototrófico. As técnicas aplicadas em conjunto foram a aeração de fundo e o biorreator de perifíton. As amostras da água, fitoplâncton e epipélon foram coletadas aos 2, 9, 16, 28 e 59 dias, no período do verão. Em relação aos resultados da aplicação das técnicas isoladas, o único tratamento a apresentar redução significativa do fósforo da água foi a aeração de fundo, que também reduziu a biomassa do fitoplâncton no período experimental. O tratamento biorreator de perifíton aumentou o epipélon fototrófico. Aumento do epipélon fototrófico também foi detectado no tratamento floculante, mas o efeito de arraste do fitoplâncton realizado pelo floculante contribuiu para esse resultado e, ainda, ocasionou poluição secundária. No tratamento macrófitas, verificou-se a redução da biomassa fitoplanctônica e fósforo da água no início do período experimental, mas esse efeito foi perdido por conta, principalmente, da senescência das raízes das plantas aquáticas. Necessidade de melhora nos manejos realizados, e principalmente na determinação da periodicidade, foi evidenciada nos tratamentos isolados de biorreator de perifíton e macrófitas. Em relação ao efeito temporal na composição das espécies descritoras do fitoplâncton, as quatro técnicas isoladas apresentaram mudanças na estrutura da comunidade ao longo do período experimental. Apesar da redução da biomassa fitoplanctônica, espécies vinculadas a ambientes enriquecidos persistiram na comunidade nos quatro tratamentos. Em relação aos resultados do experimento II, aplicação de duas técnicas simultâneas, melhora na redução do fósforo da água e biomassa do fitoplâncton, assim como o aumento do epipélon

fototrófico foi verificado até os 16 dias. As técnicas combinadas contribuíram significativamente com o aumento de fósforo nos sedimentos. Considerações sobre o aumento da eficiência na aplicação da aeração e biorreator de perifíton simultaneamente foram levantadas, como a aplicação das técnicas em conjunto no período do inverno, ou a aplicação das técnicas separadas e em uma sequência, pois existe a possibilidade de uma técnica reduzir o efeito positivo da outra. Diante dos achados do presente estudo, conclui-se que as respostas encontradas poderão subsidiar aperfeiçoamentos em manejos e tomadas de decisões que dizem respeito a restauração de ambientes lênticos, principalmente em locais de clima sub/tropical, no qual ainda existem poucos estudos em relação à restauração de lagos e reservatórios. Por fim, os achados em ambos os experimentos mostram que as técnicas frequentemente estudadas em locais de clima temperado têm efeitos positivos em locais que sofrem com a influência de maiores temperaturas ao longo do ano. Mas, que os manejos devem ser mais constantes, e a resistência ao processo de oligotrofização é um fator agravante, por conta dos efeitos das maiores temperaturas.

Palavras-chave: fósforo, algas planctônicas, algas bentônicas, experimento mesocosmos

ABSTRACT

Lakes and reservoirs distributed around the world are being harmed by eutrophication. The restoration of eutrophic aquatic ecosystems is fundamental for the present and future of the environment in balance and all its biodiversity, as well as for humanity that needs water for multiple uses. The present study aimed to evaluate the responses of phytoplankton and epipelon to four restoration techniques in a eutrophic reservoir. To achieve this objective, two in situ experiments were carried out in open-bottom mesocosms in the littoral region of the Garças reservoir. Experiment I applied four restoration techniques separately, and Experiment II combined two techniques. Experiment I consisted of applying the isolated techniques of aeration, natural flocculant, floating macrophytes, and periphyton bioreactor. Each technique was compared to the control, which only isolated the water column. Water, phytoplankton, and epipelon samples were collected at 3, 10, 17, 27, and 60 days in the summer period. Management in periphyton bioreactor and macrophyte techniques were performed. In experiment II, two techniques were selected based on the previous experiment, mainly targeting the responses of reduced phosphorus in water and increased growth of the phototrophic epipelon. The techniques applied together were aeration and the periphyton bioreactor. Water, phytoplankton, and epipelon samples were collected at 2, 9, 16, 28, and 59 days, in the summer period. Regarding the results of the application of isolated techniques, the only treatment to present a significant reduction of phosphorus in the water was aeration, which also reduced the phytoplankton biomass in the experimental period. The periphyton bioreactor treatment increased the phototrophic epipelon. An increase in the phototrophic epipelon was also detected in the flocculant treatment, but the phytoplankton drag effect carried out by the flocculant contributed to this result and also caused secondary pollution. In the macrophyte treatment, there was a reduction in phytoplankton biomass and water phosphorus at the beginning of the experimental period, but this effect was lost mainly due to the senescence of the roots of aquatic plants. The need for improvement in the management carried out, and especially in determining the periodicity, was evidenced in the isolated treatments of periphyton bioreactor and macrophytes. Regarding the temporal effect on the phytoplankton species composition, the four isolated techniques showed changes in the community structure throughout the experimental period. Despite the reduction of phytoplanktonic biomass, species linked to enriched environments persisted in the community in the four treatments. Regarding the results of experiment II, the application of two simultaneous techniques, improvement in the reduction of phosphorus in water and phytoplankton biomass, as well as an increase in phototrophic epipelon was observed up to 16 days. The combined techniques contributed significantly to the increase

of phosphorus in the sediments. Considerations about increasing efficiency in the application of aeration and periphyton bioreactor simultaneously were raised, such as the application of techniques together in the winter period, or the application of separate techniques and in a sequence, since there is a possibility that one technique could reduce the positive effect of the other. In view of the findings of the present study, it is concluded that the answers found may support improvements in management and decision-making regarding the restoration of lentic environments, mainly in sub/tropical climates, where there are still few studies regarding the restoration of lakes and reservoirs. Finally, the findings in both experiments show that the techniques often studied in temperate climates have positive effects in places that suffer from the influence of higher temperatures throughout the year. However, management must be more constant, and resistance to the oligotrophication process is an aggravating factor, due to the effects of higher temperatures.

Keywords: phosphorus, planktonic algae, benthic algae, mesocosms experiment

LISTA DE FIGURAS

Geral

Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças, em vermelho local da instalação dos mesocosmos	9
Figura 2: Datas, etapas, coletas e manejos do período experimental do experimento 1	10
Figura 3. Esquema dos tratamentos: controle (C) e os tratamentos com aplicação de técnicas de restauração: Aeração (A), Flocculante (F), Macrófitas (M) e Biorreator de perifíton (BP)	12
Figura 4. Teste de bancada do flocculante (imagens 27/08/2019). Controle ao fundo e concentração 200 mg L ⁻¹ em triplicatas (A); Concentração de 350 mg L ⁻¹ e ao fundo concentração de 500 mg L ⁻¹ em triplicatas (B)	12
Figura 5: Datas, etapas, coletas e manejos do período experimental do experimento 2	13
Figura 6. Esquema dos tratamentos: controle (C) e Biorreator de perifíton e Aeração (AP) ..	14

Capítulo II

Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças, local do experimento destacado em retângulo vermelho (A) (modificado de Bicudo et al. 2007). Imagem de satélite Google Earth - janeiro de 2020 (B).....	24
Figura 2. PCA das variáveis abióticas dos tratamentos controle, aeração, flocculante, biorreator de perifíton e macrófitas em triplicatas durante o período experimental. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO ₂ - dióxido de carbono livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico	29
Figura 3: Tratamento Aeração: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento A. RDA da comunidade fitoplânctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, A - aeração), o primeiro número representa a triplicata e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO ₂ - CO ₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico	31
Figura 4: Tratamento Flocculante: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento F. RDA da comunidade fitoplânctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, F - flocculante), o primeiro número representa a triplicata e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO ₂ - CO ₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico	34
Figura 5: Tratamento Macrófitas: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento M. RDA da comunidade fitoplânctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, M - macrófitas), o primeiro número representa a triplicata e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO ₂ - CO ₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico	37
Figura 6: Tratamento Biorreator de Perifíton: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento	

biorreator de perifíton representado pela letra P. RDA da comunidade fitoplanctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, P - biorreator de perifíton), o primeiro número representa a réplica e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - CO₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico. 40

Figura 7: Índices biológicos (n = 15) do período experimental de cada tratamento: diversidade (A), riqueza (B) e dominância (C) 41

Capítulo III

Figura 1: Tratamento Aeração: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; A, aeração) no período experimental..... 60

Figura 2: Tratamento Floculante: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; F, floculante) no período experimental..... 62

Figura 3: Tratamento Macrófitas: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; M, macrófitas) no período experimental..... 64

Figura 4: Tratamento Biorreator de Perifíton: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; BP, biorreator de perifíton) no período experimental 66

Figura 5: Análise de agrupamento da biomassa das espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica de todos os tratamentos (C controle, A aeração, F floculante, M macrófitas, BP biorreator de perifíton) 67

Capítulo IV

Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças com local do experimento (A; retângulo; modificado de Bicudo et al. 2007) e mesocosmos instalados (B)..... 77

Figura 2: Precipitação média diária (mm) durante o período experimental (DAEE 2023). Os pontos na cor preta destacam os dias de coletas..... 77

Figura 3: Variação (n=4, DP) e média (n=20, DP) da atenuação da luz (A), concentração PT da coluna d'água (B), concentração de PT do sedimento (C), concentração NT (D), concentração de NH₄ (E), biomassa do seston (F), clorofila-a do fitoplâncton (G), clorofila-a do epipélton (H), MSLC (I) e razão MSLC: Clorofila-a (J) do controle e tratamento aeração e biorreator de perifíton durante o período experimental 85

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1: Resultados das variáveis abióticas dos tratamentos (n = 3) e desvio padrão	42
--	----

Capítulo III

Tabela 1: Pesos estabelecidos do fator F para os grupos funcionais do fitoplâncton dos tratamentos aeração, floculante, macrófitas e biorreator de perifíton	54
--	----

Tabela 2: Média e desvio padrão das variáveis abióticas dos tratamentos (n = 3) e desvio padrão	57
---	----

Tabela 3: Resultados da análise de medidas repetidas (RM-Anova) das variáveis abióticas e bióticas (n=3) de cada tratamento comparado ao Controle.....	58
--	----

Capítulo IV

Tabela 1: Resultados da análise de medidas repetidas (RM-ANOVA) das variáveis abióticas e bióticas (n= 4) do tratamento Aeração e Biorreator de Perifíton comparado ao Controle.....	86
--	----

SUMÁRIO

Introdução Geral.....	1
Materiais e Métodos Geral	8
Conclusão Geral	91
Referências Bibliográficas	93
Anexo 1	109

Capítulo I: Respostas da biomassa do epipélon à diferentes técnicas de restauração em ambiente eutrófico	20
---	----

Capítulo II: Variação temporal do fitoplâncton à diferentes técnicas de restauração de ambientes eutrofizados: experimento em mesocosmos	21
---	----

1. Introdução.....	22
2. Materiais e Métodos	23
3. Resultados	28
4. Discussão.....	43

Capítulo III: Respostas da comunidade fitoplanctônica frente à diferentes técnicas de restauração de reservatórios eutróficos	49
--	----

1. Introdução.....	50
2. Materiais e Métodos	52
3. Resultados	55
4. Discussão.....	67

Capítulo IV: Respostas da biomassa do fitoplâncton e do epipélon à aplicação de duas técnicas de restauração combinadas em ambiente eutrófico	73
--	----

1. Introdução.....	74
2. Materiais e Métodos	76
3. Resultados	82
4. Discussão.....	86

Introdução Geral

A quantidade de água distribuída no planeta não mudará em escala de tempo mais curta do que a geológica (Oki 2005). De toda água no planeta, apenas 2.5% é água doce, e grande parte da água doce se concentra em geleiras e águas subterrâneas profundas (Oki & Kanae 2006), e a demanda por água vem aumentando por conta do aumento populacional no mundo (Oki 2005). Além da maior demanda, o problema da poluição das águas, como exemplo os poluentes emergentes, também vem aumentando (Morin-Crini *et al.* 2022). A poluição por excesso de nutrientes desencadeia a eutrofização, que é um problema de âmbito global e atinge diversos ecossistemas aquáticos (Ho *et al.* 2019). A eutrofização pode ocorrer de modo natural nos ecossistemas aquáticos, sendo um processo lento e contínuo de aporte de nutrientes carregados principalmente pelas chuvas e águas superficiais, e é considerado um envelhecimento natural e pode levar séculos para ocorrer (Rast & Holland 1988). No meio ambiente, as rochas vulcânicas e fosfáticas geralmente contêm elevadas concentrações de fósforo que podem atingir os ecossistemas aquáticos (Olson & Hawkins 2013). A eutrofização artificial ou cultural é provocada pela ação humana com o lançamento principalmente de esgoto e efluentes industriais sem tratamento adequado, e também através do uso de fertilizantes agrícola que chegam aos corpos hídricos (Wurtsbaugh *et al.* 2019). Portanto, a causa da eutrofização é o aumento no aporte de nutrientes, principalmente o nitrogênio e o fósforo (Ayele & Atlabachew 2021). Em suma, o nitrogênio é necessário para a síntese de proteínas, e o fósforo é fundamental para o DNA, RNA e transferências de energia, e ambos são nutrientes limitantes para o crescimento das algas e plantas aquáticas (Conley *et al.* 2009). Assim, a “Lei do Mínimo” estabelece que a substância em menor quantidade em relação à necessidade para o crescimento e reprodução dos organismos se tornará o fator limitante (Redfield 1958). De acordo com a razão molar de Redfield (Redfield 1958), o ótimo de crescimento para o fitoplâncton de Nitrogênio:Fósforo é de 16:1. Assim, quando não existe limitação por nutrientes, os processos fisiológicos de

crescimento dos organismos estão balanceados e eles investem em reprodução (Smith 2003). Como consequência do aumento de nutrientes nos ambientes aquáticos ocorre o processo de eutrofização. Conforme Harper (1992) a eutrofização é definida como “os efeitos biológicos de um aumento na concentração de nutrientes, geralmente nitrogênio e fósforo, mas às vezes outros como sílica, potássio, cálcio, ferro ou manganês nos ecossistemas aquáticos”. De acordo com Smith & Schindler (2009), “eutrofização cultural (crescimento excessivo das plantas resultante do enriquecimento de nutrientes pela atividade humana)”. Para Dokulil & Teubner (2010), “a eutrofização em sistemas de água doce pode ser definida como uma síndrome de respostas ecossistêmicas após o aumento da concentração de elementos químicos (nutrientes) a tal ponto que a produtividade primária do ecossistema é aumentada”. Conforme Schindler *et al.* (2016) a “eutrofização é o termo científico que descreve a proliferação de algas e os problemas associados causados pela resposta das águas naturais ao aporte excessivo de nutrientes. Portanto, a eutrofização é o efeito biológico, ou seja, é o aumento da biomassa dos produtores primários, que são a base da cadeia trófica e causam um desequilíbrio em toda cadeia trófica (Moal *et al.* 2019, Ayele & Atlabachew 2021). O efeito biológico mais frequente relatado no mundo são as florações do fitoplâncton (Ho *et al.* 2019), isto é, a multiplicação excessiva desses organismos. O fitoplâncton faz parte de um grupo polifilético, sendo assim organismos que não compartilham de um ancestral comum, e é composto por organismos microscópicos, tais como protistas fotossintetizantes e cianobactérias que vivem à deriva na zona eufótica da coluna d’água (Reynolds *et al.* 2002, Rousseaux & Gregg 2014, Barsanti & Gualtieri 2014). A floração de cianobactérias é um fator agravante dentro desse cenário, uma vez que algumas espécies são potencialmente produtoras de toxinas, e podem liberar toxinas nas águas (Paerl & Otten 2013).

Conforme a teoria dos estados estáveis alternativos, a eutrofização leva os lagos e reservatórios a uma mudança, alterando o estado de águas claras com presença de macrófitas submersas para águas turvas com predominância do fitoplâncton (Scheffer *et al.* 2001). A teoria dos estados estáveis alternativos está relacionada à resiliência do ecossistema, ou seja, a sua

capacidade de resistir a perturbações sem mudar para um estado qualitativamente diferente (Scheffer *et al.* 2001). A eutrofização traz consequências econômicas, sociais e ambientais. As principais consequências econômicas referem-se ao aumento dos custos para o tratamento da água, redução do valor de propriedades próxima a corpos d'água eutrofizados e redução de visitas em locais turísticos (Pretty *et al.* 2003). As consequências sociais implicam em áreas de lazer impróprias. Em relação ao meio ambiente, alguns produtores primários aumentam sua biomassa, enquanto outros são prejudicados. Por conta desse desequilíbrio pode ocorrer a mortandade de peixes em decorrência da depleção de oxigênio e/ou entupimento de brânquias, a redução da biodiversidade, alterações na cadeia trófica e no fluxo energético, e a morte de animais que consomem a água, decorrente da presença de toxinas (Søndergaard *et al.* 2003, Moss *et al.* 2013, Moal *et al.* 2019, Ayele & Atlabachew 2021). Os produtores primários de fundo como as macrófitas submersas e o perifíton que cresce aderido aos grãos de sedimento são afetados negativamente com o aumento das algas fitoplanctônicas, uma vez que as florações de fitoplâncton limitam a entrada de luz na coluna d'água, e por consequência a luz que chega ao fundo dos sistemas aquáticos é reduzida (Scheffer *et al.* 2001). O perifíton é uma “complexa comunidade de organismos (bactérias, algas, fungos, protozoários, microcrustáceos e outros) e detritos (orgânicos e inorgânicos) que vivem aderidos ou associados a um substrato qualquer, vivo ou morto” (Wetzel 1983). De acordo com o substrato que a comunidade perifítica coloniza é denominado um nome, desse modo o perifíton que cresce aderido aos grãos de sedimento é o epipélon (Sládečková 1962). O epipélon tem características que pode ajudar na restauração de lagos e reservatórios rasos (Dodds 2003, Genkai-Kato *et al.* 2012). Uma das principais características da comunidade que pode contribuir para a restauração é a liberação de oxigênio através do processo de fotossíntese das algas, que libera oxigênio junto ao sedimento e favorece a mobilização do P (Dodds 2003, Liboriussen & Jeppesen 2006). Além disso, o epipélon pode estabilizar o sedimento, aumentar o pH da água podendo levar a precipitação de fosfato de

cálcio e sequestrar íons através de sua matriz mucilaginosa e também através da assimilação de fósforo pelas algas epipélicas (Dodds 2003, Vadeboncoeur 2009, Genkai-Kato *et al.* 2012).

Em lagos e reservatórios rasos, a interação sedimento/coluna d'água é maior quando comparado a ecossistemas profundos (Søndergaard *et al.* 2003). Um dos fatores que mais dificulta a recuperação dos lagos é o processo de fertilização interna (Dittrich *et al.* 2011). O sedimento de lagos eutróficos contém grande concentração de fósforo, e em momentos de anoxia (ausência de oxigênio), o fósforo retorna para a coluna d'água (Mortimer 1941 e 1942, Bicudo *et al.* 2007). De modo inverso, na presença de oxigênio o ferro presente no sedimento se liga ao fósforo formando o fosfato férrico, assim o fósforo fica retido junto ao sedimento (Mortimer 1941 e 1942, Smolders *et al.* 2006).

Diante de todos problemas ocasionados pela eutrofização, a restauração de lagos e reservatórios é uma busca indispensável para o retorno da qualidade ambiental e os múltiplos usos da água. Para a busca da restauração, a primeira ação a ser tomada é a redução e/ou total eliminação das entradas de nutrientes pontuais de origem antrópica (Janssen *et al.* 2019). Além das entradas pontuais, alguns ecossistemas são afetados ainda pela entrada de nutrientes de fontes difusas, como exemplo em áreas agrícolas em que os fertilizantes podem chegar aos lagos através da ação do vento, escoamento da água de chuva, riachos que deságuam no lago, ou lençóis freáticos contaminados (Janssen *et al.* 2019, Wurtsbaugh *et al.* 2019). Assim, é necessário um diagnóstico ambiental para a elaboração de um projeto de restauração, ou seja, conhecer o funcionamento do ecossistema aquático (nível trófico, fontes de nutrientes, biodiversidade), levando em conta a bacia hidrográfica como um todo e considerando que cada ecossistema aquático é único (Moal *et al.* 2019, Soares & Calijuri 2022). Após o diagnóstico ambiental, pode ser implementado um projeto de restauração que busca melhorar o estado ecológico e os serviços ecossistêmicos para os seres humanos (Tammeorg *et al.* 2023). A restauração é aplicada para acelerar as respostas do ecossistema visando sua melhora, e muitas vezes são necessárias múltiplas intervenções, ou seja, a aplicação de algumas técnicas de

restauração em conjunto ou em sequências (Tammeorg *et al.* 2023). O processo de restauração inclui a aplicação de técnicas, as quais podem ser físicas, químicas e biológicas, tais como: (i) diluição e flushing, substituição de parte da água por água sem nutrientes e redução do tempo de residência da água (Gerling *et al.* 2014, Janssen *et al.* 2019); (ii) dragagem dos sedimentos, retirada da camada de solo rica em nutrientes (Zhang *et al.* 2010); (iii) aeração/oxigenação, lançamento de ar comprimido ou gás oxigênio no hipolímnio, o principal objetivo dessa técnica é manter a camada da interface sedimento/coluna d'água bem oxigenada, ou para lagos profundos manter a mistura da coluna d'água barrando o processo de estratificação com a liberação de ar sob forte pressão (Gerling *et al.* 2014, Bormans *et al.* 2016, Grochowska *et al.* 2017); (iv) utilização de sulfato de alumínio, atuando na sedimentação do fitoplâncton (Jeppesen *et al.* 2007); (v) floculantes naturais, como exemplo os coagulantes a base de tanino que vêm de metabólitos secundários das plantas como cascas, frutos e folhas (Barrado-Moreno *et al.* 2016), o objetivo do floculante é se aglutinar a compostos orgânicos e inorgânicos formando pequenos flocos, assim ocorrendo a decantação; (vi) utilização de sulfato de cobre, algicida que atua na morte do fitoplâncton (Hudnell 2010); (vii) inserção de macrófitas submersas e/ou flutuantes, que competem por recursos com o fitoplâncton, ou atuando na liberação de substâncias alelopáticas (Moss 1990, Yan *et al.* 2016); (viii) wetlands, áreas úmidas utilizadas como filtros naturais na retenção de parte dos nutrientes que entram no sistema aquático lântico (Ayele & Atlabachew 2021); (ix) biomanipulação, remoção ou introdução de peixes alterando a cadeia trófica (Søndergaard *et al.* 2007); (x) perifíton, na construção de rios artificiais colonizados pelo perifíton sequestrando parte dos nutrientes (Mayr *et al.* 2014); e biorreatores de perifíton, substratos artificiais que são colonizados e substituídos, retirando a comunidade perifítica e nutrientes (Ko *et al.* 2019).

Apesar de existirem diversas técnicas de restauração de lagos e reservatórios, grande parte das técnicas foram aplicadas e testadas em ecossistemas lânticos de clima temperado. Assim, relatos e estudos de lagos e reservatórios recuperados concentram-se em nestas regiões.

Contudo, alguns lagos recuperados após cerca de 10 anos da restauração retornam à classificação de eutrófico por conta da fertilização interna de fósforo (Søndergaard *et al.* 2007). De modo geral, um país que vem sendo mais atuante avaliando técnicas de restauração em climas sub/tropical é a China, mas os estudos sob vigência desse clima precisam avançar (Huang *et al.* 2019). Há dezesseis anos, Jeppesen *et al.* (2007) já relatavam que o aumento do conhecimento sobre os processos de restauração em lagos rasos de clima tropical era fundamental e que elevadas temperaturas favorecem a proliferação de algas, principalmente o fitoplâncton. Em suma, no Brasil, muitos lagos e reservatórios ainda recebem esgoto sem tratamento terciário de fontes pontuais, e diante desse cenário, fica inviável iniciar um processo de restauração, sendo que a eliminação de fontes pontuais é primordial para que projetos de restauração possam ser elaborados. De modo geral, existem tentativas de mitigação do problema, como é o caso da Lagoa Rodrigo de Freitas no Rio de Janeiro, que passou por frequentes mortandades de peixes decorrentes da eutrofização, e para mitigar esse problema vem melhorando a coleta de esgoto em torno da lagoa e encaminhando para um emissário submarino (CEDAE 2023). Outro exemplo é o lago Paranoá, que passou por processo de restauração através da redução do carregamento externo de nutrientes e melhora da coleta e tratamento de esgoto a nível terciário (Cavalcanti *et al.* 1997). No lago Paranoá também foi utilizado o manejo da população de peixes (biomanipulação), e o *flushing* redução do tempo de residência da água (Jeppesen *et al.* 2007, Padovesi-Fonseca *et al.* 2009). Nos dias atuais, existe um monitoramento referente à balneabilidade que indica os pontos do lago próprio ou impróprio para o banho, além de mostrar se existe locais que devem ser interditados por conta de florações de algas (CAESB 2023). Portanto, além da maioria dos estudos se concentrarem em regiões de clima temperado, grande parte dos estudos não levam em consideração a comunidade epipélica no processo de restauração (Costa & Ferragut 2023). Em adição, a maioria dos estudos sobre as técnicas de restauração não aborda as mudanças temporais na estrutura do fitoplâncton

(Kozak *et al.* 2015). Assim, aprofundar o conhecimento na relação fitoplâncton-epipélon é importante para a manutenção e recuperação de lagos e reservatórios.

O presente estudo avaliou experimentalmente quatro técnicas de restauração. Destaca-se que as técnicas escolhidas não incluíram a utilização de produtos químicos, os quais poderiam provocar grandes mudanças na biota. Dessa forma, considerou-se a aplicação de técnicas amigas do meio ambiente, ou seja, com menor potencial de interferência nas condições ambientais (Simon & Joshi 2021), principalmente buscando soluções baseadas na natureza, como a utilização de organismos já presentes no ambiente estudado. As técnicas selecionadas foram aeração de fundo, floculante natural, macrófitas flutuantes e biorreator de perifíton (imagens e mais detalhes sobre o experimento estão disponíveis na página: garcasproject.blogspot.com). Este estudo avaliou as respostas abióticas e bióticas (fitoplâncton e epipélon) em relação às técnicas isoladas e também a combinação de duas técnicas em conjunto (aeração e biorreator de perifíton). Levando-se em consideração a relação fitoplâncton-epipélon a principal hipótese levantada é que tratamentos com a presença do epipélon fotossinteticamente ativo tendem a ter menor concentração de P na água, refletindo na redução da biomassa fitoplanctônica. Com base no experimento 1 (técnicas isoladas), o presente estudo buscou saber (i) qual tratamento tem efeito negativo sobre a concentração de P na água e biomassa fitoplanctônica, (ii) qual tratamento favorece a formação de um epipélon fotossinteticamente ativo, (iii) considerando que cianobactéria é o grupo dominante no reservatório estudado, qual tratamento reduzirá as cianobactérias, (iv) qual tratamento promove maior mudança na composição das espécies descritoras do fitoplâncton ao longo do período experimental. Com base no experimento 2, o presente estudo buscou saber se a combinação de dois métodos pode aumentar a eficiência da redução do fósforo da coluna d'água e da biomassa fitoplanctônica. Para responder a estas questões, abordamos quatro tópicos ordenados nos seguintes capítulos:

Capítulo 1: Respostas da biomassa do epipélon à diferentes técnicas de restauração em

ambiente eutrófico

Capítulo 2: Variação temporal do fitoplâncton à diferentes técnicas de restauração de ambientes eutrofizados: experimento em mesocosmos

Capítulo 3: Respostas da comunidade fitoplancônica frente à diferentes técnicas de restauração de reservatórios eutróficos

Capítulo 4: Respostas da biomassa do fitoplâncton e do epipélton à aplicação de duas técnicas de restauração combinadas em ambiente eutrófico

Material e Métodos Geral

Área de Estudo

O experimento foi realizado no reservatório das Garças (23°38'50.37" S, 46°37'19.61" W), localizado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, uma área de preservação de remanescentes da Mata Atlântica inserida na zona urbana da cidade de São Paulo, no Sudeste do Brasil (Figura 1). O clima regional é tropical de altitude (Conti & Furlan 2003), com períodos chuvosos e maiores temperaturas durante a primavera e verão (outubro - março) e secos com menores temperaturas no outono e inverno (abril - setembro). É um reservatório tropical raso, classificado como supereutrófico, polimítico e descontínuo, com períodos de estratificação térmica de dias ou semanas, sua profundidade média é de 2,1 m, sendo a máxima de 4,7 m, com área de 88.156 m², volume de 188.785 m³ e tempo médio de residência de 71 dias (Bicudo *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2018, Bicudo *et al.* 2020). Este reservatório foi escolhido devido à sua condição eutrófica e pela ocorrência frequente de florações, principalmente de cianobactérias.

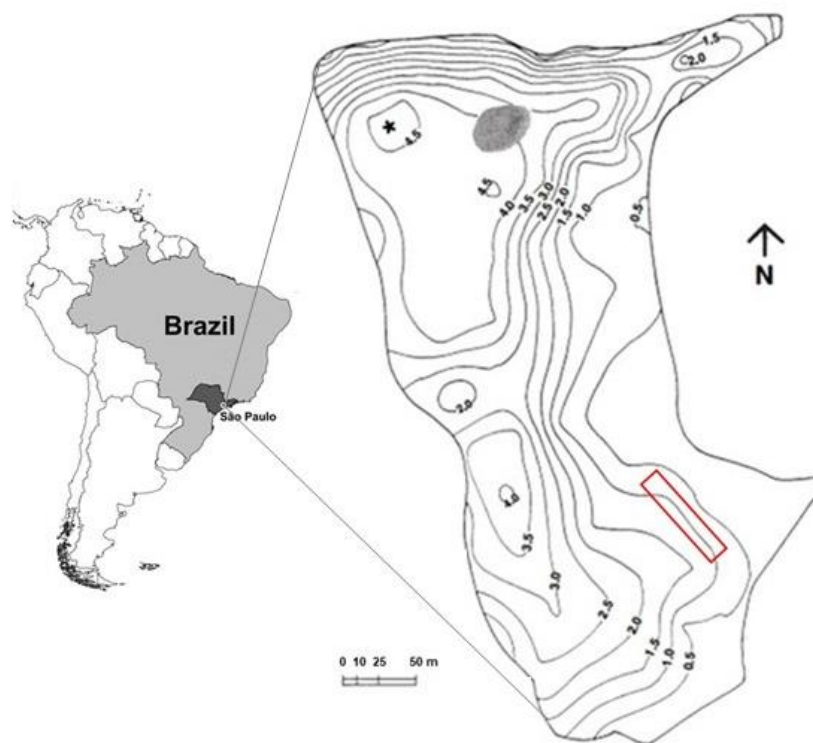


Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças, em vermelho local da instalação dos mesocosmos. Adaptado de Bicudo *et al.* (2007).

Experimento 1

O experimento foi realizado no verão, estação chuvosa, período que o reservatório apresenta momentos de estratificação térmica e anoxia no hipolímnio, e quando a floração do fitoplâncton é frequentemente presente, especialmente a cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (Bicudo *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2018). *In situ*, 15 mesocosmos de fundo aberto foram instalados (21/11/2019). Os mesocosmos de fundo aberto, cilindros de polipropileno com 120 cm de diâmetro, 150 cm de altura e 08 mm de espessura, foram enterrados até a parte argilosa do sedimento para isolar a coluna d'água e o sedimento. Após instalação, a profundidade da coluna d'água dos mesocosmos foi padronizada em 1 metro e o volume foi de aproximadamente de 1.130 litros de água. Após o período de aclimação, as diferentes técnicas foram aplicadas (T0; 29/11/2019). Os tratamentos foram aleatorizados através de sorteio. As amostragens foram realizadas nos 3º, 10º, 17º, 27º e 60º dias (Figura 2)

do período experimental (dezembro/2019 a janeiro/2020). As amostragens foram iniciadas com frequência semanal e uma última mensal.

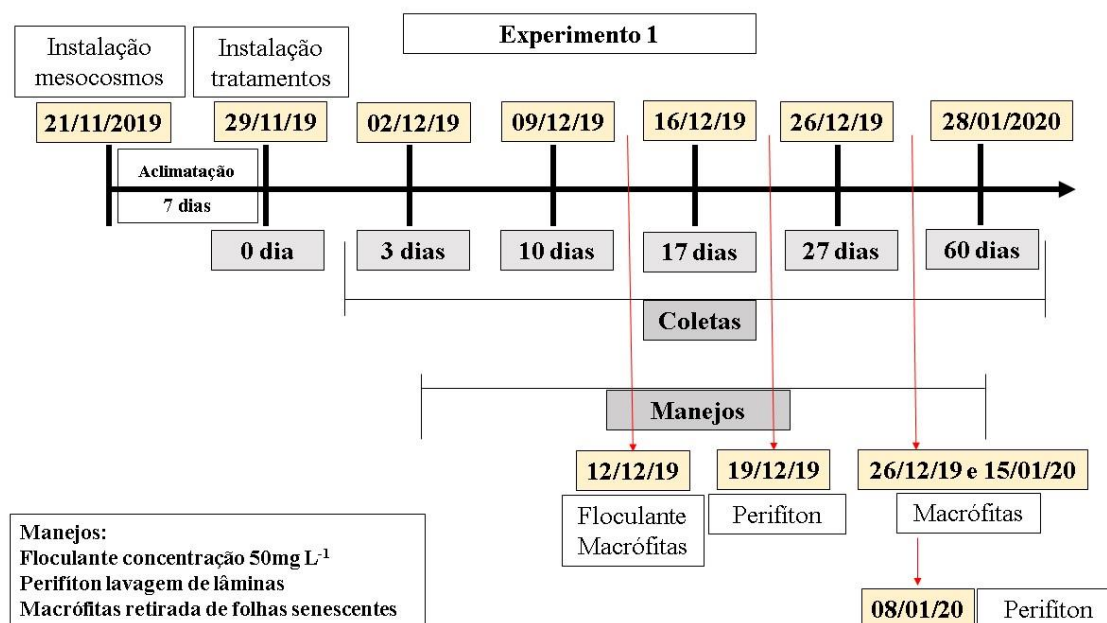


Figura 2: Datas, etapas, coletas e manejos do período experimental do experimento 1.

O experimento 1 foi constituído por cinco tratamentos (Figura 3) em tréplicas (n=3): controle (C), biorreator de perifíton (BP), macrófitas flutuantes (M), aeração (A) e floculante (F). Tratamento C, sem aplicação de técnica, apenas o isolamento da coluna d'água. Tratamento BP, 60 lâminas de vidro (25 cm largura x 10 cm altura e 0.3 cm espessura) foram inseridas na posição horizontal, em cada mesocosmo deste tratamento. As lâminas foram posicionadas submersas à 20 cm e a 80 cm da superfície, amarradas com linha de pesca. Para evitar a fase de desprendimento do perifíton, as lâminas foram retiradas, lavadas e recolocadas no 20º e 40º dias do período experimental (19/12 e 08/01). O intervalo de manejo do BP teve como base o pico de biomassa reportado em Borduqui & Ferragut (2012). Tratamento M, espécie dominante na área de estudo, foram introduzidos 15 indivíduos de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, foram padronizadas a utilização de macrófitas adultas (não senescentes) com quatro folhas de tamanhos e raízes similares. Para a manutenção das plantas, foram retiradas as folhas em estado

de senescência nos dias 13º, 27º (pós coleta) e 47º do período experimental (12/12, 26/12 e 15/01), o perifíton aderido não foi excluído. Tratamento A, ar comprimido foi transportado de compressores até os mesocosmos, e liberado na forma de pequenas bolhas sob baixa pressão através de uma mangueira porosa em formato de aro, posicionada à distância de 40 cm do sedimento, para minimizar a ressuspensão. A energia elétrica utilizada para o funcionamento dos compressores, 1 para cada mesocosmo deste tratamento (BOYU compressor de ar S-2000A 127V pressão 0.012 MPa), foi proveniente de um sistema de energia solar off grid (455 W h/dia), que garantiu o funcionamento dos compressores sem interrupções durante o período experimental. Tratamento F, floculante biodegradável (Tanfloc SG), sal orgânico de extrato vegetal (em pó) da árvore Acácia Negra - *Acacia mearnsii* de Willd, é um coagulante à base de tanino (Barrado-Moreno *et al.* 2016), fornecido pela TANAC S.A. (Montenegro, Brasil). Testes de bancada foram realizados para determinar a melhor concentração do floculante a ser utilizada. No primeiro teste, água do reservatório das Garças foi coletada em 26/08/2019. Foram avaliadas as concentrações de 200 mg L⁻¹, 350 mg L⁻¹ e 500 mg L⁻¹ de floculante, comparadas ao controle (apenas água), após 24 horas de teste foi verificada redução de 38.2%, 87.3% e 83.8% da clorofila-*a*, respectivamente. Apesar das maiores concentrações de floculante apresentarem maiores reduções da clorofila-*a*, observou-se coloração mais escura da água (Figura 4). Como o floculante poderia causar sombreamento na coluna d'água, foi realizado novo teste de bancada avaliando menores concentrações de floculante. Assim, foram avaliadas as concentrações de 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹ de floculante em água coletada na área de estudo (28/08/2019) comparadas ao controle (apenas água), após 24 horas de teste foram detectadas redução de 83.6% e 83.9% de clorofila-*a*, respectivamente. Dessa forma, após testes prévios em laboratório, 1 litro de solução foi preparada com a concentração de 50 mg L⁻¹ de floculante em água destilada. A adição do floculante foi realizada em duas etapas para não sobrecarregar o epipélton. A adição de floculante ocorreu no dia 0º e 13º do período experimental (29/11 e 12/12).

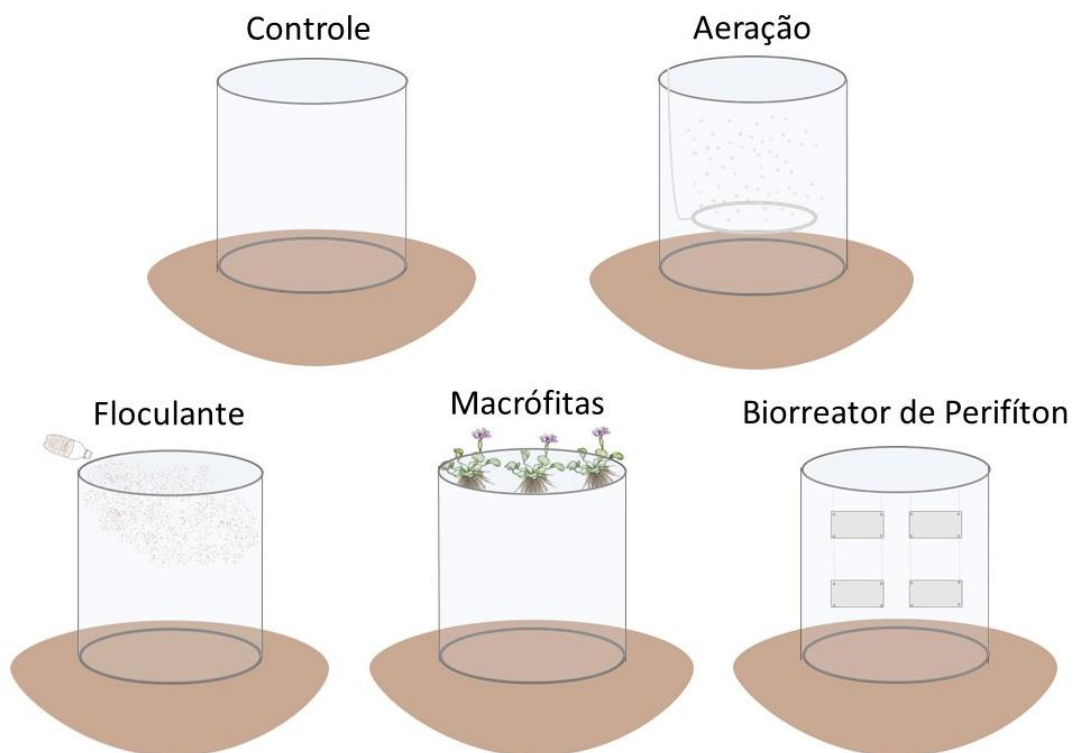


Figura 3. Esquema dos tratamentos: controle (C) e os tratamentos com aplicação de técnicas de restauração: Aeração (A), Floculante (F), Macrófitas (M) e Biorreator de perifíton (BP).

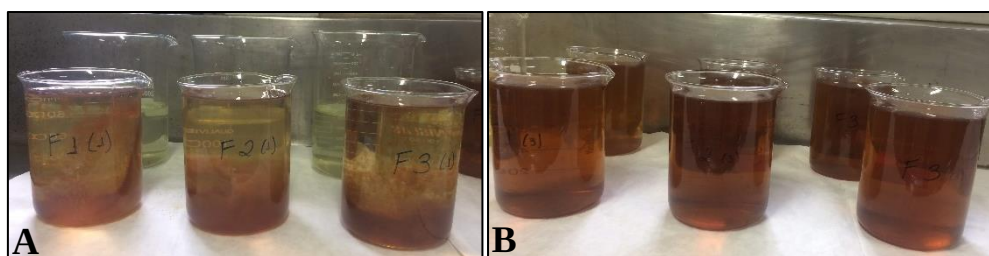


Figura 4. Teste de bancada do floculante (imagens 27/08/2019). Controle ao fundo e concentração 200 mg L^{-1} em trélicas (A); Concentração de 350 mg L^{-1} e ao fundo concentração de 500 mg L^{-1} em trélicas (B).

Experimento 2

Para avaliar as respostas da aplicação das técnicas em conjunto, foram instalados 8 mesocosmos *in situ* na região litorânea do reservatório das Garças. O experimento foi realizado no verão, estação chuvosa, período que o reservatório apresenta momentos de estratificação

térmica e anoxia no hipolímnio, e quando a floração do fitoplâncton é frequentemente presente, especialmente a cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (Bicudo *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2018). As amostragens foram realizadas no 2º, 9º, 16º, 28º e 59º dia do período experimental (Figura 5). O experimento foi realizado em mesocosmos de fundo aberto, constituídos por cilindros em polipropileno com 120 cm de diâmetro, 150 cm de altura e 08 mm de espessura, após instalação a profundidade foi padronizada em 1 metro e cada mesocosmo isolou um volume aproximado de 1.130 litros de água. Selecionou-se esse modelo de mesocosmo por ser uma estrutura leve, muito resistente e principalmente por permitir o isolamento da coluna d'água de forma eficiente. O local para fixação dos mesocosmos foi determinado conforme o gradiente de profundidade do reservatório, em uma área com fundo plano e profundidade ideal para a fixação. Dessa forma, os mesocosmos foram enterrados até a parte argilosa do sedimento mantendo o isolamento da água e do sedimento. Os mesocosmos passaram por período de aclimação de 12 dias. Os tratamentos foram posicionados aleatoriamente através de sorteio (04/01/22).

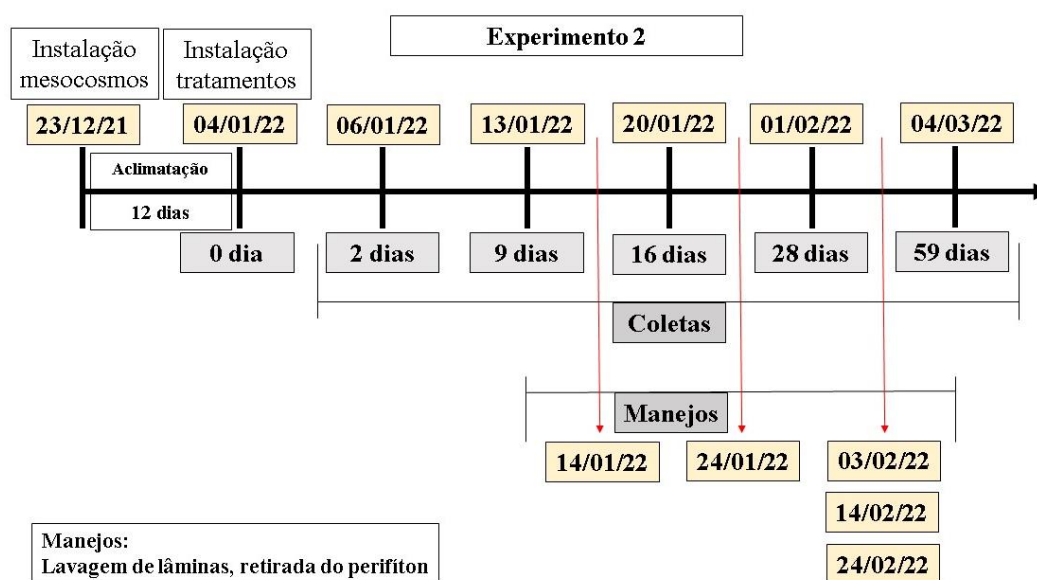


Figura 5: Datas, etapas, coletas e manejos do período experimental do experimento 2.

O experimento 2 foi constituído de dois tratamentos com 4 réplicas ($n=4$), sendo um controle (sem aplicação de técnica) e a aplicação das técnicas de aeração de fundo e biorreator de perifíton em conjunto (Figura 6). Essas duas técnicas foram selecionadas com base nos resultados do experimento 1 (Costa & Ferragut 2023), principalmente considerando reduções nas concentrações de fósforo e biomassa do fitoplâncton da coluna d'água, e aumento do epipélton fototrófico. No tratamento controle, não houve aplicação de técnica. O tratamento aeração e biorreator de perifíton (AP) foi constituído por ar comprimido que foi transportado através de compressores para os mesocosmos, e pequenas bolhas de ar foram liberadas através de mangueiras porosas em formato de aro posicionadas a 20 cm do sedimento para minimizar ressuspensão, tomou-se o cuidado da liberação das bolhas de ar ocorrerem sob baixa pressão para não prejudicar a comunidade epipélica e o biorreator de perifíton. A energia elétrica utilizada na operação dos compressores (BOYU compressor de ar S-2000A 127V pressão 0.012 MPa) foi fornecida através de um sistema de energia solar *off-grid* (455 W h/dia). Para o biorreator de perifíton foram utilizadas 60 lâminas de vidro (25 cm x 10 cm x 0.3 cm) que foram inseridas verticalmente nos mesocosmos. As lâminas foram posicionadas submersas a 20 e 70 cm da superfície da água, para homogeneizar a remoção dos nutrientes da coluna d'água. As lâminas foram removidas, lavadas e recolocadas aos 10, 20, 30, 41 e 51 dias do período experimental (14/01, 24/01, 03/02, 14/02 e 24/02) para evitar a fase de desprendimento do perifíton.

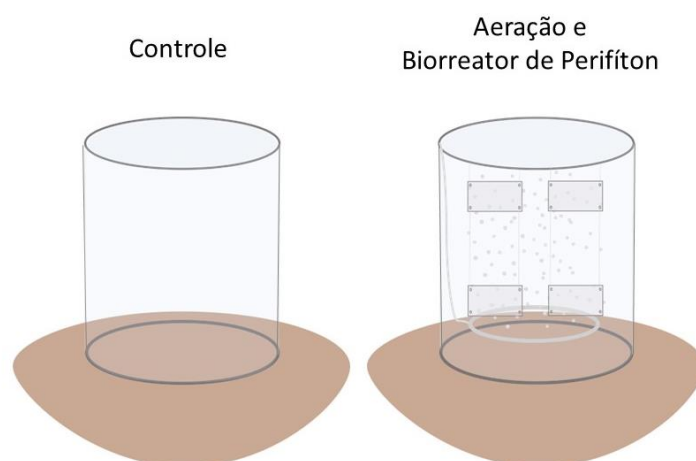


Figura 6. Esquema dos tratamentos: controle (C) e Biorreator de perifíton e Aeração (AP).

Variáveis ambientais analisadas

As variáveis climáticas foram analisadas através dos dados fornecidos pela Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, campus da Água Funda, localizado a cerca de 200 metros do local de estudo, foram utilizados os valores de temperatura do ar, velocidade do vento e radiação solar. Os dados de precipitação pluviométrica foram coletados através do site do DAEE (Departamento de Águas e Energia Elétrica) da estação meteorológica de monitoramento E3-035 IAG-USP.

Amostras da água dos mesocosmos foram coletadas para a análise das variáveis abióticas: radiação subaquática (radiação fotossinteticamente ativa - luxímetro Li-Cor LI-250A); coeficiente de atenuação da luz (%) calculado através da equação: $100 (L_0 - L_2) / L_0$, onde L_0 é a luz na subsuperfície e L_2 é a luz no fundo (Wetzel & Likens 1991); transparência da água (profundidade do disco de Secchi); temperatura, pH e oxigênio (sonda subaquática multiparâmetros Horiba modelo U-53); alcalinidade (Golterman & Clymo 1971); nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) (método do persulfato alcalino); nitrito (N-NO₂) (método de diazotização); nitrato (N-NO₃) (método de redução por cádmio); amônio (NH₄) (método do fenato); nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) (soma de N-NO₂, N-NO₃ e N-NH₄); teor de fósforo do sedimento determinado pela combustão das amostras à 550°C por 1 h e posterior lavagem das amostras com HCl 1N a 80°C por 30 min, subsequentemente, as amostras foram analisadas para fósforo reativo solúvel de acordo com o método do ácido ascórbico (Strickland & Parsons 1960), os métodos seguiram APHA (2012). As variáveis alcalinidade (método de titulação), temperatura da água e pH foram utilizadas para o cálculo das formas de carbono inorgânico dissolvido - CO₂ livre (Mackeret *et al.* 1978).

Seston

Amostras de água foram filtradas através de filtros de fibra de vidro pré-calcinados (Whatman GF/C), armazenados em estufa a 100 °C até serem pesados, após peso constante os filtros foram calcinados (500 °C, 1 h) e pesados (APHA 2012).

Fitoplâncton

A concentração da clorofila-*a* do fitoplâncton (corrigida da feofitina) foi obtida através da filtração de filtros de fibra de vidro (Whatman GF/F) e extraída utilizando etanol (90%) por 24 horas no escuro (Sartory & Grobblelar 1984).

Para a identificação das espécies, amostras da água foram preservadas com formalina a 4%. Para a quantificação, amostras foram fixadas com lugol acético e analisadas no microscópio invertido (Zeiss Axio Observer D1; 400x), seguindo o método de Utermöhl (Utermöhl, 1958). Para os critérios de contagem, utilizou-se a curva de rarefação com eficiência de contagem >95%, contando no mínimo 100 indivíduos da espécie mais abundante. A biomassa do fitoplâncton ($\mu\text{m}^3 \text{ mL}^{-1} / 10^6 = \text{mm}^3 \text{ L}^{-1} = \text{mg L}^{-1}$) foi determinada através do biovolume com base em dados do lago estudado (Fonseca *et al.* 2014) e, para espécies não citadas no artigo calculou-se de acordo com Hillebrand *et al.* (1999). Foram selecionadas as espécies descritoras e grupos funcionais da comunidade, espécies e grupos que contribuíram mais do que 15% da média da biomassa total. Os grupos funcionais foram determinados de acordo com Padisák *et al.* (2009).

O índice Q foi utilizado para classificar o estado ecológico de cada tratamento com base nos grupos funcionais do fitoplâncton. Foi calculado e classificado de acordo com Reynolds *et al.* (2002) e Padisák *et al.* (2006), seguindo a equação a seguir:

$$Q = \sum_{i=1}^n p_i F$$

Onde: $p_i = n_i/N$ (n_i , biomassa do grupo funcional; N , biomassa total), e um número de fator (F ; variando de 0 a 5) foi estabelecido para cada grupo funcional. O valor F foi

estabelecido de acordo com Crossetti & Bicudo (2008) e Santana *et al.* (2017). As categorias são: ruim (0-1), tolerável (1-2), médio (2-3), bom (3-4) e excelente (4-5).

Para avaliar a estrutura da comunidade foi utilizado o índice de Shannon-Wiener (H') que é mais sensível a mudança nas espécies raras da comunidade, o índice de Simpson (D) que é mais sensível a mudanças nas espécies abundantes e o índice de Margalef (D_{Mg}) para riqueza (Magurran 1988). Os cálculos dos índices biológicos foram realizados no software estatístico Past 4.01, utilizando os dados de biovolume ($\mu\text{m}^3/\text{mL}^{-1}$) das espécies descritoras.

Epipélon

Amostras do sedimento foram diluídas em um volume conhecido de água destilada para determinar a massa seca livre de cinzas (MSLC) e a concentração da clorofila-*a*. Para medidas de MSLC, amostras do epipélon foram filtradas através de filtros de fibra de vidro pré-calcinados (Whatman GF/C) armazenados a 100 °C até peso constante. Subsequentemente, os filtros foram calcinados (500 °C, 1 h) e pesados (APHA 2012). A concentração da clorofila-*a* do epipélon foi medida utilizando o mesmo método para a clorofila-*a* do fitoplâncton (Sartory & Grobbelaar 1984). A razão MSLC/ Clorofila-*a* foi utilizada para avaliar mudanças nos componentes autotróficos e heterotróficos do perifíton.

Índice de Estado Trófico (IET)

O Índice de Estado Trófico (IET) foi calculado de acordo com Lamparelli (2004) para reservatórios tropicais, utilizando a concentração da clorofila-*a* (Chloa) e fósforo total (PT), de acordo com a equação abaixo (Lamparelli 2004). As classes de estado trófico são: ultraoligotrófico (≤ 47.0), oligotrófico (47.1-52.0), mesotrófico (52.1-59.0), eutrófico (59.1-63.0), supereutrófico (63.1-67.0) e hipereutrófico (≥ 67.0).

$$\text{IET} = (\text{IET}(\text{PT}) + \text{IET}(\text{Chloa})) / 2$$

Onde,

$$\text{IET (PT)} = 10.(6-(1,77-0,42.(\ln \text{PT})/\ln 2))$$

$$\text{IET (Chloa)} = 10.(6-((0,92-0,34.(\ln \text{Chloa}))/\ln 2))$$

2.5. Tratamento Estatístico

Para identificar diferenças significativas nas variáveis bióticas e abióticas entre cada tratamento e o controle, utilizou-se a análise de variância de medidas repetidas com dois fatores (two-way RM-ANOVA - tratamento e tempo). O nível de significância de <0.05 foi adotado utilizando o teste a posteriori Tukey. Os dados foram logaritimizados para atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade quando necessário. O *software* utilizado para as análises foi o SigmaPlot 12.0.

Para avaliar os efeitos das técnicas sob a biomassa do epipélon, a análise de variância multivariada permutacional com dois fatores (two-way PERMANOVA) foi usada. Nesta análise, os dados foram logaritimizados, utilizou-se a medida de similaridade de Bray-Curtis com 9.999 permutações no *software* estatístico Past 4.01.

Para identificar diferenças significativas das espécies descritoras entre cada tratamento e o controle, foi realizada a análise de variância multivariada permutacional de dois fatores (two-way PERMANOVA; tratamento e tempo). Para análise foram utilizados dados não transformados da biomassa (mg L^{-1}) das espécies descritoras e a medida de similaridade de Bray-Curtis com 9999 permutações no *software* estatístico Past 4.01.

A análise de agrupamentos foi utilizada para determinação da similaridade na composição de espécies entre tratamentos. O método aplicado foi UPGMA, a medida de similaridade foi a de Bray-Curtis e para avaliar a eficácia do método de agrupamento foi utilizada a correlação cofenética. A análise foi realizada no *software* estatístico Past 4.01.

A Análise de Redundância (RDA) foi aplicada para determinação das variáveis ambientais determinantes das mudanças na estrutura do fitoplâncton com aplicação de cada técnica. A matriz ambiental da RDA de todas as comunidades algais foram executadas com 6

variáveis ambientais (temperatura da água, transparência da água, pH, CO₂, fósforo total e nitrogênio inorgânico dissolvido), as quais foram selecionadas em função do grau de importância na ordenação das unidades amostrais pela PCA. Para a RDA todas espécies que contribuíram com o controle e tratamento a ser comparado foram usadas para elaborar a matriz de espécies. Os dados abióticos e do fitoplâncton foram logaritimizados. O teste de randomização foi executado e foi considerado eixos interpretáveis aqueles com $p < 0,05$. As análises multivariadas foram feitas no programa PC-ORD 6.0.

Capítulo I

Respostas da biomassa do epipélon à diferentes técnicas de restauração em ambiente eutrófico

Publicação: Março de 2023

Revista científica: Environmental Management

<https://doi.org/10.1007/s00267-023-01811-2>

Environmental Management
<https://doi.org/10.1007/s00267-023-01811-2>



Epipelon biomass responses to different restoration techniques in a eutrophic environment

Renata Aparecida Costa ¹ · Carla Ferragut ^{1,2}

Received: 25 January 2023 / Accepted: 13 March 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2023

Abstract

Eutrophication is a worldwide problem. In eutrophic lakes, phosphorus release from stored sediment hinders restoration processes. The epipelon is a community that grows attached to the sediment surface and has the potential to help phosphorus retention by autotrophic organisms. This study evaluated epipelon responses to four lake restoration techniques. The responses of abiotic variables and phytoplankton biomass were also evaluated. Four simultaneous mesocosm experiments were performed in a shallow eutrophic lake. The applied techniques were aeration, flocculant, floating macrophytes, and periphyton bioreactor. Water and epipelon samples were taken on days 3, 10, 17, 27, and 60. The aeration treatment and macrophytes decreased light availability in the epipelon, which had a predominance of heterotrophic components. Flocculant and periphyton bioreactor treatments favored epipelon growth with a higher contribution of autotrophic components. Therefore, some techniques may favor the epipelon growth, while others may harm the community, resulting in less efficient restoration processes. For the complete restoration of a lacustrine ecosystem, the choice of techniques to be applied must consider the restoration and maintenance of the benthic environment.

Keywords Benthic algae · Biomass · Epipelon · Reservoir · Phosphorus · Mesocosms experiment

Capítulo II

Variação temporal do fitoplâncton à diferentes técnicas de restauração de ambientes eutrofizados: experimento em mesocosmos

RESUMO

Um dos principais efeitos da eutrofização é o aumento excessivo do fitoplâncton. Técnicas que buscam a restauração mudam as condições ambientais e a composição do fitoplâncton muda em função dessa variação ambiental. Assim, o presente estudo avaliou experimentalmente as mudanças na composição do fitoplâncton em resposta à quatro técnicas de restauração de reservatórios eutróficos. As técnicas aplicadas foram: aeração, floculante, macrófitas flutuantes e biorreator de perifíton. Amostras da água foram realizadas aos 3, 10, 17, 27 e 60 dias. Todos os tratamentos apresentaram mudanças na estrutura da comunidade fitoplanctônica em escala temporal, porém, ocorreu a persistência de espécies relacionadas à ambientes enriquecidos. Verificou-se a alternância de maiores biomassas entre *Microcystis aeruginosa* e *Spirogyra* no tratamento com aeração. No floculante, espécies de *Cryptomonas* apresentaram elevada contribuição, exceto aos 60 dias. Espécies de algas verdes e zignematofíceas foram favorecidas no tratamento com macrófitas, especialmente *Spirogyra* nos dias finais. No tratamento biorreator de perifíton, verificou-se elevada contribuição de *M. aeruginosa* (10d e 60d), zignematofíceas no decorrer do período experimental e, ao final, euglenofíceas (60d). Caracterizar as mudanças na composição do fitoplâncton em relação às técnicas de restauração é importante para a melhor utilização e escolha das técnicas de restauração, para que mais sucessos em processos de restauração sejam alcançados.

Palavras-chave: microalgas, reservatórios, nutrientes, experimento em mesocosmos

1. INTRODUÇÃO

Nos ambientes aquáticos lênticos a comunidade fitoplanctônica representa um dos principais produtores primários (Wang *et al.* 2021), assim fazendo parte importante da base da cadeia trófica. O fitoplâncton faz parte de um grupo polifilético, e é composto por protistas fotossintetizantes e cianobactérias (Reynolds *et al.* 2002, Rousseaux & Gregg 2014). Fatores físicos e químicos da água, assim como nutrientes, luz, temperatura, e a interação entre organismos influencia a composição da comunidade fitoplanctônica (Saturday *et al.* 2022). Nesse sentido, estudos ecológicos utilizam o fitoplâncton como bioindicador da qualidade da água, pois a comunidade responde prontamente a mudanças nas condições ambientais (El-Kassas & Gharib 2016). O aumento excessivo da comunidade fitoplanctônica é um dos principais efeitos relatados no mundo em relação a eutrofização (Ho *et al.* 2019), e comumente ocorre a predominância de cianobactérias em ambientes eutróficos (O’Neil *et al.* 2012). Algumas espécies de cianobactérias podem produzir e liberar toxinas na água, o que pode implicar nos usos da água e trazer prejuízos para a saúde humana e de animais (Codd *et al.* 2005). Portanto, a utilização do fitoplâncton como bioindicador pode indicar o início ou grau de eutrofização de um ecossistema aquático. Índices de estado trófico da água com base nos grupos funcionais do fitoplâncton que levam em consideração a biomassa e/ou a composição fitoplanctônica são utilizados com sucesso (Salmaso *et al.* 2015, El-Kassas & Gharib 2016). Assim, o estudo das mudanças temporais da comunidade fitoplanctônica dentro do cenário da restauração pode indicar se uma determinada técnica de restauração está atuando sobre a recuperação do ambiente aquático, ou ainda, se as medidas de manejos e/ou mudanças na gestão de lagos são necessárias (Xu *et al.* 2015).

A restauração de lagos eutrofizados é uma busca em âmbito mundial, porém esse não é um processo simples, e diversos são os fatores que dificultam a completa restauração (Abell *et al.* 2022). Um dos principais fatores e complicador da restauração é o processo de autofertilização, ou seja, o fósforo estocado nos sedimentos retorna para a coluna d’água

sustentando as florações de fitoplâncton (Horppila 2019, Fastner *et al.* 2016). Outro fator importante é a histerese (estados estáveis alternativos), que é a capacidade do ecossistema aquático de resistir a perturbações sem mudar para um estado qualitativamente diferente (Scheffer *et al.* 2001). Em ambientes eutróficos ocorre a dominância de um estado turbido, com maior contribuição da biomassa fitoplanctônica (Scheffer *et al.* 2001). A aplicação de medidas de restauração deve buscar a oligotrofização do ecossistema, ou seja, reduzir a carga de nutrientes em direção ao estado de águas claras (Janssen *et al.* 2019). Alguns lagos em regiões de clima temperado obtiveram sucesso na restauração, mas passados 10 anos ou menos da restauração, alguns lagos retornaram a ser classificados como eutróficos, devido ao processo de autofertilização (Søndergaard *et al.* 2007). Grande parte de estudos de restauração de lagos e reservatórios encontram-se em locais de climas temperados (Abell *et al.* 2022). Portanto, o aumento do conhecimento sobre processos de restauração em lagos de clima sub/tropical é fundamental, onde ocorre elevadas temperaturas que podem favorecer a proliferação de algas, principalmente o fitoplâncton (Jeppesen *et al.* 2007).

O presente estudo avaliou experimentalmente as mudanças na composição de espécies do fitoplâncton em resposta à aplicação de quatro técnicas de restauração de reservatórios eutróficos. Em experimentos de mesocosmos, o objetivo foi descrever as mudanças na composição do fitoplâncton, visando identificar as fontes de variabilidade das mudanças estruturais em tratamentos com aeração, adição de floculante natural, presença de macrófitas aquática (*Eichhornia crassipes*) e biorreator de perifíton. O maior entendimento das mudanças na composição do fitoplâncton em processos de restauração pode auxiliar no controle de lagos e reservatórios durante processos de restauração, aumentando a previsibilidade de retrocessos na restauração.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

O experimento foi realizado no reservatório das Garças ($23^{\circ}38'50.37''$ S, $46^{\circ}37'19.61''$ W), localizado no Parque Estadual Fontes do Ipiranga, área de remanescentes da Mata Atlântica inserida na cidade de São Paulo, Sudeste do Brasil (Figura 1A). É um reservatório raso, supereutrófico, polimítico, com tempo de residência médio de 71 dias, possui profundidade média de 2.1 m (máxima 4.7 m), área de superfície de 88.156 m^2 e volume 188.785 m^3 (Bicudo *et al.* 2020). Este reservatório conta com estudos de mais de 20 anos e tem frequentes florações de fitoplâncton (Crossetti *et al.* 2018). O experimento foi realizado na primavera/verão, a média da temperatura do período foi de 21.9°C ($11.5 - 34.6^{\circ}\text{C}$), o acumulado de chuvas 316.5 mm. No período experimental não foram registradas chuvas fortes, comparado aos últimos 10 anos, choveu cerca de 60% do acumulado histórico (DAEE 2023; estação de monitoramento E3-035).

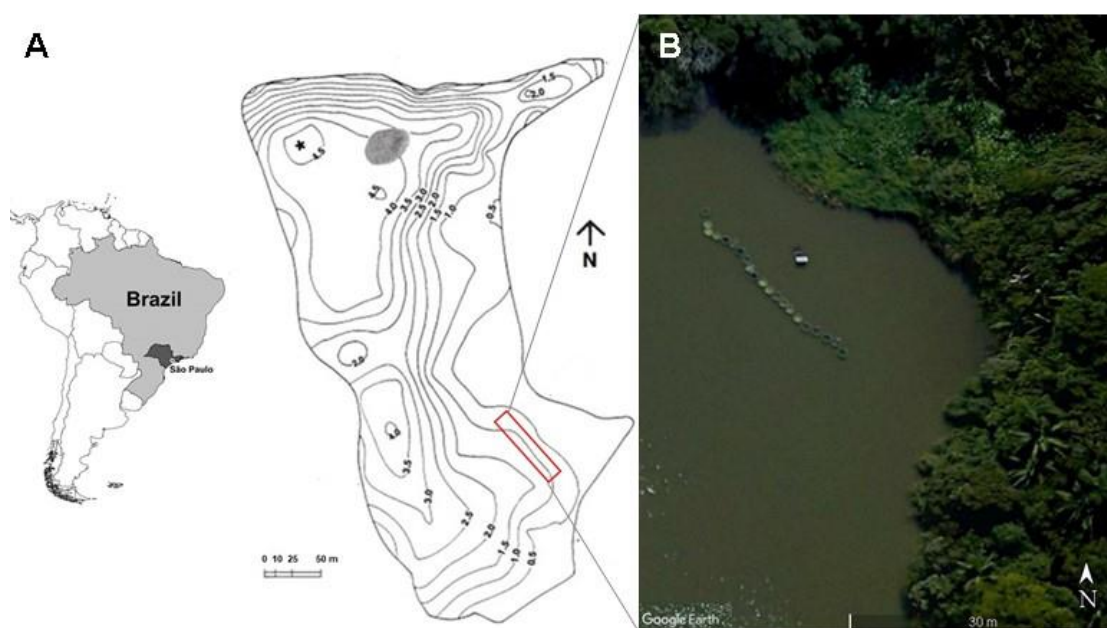


Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças, local do experimento destacado em retângulo vermelho (A) (modificado de Bicudo *et al.* 2007). Imagem de satélite Google Earth - janeiro de 2020 (B).

2.2. Delineamento Experimental

Foram utilizados simultaneamente 15 mesocosmos de fundo aberto, cilindros de polietileno com 120 cm de diâmetro, 150 cm de altura e 8 mm de espessura. Os mesocosmos foram instalados (21/11/2019) na zona litorânea do lago, a uma distância média de 10 m das margens do lago, 40 cm entre cada mesocosmos, e foram enterrados até a camada argilosa do sedimento (Figura 1B). Essas medidas foram tomadas para evitar sombreamento da mata, contaminações entre os mesocosmos e o isolamento da água dentro dos mesocosmos. Todos mesocosmos foram padronizados com uma coluna d'água com profundidade de 1 m, volume aproximado de 1.130 L e passaram por um período de aclimação. Na data de 29/11/2019 (T0), as técnicas de restauração foram aleatorizadas através de sorteio e instaladas em trélicas (n = 3). As técnicas selecionadas foram: controle (C), aeração de fundo (A), floculante natural (F), macrófitas flutuantes (M) e biorreator de perifíton (P). Essas técnicas foram selecionadas por serem classificadas como tecnologias verdes, ou seja, causam efeitos adversos menores ao meio ambiente (Simon & Joshi 2021). Amostragens da subsuperfície da água foram realizadas semanalmente, considerando o curto ciclo de vidas das algas, aos 3, 10, 17, 27 e 60 dias do período experimental, totalizando 75 amostras. As amostragens foram iniciadas com frequência semanal e uma última mensal para cobrir os meses mais quentes do período de verão.

No controle, não houve aplicação de técnica. No tratamento (A), ar comprimido foi produzido através de compressores (compressor de ar BOYU S-2000A 127 V - pressão 0.012 MPa) e liberado em pequenas bolhas de ar através de uma mangueira porosa em formato de aro, instalada a uma distância de 40 cm do sedimento, evitando ressuspensão. A energia utilizada foi produzida através de um sistema de energia solar *off-grid* (455 W h/dia), mantendo a aeração constante, contínua e sem interrupções durante todo período experimental, o sistema de energia solar foi instalado no lago e protegido por uma caixa de aço galvanizado. Para o tratamento (F), utilizou-se um floculante natural em pó (Tanfloc), produzido pela empresa TANAC S.A. (Montenegro, Brasil), a partir da casca da árvore Acácia Negra - *Acacia mearnsii* de Wild., que é um coagulante a base de tanino (Barrado-Moreno *et al.* 2016). Testes prévios

foram realizados em laboratório utilizando água do reservatório das Garças para a determinação da concentração do flocculante. Foi adicionada a concentração de 50 mg L⁻¹ de flocculante, em duas etapas, no início do experimento T0 e aos 13 dias. No tratamento (M), foram utilizadas macrófitas flutuantes *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, espécie abundante no lago. Quinze indivíduos adultos não-senescentes, foram padronizados com 4 folhas e raízes de tamanhos similares, o epifíton não foi excluído, cobrindo cerca de 33% da superfície da água do mesocosmo. Neste tratamento foi realizado manejos aos 13º, 27º e 47º (pós coleta) dias do experimento, que consistiu na retirada de folhas em estado de senescência. No tratamento (BP) foram inseridas na posição vertical 60 lâminas de vidro (25 cm×10 cm x 0.3 cm), para a colonização da comunidade perífítica. Pares de lâminas foram amarradas com fio de pesca ficando a uma distância de 20 e 80 cm da superfície, para homogeneizar a retirada dos nutrientes da coluna d'água. Neste tratamento foi realizado manejos aos 20º e 40º dias, para evitar o desprendimento da comunidade perífítica na coluna d'água. Os manejos consistiram na retirada, lavagem e reposição das lâminas, o intervalo do manejo teve como base o pico da biomassa do perifíton no reservatório das Garças (Borduqui & Ferragut 2012). Para mais imagens e detalhes do experimento visite a página eletrônica Garças Project (garcasproject.blogspot.com).

2.3. Variáveis Ambientais Analisadas

Foram analisadas as seguintes variáveis em campo: temperatura, pH, oxigênio dissolvido (sonda subaquática multiparâmetros Horiba modelo U-53) e a radiação subaquática (radiação fotossinteticamente ativa - luxímetro Li-Cor LI-250A). O uso da sonda e do luxímetro foram padronizados, utilizando sempre o mais próximo possível do centro dos mesocosmos.

Em laboratório, para a análise das amostras das frações dissolvidas dos nutrientes utilizou-se filtros de fibra de vidro GF/F, filtradas sob baixa pressão (≤ 0.3 atm). As concentrações das formas de nitrito (método de diazotização), nitrato (método de redução por cádmio) e amônio (método do fenato), foram somadas para a determinação do nitrogênio

inorgânico dissolvido (NID). O fósforo total (PT) (método do persulfato alcalino) também foi analisado. Os métodos seguiram APHA (2012). As variáveis alcalinidade (método de titulação), temperatura da água e pH foram utilizadas para o cálculo das formas de carbono inorgânico dissolvido - CO₂ livre (Mackeret *et al.* 1978).

2.4. Fitoplâncton

Para a identificação das espécies, amostras da água foram preservadas com formalina a 4%. Para a quantificação, amostras foram fixadas com lugol acético e analisadas no microscópio invertido (Zeiss Axio Observer D1; 400x), seguindo o método de Utermöhl (Utermöhl, 1958). Para os critérios de contagem, utilizou-se a curva de rarefação com eficiência de contagem >95%, contando no mínimo 100 indivíduos da espécie mais abundante. A biomassa do fitoplâncton (mg L⁻¹) foi determinada através do biovolume, com base em literatura local (Fonseca *et al.* 2014), para espécies não citadas calculou-se de acordo com Hillebrand *et al.* (1999). Foram consideradas espécies descritoras da comunidade, as espécies que contribuíram mais do que 15% da média da biomassa total. Para avaliar a estrutura da comunidade foi utilizado o índice de Shannon-Wiener (H') que é mais sensível a mudança nas espécies raras da comunidade, o índice de Simpson (D) que é mais sensível a mudanças nas espécies abundantes e o índice de Margalef (D_{Mg}) para riqueza (Magurran 1988). Os cálculos dos índices biológicos foram realizados no software estatístico Past 4.01, utilizando os dados de biovolume (um³/mL⁻¹) das espécies descritoras.

2.5. Tratamento Estatístico

A Análise de Redundância (RDA) foi aplicada para a avaliação das variáveis ambientais determinantes das mudanças na estrutura do fitoplâncton com aplicação de cada técnica. A matriz ambiental da RDA de todas as comunidades algais foram executadas com 6 variáveis ambientais (Tabela 1 - temperatura da água, transparência da água, pH, CO₂, fósforo total e

nitrogênio inorgânico dissolvido), as quais foram selecionadas em função do grau de importância na ordenação das unidades amostrais pela Análise de Componentes Principais (PCA). Para a RDA todas as espécies que contribuíram com o controle e tratamento a ser comparado foram usadas para elaborar a matriz de espécies. Os dados abióticos e do fitoplâncton foram logaritimizados. O teste de randomização foi executado e foi considerado eixos interpretáveis aqueles com $p < 0,05$. As análises multivariadas foram feitas no programa PC-ORD 6.0.

3.RESULTADOS

3.1. Variáveis Ambientais

A análise dos componentes principais explicou 82.6% da variabilidade total dos dados nos dois primeiros eixos (Figura 2). O eixo 1 foi o de maior explicabilidade (60.9%) e de acordo com o teste de randomização apenas o eixo 1 foi significativo ($p = 0.001$). O tratamento biorreator de perifíton foi ordenado no lado positivo do eixo 1 e correlacionado a maiores valores de pH ($r > 0.95$), enquanto o tratamento macrófitas foi ordenado no lado negativo do mesmo eixo, correlacionado com maiores valores de CO₂ livre ($r > -0.80$). No lado negativo do eixo 2, o tratamento floculante foi associado com maiores concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido ($r > -0.99$). O controle e tratamento aeração foram ordenados no lado positivo do eixo 2 relacionados a maiores valores de temperatura da água ($r > 0.45$).

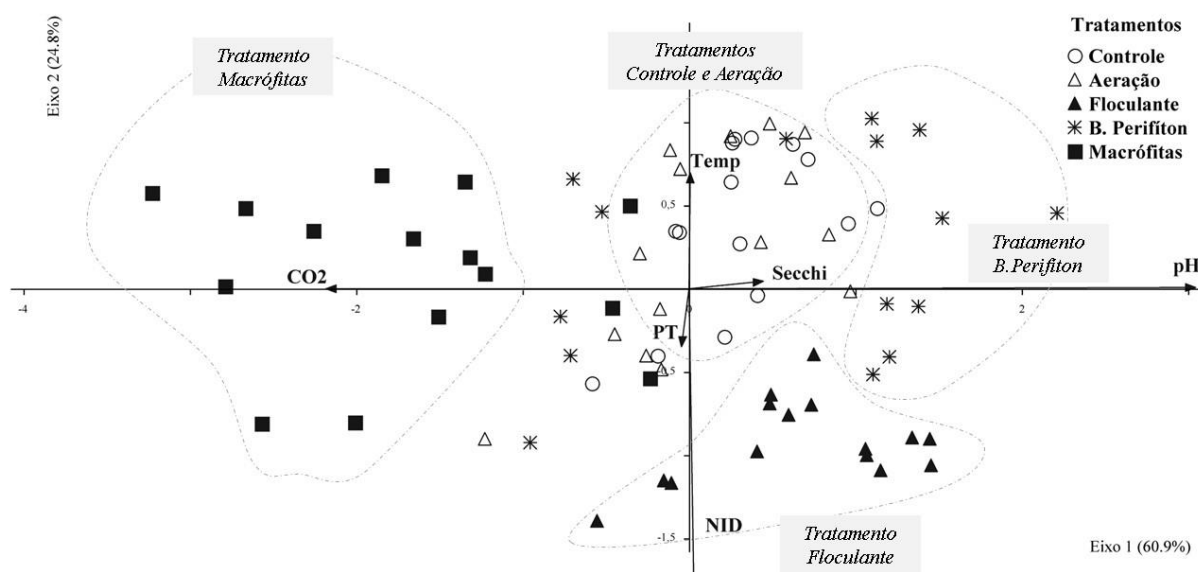


Figura 2. PCA das variáveis abióticas dos tratamentos controle, aeração, floculante, biorreator de perifíton e macrófitas em réplicas durante o período experimental. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - dióxido de carbono livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico.

3.2. Fitoplâncton

3.2.1 Experimento Aeração

Aos 3 dias de experimento, a espécie descritora que mais contribuiu na biomassa total do fitoplâncton foi a *Fragilaria* spp. com 72% de contribuição no tratamento A (Figuras 3A e B). A partir do dia 10, o tratamento A apresentou mudanças em relação ao controle, e *Microcystis aeruginosa* foi detectada contribuindo com 55% da biomassa total. Aos 17 dias, *Spirogyra* sp. e *Raphidiopsis raciborskii* contribuíram com 48% e 34% respectivamente da biomassa total do tratamento A. Aumento da biomassa de *M. aeruginosa* foi detectada no tratamento A aos 27 dias contribuindo com 56% e *Spirogyra* sp. com 27% da biomassa total. Aos 60 dias houve aumento da biomassa de *Spirogyra* sp., *Mougeotia* sp. e *Raphidiopsis raciborskii* no tratamento A com 35%, 16% e 15% de contribuição da biomassa total respectivamente.

A análise de redundância (RDA) do biovolume da comunidade fitoplanctônica do tratamento A foi executada com 73 espécies e 6 variáveis ambientais (Figura 3C). O eixo 1 e 2 explicaram juntos 23.1% da variabilidade dos dados, o teste de randomização indicou que ambos os eixos são interpretáveis ($p = 0.001$). A correlação espécie-ambiente para o eixo 1 ($r > 0.89$) e eixo 2 ($r > 0.87$) indicou forte relação entre a distribuição das espécies e as variáveis ambientais. As unidades amostrais do tratamento aeração e controle foram ordenadas em função da escala temporal.

As unidades amostrais do tratamento A e controle do início (3d e 10d) e do tratamento A no final (60d) do período experimental foram ordenadas no lado negativo do eixo 1 e correlacionadas com maiores concentrações de NID ($r = -0.95$) e PT ($r = -0.69$). *Achnanthyidium* sp., *Aphanocapsa incerta* e *Fragilaria* spp. ($r = -0.78$, -0.76 e -0.76 , respectivamente), foram as espécies de maior correlação com início de ambos os tratamentos e do final do tratamento A. No lado positivo do eixo 1, foram ordenadas as unidades amostrais do controle e aeração da fase intermediária do experimento (17d e 27d) e final do controle (60d), os quais foram correlacionadas com os maiores valores de temperatura ($r = 0.94$) e transparência da água ($r = 0.62$). *Staurostrum* sp., *Desmodesmus opoliensis* e *Microcystis aeruginosa* ($r = 0.56$, 0.42 e 0.37 , respectivamente) foram as espécies de maior correlação com período intermediário de ambos os tratamentos, e final do controle.

fitoplancônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, A - aeração), o primeiro número representa a réplica e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - CO₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico.

3.2.2 Experimento Floculante

No início do experimento (3d) com adição de floculante natural, a espécie descritora que mais contribuiu com a biomassa total no tratamento F foi a *Fragilaria* spp. com 53% de contribuição (Figuras 4A e B). Aos 10 dias *Cryptomonas erosa* e *Cryptomonas parapyrenoidifera* contribuíram com 32% e 28% respectivamente da biomassa total. Aos 17 dias *Cryptomonas parapyrenoidifera* apresentou 49% de contribuição na biomassa total. Aos 27 dias *Cryptomonas marssonii* e *Staurostrum* sp. contribuíram com 39% e 20% da biomassa total, respectivamente. Por fim aos 60 dias *Euglena* sp. foi detectada com 48% e *Raphidiopsis raciborskii* com 43% da biomassa total do fitoplâncton.

A RDA da comunidade do fitoplâncton com o tratamento F e o controle foi executada com 69 espécies e 6 variáveis ambientais (Figura 4C). Os eixos 1 e 2 explicaram em conjunto 24.2% da variabilidade dos dados, e o teste de randomização indicou que ambos eixos são interpretáveis ($p = 0.001$). A correlação espécie-ambiente para o eixo 1 ($r > 0.92$) e eixo 2 ($r > 0.91$) indicou forte relação entre a distribuição de espécies e as variáveis ambientais. As unidades amostrais foram ordenadas em função do tratamento.

A maioria das unidades amostrais do tratamento floculante no período experimental (exceto 3d) foram ordenadas no lado positivo do eixo 1 e foram correlacionadas com elevadas concentrações de NID ($r > 0.68$). As espécies com maior correlação com o tratamento F foram *Goniochloris mutica*, *Cryptomonas parapyrenoidifera* e *Coelastrum pulchrum* ($r = 0.58, 0.56$ e 0.52 , respectivamente). As unidades amostrais do controle foram alocadas no lado negativo

do eixo 1 e associadas com as maiores concentrações de CO₂ livre ($r = -0.38$) e Secchi ($r = -0.18$). As espécies mais associadas com o controle foram *Cryptomonas brasiliensis*, *Plagioselmis lacustres* e *Fragilaria* spp. ($r = -0.69$, -0.65 e -0.64 , respectivamente).

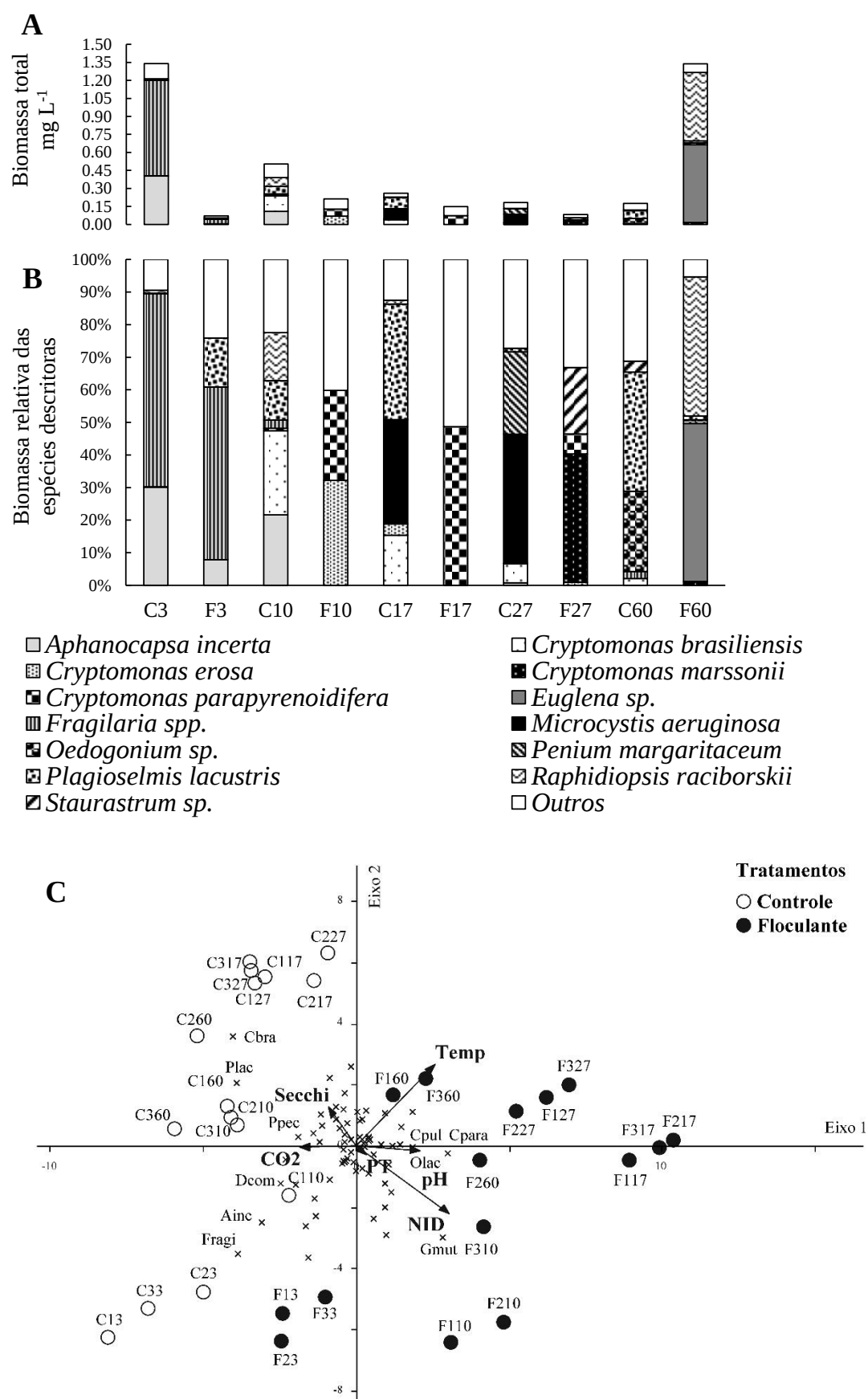


Figura 4: **Tratamento Flocculante**: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento F. RDA da

comunidade fitoplanctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, F - flocculante), o primeiro número representa a réplica e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - CO₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico.

3.2.3 Experimento Macrófitas

Em relação às espécies descritoras, aos 3 dias do período experimental a espécies que mais contribuíram para a biomassa total do tratamento macrófitas foram *Microcystis aeruginosa* (50%) e *Fragilaria* spp. (37%) (Figuras 5A e B). Aos 10 dias, verificou-se a presença de *Monoraphidium circinale*, que contribuiu com 34% da biomassa total. *Monoraphidium circinale* persistiu também aos 17 dias com contribuição de 36% e *Scenedesmus obtusus* com 28% da biomassa total. Aos 27 dias, a principal espécie descritora foi *Spirogyra* sp. com contribuição de 65% da biomassa total. Por fim aos 60 dias a *Spirogyra* sp. continuou a ser a espécie que mais contribuiu na biomassa total do fitoplâncton com 53%, seguida por *Closterium ehrenbergii* com 36% de contribuição.

A RDA foi realizada com 74 espécies e 6 variáveis ambientais (Figura 5C). Os eixos 1 e 2 explicaram 27.2% da variabilidade dos dados, e o teste de randomização indicou que ambos os eixos são interpretáveis ($p = 0.001$). A correlação espécie-ambiente para o eixo 1 ($r > 0.94$) e eixo 2 ($r > 0.90$), mostrou forte relação entre a distribuição de espécies e as variáveis ambientais. As unidades amostrais foram ordenadas em função do tratamento.

Todas as unidades amostrais do controle foram ordenadas no lado positivo do eixo 1 e correlacionadas com os maiores valores de transparência da água ($r = 0.73$), pH ($r = 0.50$) e NID ($r = 0.34$). As espécies mais associadas ao controle foram *Cryptomonas brasiliensis*, *Aphanocapsa incerta* e *Raphidiopsis raciborskii* ($r = 0.64$, 0.59 e 0.58 , respectivamente). As unidades amostrais do tratamento macrófitas, exceto os 3 dias, foram ordenadas no lado

negativo do eixo 1 e correlacionadas com as maiores concentrações de CO₂ livre ($r = -0.55$), temperatura da água ($r = -0.54$) e PT ($r = -0.45$). As espécies mais associadas ao tratamento Macrófitas foram *Monoraphidium griffithii*, *Spirogyra* sp. e *Euastrum denticulatum* ($r = -0.78$, -0.70 e -0.70 , respectivamente).

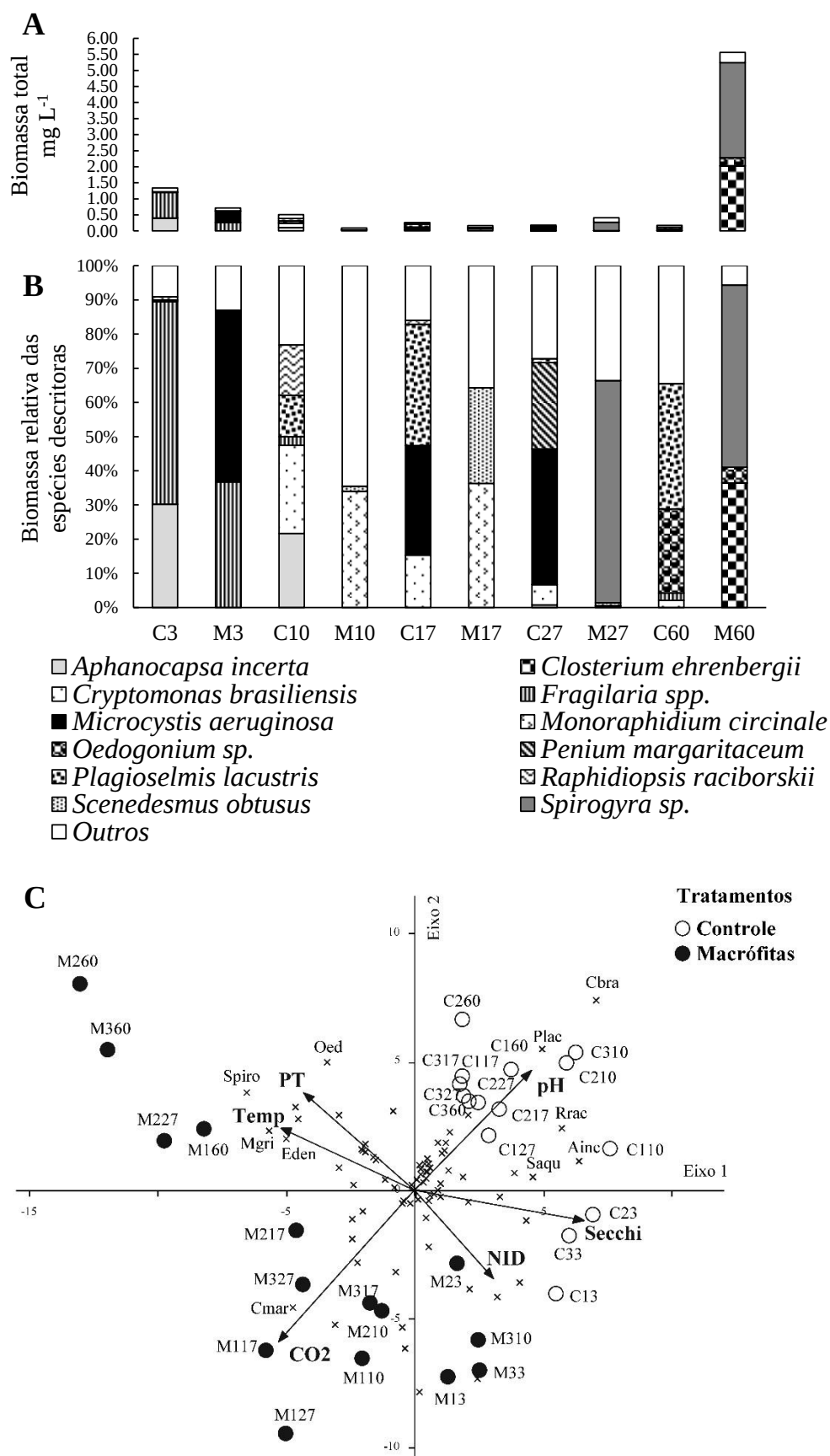


Figura 5: **Tratamento Macrófitas**: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento M. RDA da

comunidade fitoplanctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, M - macrófitas), o primeiro número representa a réplica e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - CO₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico.

3.2.4 Experimento Biorreator de Perifíton

Dentre as espécies descritoras do tratamento biorreator de perifíton, a espécie que mais contribuiu com a biomassa total do fitoplâncton foi a *Fragilaria* spp. (77%) aos 3 dias do período experimental (Figuras 6A e B). Aos 10 dias foi detectada a contribuição de *Microcystis aeruginosa* com 63% da biomassa total. Aos 17 dias houve a contribuição de 39% da espécie *Trachelomonas volvocinopsis* e de 18% de *Cryptomonas brasiliensis* na biomassa total. Com 27 dias de experimento foi detectada a contribuição de 60% da biomassa total pela espécie *Penium margaritaceum* e de 31% de *Staurastrum* sp. Ao final do período experimental (60d) as espécies de *Euglena* sp., *Microcystis aeruginosa* e *Staurastrum* sp. contribuíram com 38%, 20% e 17% da biomassa total do fitoplâncton, respectivamente.

A análise de redundância foi executada com 75 espécies e 6 variáveis ambientais (Figura 6C). Os eixos 1 e 2 totalizaram uma explicabilidade dos dados de 22.5%, sendo ambos eixos interpretáveis ($p = 0.001$) indicado pelo teste de randomização. A correlação espécie-ambiente para o eixo 1 ($r > 0.90$) e eixo 2 ($r > 0.89$) indicou uma forte relação entre a distribuição de espécies e as variáveis ambientais. O controle e tratamento biorreator de perifíton foram ordenados em escala temporal, exceto o dia 60 do período experimental.

As unidades amostrais do tratamento perifíton na fase final (17d, 27d e 60d) e o controle na fase intermediária (17d e 27d) foram ordenadas no lado positivo do eixo 1, e foram associadas a maiores valores de temperatura da água ($r > 0.87$). Considerando a característica centroide das espécies, nota-se que *Staurastrum* sp. ($r = 0.56$) foi mais associada ao tratamento

perifíton na fase final do experimento. As unidades amostrais do controle e tratamento do perifíton do início do período amostral (3d e 10d) e do controle no final (60d) foram ordenadas no lado negativo do eixo 1 e correlacionadas com as maiores concentrações de NID ($r = -0.71$) e CO₂ livre ($r = -0.45$). As espécies mais correlacionadas com a fase inicial de ambos os tratamentos foram *Chromulina* sp. ($r = -0.78$) e *Fragilaria* spp. ($r = -0.75$).

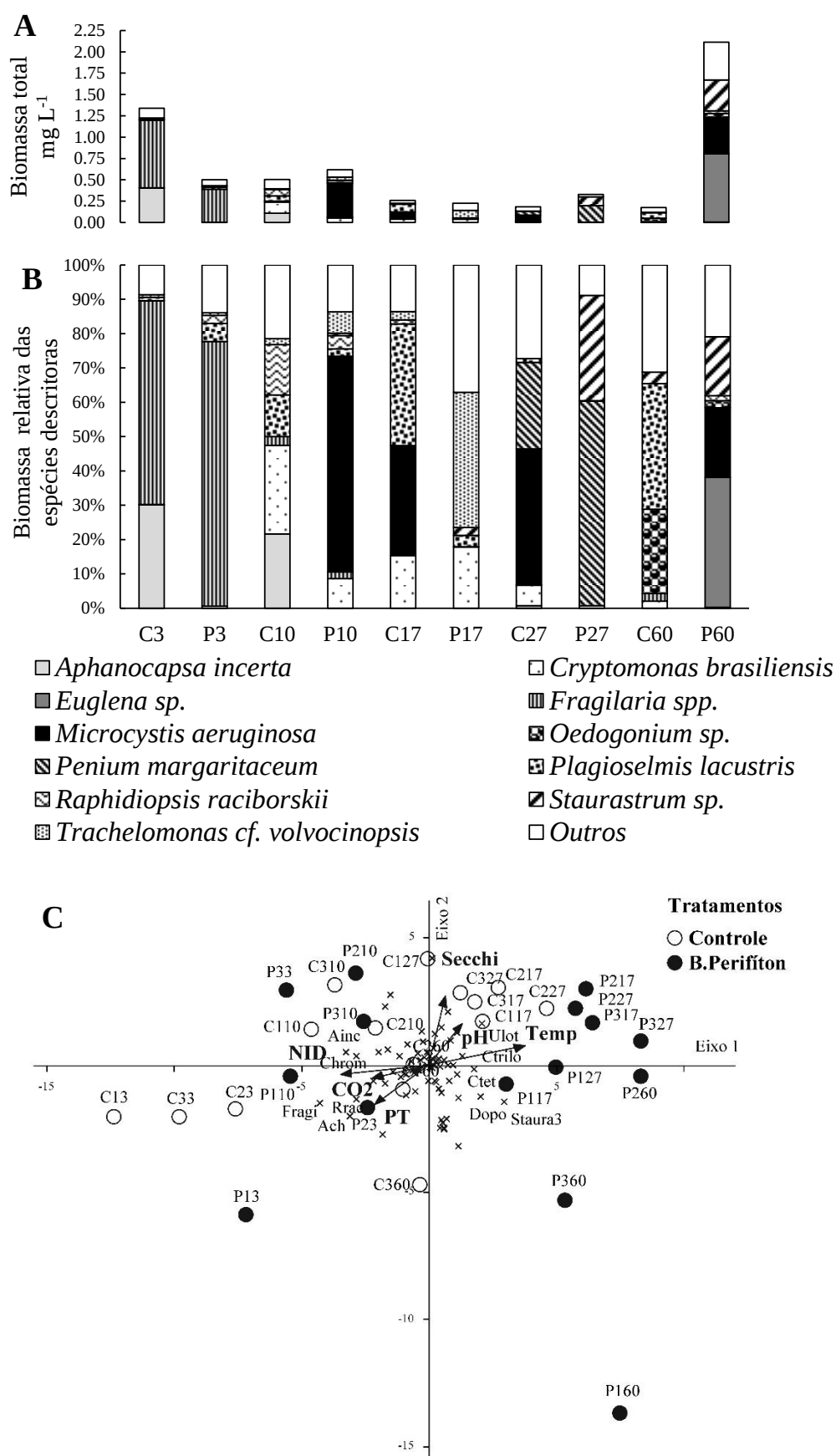


Figura 6: **Tratamento Biorreator de Perifiton**: Biomassa total das espécies descritoras (A) e biomassa relativa das espécies descritoras (B) do fitoplâncton do controle e tratamento

biorreator de perifíton representado pela letra P. RDA da comunidade fitoplanctônica (C) e 6 variáveis ambientais dos tratamentos no período experimental. Escores: a primeira letra refere-se ao tratamento (C - controle, P - biorreator de perifíton), o primeiro número representa a réplica e o segundo o dia da amostragem. Vetores: PT - fósforo total, NID - nitrogênio inorgânico dissolvido, CO₂ - CO₂ livre, Temp - temperatura da água, Secchi - transparência da água e pH - potencial hidrogeniônico.

3.2.5 Índices Biológicos

Dentre os tratamentos, maior valor de diversidade com base no índice de Shannon foi encontrado no tratamento F (Figura 7A). O tratamento que apresentou menor valor de riqueza foi o tratamento F (Figura 7B). O tratamento A reduziu a diversidade de espécies e aumentou a dominância de espécies (Figura 7C).

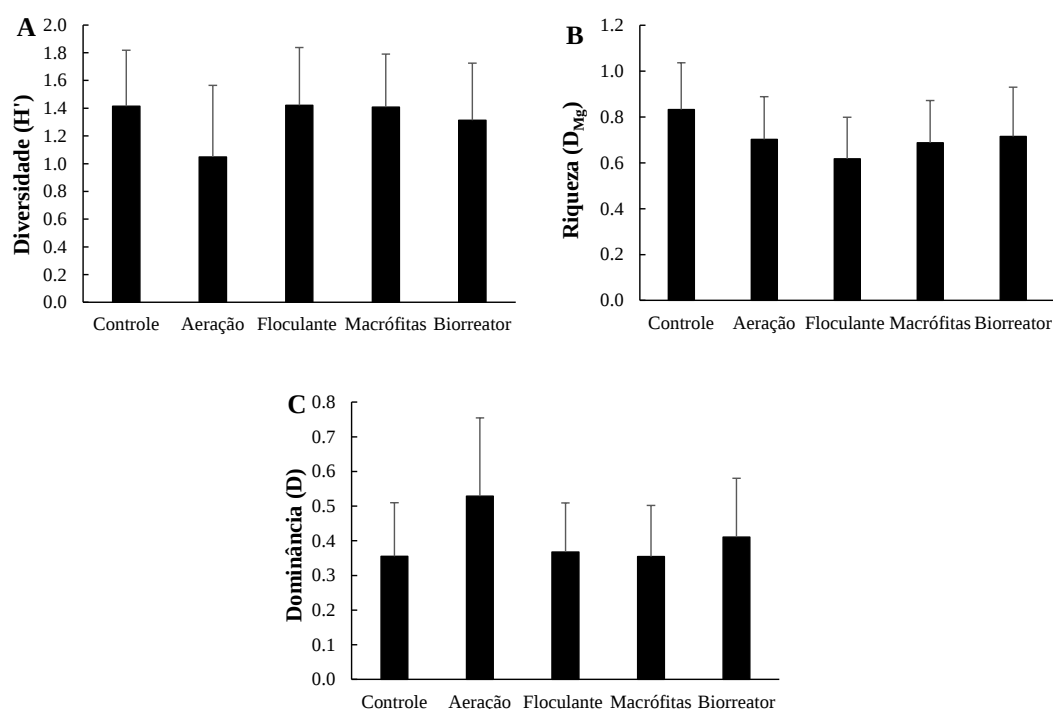


Figura 7: Índices biológicos ($n = 15$) do período experimental de cada tratamento: diversidade (A), riqueza (B) e dominância (C).

Tabela 1: Resultados das variáveis abióticas dos tratamentos (n = 3) e desvio padrão.

	Controle					Aeração				
	3 d	10 d	17 d	27 d	60d	3 d	10 d	17 d	27 d	60d
Temperatura da água °C	22.72	23.39	25.61	25.81	24.00	22.66	23.15	25.33	25.40	23.92
pH	(±0.05)	(±0.09)	(±0.12)	(±0.23)	(±0.21)	(±0.19)	(±0.05)	(±0.08)	(±0.17)	(±0.08)
CO2 mg L⁻¹	7.28	8.12	7.81	7.83	7.48	6.84	7.68	7.75	7.66	7.45
PT µg L⁻¹	(±0.34)	(±0.49)	(±0.23)	(±0.18)	(±0.16)	(±0.70)	(±0.90)	(±0.51)	(±0.26)	(±0.33)
NID µg L⁻¹	6.41	0.39	1.54	1.29	2.84	5.02	0.61	0.88	2.31	3.53
Secchi cm	(±4.67)	(±0.06)	(±0.69)	(±0.48)	(±0.99)	(±0.05)	(±0.06)	(±0.07)	(±1.39)	(±1.96)
	79.2	72.4	50.7	43.7	88.9	80.7	63.8	46.6	31.8	73.6
	(±3.1)	(±2.5)	(±5.9)	(±3.5)	(±4.37)	(±5.2)	(±5.4)	(±10.4)	(±1.0)	(±16.15)
	505.4	129.6	36.6	27.0	90.5	728.9	220.2	36.1	25.9	153.6
	(±144.4)	(±79.1)	(±9.6)	(±1.9)	(±13.1)	(±361.9)	(±103.7)	(±10.5)	(±3.7)	(±74.1)
	68.67	90.33	96.00	94.67	84.00	66.33	89.67	97.43	96.33	76.00
	(±1.53)	(±5.86)	(±1.00)	(±1.53)	(±14.53)	(±3.21)	(±2.52)	(±2.68)	(±1.15)	(±24.25)
	Floculante					Macrófitas				
Temperatura da água °C	22.99	23.76	26.02	26.06	24.80	22.67	23.49	25.58	25.91	25.41
pH	(±0.07)	(±0.27)	(±0.21)	(±0.17)	(±0.38)	(±0.13)	(±0.43)	(±0.52)	(±0.65)	(±1.11)
CO2 mg L⁻¹	7.82	8.43	8.55	7.62	7.58	6.56	6.56	6.60	6.13	6.09
PT µg L⁻¹	(±0.06)	(±0.16)	(±0.23)	(±0.37)	(±0.82)	(±1.45)	(±1.30)	(±1.38)	(±1.09)	(±0.69)
NID µg L⁻¹	1.40	0.33	0.20	2.26	6.35	203.19	221.88	169.13	432.52	22.70
Secchi cm	(±0.15)	(±0.10)	(±0.12)	(±1.74)	(±2.25)	(±92.93)	(±176.44)	(±118.40)	(±363.60)	(±3.37)
	50.8	72.4	63.4	56.3	277.7	67.9	57.3	48.5	51.9	459.5
	(±10.3)	(±7.5)	(±7.6)	(±6.0)	(±53.44)	(±4.3)	(±1.6)	(±3.9)	(±24.8)	(±264.74)
	1112.9	2367.7	2493.0	1985.4	2266.2	875.2	217.7	64.1	35.2	74.0
	(±142.3)	(±511.6)	(±488.4)	(±800.1)	(±1717.7)	(±55.3)	(±83.6)	(±17.9)	(±5.7)	(±25.0)
	89.33	69.67	71.00	93.67	57.67	80.33	67.67	65.67	68.67	21.00
	(±4.04)	(±13.43)	(±6.56)	(±2.89)	(±29.48)	(±10.26)	(±2.52)	(±8.14)	(±18.04)	(±12.49)
	Biorreator de Perifíton									
Temperatura da água °C	22.77	23.46	25.53	26.05	24.93					
pH	(±0.21)	(±0.13)	(±0.23)	(±0.22)	(±0.23)					
CO2 mg L⁻¹	7.59	7.84	8.21	7.83	7.71					
PT µg L⁻¹	(±1.43)	(±1.39)	(±1.92)	(±1.15)	(±1.22)					
NID µg L⁻¹	0.35	0.22	0.05	0.24	0.52					
Secchi cm	(±0.05)	(±0.04)	(±0.04)	(±0.04)	(±0.40)					
	80.2	67.4	51.5	48.9	77.5					
	(±8.2)	(±7.0)	(±5.1)	(±4.2)	(±1.4)					
	856.4	335.5	144.9	36.2	27.8					
	(±297.4)	(±46.2)	(±67.2)	(±17.1)	(±3.4)					
	76.00	89.67	92.00	91.67	64.67					
	(±18.00)	(±7.51)	(±2.00)	(±2.89)	(±26.54)					

4. DISCUSSÃO

Os achados mostram que a composição de espécies do fitoplâncton respondeu às mudanças das condições ambientais que cada técnica de restauração promoveu ao longo do tempo. Contudo, as mudanças na estrutura do fitoplâncton foram reduzidas nos tratamentos aeração e biorreator de perifíton no período experimental, como observado pela diversidade beta. O tratamento com macrófitas proporcionou a maior mudança na composição de espécies quando comparado ao controle, e a estrutura mudou desde os 3 dias de experimento. Enquanto os tratamentos com aeração, flocculante e biorreator de perifíton alteraram a composição de espécies descritoras a partir dos 10 dias. Além disso, o tratamento com aeração de fundo promoveu, em média, redução da diversidade e aumento da dominância de espécies, enquanto as alterações foram pequenas nos demais tratamentos. Portanto, após a aplicação das técnicas, a dinâmica das mudanças na estrutura do fitoplâncton foi reduzida, evidenciando que as técnicas atuam sobre a substituição de espécies da comunidade.

Com base na variação das espécies descritoras no tratamento A, a composição das espécies em relação ao controle mudou a partir dos 10 dias do período experimental. Maior biomassa de *M. aeruginosa* no tratamento A foi detectada no período de 10 até 27 dias, o que pode estar relacionada às vantagens adaptativas que a espécie tem em relação a outras, como exemplo estocar fósforo, controle vertical de flutuabilidade através da presença de aerótopos e alta taxa de crescimento (Kromkamp *et al.* 1989, Zhai *et al.* 2022). Estudos mostram que a aeração favorece a diminuição da disponibilidade de fósforo na coluna d'água (Costa & Ferragut 2023, Nygrén *et al.* 2017). *Spirogyra* e *Raphidiopsis raciborskii* contribuíram do meio para o final do experimento no tratamento A. *Spirogyra* pode ter o início do ciclo de vida no sedimento (Hillebrand 1983) e a aeração de fundo pode ter contribuído com a suspensão da espécie na coluna d'água. Além disso, espécies de *Spirogyra* sp. possuem a vantagem da flutuabilidade, pois através do processo de fotossíntese as bolhas de ar ficam retidas nos filamentos (Berry & Lembi 2000), o que possibilitaria a presença deste gênero no plâncton.

Conforme estudo anterior, a aeração de fundo proporcionou redução do material particulado e biomassa do fitoplâncton (Costa & Ferragut 2023), o que pode ter favorecido o crescimento de *Spirogyra* no sedimento. O gênero *Spirogyra* tem sua faixa ideal de crescimento em ambientes mesotróficos a eutróficos (Hainz *et al.* 2009). *Raphidiopsis raciborskii* se expandiu no mundo, devido a essa expansão alguns autores indicam que a espécie atingiu a categoria de cosmopolita (Antunes *et al.* 2015). *R. raciborskii* é espécie fixadora de nitrogênio (presença de heterocitos), apresenta presença de vacúolos gasosos permitindo sua flutuabilidade na coluna d'água, e esporos de resistência (acinetos), é resistente ao pastoreio e potencialmente produtora de toxinas (Padisák 1997). Em relação ao fósforo *R. raciborskii* é considerada uma espécie oportunista e especialista em armazenamento (Isvánovics *et al.* 2000), é associada a eutrofização, mas pode ser encontrada em diversas trofias (Antunes *et al.* 2015). Em estudo realizado no mesmo reservatório, *R. raciborskii* permaneceu por 30 dias diante da oligotrofização (Crossetti & Bicudo 2005). Entretanto, com base na RDA a aeração de fundo não foi principal fator de mudança na estrutura do fitoplâncton, pois o tempo foi o principal fator de mudanças na comunidade. De fato, maior favorecimento de cianobactérias, como *Aphanocapsa incerta* e *Microcystis aeruginosa* foram correlacionadas ao início e período intermediário do experimento, respectivamente. Além disso, a faixa de trofia do habitat de *Aphanocapsa* é de ambientes ricos em nutrientes (Reynolds *et al.* 2002), assim como *M. aeruginosa*, que é associada a ambientes eutrófico a hipereutrófico (Padisák *et al.* 2009). O tratamento A também favoreceu algas zignematofíceas como *Staurastrum* sp. O gênero *Staurastrum* tem vantagens de flutuabilidade por conta de seus processos (West & West 1909), o que facilita a suspensão na coluna d'água.

Em termos de biomassa das espécies descritoras, o tratamento floculante favoreceu dos 10 aos 27 dias as microalgas do gênero *Cryptomonas*, como a *C. parapyrenoidifera*, *C. erosa*, e *C. marssonii*, e aos 60 dias *Euglena* sp. e *Raphidiopsis raciborskii*. O gênero *Cryptomonas* tem tolerância a baixa disponibilidade de luz e é frequentemente encontrado em lagos

enriquecidos (Reynolds *et al.* 2002). No tratamento F, o flocculante natural utilizado deixa a coloração da água mais escura e diminui a disponibilidade da luz na coluna d'água e causa poluição secundária, ou seja, aumenta a disponibilidade de nutrientes (Costa & Ferragut 2023). Por serem organismos flagelados, a migração das *Cryptomonas* spp. na coluna d'água tem a intensidade da luz como um dos fatores mais importantes no processo de migração (Gasol *et al.* 1993, Knapp *et al.* 2003). Portanto, tanto a diminuição na disponibilidade de luz quanto o aumento da disponibilidade de nutrientes podem ter sido fatores determinantes para o crescimento de *Cryptomonas* no tratamento F até os 27 dias. Ao final do período experimental, *Euglena* spp. e *Raphidiopsis raciborskii* foram favorecidas no tratamento F. Conforme estudo anterior de Costa & Ferragut (2023), as condições ambientais ao final do experimento com flocculante, apresentou as maiores concentrações de nutrientes, material particulado e valores de atenuação da luz do período experimental. Tais condições podem ter favorecido o crescimento de *Euglena* sp. e *Raphidiopsis raciborskii*. O gênero *Euglena* é associado com habitats rico em matéria orgânica (Padisák *et al.* 2009) e possui atividades heterotróficas em ambientes com baixa disponibilidade de luz e alta concentração de carbono orgânico (Ogbonna *et al.* 2002). *Raphidiopsis raciborskii* é considerada uma espécie oportunista (Isvánovics *et al.* 2000), e tem vantagens em relação à tolerância a baixa luminosidade, e vacúolos gasosos que permitem sua flutuabilidade na coluna d'água (Padisák 1997). Conforme a RDA, a adição de flocculante foi determinante para a mudança da estrutura do fitoplâncton, tendo espécies associadas ao tratamento, como *Cryptomonas parapyrenoidifera*, que é uma espécie oportunista e mixotrófica (Urabe *et al.* 2000), e *Goniochloris mutica* é associada a ambientes enriquecidos (Padisák *et al.* 2009). Assim, as condições ambientais proporcionadas pelo flocculante pode ter favorecido as espécies principalmente mais tolerantes à baixa disponibilidade de luz e com alta disponibilidade de nutrientes.

Com base na variação da biomassa, a presença de macrófitas associada ao epifíton, no caso *Eichhornia crassipes*, mudou a composição das espécies descritoras desde os 3 dias de

experimento, quando houve aumento de *Microcystis aeruginosa*. Apesar do crescimento inicial de *M. aeruginosa*, no decorrer do período experimental *M. aeruginosa* não foi mais detectada no tratamento M. A diminuição da biomassa de *M. aeruginosa* no decorrer do tempo pode estar associada a efeitos alelopáticos da macrófita *Eichhornia crassipes* (Shanab *et al.* 2010). A competição por nutrientes do fitoplâncton com macrófitas e perifíton é um importante fator no controle da biomassa fitoplanctônica (Pinto & O'Farrell 2014). Aos 10 e 17 dias *Monoraphidium circinale* foi abundante no tratamento M. Este gênero é comumente encontrado em ambientes com condições enriquecidas (Padisák *et al.* 2009). A partir dos 27 dias, *Spirogyra* spp. apresentou a maior contribuição para a biomassa do fitoplâncton. Esse gênero pode estar presente no perifíton que cresce aderido às macrófitas (Inyang *et al.* 2015), e ao se desprender do perifíton pode fazer parte do fitoplâncton (Kravtsova *et al.* 2020). Aos 60 dias, valores extremamente altos de biomassa do fitoplâncton foram detectados no tratamento M, que se justificam pela contribuição de espécies filamentosas, como *Spirogyra* sp. e *Oedogonium* sp. e, também pela presença de *Closterium ehrenbergii* com elevado biovolume. Conforme a RDA, a presença de macrófitas foi determinante para a mudança na estrutura do fitoplâncton, o qual apresentou espécies com alta correlação com os escores do tratamento (60d), como *Monoraphidium griffithii* e *Spirogyra*. Portanto, a presença de macrófitas não favoreceu a dominância de cianobactérias, assim como reportado por Bicudo *et al.* (2007) quando ocorreu a retirada dos bancos de macrófitas do mesmo reservatório estudado. A competição por luz, nutrientes e, provavelmente, substâncias aleloquímicas são mecanismos pelos quais as macrófitas podem mediar as mudanças na estrutura fitoplanctônica (Lürling *et al.* 2006, Barrow *et al.* 2019), como observado no presente estudo.

No tratamento BP, a composição das espécies descritoras mudou a partir dos 10 dias experimentais. As condições ambientais do tratamento BP favoreceram *M. aeruginosa*, que é uma espécie associada a maiores níveis tróficos (Padisák *et al.* 2009), aos 10 dias do período experimental. Contudo, posteriormente, o crescimento de *M. aeruginosa* foi reduzido e

zignematofíceas (*Penium margaritaceum* e *Staurostrum iversinii*) e euglenofíceas (*Trachelomonas* e *Euglena*) foram favorecidas. A contribuição de *P. margaritaceum* pode estar associada ao desprendimento do perifíton do substrato para a coluna d'água, pois é uma espécie que é comumente encontrada na comunidade perifítica (Felisberto *et al.* 2014). Maiores contribuições dos gêneros de *Euglena* e *Trachelomonas* são associados a maiores concentrações de matéria orgânica (Munawar 1970). O estudo de Costa & Ferragut (2023) indicou a necessidade de um período entre os manejos do perifíton devido ao desprendimento do material aderido. Assim, o aumento de espécies relacionadas a maiores concentrações de matéria orgânica pode ser um indicativo de que houve retorno da biomassa perifítica para a coluna d'água beneficiando espécies do gênero *Trachelomonas* e *Euglenas*. Com base na RDA, a presença do biorreator do perifíton influenciou a estrutura do fitoplâncton somente no final do período experimental (27-60d) e apenas a espécie *Staurostrum* sp. foi mais correlacionada ao tratamento P, que é relacionada a ambientes com altos índices tróficos (Padisák *et al.* 2009). Portanto, a variação temporal da biomassa das descritoras e a RDA sugerem que o biorreator de perifíton tem potencial biorremediador, mas é essencial um manejo adequado para garantir o sucesso da técnica.

Buscar entender as mudanças na composição do fitoplâncton ocasionadas pelos fatores ambientais é importante nos processos de restauração, pois pode ser uma ferramenta importante para a tomada de decisões dentro do processo de restauração. Assim, caracterizar as respostas temporal da comunidade fitoplanctônica em relação às técnicas de restauração pode contribuir para ajustes nos manejos e para avaliação da eficiência das técnicas, ou seja, se as técnicas estão respondendo de maneira positiva aos processos de restauração. Estudos de longa duração evidenciaram que a estrutura do fitoplâncton apresentou diferentes fases ao longo da escala temporal no reservatório estudado, mas as cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Raphidiopsis raciborskii* sempre estiveram presentes em elevada abundância (Bicudo *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2018). Considerando as mudanças ocasionadas pelos tratamentos

macrófitas e biorreator de perifíton e que são técnicas que geram grande quantidade de matéria orgânica, as espécies dentro da análise temporal desses dois tratamentos confirmam que os manejos devem ser mais constantes para evitar o retorno dos nutrientes removidos pelas técnicas para a coluna d'água. Por fim, apesar de todas as técnicas, exceto a aeração, reduzirem a biomassa do fitoplâncton e principalmente das cianobactérias até os 27 dias, (capítulo 2 da tese), de modo geral mesmo dentro desse período, ainda persistiram espécies relacionadas a ambientes enriquecidos. O que indica a resistência de ambientes com dominância do fitoplâncton às mudanças, para um sistema com água claras (Scheffer *et al.* 2001), e com fator agravante do clima sub/tropical com elevadas temperaturas. Considerando que lagos e reservatórios de regiões de climas temperado irão cada vez mais sofrer com maiores temperaturas por conta do aquecimento global, a busca de conhecimento em ambientes aquáticos de climas mais quentes irá possivelmente contribuir para problemas futuros em outras regiões do planeta. Portanto, mais estudos que avaliem as respostas do fitoplâncton à processos de restauração de lagos eutrofizados em ambientes de clima sub/topical são fundamentais para o melhor entendimento e contribuição para mais casos de sucessos.

Capítulo III

Respostas da comunidade fitoplanctônica frente à diferentes técnicas de restauração de reservatórios eutróficos

RESUMO

Um dos principais efeitos da eutrofização é o aumento excessivo da biomassa fitoplanctônica, que por sua vez afeta o funcionamento dos ecossistemas aquáticos. Muitas técnicas são utilizadas na tentativa de recuperar lagos eutrofizados, onde a redução da biomassa fitoplanctônica é um dos principais focos. Este estudo avaliou experimentalmente as respostas do fitoplâncton à quatro técnicas de restauração. As técnicas aplicadas foram: aeração de fundo, adição de floculante natural, macrófitas flutuantes e biorreator de perifíton. Os tratamentos com aplicação das técnicas mudaram as condições ambientais e afetaram a biomassa e a composição das espécies descritoras do fitoplâncton, exceto o tratamento aeração. A aplicação de floculante natural alterou significativamente as características físicas e químicas da água e a composição do fitoplâncton, mas aumentou a disponibilidade de nutrientes. O tratamento com macrófitas e o biorreator de perifíton alteraram a composição do fitoplâncton e diminuíram a biomassa de cianobactérias. O aumento do conhecimento sobre as respostas do fitoplâncton à diferentes técnicas é fundamental para a escolha da técnica mais adequada em um processo de restauração, principalmente em ambientes sub/tropicais, onde esse conhecimento é ainda escasso.

Palavras-chave: microalgas, cianobactérias, fitoplâncton, grupos funcionais, experimento em mesocosmos

1. INTRODUÇÃO

A eutrofização é a resposta da biota diante do aumento no aporte de nutrientes nos ambientes aquáticos, entre eles: fósforo, nitrogênio, sílica, potássio, cálcio, ferro ou manganês (Harper 1992, Moal *et al.* 2019). Contudo, muitos estudos indicam que os principais nutrientes limitantes para o crescimento algal nos ambientes aquáticos são o fósforo e o nitrogênio (Conley *et al.* 2009, Schindler *et al.* 2016). Com o aumento da disponibilidade de nutrientes ocorre um aumento significativo, principalmente, da comunidade fitoplanctônica, o que deixa as águas turvas e limita a entrada de luz na coluna d'água em lagos (Scheffer *et al.* 2001). Assim, o fitoplâncton é um dos indicadores do processo de eutrofização e, da mesma forma pode contribuir na avaliação de processos de restauração como indicador. A comunidade fitoplanctônica responde prontamente às mudanças nas condições ambientais, e estudos ecológicos utilizam o fitoplâncton como bioindicador da qualidade da água (El-Kassas & Gharib 2016). O sombreamento ocasionado pelas florações de fitoplâncton pode provocar a morte de produtores primários do fundo dos ecossistemas lacustres (Ayele & Atlabachew 2021). No processo de eutrofização, ocorre um aumento da quantidade de matéria orgânica e o processo de decomposição é mais intenso, o que diminui a disponibilidade de oxigênio e, conseqüentemente, ocorre a morte de peixes e de outros animais (Moal *et al.* 2019). Portanto, a eutrofização prejudica a biodiversidade dos ecossistemas (Monchamp *et al.* 2018), reduzindo a diversidade, mudando a composição e dominância das espécies nas comunidades e, ainda, pode favorecer espécies mais tolerantes a ambientes com pouca luz e enriquecidos (Smith & Schindler 2009). Com o aumento da eutrofização, estudos reportam florações distribuídas pelo mundo, principalmente de cianobactérias, as quais possuem algumas espécies potencialmente tóxicas (e.g. Ho *et al.* 2019). Assim, a eutrofização leva a problemas ambientais e, também, econômicos tais como: limita as práticas de recreação, enfraquece o turismo local, impacta as atividades de pesca e aumenta os custos do tratamento da água. Além dos elevados custos com a restauração dos sistemas eutrofizados, a restauração pode levar anos ou décadas para ser

atingida (Ayele & Atlabachew 2021, Smith & Schindler 2009). Os impactos econômicos global por conta da eutrofização ainda não foram bem calculados, mas esses podem atingir cerca de bilhões de dólares por ano (Smith & Schindler 2009). Dodds *et al.* (2009) calcularam que os custos anuais econômicos relacionados a eutrofização das águas doce nos Estados Unidos podem chegar a 2.2 bilhões de dólares.

Buscando restaurar lagos e reservatórios eutrofizados, diversas técnicas são utilizadas visando reduzir a disponibilidade de nutrientes e, por consequência, a biomassa fitoplanctônica. A primeira medida a ser tomada para restaurar um sistema aquático é a redução e/ou total eliminação de entradas pontuais e difusas de nutrientes de origem antrópica (Janssen *et al.* 2019). As técnicas comumente usadas são físicas, químicas ou biológicas, como exemplo: (i) físicas: diluição e *flushing*, dragagem do sedimento e aeração/oxigenação; (ii) químicas: utilização de sulfato de alumínio, sulfato de cobre e algicida; (iii) biológicas: plantas aquáticas, *wetlands*, remoção ou introdução de peixes e tecnologias que utilizam o biofilme (Jeppesen *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2020). Como existem diversas técnicas de restauração é importante entender as respostas das técnicas nas condições físicas, químicas e biológicas da água e, principalmente, aumentar o conhecimento dessas respostas em ambientes de clima sub/tropical. Os ambientes aquáticos de clima sub/tropical parecem ter uma recuperação mais difícil, devido a elevadas temperaturas, que podem favorecer a proliferação do fitoplâncton (Jeppesen *et al.* 2007).

O presente estudo visa avaliar as respostas do fitoplâncton à diferentes técnicas de restauração de lagos e reservatórios eutrofizados. Destaca-se que as técnicas escolhidas não incluem a utilização de produtos químicos, os quais podem provocar grandes mudanças na biota, assim como efeitos adversos ao meio ambiente (Hanson & Stefan 1984). Dessa forma, considerou-se a aplicação de técnicas com menor potencial de interferência nas condições ambientais (Gołdyn *et al.* 2014). Em relação à aplicação das técnicas de restauração foram levantados, quatro questionamentos: i) A biomassa do fitoplâncton e, principalmente de

cianobactérias, é reduzida? ii) As espécies descritoras do fitoplâncton é alterada? iii) Os grupos funcionais do fitoplâncton respondem aos tratamentos? iv) O estado ecológico acessado através do fitoplâncton (Índice Q) será melhorado após os tratamentos? Considerando que as técnicas aplicadas na restauração tendem a reduzir a biomassa fitoplanctônica (Chen *et al.* 2013, Costa & Ferragut 2023) e alteram sua composição (Anneville *et al.* 2002), a nossa hipótese é que os grupos funcionais podem responder às mudanças ambientais ocasionadas pelas técnicas de restauração e indicar mudanças no estado ecológico da água. O monitoramento das mudanças na estrutura do fitoplâncton é fundamental para as tomadas de decisão durante o processo de restauração de ecossistemas eutrofizados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

Descrito no Capítulo 2.

2.2. Delineamento Experimental

Descrito no Capítulo 2, mas considerando os 3, 10, 17 e 27 dias do período experimental, totalizando 60 amostras. Pois de acordo com Costa & Ferragut (2023), o período da realização entre os manejos deveria ter intervalo menor, por esse motivo neste capítulo foram utilizados os dados até os 27 dias, visto que utilizando os 60 dias com base na média não seria possível a detecção da contribuição de cada técnica a um processo de restauração. Mais informações podem ser encontradas em Costa & Ferragut (2023).

2.3. Variáveis Ambientais Analisadas

Foram analisadas as seguintes variáveis em campo: temperatura, pH, oxigênio dissolvido (sonda subaquática multiparâmetros Horiba modelo U-53) e a radiação subaquática (radiação fotossinteticamente ativa - luxímetro Li-Cor LI-250A). O uso da sonda e do luxímetro

foram padronizados, utilizando sempre o mais próximo possível do centro dos mesocosmos. O coeficiente de atenuação da luz foi calculado de acordo com Wetzel & Likens (1991), utilizando a equação a seguir:

$$\frac{100(L_0 - L_2)}{L_0}$$

Onde: L_0 é a luz na superfície da água e L_2 é a luz no fundo

Em laboratório, para a análise das amostras das frações dissolvidas dos nutrientes utilizou-se filtros de fibra de vidro GF/F, filtradas sob baixa pressão (≤ 0.3 atm). As concentrações das formas de nitrito (método de diazotação), nitrato (método de redução por cádmio) e amônio (método do fenato), foram somadas para a determinação do nitrogênio inorgânico dissolvido (NID). As formas totais analisadas foram: nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) (método do persulfato alcalino). Os métodos seguiram APHA (2012). As variáveis alcalinidade (método de titulação), temperatura da água e pH foram utilizadas para o cálculo das formas de carbono inorgânico dissolvido - CO_2 livre (Mackeret *et al.* 1978).

2.4. Fitoplâncton

Para a identificação das espécies, amostras da água foram preservadas com formalina a 4%. Para a quantificação, amostras foram fixadas com lugol acético e analisadas em microscópio invertido (Zeiss Axio Observer D1; 400x), seguindo o método de Utermöhl (Utermöhl, 1958). Para os critérios de contagem, utilizou-se a curva de rarefação com eficiência de contagem $>95\%$, contando no mínimo 100 indivíduos da espécie mais abundante. A biomassa do fitoplâncton ($\mu\text{m}^3 \text{ mL}^{-1} / 10^6 = \text{mm}^3 \text{ L}^{-1} = \text{mg L}^{-1}$) foi determinada através do biovolume com base em dados do lago estudado (Fonseca *et al.* 2014) e, para espécies não citadas no artigo calculou-se de acordo com Hillebrand *et al.* (1999). Foram selecionadas as espécies descritoras e grupos funcionais da comunidade, que contribuíram mais do que 15% da média da biomassa total. Todas as espécies foram atribuídas a grupos funcionais, e foram determinados de acordo com Reynolds *et al.* (2002) e Padisák *et al.* (2009).

O índice Q foi utilizado para classificar o estado ecológico de cada tratamento com base nos grupos funcionais do fitoplâncton. Foi calculado e classificado de acordo com Reynolds *et al.* (2002) e Padisák *et al.* (2006), seguindo a equação a seguir:

$$Q = \sum_{i=1}^n p_i F$$

Onde: $p_i = n_i/N$ (n_i , biomassa do grupo funcional; N , biomassa total), e um número de fator (F; variando de 0 a 5) foi estabelecido para cada grupo funcional. O valor F foi estabelecido de acordo com Crossetti & Bicudo (2008) e Santana *et al.* (2017). Os pesos do fator F dos grupos funcionais encontram-se na tabela 1. As categorias são: ruim (0-1), tolerável (1-2), médio (2-3), bom (3-4) e excelente (4-5).

Tabela 1: Pesos estabelecidos do fator F para os grupos funcionais do fitoplâncton dos tratamentos aeração, floculante, macrófitas e biorreator de perifíton.

Grupo Funcional	Fator F
B	3
D	2
F	5
J	5
K	2
L _m	0
L _o	5
M	0
MP	5
N	5
P	4
S1	0
S _n	0
T	5
T _c	0
TD	3
W1	0
W2	1
X1	4
X2	4
X3	4
Y	3

2.5. Tratamento Estatístico

Para identificar diferenças significativas das espécies descritoras entre cada tratamento e o controle, foi realizada a análise de variância multivariada permutacional de dois fatores (two-way PERMANOVA; tratamento e tempo). Para análise foram utilizados dados não transformados da biomassa (mg L^{-1}) das espécies descritoras e a medida de similaridade de Bray-Curtis com 9999 permutações no software estatístico Past 4.01.

Para detectar diferenças significativas na biomassa total do fitoplâncton, cianobactérias, e no Índice Q entre cada tratamento e o controle, foi realizada a análise de variância de medidas repetidas de dois fatores (two way RM-ANOVA; tratamento e tempo). O nível de significância adotado foi de <0.05 com teste a posteriori de Tukey. Para a biomassa do fitoplâncton e cianobactérias os dados foram logaritmizados sempre que necessário para atender as premissas da análise (normalidade e homogeneidade). O software SigmaPlot 12.0 foi utilizado para análises estatísticas.

Com base na biomassa das 118 espécies (Anexo 1), realizou-se a análise de agrupamentos para determinação da similaridade na composição de espécies entre tratamentos. O método aplicado foi UPGMA, a medida de similaridade foi a de Bray-Curtis e para avaliar a eficácia do método de agrupamento foi utilizada a correlação cofenética. A análise foi realizada no software estatístico Past 4.01.

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis Abióticas

Em relação as respostas físicas e químicas da água no tratamento A, foi detectada redução do oxigênio dissolvido com diferença significativa no fator tratamento e tempo (Tabelas 2 e 3). Além disso, verificou-se a redução da concentração de PT, porém com diferença significativa apenas no fator tempo. O tratamento F alterou a maioria das variáveis físicas e químicas analisadas, como o aumento da atenuação da luz com diferença significativa no

tratamento, a disponibilidade de NT e NID com diferenças significativas no tratamento, tempo e interação dos fatores, e aumentou o PT com diferenças significativas no tempo e interação (Tabelas 2 e 3). No tratamento M foram detectadas diferenças significativas principalmente em relação ao aumento da atenuação de luz e a disponibilidade de CO₂ livre, e redução do pH, oxigênio dissolvido e NT (Tabelas 2 e 3). As variáveis abióticas que foram alteradas no tratamento PB foram: a atenuação da luz que até os 10 dias apresentou redução, e após os 17 dias apresentou aumento com diferença significativa no tratamento; e o CO₂ livre que foi reduzido em todo período experimental com diferença significativa no tratamento, tempo e interação entre os fatores (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2: Média e desvio padrão das variáveis abióticas dos tratamentos (n = 3) e desvio padrão.

Tratamentos Variáveis	Controle				Aeração				Floculante			
	3 d	10 d	17 d	27 d	3 d	10 d	17 d	27 d	3 d	10 d	17 d	27 d
Aten. Luz (%)	80.98	80.71	56.40	47.48	85.50	80.83	75.89	46.08	84.27	80.63	86.17	78.37
	(±6.78)	(±4.15)	(±27.12)	(±9.79)	(±2.55)	(±1.38)	(±5.35)	(±12.05)	(±2.28)	(±12.70)	(±5.61)	(±5.91)
pH	7.28	8.12	7.81	7.83	6.84	7.68	7.75	7.66	7.82	8.43	8.55	7.62
	(±0.34)	(±0.49)	(±0.23)	(±0.18)	(±0.70)	(±0.90)	(±0.51)	(±0.26)	(±0.06)	(±0.16)	(±0.23)	(±0.37)
OD mg L⁻¹	7.73	7.60	7.51	6.61	6.49	7.10	6.34	5.65	2.86	7.88	4.98	6.07
	(±0.35)	(±0.48)	(±0.40)	(±0.60)	(±0.19)	(±0.95)	(±0.90)	(±0.43)	(±0.25)	(±0.23)	(±0.07)	(±0.38)
CO₂ mg L⁻¹	6.41	0.39	1.54	1.29	5.02	0.61	0.88	2.31	1.40	0.33	0.20	2.26
	(±4.67)	(±0.06)	(±0.69)	(±0.48)	(±0.05)	(±0.06)	(±0.07)	(±1.39)	(±0.15)	(±0.10)	(±0.12)	(±1.74)
PT µg L⁻¹	79.2	72.4	50.7	43.7	80.7	63.8	46.6	31.8	50.8	72.4	63.4	56.3
	(±3.1)	(±2.5)	(±5.9)	(±3.5)	(±5.2)	(±5.4)	(±10.4)	(±1.0)	(±10.3)	(±7.5)	(±7.6)	(±6.0)
NT µg L⁻¹	2237.9	1214.4	1041.4	695.3	2510.1	1193.8	1251.6	609.4	5427.8	5150.8	6955.0	3647.1
	(±360.0)	(±69.0)	(±178.0)	(±38.6)	(±408.4)	(±71.3)	(±642.7)	(±60.5)	(±376.8)	(±902.2)	(±950.6)	(±1497.2)
NID µg L⁻¹	505.4	129.6	36.6	27.0	728.9	220.2	36.1	25.9	1112.9	2367.7	2493.0	1985.4
	(±144.4)	(±79.1)	(±9.6)	(±1.9)	(±361.9)	(±103.7)	(±10.5)	(±3.7)	(±142.3)	(±511.6)	(±488.4)	(±800.1)
Macrófitas				Biorreator de Perifiton								
	3 d	10 d	17 d	27 d	3 d	10 d	17 d	27 d				
Aten. Luz (%)	90.10	81.27	97.19	92.88	80.52	70.95	73.77	80.50				
	(±3.75)	(±17.36)	(±1.76)	(±4.89)	(±9.98)	(±10.49)	(±2.36)	(±5.87)				
pH	6.56	6.56	6.60	6.13	7.59	7.84	8.21	7.83				
	(±1.45)	(±1.30)	(±1.38)	(±1.09)	(±1.43)	(±1.39)	(±1.92)	(±1.15)				
OD mg L⁻¹	5.00	4.86	4.23	5.15	5.75	7.14	7.96	7.53				
	(±2.45)	(±1.24)	(±2.31)	(±3.09)	(±1.01)	(±1.84)	(±1.69)	(±1.17)				
CO₂ mg L⁻¹	203.19	221.88	169.13	432.52	0.35	0.22	0.05	0.24				
	(±92.93)	(±176.44)	(±118.40)	(±363.60)	(±0.05)	(±0.04)	(±0.04)	(±0.04)				
PT µg L⁻¹	67.9	57.3	48.5	51.9	80.2	67.4	51.5	48.9				
	(±4.3)	(±1.6)	(±3.9)	(±24.8)	(±8.2)	(±7.0)	(±5.1)	(±4.2)				
NT µg L⁻¹	2530.2	917.4	537.2	125.5	2739.4	1493.4	961.2	806.4				
	(±152.4)	(±89.6)	(±78.9)	(±43.5)	(±364.9)	(±49.8)	(±206.5)	(±176.3)				
NID µg L⁻¹	875.2	217.7	64.1	35.2	856.4	335.5	144.9	36.2				
	(±55.3)	(±83.6)	(±17.9)	(±5.7)	(±297.4)	(±46.2)	(±67.2)	(±17.1)				

Tabela 3: Resultados da análise de medidas repetidas (RM-Anova) das variáveis abióticas e bióticas (n=3) de cada tratamento comparado ao Controle.

	Controle / Aeração						Controle / Floculante					
	Tratamento		Tempo		Interação		Tratamento		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Aten. Luz (%)	1.792	0.252	11.751	<0.001*	0.951	0.447	16.643	0.015*	3.163	0.064	2.649	0.097
pH	0.541	0.503	14.347	<0.001*	0.899	0.470	3.632	0.129	17.169	<0.001*	5.829	0.011*
OD mg L ⁻¹	10.347	0.032*	5.860	0.011*	0.582	0.638	86.327	<0.001*	58.101	<0.001*	75.707	<0.001*
CO ₂ mg L ⁻¹	0.0586	0.821	12.272	<0.001*	0.616	0.618	2.529	0.187	5.246	0.015*	3.641	0.045*
PT µg L ⁻¹	4.003	0.116	101.194	<0.001*	2.397	0.119	0.0603	0.818	16.524	<0.001*	16.469	<0.001*
NT µg L ⁻¹	0.277	0.627	51.353	<0.001*	0.729	0.554	123.999	<0.001*	42.808	<0.001*	16.813	<0.001*
NID µg L ⁻¹	1.142	0.345	26.392	<0.001*	0.965	0.441	279.296	<0.001*	28.304	<0.001*	63.793	<0.001*
Biomassa Fitoplâncton (mg L ⁻¹)	0.0189	0.897	22.574	<0.001*	1.023	0.417	15.099	0.018*	4.512	0.024*	8.299	0.003*
Biomassa Cianobactérias (mg L ⁻¹)	0.151	0.718	2.408	0.118	1.535	0.256	38.970	0.003*	2.701	0.092	1.328	0.311
Índice Q	8.306	0.045*	0.622	0.614	1.536	0.256	1.913	0.239	0.919	0.461	0.0309	0.992
	Controle / Macrófita						Controle / Biorreator de Perifiton					
	Tratamento		Tempo		Interação		Tratamento		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Aten. Luz (%)	26.959	0.007*	1.563	0.249	4.616	0.023*	8.531	0.043*	2.416	0.117	3.243	0.060
pH	2.881	0.165	4.588	0.023*	5.711	0.012*	0.0158	0.906	4.984	0.018*	1.718	0.216
OD mg L ⁻¹	19.214	0.012*	0.118	0.948	0.279	0.839	0.254	0.641	1.050	0.406	2.391	0.120
CO ₂ mg L ⁻¹	65.476	0.001*	18.821	<0.001*	16.002	<0.001*	41.591	0.003*	17.670	<0.001*	12.525	<0.001*
PT µg L ⁻¹	1.245	0.327	11.943	<0.001*	2.098	0.154	0.236	0.653	42.175	<0.001*	0.745	0.546
NT µg L ⁻¹	7.137	0.056	312.892	<0.001*	16.363	<0.001*	2.160	0.216	142.984	<0.001*	3.710	0.043*
NID µg L ⁻¹	12.216	0.025*	151.839	<0.001*	11.178	<0.001*	5.815	0.073	48.531	<0.001*	2.987	0.074
Biomassa Fitoplâncton (mg L ⁻¹)	1.590	0.276	4.919	0.019*	1.170	0.362	0.434	0.546	3.186	0.063	1.677	0.225
Biomassa Cianobactérias (mg L ⁻¹)	21.986	0.009*	6.154	0.010*	0.271	0.845	9.442	0.036*	8.048	0.004*	0.903	0.471
Índice Q	0.305	0.610	1.812	0.199	1.445	0.279	0.650	0.465	2.028	0.164	0.938	0.453

3.2. Fitoplâncton

3.2.1 Experimento Aeração

Considerando a média do período experimental, *Fragilaria* spp., *Microcystis aeruginosa* e *Spirogyra* sp. foram as espécies de maior biomassa no tratamento A e contribuíram com 43, 14 e 12%, respectivamente (Figura 1A). A biomassa das espécies descritoras foi diferente no fator tempo (PERMANOVA: $F = 50.153$; $p = 0.0001$) e tratamento ($F = 23.283$; $p = 0.0333$). Os grupos funcionais com maior biomassa foram **D** (*Fragilaria* spp.), **M** (*M. aeruginosa*) e **TD** (*Spirogyra* sp.) que representaram 44, 14 e 14% da biomassa total, respectivamente (Figura 1B). A biomassa total do fitoplâncton apresentou redução de 4% no tratamento A (Figura 1C), com diferença significativa apenas no fator tempo (Tabela 3). A biomassa de cianobactérias foi reduzida em 15.3% no período amostral, mas sem diferença significativa (Figura 1D, Tabela 3). O Índice Q do tratamento A apresentou piora na classificação quando comparado ao controle, sendo classificado na categoria Tolerável e apresentou diferença significativa no fator tratamento (Figura 1E, Tabela 3).

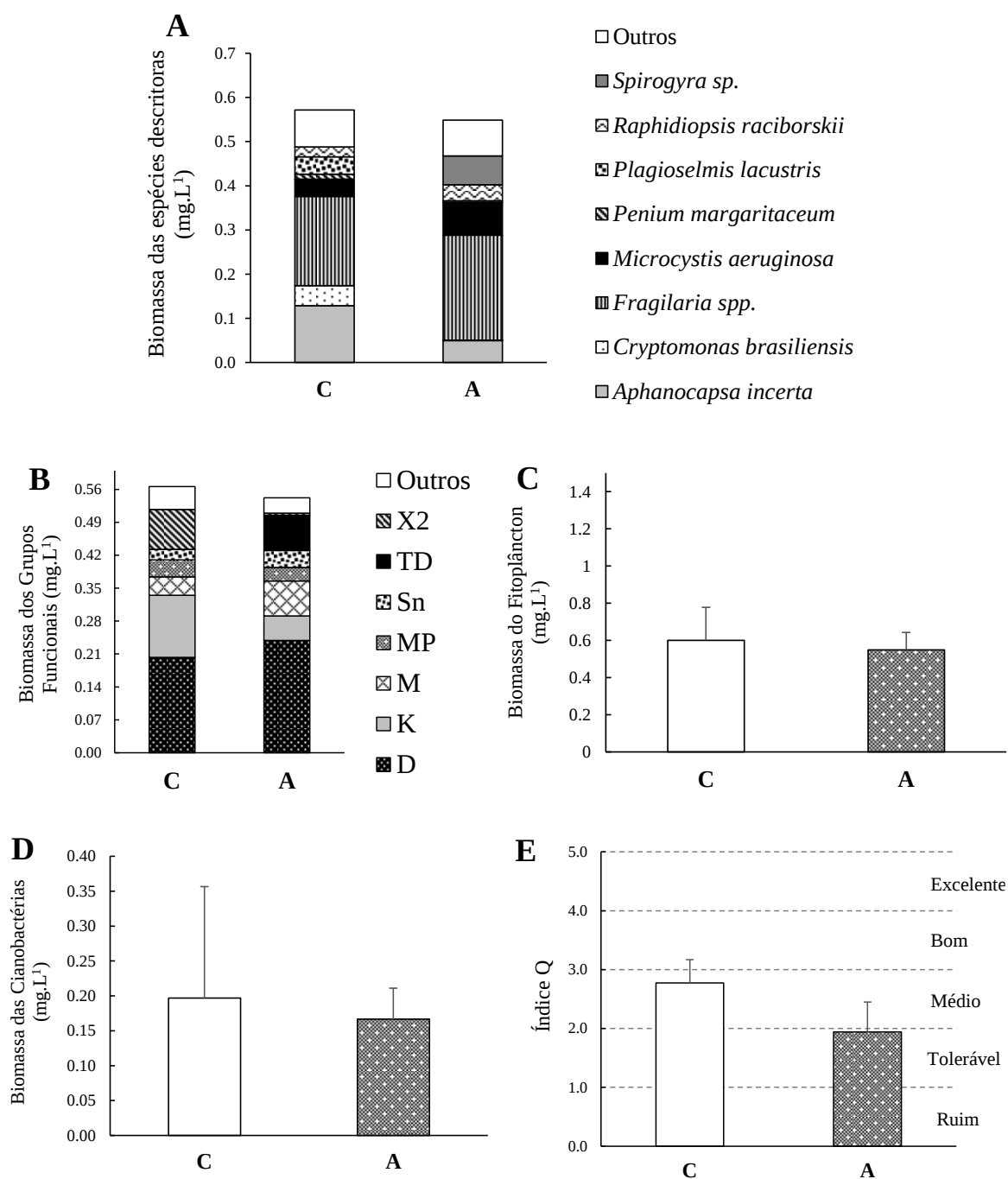


Figura 1: **Tratamento Aeração**: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; A, aeração) no período experimental.

3.2.2 Experimento Floculante

Levando em conta a média do período experimental, *Cryptomonas parapyrenoidifera* e *Cryptomonas erosa* foram as espécies de maior biomassa no fitoplâncton do tratamento F e representaram 44 e 22% da biomassa total, respectivamente (Figura 2A). A biomassa das espécies descritoras apresentou diferenças significativas no fator tempo (PERMANOVA: $F = 37.207$; $p = 0.0001$), tratamento ($F = 60.074$; $p = 0.0001$) e interação entre os fatores ($F = 37.573$; $p = 0.0001$). Os grupos funcionais mais representativos deste tratamento foram os grupos **Y** (*Cryptomonas* spp.), **D** (*Fragilaria* spp.) e **J** (*Desmodesmus* spp. e outras) que representaram 50, 9 e 9% da biomassa total, respectivamente (Figura 2B). A biomassa total do fitoplâncton foi reduzida em 77.5% (Figura 2C) com diferença significativa entre tratamentos, dias e interação (Tabela 3). A redução da biomassa de cianobactérias foi de 96.9% (Figura 2D), com diferença significativa entre tratamentos (Tabela 3). O índice Q foi classificado como Bom, mas sem diferença significativa (Figura 2E, Tabela 3).

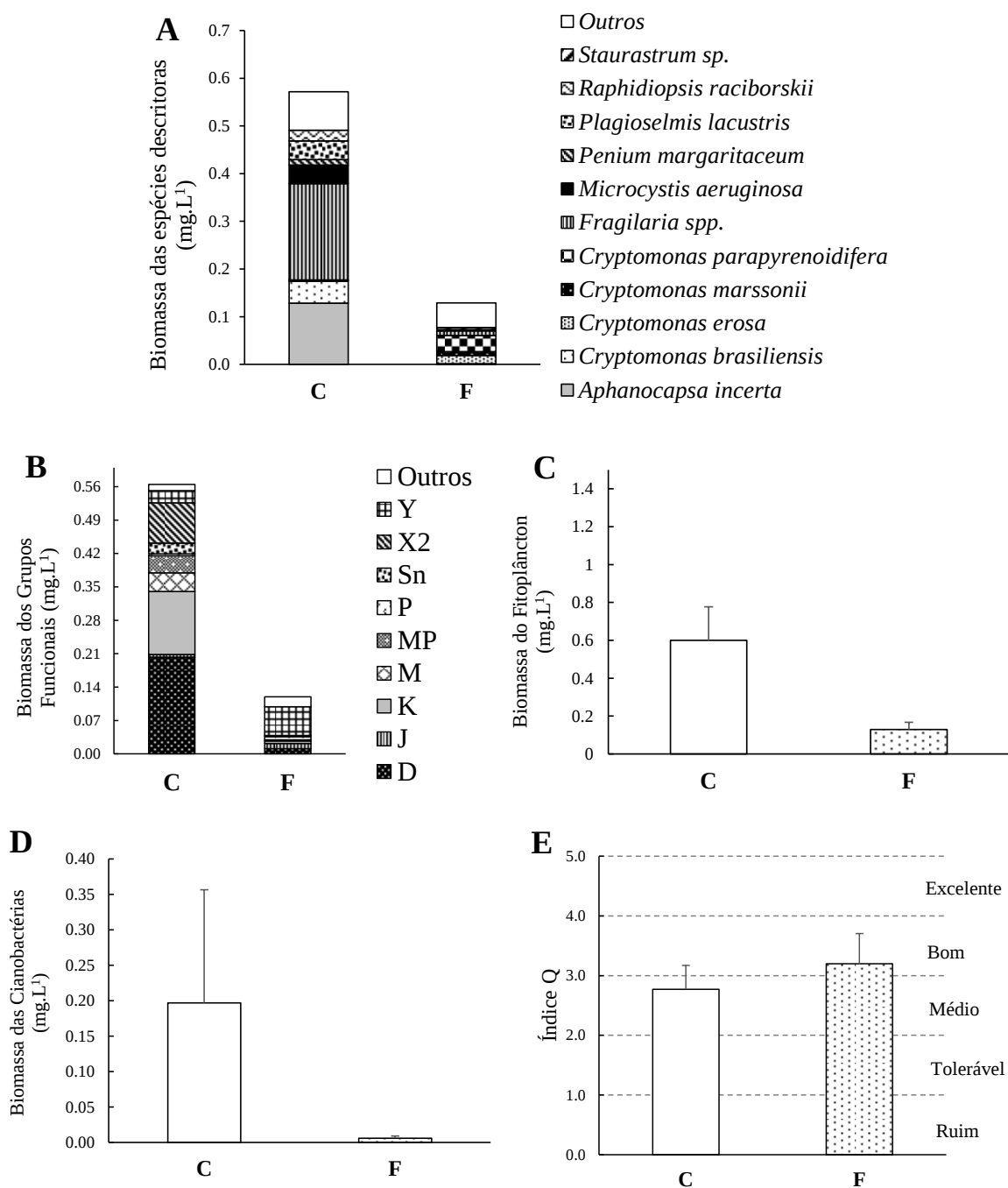


Figura 2: **Tratamento Floculante**: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; F, floculante) no período experimental.

3.2.3 Experimento Macrófitas

Considerando a média do período experimental no tratamento Macrófitas, *M. aeruginosa* foi a espécie com maior biomassa, que contribuiu 26% para biomassa total das espécies descritoras (Figura 3A). Destaca-se o aumento da biomassa de *Spirogyra* sp. com contribuição de 19% e *Fragilaria* spp. com 19% da biomassa total. Com base na biomassa das espécies descritoras, a composição da comunidade apresentou diferença significativa no tempo (PERMANOVA: $F = 2.866$; $p = 0.0001$), tratamento ($F = 53.326$; $p = 0.0001$) e na interação dos fatores ($F = 18.813$; $p = 0.0036$). Em média, os grupos funcionais de maior biomassa foram **M** (*M. aeruginosa*), **TD** (*Spirogyra* sp.) e **D** (*Fragilaria* sp.), os quais contribuíram 27, 20 e 20% respectivamente para biomassa total (Figura 3B). Em relação ao controle, a biomassa total do fitoplâncton foi reduzida em 39.2% no tratamento M (Figura 3C), com diferença significativa no tempo (Tabela 3). A biomassa de cianobactérias diminuiu em média de 53.5% (Figura 3D) e apresentou diferença significativa no tempo e no tratamento (Tabela 3). O índice Q apresentou a mesma classificação em comparação ao controle, categoria Médio (Figura 3E).

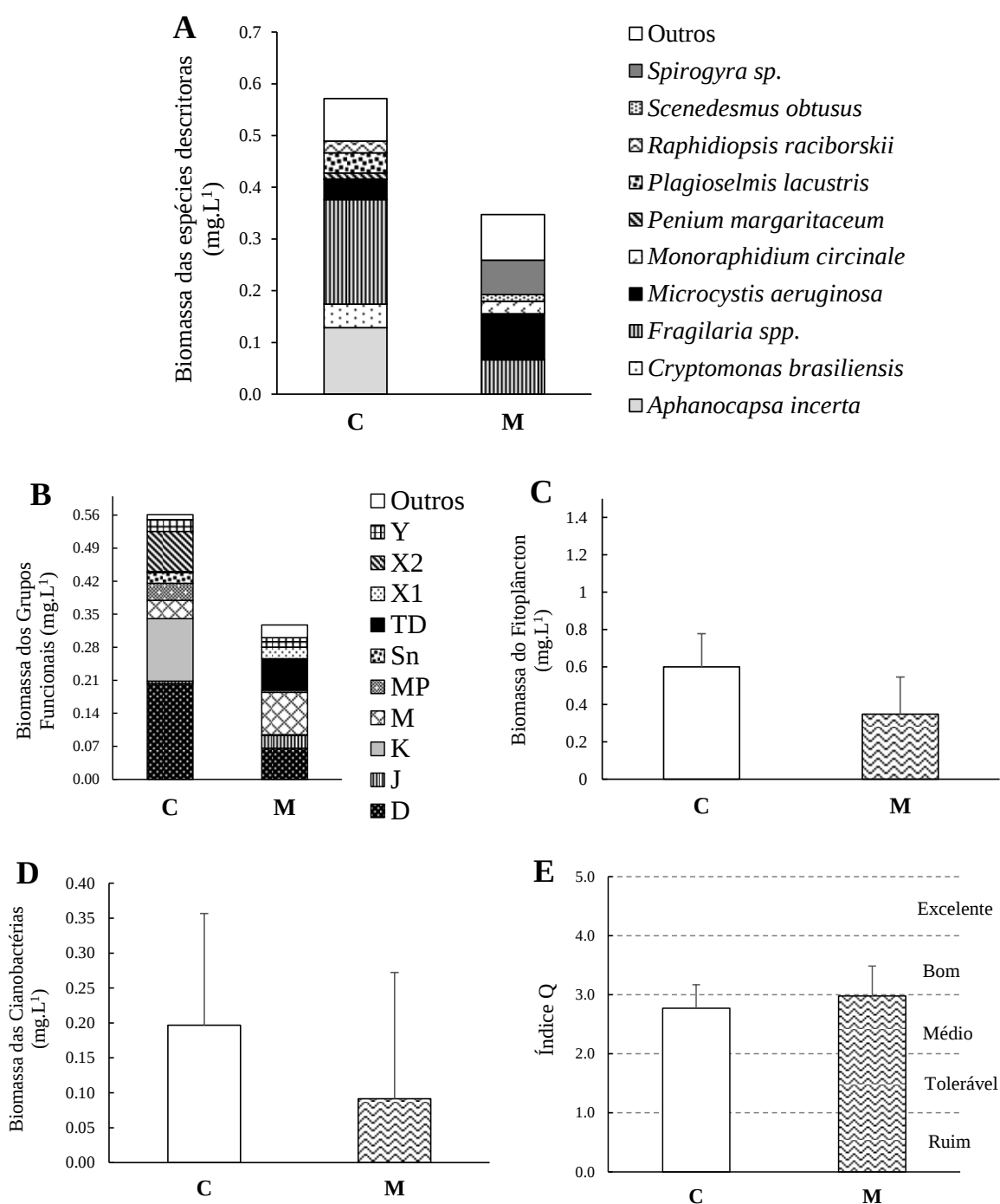


Figura 3: **Tratamento Macrófitas**: Média e desvio padrão ($n = 12$) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; M, macrófitas) no período experimental.

3.2.4 Experimento Biorreator de Perifíton

A biomassa das espécies descritoras no fitoplâncton apresentou diferença significativa ao longo do período experimental, em relação ao controle (PERMANOVA: $F = 30.464$; $p = 0.0001$). Dentre as espécies descritoras, *Fragilaria* spp., *M. aeruginosa* e *Penium* sp. apresentaram a maior biomassa, contribuindo com 24%, 23% e 12% respectivamente da biomassa total (Figura 4A). Os grupos funcionais de maior biomassa foram o **D** (*Fragilaria* spp.), **M** (*M. aeruginosa*) e **MP** (*Penium* sp.), com contribuição de 24, 23 e 15% respectivamente (Figura 4B). Em média, a biomassa total do fitoplâncton foi reduzida em 26.9% no tratamento P (Figura 4C), sem diferença significativa. A biomassa de cianobactérias foi reduzida em 40.3% (Figura 4D) com diferença significativa no tempo e no tratamento (Tabela 3). Apesar do índice Q indicar uma melhora no estado ecológico da água no tratamento P, e ficar classificado na categoria Bom (Figura 4E), não foram detectadas diferenças significativas.

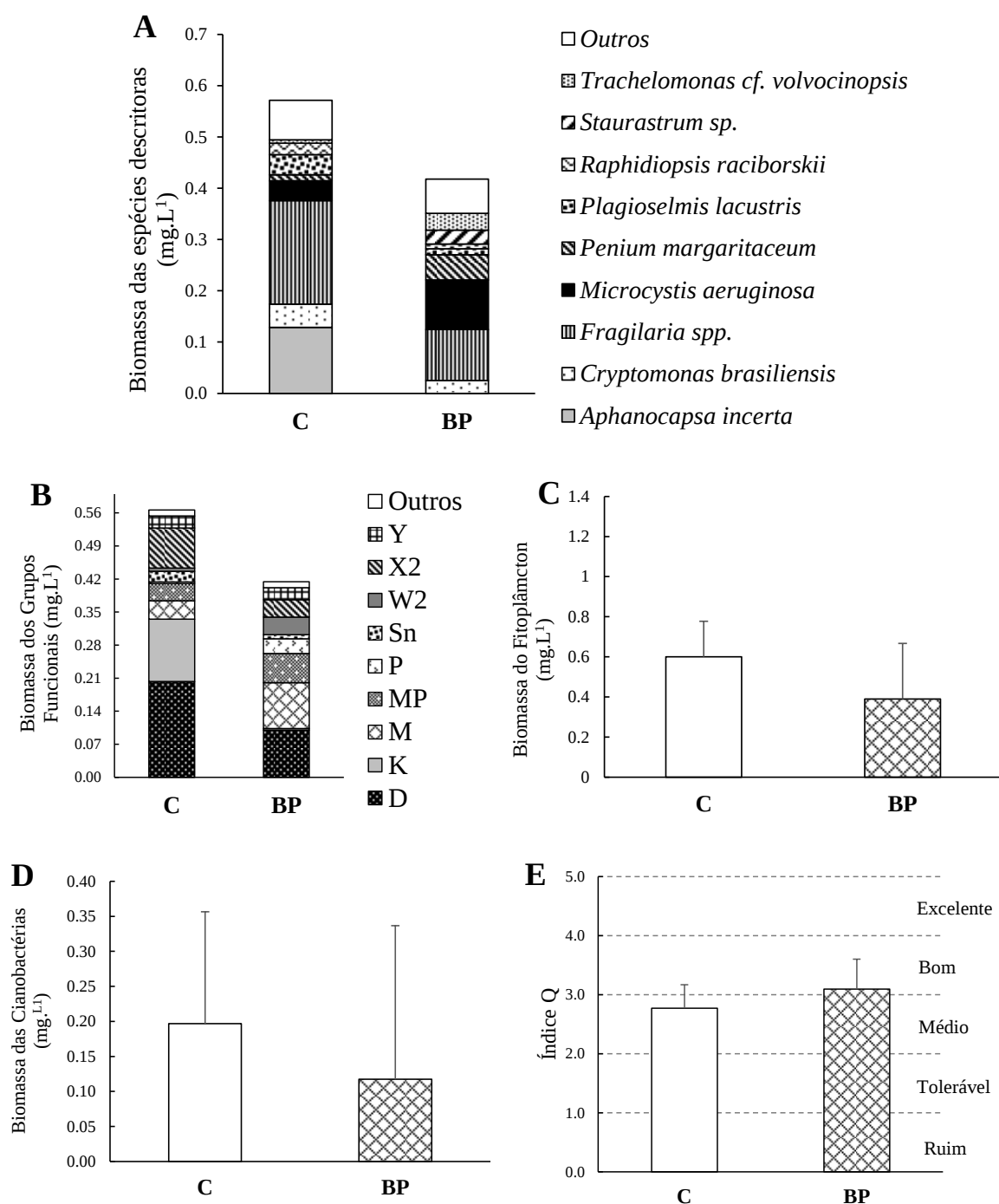


Figura 4: **Tratamento Biorreator de Perifiton**: Média e desvio padrão (n = 12) da biomassa das espécies descritoras (A), biomassa dos grupos funcionais (B), biomassa total do fitoplâncton (C), biomassa total de cianobactérias (D), Índice Q (E) nos tratamentos (C, controle; BP, biorreator de perifiton) no período experimental.

3.2.5 Comparação da Composição de Espécies entre Tratamentos

A análise de agrupamento entre os tratamentos com aplicação de técnicas de restauração apresentou uma correlação cofenética de 0.9518. A similaridade na composição de espécies foi de 65% entre os tratamentos Aeração e Controle e de 52% entre Macrófitas e Perifíton. O tratamento Floculante apresentou a menor similaridade (15%) na composição de espécies (Figura 5).

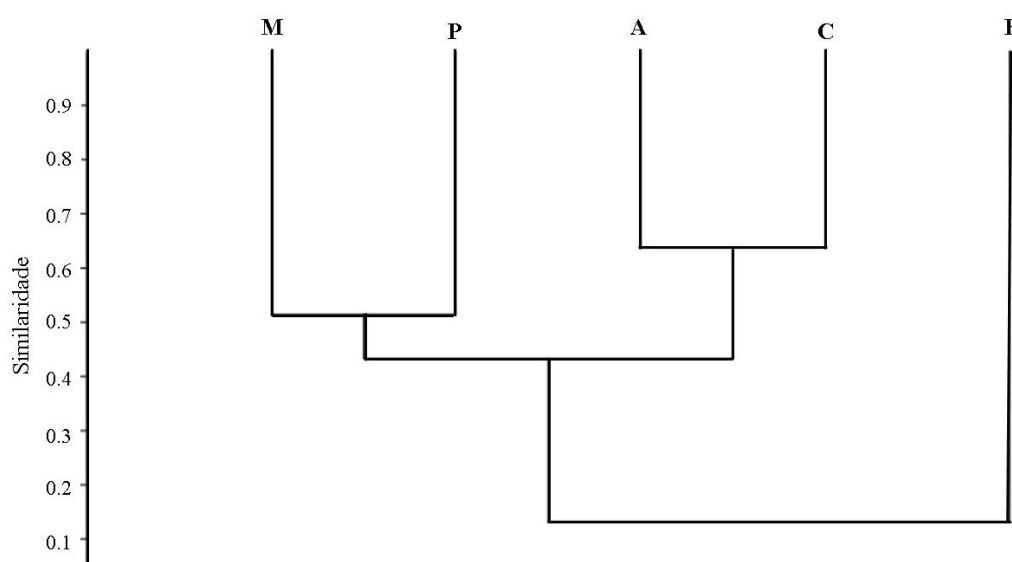


Figura 5: Análise de agrupamento da biomassa das espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica de todos os tratamentos (C controle, A aeração, F floculante, M macrófitas, BP biorreator de perifíton).

4. DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que as técnicas de restauração alteraram as condições abióticas da água e a comunidade fitoplanctônica apresentou mudanças na composição das espécies descritoras e grupos funcionais. No tratamento F, as maiores mudanças detectadas foram a redução da biomassa total do fitoplâncton e cianobactérias, mudanças na composição das espécies e nos grupos funcionais. Contudo, ocorreu aumento da disponibilidade de nutrientes como um efeito adverso no tratamento F. Aumentos na disponibilidade de nutrientes, assim como promovido pelo tratamento F, pode favorecer novas florações do fitoplâncton. Nos tratamentos M e BP, a principal melhora na qualidade da água encontrada foi a redução da

biomassa total das cianobactérias. Entretanto, *M. aeruginosa* permaneceu na estrutura da comunidade e, ainda, contribuiu de forma expressiva para a biomassa fitoplanctônica. Por fim, no tratamento A, poucas mudanças foram observadas em relação ao controle, apesar do aumento da contribuição de algas filamentosas, a biomassa de *M. aeruginosa* também foi favorecida.

Com a aplicação da aeração de fundo, a biomassa de cianobactérias não foi reduzida, elevada biomassa de *Microcystis aeruginosa* foi mantida e o recrutamento de *Raphidiopsis raciborskii* foi verificado. O gênero de *Microcystis* é considerado cosmopolita e frequentemente forma intensas florações (Zurawell *et al.* 2005, Crossetti & Bicudo 2008). Diante da redução do P da coluna d'água, *M. aeruginosa* tem a vantagem de ter ampla taxa de absorção e estocagem de P, o que permite sustentar o crescimento mesmo em condição P-limitante (Kromkamp *et al.* 1989). Outra vantagem que *M. aeruginosa* tem em relação a outras espécies, é a habilidade de migrar verticalmente na coluna d'água, o que pode favorecer a busca por nutrientes junto ao sedimento e o retorno para a superfície em busca de luz, além da rápida taxa de crescimento (Zhai *et al.* 2022). Em estudos que utilizaram aeração na zona hipolimnética, as espécies coloniais, como *M. aeruginosa*, perderam vantagem competitiva e, assim, evitaram a formação de florações (Visser *et al.* 1996, Visser *et al.* 2016). Diferentemente, neste estudo, as colônias de *M. aeruginosa* permaneceram na coluna d'água, possivelmente, porque o fluxo (pressão) utilizado não foi suficiente para desestabilizar as espécies coloniais. De fato, houve a preocupação de não perturbar o sedimento para minimizar a ressuspensão do P e reduzir o impacto na flora e fauna bentônica. Outra espécie que contribuiu para a composição do fitoplâncton no tratamento A foi *Spirogyra* sp., a qual não foi detectada no Controle. Esse gênero de algas filamentosas pode ser encontrado no fundo junto ao sedimento (epipélon), flutuando na coluna d'água (fitoplâncton) (Kravtsova *et al.* 2020), ou ainda, formar massas de algas filamentosas (metafíton) (Volkova *et al.* 2018). *Spirogyra* sp. é um gênero de algas filamentosas que comumente iniciam o desenvolvimento no sedimento através de esporos ou

material vegetativo (Hillebrand 1983). Além disso, através do processo de fotossíntese, bolhas de oxigênio se acumulam junto aos filamentos e, então, as algas flutuam na coluna d'água em direção a superfície (Berry & Lembi 2000). As espécies *M. aeruginosa*, *R. raciborskii* e *Spirogyra* sp. possuem estratégias adaptativas para flutuabilidade, o que pode ter sido um fator importante para o sucesso delas no tratamento A. O tratamento A diferentemente do Controle favoreceu espécies comumente encontradas no grupo **TD**, representada pelo gênero *Spirogyra* sp. Por conta da presença de cianobactérias no tratamento A, o Índice Q apresentou uma redução em sua classificação, sendo classificado como Tolerável quando comparado ao Controle. De modo geral, dentro do período experimental, o tratamento A não alterou significativamente as características físicas e químicas da água, as poucas mudanças apresentadas não promoveram melhora na qualidade da água com base nas respostas da composição do fitoplâncton.

A adição do flocculante natural reduziu substancialmente a biomassa do fitoplâncton e apresentou mudanças na composição de espécies descritoras, favorecendo o gênero *Cryptomonas*. Em lagos temperados florações deste gênero são detectadas na região do metalímnio (Gasol *et al.* 1992). Estudos indicam que espécies do gênero de *Cryptomonas* migram verticalmente na coluna d'água, buscando condições de luz e nutrientes (Urabe *et al.* 2000, deNoyelles *et al.* 2016). Quando comparada a necessidade da população, a quantidade de luz necessária para este gênero é menor (Gasol *et al.* 1993). Assim, a adição do flocculante natural mudou as condições de luz, ou seja, diminuiu a entrada de luz, ocasionada pelo sombreamento do flocculante que deixou a água com coloração mais escura e, também, aumentou a disponibilidade de nutrientes. O flocculante natural usado provocou uma poluição secundária, com o aumento da disponibilidade de nutrientes na água (Costa & Ferragut 2023). O aumento de nutrientes pode ocorrer pela decomposição do flocculante natural e lise celular de algas que foram arrastadas (Hou *et al.* 2018). O grupo funcional dominante do tratamento flocculante foi o grupo **Y**, que é o grupo representado pelas *Cryptomonas*, que são mixotróficas

de habitats enriquecidos e com tolerância à baixa disponibilidade de luz (Reynolds *et al.* 2002). Cryptophyceae é um grupo de espécies de comportamento oportunista, tem a capacidade de crescer rapidamente quando outros grupos de algas estão no mínimo, sendo favorecido após episódios de perturbação (Tolotti *et al.* 2003). Portanto, as espécies de *Cryptomonas* possuem estratégias adaptativas para sobreviver no ambiente pós-adição de floculante natural. Levando em consideração as respostas do fitoplâncton às mudanças estruturais do fitoplâncton (mudança da composição das espécies descritoras, redução da biomassa do fitoplâncton e especialmente redução das cianobactérias) verificou-se uma melhora no estado ecológico da água com base no Índice Q ficando na categoria Bom, apesar da poluição secundária verificada.

O tratamento com introdução de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*) apresentou mudanças nas variáveis físicas e químicas da água, especialmente o aumento do sombreamento e diminuição das concentrações de nutrientes da água. Resultados similares, principalmente em relação ao sombreamento e nitrogênio total, foram encontrados em estudos de Gopal *et al.* (1984) na presença de macrófitas e Crossetti & Bicudo (2008) este realizado no mesmo reservatório. As macrófitas flutuantes livres podem competir por nutrientes, sombrear, liberar substâncias alelopáticas e servir de refúgio para predadores, assim reduzindo a biomassa do fitoplâncton (Pinto & O'Farrell 2014). Várias espécies de macrófitas, inclusive *Eichhornia crassipes*, podem liberar substâncias alelopáticas, com efeitos sobre as algas e até mesmo prejudicando as cianobactérias (Hilt & Gross 2008, Shanab *et al.* 2010). Além disso, as macrófitas flutuantes, assim como *Eichhornia crassipes* podem aumentar sua biomassa ao ponto de bloquear a entrada de luz necessária para a fotossíntese do fitoplâncton (McVea & Boyd 1975). Estudos reportam o uso de *Eichhornia crassipes* no controle da eutrofização (Rodríguez-Gallego *et al.* 2004, Yan *et al.* 2016). No presente estudo, a introdução das macrófitas favoreceu a redução da biomassa do fitoplâncton, principalmente de cianobactérias, e mudou a composição das espécies descritoras e grupos funcionais, mas essa melhora não foi suficiente para melhorar o Índice Q, devido a permanência das cianobactérias ficando no limite

entre as classes Médio e Bom. De acordo com Costa & Ferragut (2023), o manejo utilizado neste estudo não foi o suficiente para que as melhoras abióticas da água fossem sustentadas.

A introdução do biorreator de perifíton promoveu mudanças nas espécies descritoras. Embora a *M. aeruginosa* tenha aumentado a biomassa no tratamento BP, a biomassa de cianobactérias diminuiu, como exemplo *R. raciborskii*. Estudos experimentais mostram o efeito negativo do biorreator de perifíton sobre a cianobactérias (Le *et al.* 2023, Carneiro & Ferragut 2023). Além da redução de cianobactérias, verificou-se o aumento da biomassa de desmídias, como *Penium margaritaceum* e *Staurostrum* sp. A espécie *P. margaritaceum* que é comumente encontrada no perifíton (Felisberto *et al.* 2014, Domozych *et al.* 2005), pode produzir quantidades significativas de EPS - substâncias poliméricas extracelulares (Domozych *et al.* 2005). Tais resultados indicam a contribuição de algas do perifíton na biomassa fitoplancônica, confirmando conforme Costa & Ferragut (2023) a necessidade de reduzir o tempo de manejo neste tratamento. Reconhecidamente, a colonização do perifíton apresenta uma fase de crescimento exponencial e outra de perda (Biggs 1996, Casartelli *et al.* 2016), no caso do biorreator do perifíton, a fase de perda implica no retorno do fósforo estocado para o ambiente (Carneiro & Ferragut 2023). Diante das mudanças ocasionadas pelo biorreator de perifíton, destaca-se a redução das cianobactérias e aumento da biomassa de outros grupos, assim como das desmídias. Assim, o Índice Q melhorou ficando na categoria Bom quando comparado ao controle, mas sem diferença estatística significativa.

Em resumo, a adição de floculante natural mudou significativamente a composição de espécies do fitoplâncton, mas aumentou a disponibilidade de nutrientes, o que pode favorecer novas florações do fitoplâncton. A introdução do biorreator de perifíton se destacou pela redução na biomassa de cianobactérias. Apesar da redução na disponibilidade P, a aeração de fundo afetou pouco a biomassa das espécies do fitoplâncton. A introdução de *Eichhornia crassipes* reduziu a disponibilidade de nutrientes na água e cianobactérias. De modo geral, todas as técnicas de restauração modificaram a composição do fitoplâncton favoravelmente ao

processo de restauração, tal como: aeração de fundo favoreceu espécies filamentosas, que competem por nutrientes com outras espécies do fitoplâncton; o floculante natural reduziu significativamente a biomassa do fitoplâncton e cianobactérias; as macrófitas e o biorreator de perifíton reduziram a biomassa de cianobactérias. Apesar do sucesso do floculante natural, macrófitas e biorreator de perifíton na redução da biomassa total de cianobactérias do fitoplâncton, evidenciou-se a necessidade de um manejo frequente com macrófitas e biorreator de perifíton e a ocorrência de poluição secundária com o uso do floculante natural. Em conclusão, a biomassa, a composição de espécies e grupos funcionais respondem a aplicação de técnicas de restauração, indicando as mudanças na qualidade da água, especialmente o tratamento macrófitas e biorreator de perifíton.

Capítulo IV

Respostas da biomassa do fitoplâncton e do epipélon à aplicação de duas técnicas de restauração combinadas em ambiente eutrófico

RESUMO

A restauração dos ecossistemas lacustres eutrofizados vem sendo um grande desafio no mundo. Grande parte de estudos de restauração concentram-se em regiões de clima temperado, assim pouco se sabe sobre restauração em ecossistemas aquáticos eutrofizados sub/tropicais a partir das respostas das comunidades aquáticas (epipélon e fitoplâncton). O objetivo do presente estudo foi avaliar as respostas da aplicação de duas técnicas de restauração em conjunto: aeração de fundo e biorreator de perifíton. Em um reservatório raso, o experimento foi realizado em mesocosmo de fundo aberto durante 59 dias nos meses do verão. As técnicas aplicadas atuaram na redução da concentração de nutrientes e biomassa do fitoplâncton, e favoreceram o aumento da biomassa do epipélon autotrófico até 16 dias do período experimental. Contudo, quando considerado todo período experimental (59 dias), a concentração de nutrientes aumentou e maior contribuição de organismos heterotróficos foi encontrada no epipélon. Dessa forma, a combinação das técnicas funcionou em um curto período, evidenciando a necessidade de manejos em menores intervalos de tempo do biorreator de perifíton para obtenção de respostas mais eficientes de redução de nutrientes e restauração.

Palavras-chave: aeração, biofilme, reservatório, experimento em mesocosmos

1. INTRODUÇÃO

O aumento do aporte de nutrientes nos ambientes aquáticos desencadeia o crescimento excessivo de produtores primários (Schindler *et al.* 2016). A entrada dos nutrientes nos ecossistemas aquáticos pode acontecer de forma natural (Wurtsbaugh *et al.* 2019), porém a velocidade que esse processo vem ocorrendo no mundo tem como principal fonte a origem antrópica (Moal *et al.* 2019). Os principais nutrientes limitantes para o crescimento das algas e plantas aquáticas são o fósforo e o nitrogênio (Conley *et al.* 2009), sendo que um dos principais efeitos relatados da eutrofização é a floração da comunidade fitoplanctônica (Ho *et al.* 2019). Com o aumento excessivo do fitoplâncton a coloração das águas se torna turva, assim a entrada de luz na coluna d'água é reduzida (Scheffer *et al.* 2001), e como consequência os produtores primários bentônicos podem desaparecer (Vadeboncoeur *et al.* 2001). Os efeitos das mudanças provocadas pela eutrofização no ecossistema aquático ocasionam um desequilíbrio nos produtores primários, que são a base da cadeia trófica, afetando a biodiversidade do sistema como todo (Søndergaard *et al.* 2003). A floração de cianobactérias vem sendo registrada em diversos lagos e reservatórios no mundo, o que potencializa o problema, pois algumas espécies podem ser tóxicas e liberarem toxinas na água (Moal *et al.* 2019). Os prejuízos na qualidade da água em relação a eutrofização são diversos, como por exemplo o aumento dos custos para o tratamento da água, que muitas vezes é utilizada para consumo humano ou de animais e, também, para a recreação (Ayele & Atlabachew 2021). Portanto, muitos são os danos ambientais, econômicos e sociais ocasionados pela eutrofização.

A restauração de lagos e reservatórios é um grande desafio a nível mundial e alguns sucessos são relatados, mas não existe um consenso de qual processo ou técnica é ideal, por conta da complexidade de cada ecossistema e da influência do clima de cada região (Søndergaard *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2020, Meerhoff & González-Sagrario 2022). De modo geral, o principal objetivo das técnicas de restauração é reduzir a carga de nutrientes (Janssen *et al.* 2019), que pode utilizar de métodos físicos, químicos e biológicos. Dentre as inúmeras

técnicas usadas para restauração de lagos eutróficos, a aeração/oxigenação artificial de fundo é uma das técnicas comumente aplicadas desde a década de 70, e tem como objetivo principal manter a camada da interface sedimento/coluna d'água bem oxigenada (Bormans *et al.* 2016). Quando a interface sedimento/água encontra-se com baixas concentrações de oxigênio o ferro férrico (Fe^{3+}) é reduzido a ferro ferroso (Fe^{2+}), assim perde-se a capacidade de se ligar ao P (Mortimer 1941 e 1942). De modo contrário, o Fe^{3+} se liga ao P em condições oxidantes, formando o fosfato férrico (FePO_4), que é precipitado no sedimento, evitando a liberação de P do sedimento para a coluna d'água (Mortimer 1941 e 1942, Smolders *et al.* 2006). Em alguns casos, a falta de sucesso na utilização da aeração de fundo está associada a falta de ferro no sedimento (Bormans *et al.* 2016). A aeração também pode ser utilizada com o objetivo de misturar toda a coluna d'água, ou seja, manter um regime de mistura não permitindo a estratificação do lago ou reservatório (Grochowska *et al.* 2017). O processo de estratificação mantém a produção de substâncias reduzidas no sedimento, e favorece as condições de crescimento de cianobactérias coloniais (Visser *et al.* 2016). A grande desvantagem do uso da aeração é o alto custo com equipamentos e energia (Bormans *et al.* 2016). Outra técnica também utilizada em processos de restauração é a biorremediação, que utiliza organismos do próprio ecossistema aquático na degradação, absorção e transformação dos nutrientes (Zhang *et al.* 2020). Dentre os organismos usados na biorremediação de ambientes eutrofizados, o biorreator de perifíton é uma ferramenta ainda pouco explorada na restauração de lagos e reservatórios. São utilizados substratos artificiais para a colonização da comunidade perifítica, que é composta por organismos autotrófico, heterotrófico e detritos que crescem envolvidos em uma matriz polissacarídica (Wetzel 1983). A comunidade perifítica atua na adsorção de nutrientes em sua matriz mucilaginosa (Dodds 2003). Além disso, a diversa comunidade do perifíton atua na degradação e remoção de poluentes, e tem a vantagem de ter um manejo fácil (Zhang *et al.* 2020). Desta forma, um dos principais objetivos de utilizar o biorreator de perifíton é pela sua capacidade e eficiência de acumular P em sua matriz, e a remoção do P através da retirada e

substituição do substrato (Jöbgen *et al.* 2004). Estudos mostram que o biorreator de perifíton atua negativamente sobre a biomassa de cianobactérias (Carneiro & Ferragut 2023, Costa & Ferragut 2023).

Levando em consideração que em muitos casos a aplicação de técnicas combinadas apresentam maior sucesso de restauração do que as técnicas isoladas (Bormans *et al.* 2016), e as características positivas da aeração de fundo e do biorreator de perifíton nos processos de restauração (Costa & Ferragut 2023), o presente estudo avaliou as respostas do fitoplâncton e epipélton (perifíton que cresce aderido sobre os grãos do sedimento) frente aplicação combinada de duas técnicas: a aeração de fundo e o biorreator de perifíton. É importante entender como as técnicas combinadas atuam nos fatores abióticos e bióticos, principalmente em lagos de regiões de clima sub/tropical, onde existem poucos estudos para subsidiar a escolha de métodos mais adequado a serem utilizados em processos de restauração. Assim, com base nas respostas positivas da aplicação da aeração de fundo e biorreator de perifíton sobre a redução do P e da biomassa fitoplanctônica (Costa & Ferragut 2023), levantou-se a seguinte hipótese no presente estudo: a aplicação conjunta das duas técnicas pode potencializar o processo de restauração, favorecendo o aumento da biomassa algal do epipélton e a redução da biomassa do fitoplâncton.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

O experimento foi realizado no reservatório das Garças (23°38'50.37" S, 46°37'19.61" W), estado de São Paulo, Sudeste do Brasil (Figura 1A). O reservatório é raso, polimítico e descontínuo, com períodos de estratificação térmica de dias ou semanas. Sua profundidade média é de 2,1 m (máxima de 4,7 m), com área de 88.156 m², volume de 188.785 m³ e tempo médio de residência de 71 dias (Bicudo *et al.* 2007). De acordo com estudo de longo tempo (20 anos), o reservatório é classificado como supereutrófico e com frequente florações de fitoplâncton (Bicudo *et al.* 2020, Crossetti *et al.* 2018). No período experimental (04/01/2022 a

04/03/2022; verão), a temperatura média foi de 23.3 °C (16.6 - 32.8 °C), e o acumulado de chuvas foi 450.3 mm (Figura 2), o que representa 90% da média do mesmo período nos últimos 10 anos (DAEE 2023; estação de monitoramento E3-035).

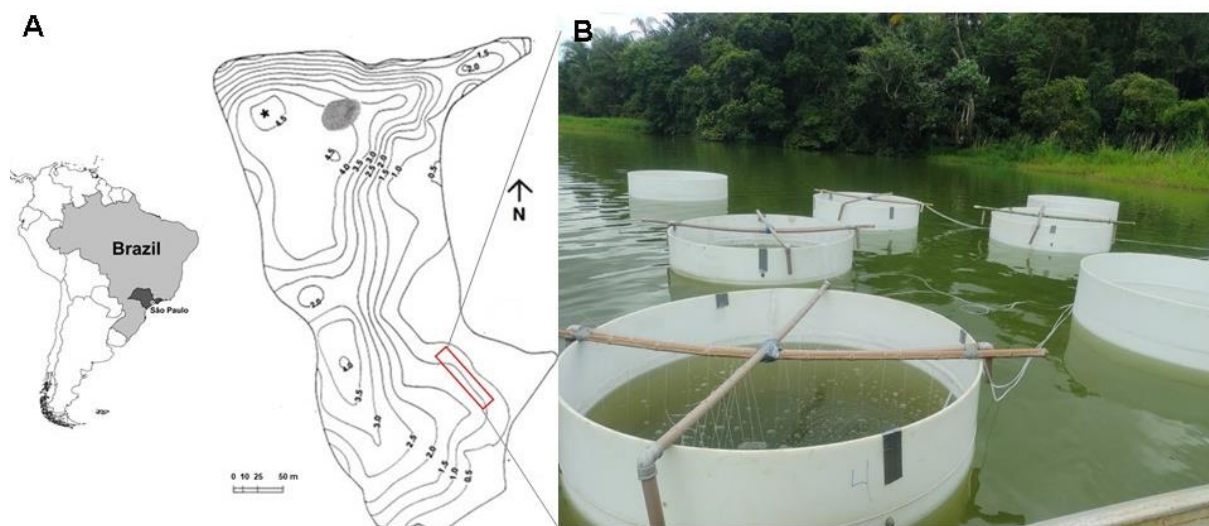


Figura 1: Mapa batimétrico do reservatório das Garças com local do experimento (A; retângulo; modificado de Bicudo *et al.* 2007) e mesocosmos instalados (B).

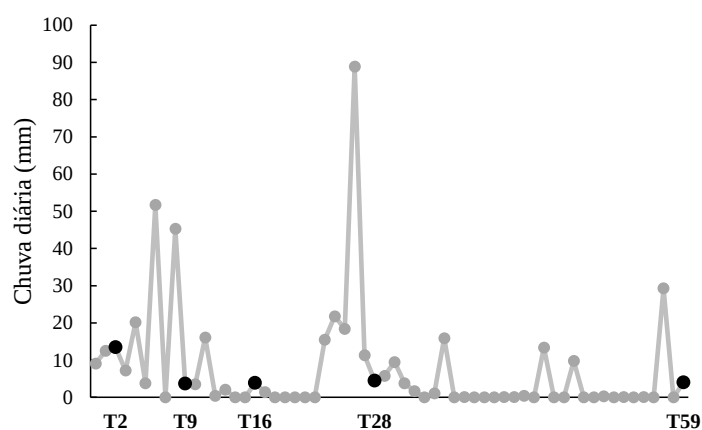


Figura 2: Precipitação média diária (mm) durante o período experimental (DAEE 2023). Os pontos na cor preta destacam os dias de coletas.

2.2. Delineamento Experimental

O experimento com mesocosmos foi realizado na zona litorânea do reservatório eutrófico. Oito mesocosmos foram posicionados em uma distância média de 10 metros da

margem do lago evitando a entrada de matéria alóctone. A profundidade foi padronizada em 1 metro e a distância entre os mesocosmos foi de 40 cm para minimizar contaminações. O posicionamento dos mesocosmos foi escolhido de forma a manter a similaridade de profundidade, disponibilidade de luz e minimizar contaminações entre os mesocosmos. Os mesocosmos foram enterrados no sedimento até a camada argilosa, assim isolando a coluna d'água (Figura 1B). Foram utilizados mesocosmos de fundo aberto constituídos de cilindros de polietileno com 120 cm de diâmetro, 150 cm de altura e 08 mm de espessura. Após a instalação (23/12/2021), os mesocosmos isolaram um volume aproximado de 1.130 litros. Após doze dias de aclimação, no tempo zero do período experimental (04/01/2022), antes da aplicação das técnicas, foi realizada amostragem para determinação dos nutrientes totais da água em todos os mesocosmos. Para a detecção de diferenças significativas foi realizada análise estatística teste-T para verificar se todos os mesocosmos partiram da mesma condição de nutrientes. A análise estatística confirmou que as unidades amostrais não apresentavam diferenças significativas: PT ($p = 0.468$) e NT ($p = 0.415$).

Considerando que a biomassa epipélica pode ter uma distribuição heterogênea no lago, a distribuição dos tratamentos nos mesocosmos foi aleatorizada. O experimento foi realizado em quadruplicadas ($n = 4$), utilizando o controle (C) e duas técnicas combinadas de restauração, a aeração e biorreator de perifíton (AP), que foram instaladas na data de 04/01/2022. Amostras da água e do sedimento foram coletadas aos 2, 9, 16, 28 e 59 dias do período experimental (04/01/2022 a 04/03/2022), totalizando 40 amostras bióticas e abióticas. O experimento foi realizado no verão (estação chuvosa) quando acontece frequentes florações de fitoplâncton (Crossetti *et al.* 2018). Considerando o curto ciclo de vida e rápida respostas das algas às mudanças ambientais, realizou-se amostragens semanal no primeiro mês. Outra amostragem foi realizada aos 59 dias para cobrir o período do verão (janeiro, fevereiro e março) e analisar as respostas das comunidades algais com um intervalo de tempo maior.

As técnicas de aeração de fundo e biorreator de perifíton foram selecionadas com base nas respostas positivas encontradas em estudos prévios, como a redução do P e da biomassa fitoplanctônica, respectivamente (Costa & Ferragut 2023, Capítulo 2 da presente tese). Além disso, as técnicas selecionadas possuem baixa interferência no funcionamento do ecossistema, quando comparadas a outras tecnologias, tais como produtos químicos inorgânicos (Zhang *et al.* 2020). No tratamento controle, não houve aplicação de técnica. O tratamento aeração e biorreator de perifíton (AP) foi constituído por ar comprimido que foi transportado através de compressores para os mesocosmos, e pequenas bolhas de ar foram liberadas através de mangueiras porosas em formato de aro posicionadas a 20 cm do sedimento para minimizar ressuspensão, tomou-se o cuidado da liberação das bolhas de ar ocorrer sob baixa pressão, para não prejudicar a comunidade epipélica e o biorreator de perifíton. A energia elétrica utilizada na operação dos compressores (BOYU compressor de ar S-2000A 127V pressão 0.012 MPa) foi fornecida através de um sistema de energia solar *off-grid* (455 W h/dia), no qual assegurou a operação constante e contínua dos compressores, sem interrupções durante o período experimental e com energia limpa. Para o biorreator de perifíton foram utilizadas 60 lâminas de vidro (25 cm x 10 cm x 0.3 cm) que foram inseridas verticalmente nos mesocosmos. As lâminas foram posicionadas submersas a 20 e 70 cm da superfície da água, para homogeneizar a remoção dos nutrientes da coluna d'água. As lâminas foram removidas, lavadas e recolocadas aos 10, 20, 30, 41 e 51 dias do período experimental (14/01, 24/01, 03/02, 14/02 e 24/02) para evitar a fase de desprendimento do perifíton. O intervalo de manejo teve como base estudo de Costa & Ferragut (2023), no qual utilizou-se um intervalo de 20 dias entre cada manejo, destacando a necessidade de um menor período de intervalo.

A água da subsuperfície foi coletada manualmente utilizando garrafas de polietileno (1L) e transportadas para o laboratório no escuro sob refrigeração. A amostragem da superfície do sedimento (1 cm) foi coletada utilizando um amostrador manual (tubo de PVC com 5 cm de diâmetro). Foi utilizado um amostrador para o controle e o outro para o tratamento AP, evitando

contaminações. O local amostrado foi distribuído aleatoriamente, evitando amostrar próximo às paredes dos mesocosmos. Após cada coleta de sedimento, o local amostrado foi marcado para evitar re-amostragem. Devido à forte chuva que ocorreu no 26º dia do período experimental (Figura 2), após a coleta da água dos mesocosmos, foi necessária a retirada de 120 litros de água de cada mesocosmo. Não houve contaminação, ou seja, entrada da água do lago nos mesocosmos. A retirada da água dos mesocosmos foi necessária para a realização da amostragem do sedimento, pois não seria possível utilizar o amostrador manual.

2.3. Variáveis Ambientais Analisadas

A radiação subaquática foi medida em campo (radiação fotossinteticamente ativa - luxímetro Li-Cor LI-250A). O coeficiente de atenuação da luz (%) foi calculado usando a equação: $100 (L_0 - L_2) / L_0$, onde L_0 é a luz na subsuperfície e L_2 é a luz no fundo (Wetzel & Likens 1991). A luz foi medida o mais próximo possível do centro dos mesocosmos, sem a influência das paredes dos mesocosmos e em local padronizado.

No laboratório, o nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) (método do persulfato alcalino) e amônio (NH_4) (método do fenato) foram determinados de acordo com APHA (2012). O teor de fósforo do sedimento foi determinado pela combustão das amostras à 550°C por 1 h e posterior lavagem das amostras com HCl 1N a 80°C por 30 min. Subsequentemente, as amostras foram analisadas para fósforo reativo solúvel de acordo com o método do ácido ascórbico (Strickland & Parsons 1960). Para o seston, amostras de água foram filtradas através de filtros de fibra de vidro pré-calcinados (Whatman GF/C), armazenados em estufa a 100 °C até serem pesados. Após peso constante os filtros foram calcinados (500 °C, 1 h) e pesados (APHA 2012).

2.4. Fitoplâncton

A concentração da clorofila-*a* do fitoplâncton (corrigida da feofitina) foi obtida através

da filtração de filtros de fibra de vidro (Whatman GF/F) e extraída utilizando etanol (90%) por 24 horas no escuro (Sartory & Grobbelaar 1984).

2.5. Epipélon

Amostras do sedimento foram diluídas em um volume conhecido de água destilada para determinar a massa seca livre de cinzas (MSLC) e a concentração da clorofila-*a*. Para medidas de MSLC, amostras do epipélon foram filtradas através de filtros de fibra de vidro pré-calcinados (Whatman GF/C) armazenados a 100 °C até peso constante. Subsequentemente, os filtros foram calcinados (500 °C, 1 h) e pesados (APHA 2012). A concentração da clorofila-*a* do epipélon foi medida utilizando o mesmo método para a clorofila-*a* do fitoplâncton (Sartory & Grobbelaar 1984). A razão MSLC/ Clorofila-*a* foi utilizada para avaliar mudanças nos componentes autotróficos e heterotróficos do perifíton.

2.6. Índice de Estado Trófico (IET)

O Índice de Estado Trófico (IET) foi calculado de acordo com Lamparelli (2004) para reservatórios tropicais, utilizando a concentração da clorofila-*a* (Chloa) e fósforo total (PT), de acordo com a equação abaixo. As classes de estado trófico são: ultraoligotrófico (≤ 47.0), oligotrófico (47.1-52.0), mesotrófico (52.1-59.0), eutrófico (59.1-63.0), supereutrófico (63.1-67.0) e hipereutrófico (≥ 67.0).

$$IET = \frac{IET(PT) + IET(Chloa)}{2}$$

Onde,

$$IET (PT) = 10.(6-(1,77-0,42.(ln PT)/ln 2))$$

$$IET (Chloa) = 10.(6-((0,92-0,34.(ln Chloa))/ln 2))$$

2.7. Tratamento Estatístico

Para identificar diferenças significativas nas variáveis bióticas e abióticas entre o controle e tratamento AP, utilizou-se a análise de variância de medidas repetidas com dois fatores (two-way RM-ANOVA - tratamento e tempo). O nível de significância de <0.05 foi adotado utilizando o teste a posteriori Tukey. Os dados foram logaritimizados para atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade quando necessário. O *software* utilizado para as análises foi o SigmaPlot 12.0.

Para avaliar os efeitos das técnicas sob a biomassa do epipélon, a análise de variância multivariada permutacional com dois fatores (two-way PERMANOVA) foi usada. Nesta análise, os dados foram logaritimizados, utilizou-se a medida de similaridade de Bray-Curtis com 9.999 permutações no *software* estatístico Past 4.01.

3. RESULTADOS

O tratamento AP quando comparado ao controle, mostrou que a aplicação das técnicas em conjunto aumentou, em média 7.6%, a atenuação da luz com diferença significativa no fator tempo (Tabela 1, Figura 3A). O teste Tukey detectou em relação a atenuação da luz que o dia 59 foi diferente dos dias 2 e 9 (Tukey: $p = 0.016$ e 0.008 , respectivamente). Redução de 6.4% na atenuação da luz foi detectada apenas aos 16 dias do período experimental, mas o teste Tukey não apontou diferenças significativas (Figura 3A). Em relação a concentração de PT da água, houve aumento médio de 4.2% no tratamento AP (Figura 3B), mas sem diferença significativa. Redução no PT da água, sem diferença significativa, foi detectada apenas aos 9 e 16 dias em 11.8 e 25.0%, respectivamente, comparado ao controle. A concentração do PT do sedimento apresentou aumento médio de 8.2% com diferença significativa no fator tratamento (Tabela 1, Figura 3C), em todas as amostragens do período experimental foi detectado aumento. Detectou-se redução com efeito do tempo na concentração média do NT em 9.4% (Tabela 1, Figura 3D). Aumento de 1.6% da concentração de NT foi detectada apenas aos 9 dias, a comparação de médias detectou que o dia 9 diferiu significativamente dos dias 2, 16 e 59 (Tukey: $p = <0.001$,

<0.001 e 0.002, respectivamente). Além da concentração do NT diferir no dia 28 dos dias 2, 16 e 59 (Tukey $p = <0.001$, <0.001 e 0.023); o dia 59 diferiu do dia 2 (Tukey: $p = <0.001$) e o dia 16 diferiu do dia 2 (Tukey: $p = 0.003$). A concentração de N-NH_4 apresentou aumento médio de 24.2% (Figura 3E), com diferença significativa no fator tempo e interação dos fatores apenas aos 28 dias (Tukey: $p = 0.001$). Aumento na concentração de N-NH_4 foi detectada a partir dos 16 dias do período amostral.

As variáveis bióticas apresentaram diferenças significativas no fator tempo (Tabela 1). O seston apresentou um aumento médio de 1.3% (Figura 3F), aumento que ocorreu a partir dos 16 dias. O teste Tukey apresentou diferença significativa no seston entre os dias 2 e 59 (Tukey: $p = 0.044$). A clorofila-*a* do epipélon apresentou redução média de 8.6% (Figura 3H). A clorofila-*a* do epipélon aumentou até os 16 dias em 12.1%, e a partir dos 28 dias foi reduzida. O teste Tukey detectou que a clorofila-*a* do epipélon no dia 59 foi diferente dos dias 2 e 9 do período experimental (Tukey: $p = 0.018$ e 0.025, respectivamente). A massa seca livre de cinzas do epipélon apresentou aumento médio de 11.5% (Figura 3I), com diferença significativa no tempo. Em todas as amostras do período experimental foi detectado aumento na MSLC. Em relação a análise de Tukey foi detectado que a MSLC do dia 16 foi diferente dos dias 2 e 9 (Tukey: $p = 0.021$ e 0.001, respectivamente). A clorofila-*a* do fitoplâncton reduziu em média 12.7% (Figura 3G), com diferença significativa no tempo e, também, na interação dos fatores que apresentou diferenças apenas aos 59 dias do período experimental (Tukey: $p = 0.043$). A razão massa seca livre de cinzas e clorofila-*a* do epipélon aumentou em média 18.1% (Figura 3J), com diferença significativa no tempo. O teste Tukey evidenciou que o dia 16 foi diferente do dia 59 (Tukey: $p = 0.044$). A razão MSLC/ Clo-*a* indicou na média uma comunidade epipélica heterotrófica.

Não foi detectada mudanças da média do período experimental na classificação do Índice de Estado Trófico. O controle e o tratamento AP foram classificados como hipereutrófico (IET = 76.6 e 76.0, respectivamente).

A análise multivariada PERMANOVA indicou que o tratamento AP não afetou a biomassa epipélica ($F = 14871$; $p = 0.2376$), detectou-se diferença significativa apenas no fator tempo ($F = 40975$; $p = 0.0002$). A interação dos fatores também não apresentou diferença significativa ($F = 10843$; $p = 0.3968$).

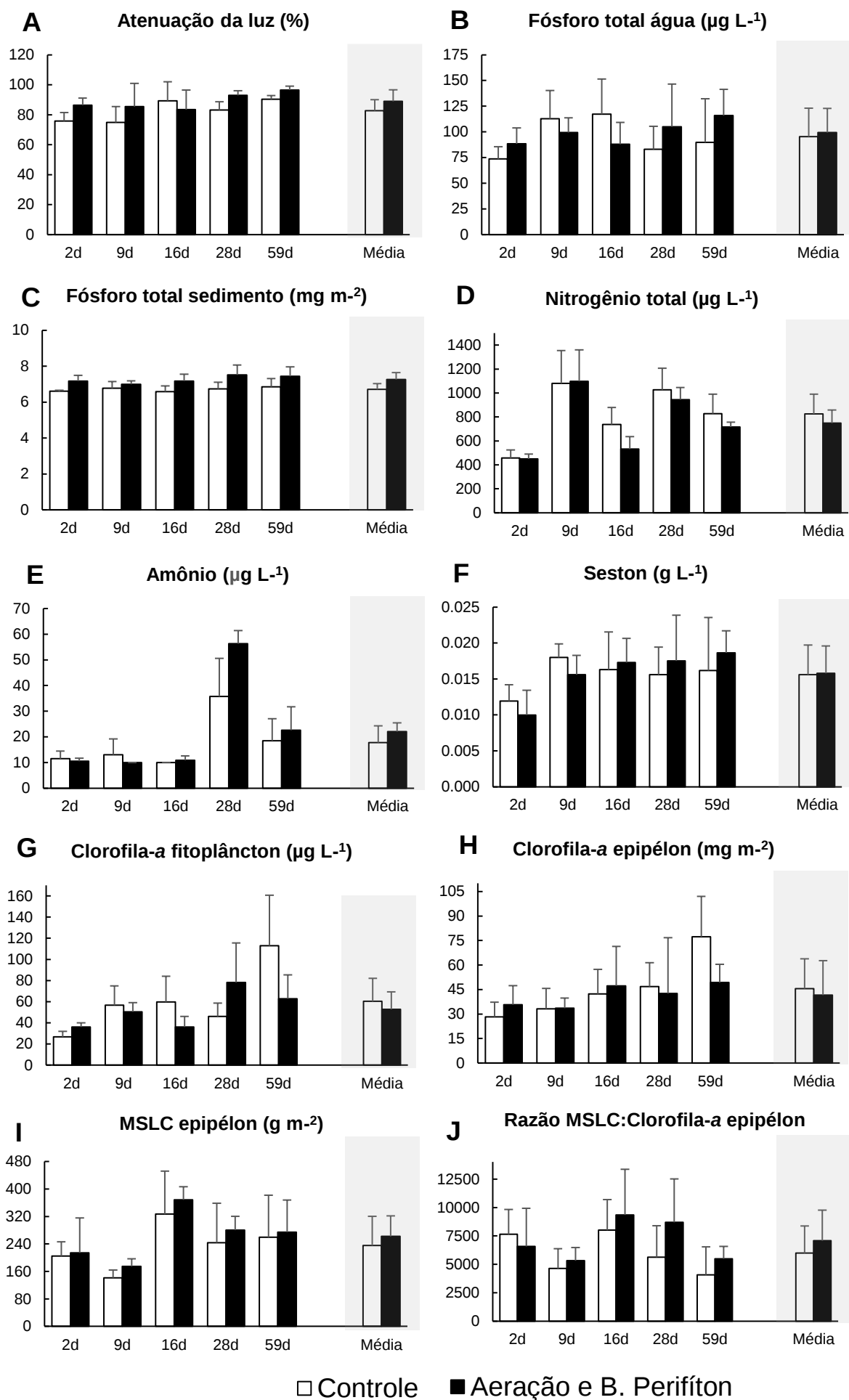


Figura 3: Variação (n=4, DP) e média (n=20, DP) da atenuação da luz (A), concentração PT da coluna d'água (B), concentração de PT do sedimento (C), concentração NT (D), concentração de NH₄ (E), biomassa do seston (F), clorofila-*a* do fitoplâncton (G), clorofila-*a* do epipélton (H), MSLC (I) e razão MSLC: Clorofila-*a* (J) do controle e tratamento aeração e biorreator de perifíton durante o período experimental.

Tabela 1: Resultados da análise de medidas repetidas (RM-ANOVA) das variáveis abióticas e bióticas (n= 4) do tratamento Aeração e Biorreator de Perifíton comparado ao Controle.

	Controle / Aeração e B. Perifíton					
	Tratamento		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Aten. Luz (%)	2.024	0.205	4.661	0.006*	1.926	0.139
PT da água µg L ⁻¹	0.0812	0.785	1.782	0.165	2.519	0.068
PT do sedimento µg L ⁻¹	8.883	0.024*	1.650	0.197	1.529	0.228
NT µg L ⁻¹	1.639	0.248	43.119	<0.001*	1.645	0.196
Amônio µg L ⁻¹	3.570	0.107	38.931	<0.001*	3.810	0.016*
Seston g L ⁻¹	0.0225	0.886	3.100	0.034*	0.544	0.705
Clorofila- <i>a</i> fitoplâncton µg L ⁻¹	0.271	0.621	8.334	<0.001*	3.733	0.018*
Clorofila- <i>a</i> epipélton mg m ⁻²	0.473	0.517	3.746	0.017*	1.193	0.339
MSLC epipélton g m ⁻²	1.037	0.348	5.887	0.002*	0.0590	0.993
Razão MSLC:Clorofila- <i>a</i>	1.194	0.316	3.214	0.030*	0.672	0.618

* asteriscos indicam diferenças significativas

4. DISCUSSÃO

É bem discutido na literatura e aceito que para a reversão do processo de eutrofização é necessária uma redução efetiva de nutrientes (Tammeorg *et al.* 2023). O nitrogênio e o fósforo são considerados os principais nutrientes que em excesso desencadeiam a floração de microalgas (Smith 2003). Os achados mostraram que a aplicação das técnicas simultâneas de aeração e biorreator de perifíton não reduziram significativamente o P e N da coluna d'água. Confirmando esses achados, o Índice de Estado Trófico apontou classificações iguais para o controle e o tratamento AP, classificados como hipereutrófico. Assim, com base sobretudo no P da coluna d'água e no IET não houve um processo de reversão da eutrofização com a aplicação das técnicas em conjunto.

Apesar do tratamento AP não apresentar redução do P da coluna d'água, evidenciou-se o aumento do fósforo total do sedimento. Estudos mostram que a presença de oxigênio na interface sedimento/coluna d'água é fator importante na retenção de P junto ao sedimento (Gerling *et al.* 2014, Ma *et al.* 2015), consequentemente pode reduzir o processo de autofertilização da coluna d'água (Schindler *et al.* 2016). Assim, o aumento do PT do sedimento pode ter ocorrido pelo efeito da aeração de fundo do tratamento AP. Outro fator importante para o aumento do oxigênio no sedimento é o aumento das microalgas epipélicas que liberam oxigênio junto ao sedimento através do processo da fotossíntese (Dodds 2003, Liboriussen & Jeppensen 2006). A presença do biorreator de perifíton pode favorecer o aumento da clorofila-*a* epipélica (Costa & Ferragut 2023). Entretanto, no presente estudo, o tratamento AP não favoreceu o aumento da comunidade autotrófica do epipélon com base na clorofila-*a*. Apesar da medida da clorofila-*a* no sedimento ser comumente usada para avaliação do ambiente bentônico (Vadeboncoeur *et al.* 2001), estudos apontam que produtos de degradação de pigmentos podem interferir na determinação precisa de clorofila-*a* (ex., Brown *et al.* 1981). Assim, a determinação do biovolume algal pode ser mais recomendável. Além disso, ressalta-se que a sedimentação da matéria orgânica proveniente da redução da biomassa fitoplanctônica, principalmente ao final do experimento, também poderia ter contribuído para o aumento do PT do sedimento. Contudo, a concentração do PT do sedimento foi maior no tratamento AP ao longo de todo período experimental, o que pode estar atribuído a um sedimento mais bem oxigenado, e a presença do perifíton na competição e redução do fitoplâncton, assim aumentando a quantidade de matéria orgânica no sedimento.

Levando em consideração o efeito temporal, o tratamento AP funcionou até os 16 dias do período experimental, quando a concentração de P e N foi reduzida, bem como a biomassa do fitoplâncton. A partir de 28 dias, evidenciou-se o aumento no PT da água, biomassa do seston e amônio. Dois dias antes a coleta de 28 dias, uma forte chuva (Figura 2 - 88.9 mm) pode ter influenciado as respostas do tratamento. Possivelmente, a chuva lavou as placas do biorreator

do perifíton, assim parte da biomassa do biorreator pode ter sido liberada na coluna d'água. Aumento da clorofila-*a* do fitoplâncton foi detectada aos 28 dias, o que pode indicar a influência da chuva. Assim, os resultados sugerem que a chuva forte pode prejudicar a capacidade de remediação do perifíton, especialmente quando a colonização está avançada. A chuva é um dos fatores ambientais que podem promover desprendimento do perifíton do substrato durante o processo de colonização (Casartelli *et al.* 2016). Contudo, aos 59 dias do experimento as condições em relação às concentrações de PT da água, seston e amônio permaneceram altas, como na coleta anterior. Apesar de ser esperado em qualquer estudo em mesocosmos, o tempo de residência da água é um fator que interfere no acúmulo de biomassa do fitoplâncton, pois as concentrações de nutrientes foram maiores no final em comparação ao início do período experimental, tanto no tratamento AP quanto no controle. O aumento dos íons de amônio pode indicar um processo de decomposição (Hairston & Fussmann 2014), com a decomposição da matéria orgânica os nutrientes podem retornar para a coluna d'água. Assim, quanto maior o tempo de residência da água, maior pode ser a influência de processos internos e do aumento da concentração de nutrientes na coluna d'água (Welch 1981, Bakker & Hilt 2016, Romo *et al.* 2013). Possivelmente, mesmo sendo realizado um manejo a cada 10 dias do biorreator de perifíton (limpeza dos substratos), esse período de manejo não foi suficiente para manter o funcionamento do biorreator. Essa suposição vem do fato da oscilação da biomassa do fitoplâncton ao longo do tempo. Por conta de o experimento ter ocorrido no verão, o pico da biomassa do perifíton deve ter ocorrido mais rápido acontecendo o desprendimento da comunidade, como observado em Borduqui & Ferragut (2012). De fato, maiores temperaturas favorece a proliferação das algas (Jeppesen *et al.* 2007). Consequentemente, a biomassa perifítica e nutrientes podem ter retornado para a coluna d'água, demonstrando a necessidade de um intervalo menor entre os manejos ou uso do biorreator do perifíton no período seco. A aeração também não manteve a retenção de P junto ao sedimento por muito tempo, ocorrendo aumento nas concentrações de P com avanço do período experimental.

De modo geral, no presente estudo, as técnicas aplicadas em conjunto não potencializaram as respostas positivas na qualidade da água, quando comparadas a aplicação isoladas, principalmente na redução da concentração de PT na água, conforme observado em Costa & Ferragut (2023). Algumas variáveis das técnicas isoladas apresentaram respostas divergentes. Por exemplo, a aeração reduziu a biomassa do fitoplâncton, enquanto o biorreator de perifíton aumentou a biomassa fitoplanctônica (Costa & Ferragut 2023), o biorreator de perifíton favoreceu a biomassa algal do epipélon, enquanto a aeração favoreceu uma comunidade heterotrófica do epipélon (Costa & Ferragut 2023). Por outro lado, com base na média, as técnicas em conjunto reduziram a biomassa fitoplanctônica e favoreceram a comunidade heterotrófica do epipélon. Contudo, o tratamento AP não reduziu o PT da água conforme observado em estudo de Costa & Ferragut (2023), que detectou a redução do PT no biorreator de perifíton e, principalmente, com aplicação da aeração de fundo, quando aplicadas isoladamente. O aumento da atenuação da luz no tratamento AP corroborou com os resultados encontrados na aplicação das técnicas isoladas em estudo de Costa & Ferragut (2023), uma vez que o substrato artificial colonizado pelo perifíton pode exercer sombreamento, e as bolhas de ar da aeração pode refletir a luz, portanto aumentando a atenuação da luz na coluna d'água dos mesocosmos.

Com base nos achados neste estudo, é possível afirmar que quando considerado todo o período experimental a combinação das técnicas de restauração não potencializou a redução do P na água. Mesmo praticando um período menor entre os manejos do biorreator de perifíton, em comparação ao estudo de Costa & Ferragut (2023), os resultados sugerem que o tratamento AP funcionou até os 16 dias do período experimental. Diante dos achados a combinação das técnicas precisa ser mais investigada diante de um período de intervalo menor de manejo e em outro período climático. Assim, deve-se avaliar se essa combinação é viável de ser aplicada no período chuvoso em um processo de restauração em lagos de clima sub/tropical. De acordo com estudo de Pečić *et al.* (2023), o período de maior eficiência de remoção de P pelo biorreator de

perifíton é quando a competição entre o perifíton e o fitoplâncton seja menor. Uma possibilidade seria a utilização de uma sequência dessas técnicas separadas, por exemplo, primeiro a utilização do biorreator de perifíton no período seco, quando a biomassa do fitoplâncton é menor, e na sequência a aplicação da aeração. Nesse sentido, mais estudos são necessários sobre as respostas do fitoplâncton e do perifíton às técnicas de restauração combinadas e isoladas, principalmente em regiões de clima sub/tropical, onde o pouco conhecimento dificulta as tomadas de decisões e os avanços dos processos de restauração em lagos.

Conclusão Geral

O presente estudo avaliou experimentalmente quatro técnicas utilizadas em restauração de lagos e reservatórios isoladas (aeração de fundo, floculante natural, macrófitas flutuantes e biorreator de perifíton), com base nas conclusões das técnicas aplicadas isoladas, em um segundo experimento avaliou duas técnicas aplicadas em conjunto (aeração de fundo e biorreator de perifíton). Foram analisadas as respostas abióticas e bióticas, que teve como fatores principais as comunidades do fitoplâncton e epipélon.

Diante dos principais questionamentos levantados na proposta inicial, todas as respostas assim como os objetivos propostos foram alcançados. Os principais questionamentos e suas respectivas respostas serão apresentados a seguir:

No primeiro experimento, o tratamento aeração foi o único tratamento que apresentou redução significativa com efeito do tratamento nas concentrações de fósforo total da água, e também apresentou redução da biomassa do fitoplâncton ao decorrer do tempo. Portanto, o tratamento aeração apresentou efeito negativo sobre a concentração de P na água e na biomassa fitoplanctônica.

Em relação ao epipélon, os tratamentos floculante e biorreator de perifíton apresentaram aumento do epipélon fototrófico. Porém, o arraste das microalgas da coluna d'água para o fundo, ocasionado pelo floculante, pode ter contribuído para esse resultado, sendo que diferenças significativas foram encontradas apenas em relação ao tempo. Além disso, o tratamento floculante gerou uma poluição secundária. Dessa forma, os resultados do tratamento floculante em relação ao aumento do epipélon fototrófico foi considerado inconclusivo. O biorreator de perifíton aumentou o epipélon fototrófico com diferenças significativas na interação do tratamento e tempo, assim o tratamento teve contribuição neste resultado. Portanto, com base nas evidências confirmadas o tratamento que favoreceu a formação de um epipélon fotossinteticamente ativo foi o biorreator de perifíton.

Considerando o experimento até os 27 dias, com base na análise de agrupamento, o tratamento que apresentou a maior mudança na composição do fitoplâncton foi o tratamento floculante, porém os outros tratamentos também mudaram a composição de espécies do fitoplâncton, exceto o tratamento aeração. Também, considerando o período experimental até os 27 dias todos os tratamentos, exceto a aeração, reduziram significativamente as cianobactérias. Quando considerado os 60 dias de experimento, a composição de espécies do fitoplâncton mudou em escala temporal em todos os tratamentos, porém as espécies relacionadas à ambientes enriquecidos persistiram.

No segundo experimento, as técnicas avaliadas em conjunto (aeração e biorreator de perifíton), reduziram a clorofila-*a* do fitoplâncton. Porém, em relação ao fósforo total da coluna d'água não foi detectada redução. Neste estudo, a combinação de técnicas melhorou a qualidade da água nas duas primeiras semanas. Assim, a combinação de técnicas não favoreceu o aumento da sua total eficiência do processo de restauração durante o todo o período, quando comparada isolada. Entretanto, salienta-se que a melhora da qualidade da água nas primeiras semanas, demonstra a necessidade de redução do intervalo de manejo do biorreator de perifíton.

Conforme Jeppesen *et al.* (2007), o aumento do conhecimento sobre os processos de restauração é fundamental em lagos rasos de clima tropical, onde ocorre elevadas temperaturas que favorecem a proliferação de algas, principalmente o fitoplâncton. Assim, como esperado na literatura, existe uma dificuldade maior na restauração de lagos e reservatórios de regiões de clima sub/tropical quando comparado aos lagos e reservatórios de clima temperado. Portanto, os resultados gerados no presente projeto poderão subsidiar futuros processos de recuperação de lagos e reservatórios, e também ao gerenciamento de técnicas que necessitam de manejos. Neste estudo, as técnicas de biorreator de perifíton e, também, macrófitas foram submetidas a manejos constantes, chegando à conclusão que é necessário um intervalo de período menor entre os manejos e melhorias no método utilizado em relação às macrófitas, os manejos também sofrem influência do clima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abell, J.M., Özkundakci, D., Hamilton, D.P. & Reeves, P.** 2022. Restoring shallow lakes impaired by eutrophication: Approaches, outcomes, and challenges. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 52 (7): 1199-1246.
- Anneville, O., Ginot, V. & Angeli, N.** 2002. Restoration of Lake Geneva: Expected versus observed responses of phytoplankton to decreases in phosphorus. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 7: 67-80.
- Antunes, J.T., Leão, P.N. & Vasconcelos, V.M.** 2015. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Frontiers in Microbiology*: 6.
- APHA.** 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association WWA, Washington, DC. ISBN-10 9780875530130.
- Ayele, H.S. & Atlabachew, M.** 2021. Review of characterization, factors, impacts, and solutions of Lake eutrophication: lesson for lake Tana, Ethiopia. *Environ Sci Pollut Res* 28: 14233-14252.
- Bakker, E.S. & Hilt, S.** 2016. Impact of water-level fluctuations on cyanobacterial blooms: options for management. *Aquat Ecol.* 50: 485-498.
- Barrado-Moreno, M.M., Beltrán-Heredia, J. & Martín-Gallardo, J.** 2016. Removal of *Oocystis* algae from freshwater by means of tannin-based coagulant. *Journal of Applied Phycology* 28: 1589-1595.
- Barrow, J.L., Beisner, B.E., Giles, R., Giani, A., Domaizon, I. & Gregory-Eaves, I.** 2019. Macrophytes moderate the taxonomic and functional composition of phytoplankton assemblages during a nutrient loading experiment. *Freshwater Biology* 64(8): 1369-1381.

- Barsanti, L. & Gualtieri P.** 2014. *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. 2 ed. CRC Press Taylor & Francis Group. Pisa, Italy.
- Berry, H.A. & Lembi, C.A.** 2000. Effects of temperature and irradiance on the seasonal variation of a spirogyra (chlorophyta) population in a midwestern lake (U.S.A.). *Journal of Phycology* 36: 841-851.
- 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., Zanon, J.E., Ferragut, C., Crossetti, L.O., Faustino, S.B. & Bicudo, C.E.M.** 2020. Garças Reservoir trophic state dynamics: a 20-year synthesis. *Hoehnea* 47.
- Biggs, B.J.** 1996. Patterns in benthic algae of streams. *In*: R. Jan Stevenson, Max L. Bothwell & Rex L. Lowe (eds.). *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, pp. 31-56.
- Borduqui, M. & Ferragut, C.** 2012. Factors determining periphytic algae succession in a tropical hypereutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 683(1): 109-122.
- Bormans, M., Maršálek, B. & Jančula, D.** 2016. Controlling internal phosphorus loading in lakes by physical methods to reduce cyanobacterial blooms: a review. *Aquat Ecol.* 50: 407-422.
- Brown, L.M., Hargrave, B.T. & MacKinnon, M.D.** 1981. Analysis of chlorophyll a in sediments by high-pressure liquid chromatography. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38(2): 205-214.
- CAESB - Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal.** 2023. Disponível em <https://atlas.caesb.df.gov.br/MapaBalneabilidade/> (acesso em 07-2023).
- Carneiro, R.O. & Ferragut, C.** 2023. Simulating oligotrophication in a eutrophic shallow lake to assess the effect of periphyton bioreactor on phytoplankton and epipelon. *Environ Sci Pollut Res.* 30: 26545-26558.

- Casartelli, M.R., Lavagnoli, G.D.J. & Ferragut, C.** 2016. Periphyton biomass accrual rate changes over the colonization process in a shallow mesotrophic reservoir. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 28.
- Cavalcanti, C.G.B., Pinto, M.T., Freitas, H.J. & Moreira, R.C.A.** 1997. Paranoá Lake restoration: impact of tertiary treatment of sewage in the watershed, *SIL Proceedings*, 1922-2010, 26(2): 689-693.
- CEDAE - Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro.** 2023. Disponível em https://cedae.com.br/lagoa_limpa (acesso em 07-2023).
- Chen, F., Shu, T., Jeppesen, E., Zhengwen, L. & Chen, Y.** 2013. Restoration of a subtropical eutrophic shallow lake in China: effects on nutrient concentrations and biological communities. *Hydrobiologia* 718: 59-71.
- Codd, G.A., Morrison, L.F. & Metcalf, J.S.** 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology* 3: 264-272.
- Conley, D.J., Paerl, H.W., Howarth, R.W., Boesch, D.F., Seitzinger, S.P., Havens, K.E., Lancelot, C. & Likens, G.E.** 2009. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. *Science* 323: 1014-1015.
- Costa, R.A. & Ferragut, C.** 2023. Epipelon biomass responses to different restoration techniques in a eutrophic environment. *Environmental Management* 72: 505-518.
- Crossetti, L.O. & Bicudo, C.E.d.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.
- Crossetti, L.O. & Bicudo, C.E.M.** 2008. Adaptations in phytoplankton life strategies to imposed change in a shallow urban tropical eutrophic reservoir, Garças Reservoir, over 8 years. *Hydrobiologia* 614: 91-105.
- Crossetti, L.O., Bicudo, D.C., Bini, L.M., Dala-Corte, R.B., Ferragut, C. & Bicudo, C.E.M.** 2018. Phytoplankton species interactions and invasion by *Ceratium furcoides* are influenced

by extreme drought and water-hyacinth removal in a shallow tropical reservoir. *Hydrobiologia* 1-15.

DAEE - Departamento de Águas e Energia Elétrica. 2023. Disponível em <http://www.hidrologia.daee.sp.gov.br/Default.aspx> (acesso em 07-2023).

deNoyelles, F.J., Smith, V.H., Kastens, J.H., Bennett, L., Lomas, J.M., Knapp, C.W., Bergin, S.P., Dewey, S.L., Chapin, B.R.K. & Graham, D.W. 2016. A 21-year record of vertically migrating subepilimnetic populations of *Cryptomonas* spp. *Inland Waters* 6:(2) 173-184.

Dokulil, M.T. & Teubner, K. 2010. Eutrophication and Climate Change: Present Situation and Future Scenarios. *Eutrophication: Causes, Consequences and Control*, pp. 1-16.

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

Dodds, W.K., Bouska, W.W., Eitzmann, J.L., Pilger, T.J., Pitts, K.L., Riley, A.J., Schloesser, J.T. & Thornbrugh, D.J. 2009. Eutrophication of U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. *Environ Sci Technol.* 43(1): 12-9.

Domozych, D., Kort, S., Benton, S. & Yu, T. 2005. The extracellular polymeric substance of the green alga *Penium margaritaceum* and its role in biofilm formation. *Biofilms* 2(2): 129-144.

Dittrich, M., Gabriel, O., Rutzen, C. & Koschel, R. 2011. Lake restoration by hypolimnetic Ca (OH)₂ treatment: Impact on phosphorus sedimentation and release from sediment. *Science of the Total Environment* 409: 1504-1515.

El-Kassas, H. & Gharib, S.M. 2016. Phytoplankton abundance and structure as indicator of water quality in the drainage system of the Burullus Lagoon, southern Mediterranean coast, Egypt. *Environ Monit Assess* 188: 530.

Fastner, J., Abella, S., Litt, A., Morabito, G., Vörös, L., Pálffy, K., Straile, D., Kümmerlin, R., Matthews, D., Phillips, M.G. & Chorus, I. 2016. Combating cyanobacterial

proliferation by avoiding or treating inflows with high P load experiences from eight case studies. *Aquat Ecol* 50: 367-383.

Felisberto, S.A., Rodrigues, L. & Santos, H.S. 2014. Taxonomical and ecological characteristics of the desmids placoderms in reservoir: analyzing the spatial and temporal distribution. *Acta Limnologica Brasiliensia* 26(4): 392-403.

Fonseca, B.M., Ferragut, C., Tucci, A., Crosseti, L.O., Ferrari, F., Bicudo, D.C., Sant'Anna, C.L. & Bicudo, C.E.M. 2014. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. *Hoehnea* 41: 9-30.

Gasol, J.M., Guerrero, R. & Pedrós-Álió, C. 1992. Spacial and temporal dynamics of a metalimnetic *Cryptomonas* peak. *Journal of Plankton Research* 14(11): 1565-1579.

Gasol, J.M., García-Cantizano, J., Massana, R., Guerrero, R. & Pedrós-Álió, C. 1993. Physiological ecology of a metalimnetic *Cryptomonas* population: relationships to light, sulfide and nutrients. *Journal of Plankton Research* 15(3): 255-275.

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.

Gerling, A.B., Browne, R.G., Gantzer, P.A., Mobley, M.H., Little, J.C. & Carey, C.C. 2014. First report of the successful operation of a side stream supersaturation hypolimnetic oxygenation system in a eutrophic, shallow reservoir. *Water Res* 67: 129-143.

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

Goldyn, R., Podsiadlowski, S., Dondajewska, R. & Kozak, A. 2014. The sustainable restoration of lakes towards the challenges of the Water Framework Directive. *Ecohydrology & Hydrobiology* 14(1): 68-74.

- Gopal, B., Trivedy, R.K. & Goel, P.K.** 1984. Influence of Water Hyacinth Cover on the Physico-chemical Characteristics of Water and Phytoplankton Composition in a Reservoir near Jaipur (India). *Int. Revue ges. Hydrobiol. Hydrogr.* 69: 859-865.
- Grochowska, J., Augustyniak, R. & Łopata, M.** 2017. How durable is the improvement of environmental conditions in a lake after the termination of restoration treatments. *Ecological Engineering* 104: 23-29.
- Hainz, R., Wöber, C. & Schagerl, M.** 2009. The relationship between Spirogyra (Zygnematophyceae, Streptophyta) filament type groups and environmental conditions in Central Europe. *Aquatic Botany* 91 (3): 173-180.
- Hairston, N.G.J. & Fussmann, G.F.** 2014. Lake Ecosystems. *In* eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.).
- Hanson, M.J. & Stefan, H.G.** 1984. Side effects of 58 years of copper sulfate treatment of the fairmont lakes, minnesota. *Journal of the American Water Resources Association* 20(6): 889-900.
- Harper, D.** 1992. Eutrophication of freshwater: Principles, problems and restoration. Ed. Chapman, Hall. London. pp. 327.
- Hillebrand, H.** 1983. Development and dynamics of floating clusters of filamentous algae Periphyton of Freshwater Ecosystems. Volume 17.
- 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.
- Hilt, S. & Gross, E.M.** 2008. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes? *Basic and Applied Ecology* 9(4): 422-432.
- Ho, J.C., Michalak, A.M. & Pahlevan, N.** 2019. Widespread global increase in intense lake phytoplankton blooms since the 1980s. *Nature* 574: 667-670.
- Horppila, J.** 2019. Sediment nutrients, ecological status and restoration of lakes. *Water Research* 160: 206-208.

- Hou, J., Yang, Z., Wang, P., Wang, C., Yang, Y. & Wang, X.** 2018. Changes in *Microcystis aeruginosa* cell integrity and variation in microcystin-LR and proteins during Tanfloc flocculation and floc storage. *Science of The Total Environment* 626: 264-273.
- Huang, J., Zhang, Y., Arhonditsis, G.B., Gao, J., Chen, O., Wu, N., Dong, F. & Shi, W.** 2019. How successful are the restoration efforts of China's lakes and reservoirs? *Environment International* 123: 0160-4120.
- Hudnell, H.K.** 2010. The state of U.S. freshwater harmful algal blooms assessments, policy and legislation. *Toxicon* 55(5): 1024-1034.
- Inyang, A.I., Sunday, K.E. & Nwankwo, D.I.** 2015. Composition of Periphyton Community on Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*): In Analysis of Environmental Characteristics at Ejirin Part of Epe Lagoon in Southwestern Nigeria. *Journal of Marine Biology* 376986
- Isvánovics, V., Shafik, H.M., Présing, M. & Juhos, S.** 2000. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshwater Biology* 43: 257-275.
- Janssen, A.B.G., Wijk, D., Gerven, L.P.A., Bakker, E.S., Brederveld, R.J., DeAngelis, D.L., Janse, J.H. & Mooij, W.M.** 2019. Success of lake restoration depends on spatial aspects of nutrient loading and hydrology. *Science of The Total Environment* 679: 248-259.
- Jeppesen, E., Meerhoff, M., Jacobsen, B.A., Hansen, R.S., Søndergaard, M., Jensen, J.P., Lauridsen, T.L., Mazzeo, N. & Branco, C.W.C.** 2007. Restoration of shallow lakes by nutrient control and biomanipulation - the successful strategy varies with lake size and climate. *Hydrobiologia* 581(1): 269-285.
- Jöbgen, A., Palm, A. & Melkonian, M.** 2004. Phosphorus removal from eutrophic lakes using periphyton on submerged artificial substrata. *Hydrobiologia* 528: 123-142.
- Ko, S., Srivastava, A., Lee, N., Jin, L., Oh, H. & Ahn, C.** 2019. Bioremediation of eutrophic water and control of cyanobacterial bloom by attached periphyton. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16(8): 4173-4180.

- Kozak, A., Goldyn, R. & Dondajewska, R.** 2015. Phytoplankton composition and abundance in restored Maltański Reservoir under the influence of physico-chemical variables and zooplankton grazing pressure. *PLoS ONE* 10(14): e0124738.
- Knapp, C.W., DeNoyelles, F., Graham, D.W. & Bergin, S.** 2003. Physical and chemical conditions surrounding the diurnal vertical migration of *cryptomonas* spp. (cryptophyceae) in a seasonally stratified midwestern reservoir (USA). *Journal of Phycology* 39: 855-861.
- Kravtsova, L.S., Mizandrontsev, I.B., Vorobyova, S.S., Izboldina, L.A., Mincheva, E.V., Potyomkina, T.G., Golobokova, L.P., Sakirko, M.V., Triboy, T.I., Khanaev, I.V., Sherbakov, D.Y. & Fedotov, A.P.** 2020. Influence of water motion on the spatial distribution of *Spirogyra* in Lake Baikal. *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 29-40.
- Kromkamp, J., Heuvel, A. & Mur, L.R.** 1989. Phosphorus uptake and photosynthesis by phosphate-limited cultures of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *British Phycological Journal* 24(4): 347-355.
- Lamparelli, M.C.** 2004. Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento [Trophic Status in São Paulo State Water Bodies Evaluation of Monitoring Methodologies] Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo (USP). Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41134/tde-20032006-075813/pt-br.php> (acesso em 03-2023).
- Le, V.V., Ko, S.R., Kang, M., Shin, Y., Lim, B., Kang, Y., Oh, H. & Ahn, C.** 2023. Periphyton reduces cyanobacterial blooms by promoting potentially cyanobactericidal bacteria. *J Appl Phycol.* 35: 1285-1299.
- 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.

- Lürling, M., van Geest, G. & Scheffer, M.** 2006. Importance of nutrient competition and allelopathic effects in suppression of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the macrophytes *Chara*, *Elodea* and *Myriophyllum*. *Hydrobiologia*: 556: 209-220.
- Ma, W.X., Huang, T.L. & Li, X.** 2015. Study of the application of the water-lifting aerators to improve the water quality of a stratified, eutrophicated reservoir. *Ecological Engineering* 83: 281-290.
- Mackeret, F.J.H., Heron, J. & Talling, J.F.** 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. Cumbria: Freshwater Biological. (Association. Scientific Publication, 39). Ed. Wilson, Son Ltda, Kendall, pp. 117.
- Mayr, M., Jerney, J. & Schagerl, M.** 2014. Combating planktonic algae with benthic algae. *Ecological Engineering* 74: 310-318.
- Magurran, A.E.** 1988. Ecological diversity and its measurement. Chapman and Hall, London. pp. 179.
- McVea, C. & Boyd, C.E.** 1975. Effects of water-hyacinth cover on water chemistry, phytoplankton, and fish in Ponds. *Journal of Environmental Quality*, 4: 375–378.
- Meerhoff, M. & González-Sagrario, M.A.** 2022. Habitat complexity in shallow lakes and ponds: importance, threats, and potential for restoration. *Hydrobiologia* 849: 3737-3760.
- Moal, M.L., Gascuel-Odoux, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Étrillard, C., Levain, C., Moatar, F., Pannard, A., Souchu, P., Lefebvre, A. & Pinay, G.** 2019. Eutrophication: A new wine in an old bottle? *Science of the Total Environment* 651: 1-11.
- Morin-Crini, N., Lichtfouse, E., Liu, G., Balaram, V., Ribeiro, A.R.L., Lu, Z., Stock, F., Carmona, E., Teixeira, M.R., Picos-Corrales, L.A., Moreno-Piraján, J.C., Giraldo, L., Li, C., Pandey, A., Hocquet, D., Torri, G. & Crini, G.** 2022. Worldwide cases of water pollution by emerging contaminants: a review. *Environ Chem Lett* 20: 2311-2338.

- Monchamp, M.E., Spaak, P., Domaizon, I., Dubois, N., Bouffard, D. & Pomati, F.** 2018. Homogenization of lake cyanobacterial communities over a century of climate change and eutrophication. *Nat Ecol Evol* 2: 317-324.
- Mortimer, C.H.** 1941. The Exchange of Dissolved Substances between Mud and Water in Lakes. *Journal of Ecology* 29: 280-329.
- Mortimer, C.H.** 1942. The Exchange of Dissolved Substances between Mud and Water in Lakes. *Journal of Ecology* 30(1): 147-201.
- Moss, B.** 1990. Engineering and biological approaches to the restoration from eutrophication of shallow lakes in which aquatic plant communities are important components. *Hydrobiologia* 200: 367-377.
- Moss, B., Jeppesen, E., Søndergaard, M., Lauridsen, T.L. & Liu, Z.** 2013. Nitrogen, macrophytes, shallow lakes and nutrient limitation: resolution of a current controversy? *Hydrobiologia* 710: 3-21.
- Munawar, M.** 1970. Limnological studies on freshwater ponds of hyderabad-India. *Hydrobiologia* 36: 105-128.
- Nygrén, N.A., Tapio, P. & Horppila, J.** 2017. Will the Oxygen-Phosphorus Paradigm Persist? Expert Views of the Future of Management and Restoration of Eutrophic Lakes. *Environmental Management* 60: 947-960.
- Ogbonna, J.C., Ichige, E. & Tanaka, H.** 2002. Regulating the ratio of photoautotrophic to heterotrophic metabolic activities in photoheterotrophic culture of *Euglena gracilis* and its application to α -tocopherol production. *Biotechnology Letters* 24: 953-958.
- Oki, T.** 2005. Encyclopedia of Hydrological Sciences, Anderson MG, McDonnell J, Eds. (Wiley, New York,2005), vol. 1, pp. 13-22.
- Oki, T. & Kanae, S.** 2006. Global Hydrological Cycles and World Water Resources. *Science* 313: 1068-1072.

- Olson, J.R. & Hawkins, C.P.** 2013. Developing site-specific nutrient criteria from empirical models. *Freshwater Science* 32(3): 719-740.
- O'Neil, J.M., Davis, T.W., Burford, M.A. & Gobler, C.J.** 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14: 313-334.
- Paerl, H.W. & Otten, T.G.** 2013. Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microb Ecol* 65: 995-1010.
- Padisák, J.** 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv Für Hydrobiologie Supplementband Monographische Beitrage* 107(4): 563-593.
- Padisák, J., Borics, G., Grigorszky, I. & Soróczki-Pintér, E.** 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. *Hydrobiologia* 553: 1-4.
- Padisák, J., Crossetti, O. & Naselli-Flores, L.** 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1-19.
- Padovesi-Fonseca, C., Philomeno, M.G. & Andreoni-Batista, C.** 2009. Limnological features after a flushing event in Paranoá Reservoir, central Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 21(3): 277-285.
- Pečić, M., Grašić, S., Gajić, D., Popović, S., Simić, GS. & Predojević, D.** 2023. Periphyton efficiency in phosphorus accumulation affected by phytoplankton dynamics in reservoir for water supply. *Ecological Engineering* 191 (106963).
- Pinto, P.T. & O'Farrell, I.** 2014. Regime shifts between free-floating plants and phytoplankton: a review. *Hydrobiologia* 740: 13-24.

- Pretty, J.N., Mason, C.F., Nedwell, D.B., Hine, R.E., Leaf, S. & Dils, R.** 2003. Environmental costs of freshwater eutrophication in England and Wales. *Environmental Science & Technology* 37 (2): 201-208.
- Rast, W. & Holland, M.** 1988. Eutrophication of lakes and reservoirs: a framework for making management decisions. *Ambio* 17 (1): 2-12.
- Redfield, A.C.** 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist* 46 (3): 230-221.
- Reynolds, C.S.** 1983. A physiological interpretation of the dynamic responses of populations of a planktonic diatom to physical variability of the environment. *New phytologist* 95: 41-53.
- Reynolds, C.S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L. & Melo, S.** 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24(5): 417-428.
- Rodríguez-Gallego, L.R., Mazzeo, N., Gorga, J., Meerhoff, M., Clemente, J., Kruk, C., Scasso, F., Lacerot, G., García, J. & Quintans, F.** 2004. The effects of an artificial wetland dominated by free-floating plants on the restoration of a subtropical, hypertrophic lake. *Lakes & Reservoirs*, 9: 203-215.
- Romo, S., Soria, J., Fernández, F., Ouahid, Y. & Barón-solá, A.** 2013. Water residence time and the dynamics of toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 58: 513-522.
- Rousseaux, C.S. & Gregg, W.W.** 2014. Interannual Variation in Phytoplankton Primary Production at A Global Scale. *Remote Sens.* 6: 1-19.
- Salmaso, N., Naselli-Flores, L. & Padisák, J.** 2015. Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshw Biol* 60: 603-619.
- Santana, L.M., Crossetti, L.O. & Ferragut, C.** 2017. Ecological status assessment of tropical reservoirs through the assemblage index of phytoplankton functional groups. *Braz. J. Bot* 40: 695-704.

- Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U.** 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- Saturday, A., Lyimo, T.J., Machiwa, J. & Pamba, S.** 2022. Spatial and temporal variations of phytoplankton composition and biomass in Lake Bunyonyi, South-Western Uganda. *Environ Monit Assess* 194: 288.
- Scheffer, M., Carpenter, S., Foley, J., Folke, C. & Walker, B.** 2001. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature* 413: 591-596.
- Schindler, D.W., Carpenter, S.R., Chapra, S.C., Hecky, R.E. & Orihel, D.M.** 2016. Reducing Phosphorus to Curb Lake Eutrophication is a Success. *Environmental Science & Technology* 50:17 8923-8929.
- Shanab, S.M.M., Shalaby, E.A., Lightfoot, D.A. & El-Shemy, H.A.** 2010. Allelopathic Effects of Water Hyacinth [*Eichhornia crassipes*]. *PLoS One* 5(10) e 13200.
- Simon, M. & Joshi, H.** 2021. A review on green technologies for the rejuvenation of polluted surface water bodies: Field-scale feasibility, challenges, and future perspectives. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9 (4): 105763.
- Sládečková, A.** 1962. Limnological investigation methods for the periphyton (“Aufwuchs”) Community. *Bot. Rev* 28: 286-350.
- Smith, V.H.** 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environ Sci & Pollut Res* 10: 126-139.
- Smith, V.H. & Schindler, D.W.** 2009. Eutrophication science: where do we go from here? *Trends in Ecology & Evolution* 24(4): 201-207.
- Smolders, A.J.P., Lamers, L.P.M., Lucassen, E.C.H.E.T., Van Der Velde, G. & Roelofs, J.G.M.** 2006. Internal eutrophication: How it works and what to do about it a review. *Chemistry and Ecology* 22(2): 93-111.

- Soares, L.M.V. & Calijuri, M.C.** 2022. Restoration from eutrophication in interconnected reservoirs: Using a model approach to assess the propagation of water quality improvements downstream along a cascade system. *Environmental Modelling & Software* 149: 105308.
- Søndergaard, M., Jensen, J.P. & Jeppesen, E.** 2003. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia* 506: 135-145.
- Søndergaard, M., Jeppesen, E., Lauridsen, T.L., Skov, C., Van Nes, E.H., Roijackers, R., Lammens, E. & Portielje, R.** 2007. Lake restoration: successes, failures and long-term effects. *Journal of Applied Ecology* 44: 1095-1105.
- Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R.** 1960. A manual of seawater analysis. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 125: 1-185.
- Tammeorg, O., Chorus, I., Spears, B., Nöges, P., Nürnberg, G.K., Tammeorg, P., Søndergaard, M., Jeppesen, E., Paerl, H., Huser, B., Horppila, J., Jilbert, T., Budzyńska, A., Dondajewska-Pielka, R., Goldyn, R., Haasler, S., Hellsten, S., Härkönen, L.H., Kiani, M., Kozak, A., Kotamäki, N., Kowalczywska-Madura, K., Newell, S., Nurminen, L., Nöges, T., Reitzel, K., Rosińska, J., Ruuhijärvi, J., Silvonen, S., Skov, C., Važić, T., Ventelä, A., Waajen G. & Lüring, M.** 2023. Sustainable lake restoration: From challenges to solutions. *WIREs Water*, e1689.
- Tolotti, M., Thies, H., Cantonati, M., Hansen, C.M.E. & Thaler, B.** 2003. Flagellate algae (Chrysophyceae, Dinophyceae, Cryptophyceae) in 48 high mountain lakes of the Northern and Southern slope of the Eastern Alps: biodiversity, taxa distribution and their driving variables. *Hydrobiologia* 502: 331-348.
- Urabe, J.G., Tek, B.Y., Takehito, S., Tatsuki, S., Nakanishi, M., Masahiro, M. & Eiichiro, N.** 2000. Diel changes in phagotrophy by *Cryptomonas* in Lake Biwa. *Limnology and Oceanography* 45(7): 1558-1563.
- Utermöhl, H.** 1958. Methods of collecting plankton for various purposes are discussed., *SIL Communications*, 1953-1996, 9:(1) 1-38.

- Vadeboncoeur, Y.** 2009. Aquatic Plants and Attached Algae. Encyclopedia of Inland Waters. Disponível em: <https://corescholar.libraries.wright.edu/biology/593>. (acesso em 08-2023).
- 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.
- Visser, P., Ibelings, B., Van Der Veer, B., Koedood, J. & Mur, R.** 1996. Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, the Netherlands. *Freshwater Biology* 36: 435-450.
- Visser, P.M., Ibelings, B.W., Bormans, M. & Huisman, J.** 2016. Artificial mixing to control cyanobacterial blooms: a review. *Aquat Ecol* 50: 423-441.
- Volkova, E.A., Bondarenko, N.A. & Timoshkin, O.A.** 2018. Morphotaxonomy, distribution and abundance of *Spirogyra* (Zygnematophyceae, Charophyta) in Lake Baikal, East Siberia, *Phycologia*, 57:(3) 298-308.
- Wang, C., Jia, H., Wei, J., Yang, W., Gao, Y., Liu, Q., Ge, D. & Wu, N.** 2021. Phytoplankton functional groups as ecological indicators in a subtropical estuarine river delta system. *Ecological Indicators* 126: 107651.
- Welch, E.B.** 1981. The dilution/flushing technique in lake restoration. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 17: 558-564.
- West, W. & West, G.S.** 1909. The British freshwater phytoplankton, with special reference to the desmid-plankton and the distribution of British desmids. *Proc. R. Soc. Lond. B*.81: 165-206.
- Wetzel, R.G.** 1983. *Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague: Dr. W. Junk. ISBN: 978-94-009-7293-3.
- Wetzel, R.G. & Likens, G.E.** 1991. *Limnological Analysis*. 2nd Edition, Springer Verlag, New York.

- Wurtsbaugh, W.A., Paerl, H.W. & Dodds, W.K.** 2019. Nutrients, eutrophication and harmful algal blooms along the freshwater to marine continuum. *WIREs Water* 6: e1373.
- Xu, S., Wang, Y., Huang, B., Wei, Z., Miao, A. & Yang, L.** 2015. Nitrogen and phosphorus limitation of phytoplankton growth in different areas of Lake Taihu, China. *Journal of Freshwater Ecology* 30 (1): 113-127.
- Yan, S.H., Song, W. & Guo, J.G.** 2016. Advances in management and utilization of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in aquatic ecosystems a review. *Critical Reviews in Biotechnology* 37(2): 218-228.
- Zhai, Q., Song, L., Ji, X., Yu, Y., Ye, J., Xu, W. & Hou, M.** 2022. Research progress of advanced oxidation technology for the removal of *Microcystis aeruginosa*: a review. *Environ Sci Pollut Res* 29: 40449-40461.
- Zhang, S., Zhou, Q., Xu, D., Lin, J., Cheng, S. & Wu, Z.** 2010. Effects of sediment dredging on water quality and zooplankton community structure in a shallow of eutrophic lake. *Journal of Environmental Sciences* 22(2): 218-224.
- Zhang, Y., Luo, P., Zhao, S., Kang, S., Wang, P., Zhou, M. & Lyu, J.** 2020. Control and remediation methods for eutrophic lakes in the past 30 years. *Water Sci Technol* 81 (6): 1099-1113.
- Zurawell, R.W., Chen, H., Burke, J.M. & Prepas, E.E.** 2005. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 8(1): 1-37.

Anexo 1

Tabela anexo 1 Lista dos grupos funcionais e táxons encontrados e suas respectivas autorias nos tratamentos controle, aeração, floculante, macrófitas e biorreator de perifíton.

Grupos Funcionais	Táxons
B	<i>Discostella stelligera</i> (Cleve & Grunow) Houk & Klee
D	<i>Fragilaria</i> spp.
D	<i>Nitzschia gracilis</i> Hantzsch
F	<i>Coenochloris fottii</i> (Hindák) P.M.Tsarenko
F	<i>Coenochloris</i> sp.
F	<i>Kirchneriella</i>
F	<i>Oocystis lacustres</i> Chodat
F	<i>Willea rectangularis</i> (A.Braun) D.M.John, M.J.Wynne & P.M.Tsarenko
J	<i>Chlorotetraedron incus</i> (Teiling) Komárek & Kovácik
J	<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris
J	<i>Coelastrum pulchrum</i> Schmidle
J	<i>Desmodesmus brasiliensis</i> (Bohlin) E.Hegewald
J	<i>Desmodesmus communis</i> (E.Hegewald) E.Hegewald
J	<i>Desmodesmus denticulatus</i> (Lagerheim) S.S.An, T.Friedl & E.Hegewald
J	<i>Desmodesmus spinosus</i> (Chodat) E.Hegewald
J	<i>Desmodesmus maximus</i> (West & G.S.West) Hegewald
J	<i>Desmodesmus opoliensis</i> (P.G.Richter) E.Hegewald
J	<i>Desmodesmus protuberans</i> (F.E.Fritsch & M.F.Rich) E.Hegewald
J	<i>Ellipsoidion</i> sp.
J	<i>Goniochloris mutica</i> (A.Braun) Fott
J	<i>Goniochloris</i> sp.
J	<i>Lemmermannia tetrapedia</i> (Kirchner) Lemmermann
J	<i>Lemmermannia komarekii</i> (Hindák) C.Bock & Krienitz
J	<i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda
J	<i>Monactinus simplex</i> var. <i>simplex</i> Almanach de Carlsbad
J	<i>Monactinus simplex</i> var. <i>echinulatum</i> (Wittrock) Pérez, Maidana & Comas
J	<i>Pectinodesmus pectinatus</i> (Meyen) E.Hegewald, M.Wolf, Al.Keller, Friedl & Krienitz
J	<i>Pediastrum duplex</i> Meyen
J	<i>Rhombocystis</i> sp.
J	<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen
J	<i>Tetraëdriella jovetii</i> (Bourrelly) Bourrelly
J	<i>Tetraplektron</i> sp.
J	<i>Tetradesmus dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne
J	<i>Westella botryoides</i> (West) De Wildeman
K	<i>Aphanocapsa delicatissima</i> West & G.S.West
K	<i>Aphanocapsa elachista</i> West & G.S.West
K	<i>Aphanocapsa incerta</i> (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek
K	<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová
K	<i>Thermotichus bigranulatus</i> (Skuja) Komárek & Strunecky
K	<i>Tetrarcus</i> sp.
L _M	<i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans
L _M	<i>Coelomoron tropicale</i> P.A.C.Senna, A.C.Peres & Komárek
L _M	<i>Woronichinia microcystoides</i> (Komárek) Joosten
L _o	<i>Cyanophyceae</i> sp. 1
L _o	<i>Cyanophyceae</i> sp. 2

L _o	<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann
L _o	<i>Parvodinium umbonatum</i> (F.Stein) Carty
L _o	<i>Radiocystis fernandoi</i> Komárek & Komárková-Legnerová
L _o	<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauvageau
M	<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing
M	<i>Microcystis protocystis</i> Crow
MP	<i>Achnantheidium</i> sp.
MP	<i>Bacillariophyta</i> sp.
MP	<i>Characiopsis</i> sp.
MP	<i>Chlorococcum infusionum</i> (Schrank) Meneghini
MP	<i>Navicula</i> sp.
MP	<i>Penium margaritaceum</i> Brébisson ex Ralfs
MP	<i>Pinnularia divergens</i> var. <i>malayensis</i> Hustedt
MP	<i>Ulothrix</i> sp.
N	<i>Cosmarium</i> sp. 1
N	<i>Cosmarium</i> sp. 2
N	<i>Cosmarium trilobulatum</i> Reinsch
N	<i>Euastrum denticulatum</i> var. <i>denticulatum</i> Gay
P	<i>Aulacoseira</i> sp.
P	<i>Closteriopsis longissima</i> (Lemmermann) Lemmermann
P	<i>Closterium ehrenbergii</i> Meneghini ex Ralfs
P	<i>Closterium</i> sp.
P	<i>Pseudostaurastrum</i> sp. 1
P	<i>Pseudostaurastrum</i> sp. 2
P	<i>Pseudostaurastrum</i> sp. 3
P	<i>Staurastrum iversenii</i> Nygaard
P	<i>Staurastrum</i> sp. 1
P	<i>Staurastrum</i> sp. 2
P	<i>Staurastrum</i> sp. 3
P	<i>Staurastrum volans</i> West & G.S.West
S1	<i>Pseudanabaena</i> sp.
S _N	<i>Raphidiopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Aguilera & al.
T	<i>Mougeotia</i> sp. 1
T	<i>Mougeotia</i> sp. 2
T _C	<i>Cyanophyceae</i> sp.
T _D	<i>Oedogonium</i> sp.
T _D	<i>Spirogyra</i> sp.
W1	<i>Euglena</i> sp. 1
W1	<i>Euglena</i> sp. 2
W1	<i>Phacus tortus</i> (Lemmermann) Skvortsov
W2	<i>Trachelomonas armata</i> (Ehrenberg) F.Stein
W2	<i>Trachelomonas</i> cf. <i>curta</i> A.M.Cunha
W2	<i>Trachelomonas</i> cf. <i>volvocinopsis</i> Svirenko
W2	<i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg) Ehrenberg
X1	<i>Ankistrodesmus arcuatus</i> Korshikov
X1	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck
X1	Chlorococcales sp. 1
X1	Chlorococcales sp. 2
X1	Chlorococcales sp. 3
X1	Chlorococcales sp. 4
X1	<i>Drepanochloris uherkovichii</i> Marvan, Komárek & Comas
X1	<i>Monoraphidium circinale</i> (Nygaard) Nygaard

X1	<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová
X1	<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berkeley) Komárková-Legnerová
X1	<i>Monoraphidium irregulare</i> (G.M.Smith) Komárková-Legnerová
X1	<i>Mucidosphaerium pulchellum</i> (H.C.Wood) C.Bock, Proschold & Krienitz
X2	<i>Chlamydomonas sordida</i> Ettl
X2	<i>Coccomonas</i> sp.
X2	<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A.Castro, C.E.M.Bicudo & D.Bicudo
X2	<i>Plagioselmis lacustris</i> (Pascher & Ruttner) Javornický
X3	<i>Chromulina</i> sp.
X3	<i>Schroederia setigera</i> (Schröder) Lemmermann
Y	<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg
Y	<i>Cryptomonas marssonii</i> Skuja
Y	<i>Cryptomonas ovata</i> Ehrenberg
Y	<i>Cryptomonas parapyrenoidifera</i> Skuja
Y	<i>Cryptomonas platyuris</i> Skuja
Y	<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i> Skuja
Y	<i>Cryptomonas</i> sp. 1
Y	<i>Cryptomonas</i> sp. 2
Y	<i>Cryptomonas</i> sp. 3
