

GABRIELA DE JESUS LAVAGNOLLI

Efeitos do aquecimento e enriquecimento por N sobre a biomassa e estrutura da comunidade de algas no perifíton

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

SÃO PAULO

2025

GABRIELA DE JESUS LAVAGNOLLI

Efeitos do aquecimento e enriquecimento por N sobre a biomassa e estrutura da comunidade de algas no perifíton

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

ORIENTADORA: DRA. CARLA FERRAGUT

Ficha Catalográfica elaborada pelo **Serviço de Biblioteca, Mapotecas, Museus, Acervos Arquivísticos e Iconográficos do Instituto de Pesquisas Ambientais**

LAVAGNOLLI, Gabriela de Jesus
L292e Efeito do aquecimento e enriquecimento por N sobre a biomassa e estrutura da comunidade de algas no perifiton----Gabriela de Jesus Lavagnolli, São Paulo, 2025.
51p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, 2025.
Bibliografia.

1. Aquecimento global. 2. Perifiton 3. Nitrogênio I. Título.

CDU: 582.26

BANCA EXAMINADORA

Dra. Carla Ferragut (Orientadora)

Dra. Gisele Carolina Marquardt

Dr. João Alexandre Saviolo Osti

Aos meus pais Ana e Olavo,
por todo incentivo,
compreensão e amor.

Dedico.

"Você não pode esperar construir um mundo melhor sem melhorar os indivíduos. Para esse fim, cada um de nós deve trabalhar para o seu próprio aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, compartilhar uma responsabilidade geral por toda a humanidade."

Marie Curie

Agradecimentos

É com o coração repleto de gratidão que me dirijo a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho. Cada um de vocês deixou uma marca indelével nesta jornada, e é com imenso carinho que expresso minha sincera apreciação.

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha orientadora, Carla Ferragut. Sua generosidade em abrir as portas novamente, sua paciência e empatia foram fundamentais para que eu pudesse trilhar este caminho. Você sempre foi uma fonte de inspiração, e sou uma admiradora do seu comprometimento e humanidade. Obrigada por estender a mão e por acreditar em mim.

Agradeço aos membros da banca do exame de qualificação pelas contribuições, as colocações foram valiosas e muito importante para melhorar e organizar os dados desse estudo.

À equipe do laboratório de Ecologia Aquática, meu profundo agradecimento a Ruan, Leo, Darah, Leticia e Renata. Vocês foram essenciais durante as coletas, análises e seminários, e as trocas de ideias que tivemos enriqueceram não apenas meu trabalho, mas também minha vida.

Aos meus companheiros de jornada, Matheus, Leo Ganz, Alex, Cassia, Tarcísio, Carol e Camila, sou grata por tornarem este percurso mais leve e divertido. A camaradagem e as risadas compartilhadas foram um alicerce que me sustentou em momentos desafiadores. Um agradecimento especial às técnicas e parceiras de trabalho, Dina e Marli. O carinho e a prontidão com que sempre estiveram disponíveis para oferecer suporte no laboratório foram inestimáveis. Vocês são verdadeiras heroínas nos bastidores.

A professora Maria Solange, que me orientou durante os anos de graduação, por me mostrar o caminho e, mesmo sem eu saber explicar como e onde “estudar a qualidade da água”, me apresentou a Limnologia. Agradeço a amizade e por acreditar em mim. Você faz a diferença na vida dos seus alunos e sempre será uma inspiração para mim.

Aos meus maiores incentivadores, que celebraram cada conquista e cuidaram de mim nos momentos de dúvida, Gilson, Matheus, Mariana, Carol, Fernanda, Raquel, Gabriel, Thaisa e Cleiton, amo vocês profundamente. A força que vocês me deram foi um presente que levarei para sempre.

À minha família, Ana, Olavo, Matheus e Evandro, sou eternamente grata por me sustentarem quando eu mais precisei e por me impulsionarem quando as forças pareciam escassas. Sem vocês, eu não seria nada.

Por fim, à minha avó Rosa, que é a essência do amor em minha vida, e ao meu avô Benedito, que, mesmo não estando mais presente, continua a me inspirar com seu legado de apoio e incentivo. Vocês estão sempre em meu coração. A todos vocês, minha eterna gratidão. Esta conquista é tão sua quanto minha. Obrigada por fazerem parte da minha história.

Resumo

O aquecimento global pode favorecer a desnitrificação nos ecossistemas aquáticos e, conseqüentemente, causar limitação por nitrogênio para a comunidade de algas e cianobactérias. O presente estudo analisou o efeito do aquecimento sobre o perifíton em condições de alta disponibilidade de nitrogênio, visando analisar as mudanças na biomassa e estrutura da comunidade de algas e cianobactérias em um possível cenário futuro. Dois questionamentos foram respondidos: *i)* A biomassa e o biovolume de algas e cianobactérias no perifíton podem ser afetados negativamente pelo aquecimento em condições de alta disponibilidade de N?; *ii)* Com base na variabilidade da comunidade de algas e cianobactérias em dois cenários de temperatura, as espécies descritoras foram associadas ao aquecimento e a variação na disponibilidade de N? Para responder os questionamentos, um experimento foi realizado para simular um ambiente com elevada disponibilidade de nitrogênio e elevada temperatura para o período de inverno. A estrutura da comunidade de algas e cianobactérias perifíticas em substrato artificial foi avaliada durante um período de colonização de 24 dias. A amostragem da água e do perifíton foram realizadas nos dias 3, 10, 17 e 24 do período experimental. O experimento foi realizado em mesocosmos inseridos em câmaras de crescimento com condições controladas de luz, temperatura e umidade (câmara controle e aquecida). O experimento foi constituído de dois tratamentos em réplicas (n = 4): *tratamento com adição de nitrogênio e sem aquecimento*; **AN** *tratamento com adição de nitrogênio e com aquecimento*. Com base nos dados do IPCC, a temperatura do ambiente foi mantida elevada na câmara aquecida, sendo 5,7° C maior do que o ambiente da câmara controle. O aquecimento do ambiente teve efeito sobre as condições abióticas e bióticas da água, especialmente sobre a concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido, que foi significativamente reduzida. Os resultados mostraram que o aquecimento levou a perda N do sistema. Apesar da ausência de diferença significativa entre tratamentos, a biomassa fotossintética do perifíton foi reduzida (44,5%) com aumento de temperatura e em baixa de disponibilidade de nitrogênio inorgânico

dissolvido. Apesar das fases mais avançadas na colonização apresentarem os maiores valores de massa seca livre de cinzas, o componente algal foi bastante reduzido, conforme evidenciado pelo aumento da razão MSCL:Clorofila-a. O aquecimento aliado a redução do nitrogênio inorgânico dissolvido tornou a comunidade mais heterotrófica ao longo da colonização. O aquecimento causou mudanças na estrutura da comunidade de algas e cianobactérias ao longo da colonização, redirecionando mudanças na composição de espécies ao longo da colonização. O aquecimento favoreceu o aumento do biovolume médio de espécies mixotróficas (*Trachelomonas volvocinopsis* Svirenko, *Trachelomonas lacustris* Drežepolski) e desmídias pequenas (<20 µm de máxima dimensão linear; *Staurastrum* sp. e *Cosmarium pachydermum* P. Lundell). Os resultados encontrados sugerem que o aquecimento global pode reduzir seu papel ecológico do perifiton nos ecossistemas lacustres devido à redução da biomassa fotossintética, biovolume algal e mudanças na composição de espécies. Os resultados obtidos podem aprimorar a compreensão sobre as respostas da biomassa e a estrutura das comunidades de algas e cianobactérias no perifiton de lagos mesotróficos, especialmente em um cenário futuro de aquecimento global.

Palavras-chave: algas e cianobactérias, biomassa, enriquecimento por nitrogênio, perifiton, temperatura

Abstract

Global warming can favor denitrification in aquatic ecosystems and, consequently, cause nitrogen limitations for the algal and cyanobacterial community. This study analyzed the warming effect on periphyton under N-enriched conditions, evaluating the changes in the biomass and algal and cyanobacterial community structure. Two questions were answered: i) Can the biomass and biovolume of algae and cyanobacteria in periphyton be negatively affected by warming under N-enriched conditions? ii) Based on the variability of the algal and cyanobacterial community under two temperature scenarios, were the descriptor species associated with warming and the variation in N availability? To answer these questions, an experiment was conducted to simulate an environment with high nitrogen availability and high temperatures during the winter period. The community structure of periphytic algae and cyanobacteria on an artificial substrate was evaluated during a 24-day colonization period. Water and periphyton sampling were performed on days 3, 10, 17, and 24 of the experimental time. The experiment was conducted in mesocosms inserted in growth chambers with controlled light, temperature, and humidity conditions (control and warming chamber). The experiment consisted of two replicate treatments ($n = 4$): treatment with nitrogen addition and without warming; and treatment with nitrogen addition and warming (IPPC, 5.7°C). Warming the ambient temperature influenced the abiotic and biotic conditions of the water, especially on the dissolved inorganic nitrogen concentration, which was significantly reduced. The results showed that warming led to N loss. Despite the absence of significant differences between treatments, periphyton photosynthetic biomass decreased (44.5%) with increasing temperature and decreasing dissolved inorganic nitrogen availability. Although the most advanced colonization phases presented the highest ash-free dry mass, the algal component was significantly reduced, as evidenced by the increased AFDM: Chlorophyll-*a* ratio. The periphyton was more heterotrophic throughout colonization. Warming caused changes in community structure of algae and cyanobacteria throughout colonization, redirecting changes

in species composition. Warming favored an increase in the average biovolume of mixotrophic species (*Trachelomonas volvocinopsis*, *Trachelomonas lacustris* Dreżepolski) and small desmids (<20 µm MDL; *Staurastrum* sp. and *Cosmarium pachydermum* P. Lundell). The results suggest that global warming may reduce the ecological role of periphyton in the lake ecosystems due to reduced photosynthetic biomass, algal biovolume, and changes in species composition. The results obtained may improve the understanding of the biomass responses and structure of algal and cyanobacterial communities in the periphyton of mesotrophic lakes, especially in a future global warming scenario.

Keywords: algae and cyanobacteria, biomass, nitrogen enrichment, periphyton, temperature

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1. Parte da interna da câmara de crescimento (A), caixas de polietileno com água do lago e enriquecimento (B), substrato artificial colonizado pelo perifíton (C) e pesquisadores realizando amostragem nos mesocosmos no interior das câmaras (D).....	5
Figura 2. Lago das Ninféias mostrando os bancos de macrófitas (cedida por B.G. Pellegrini 2009) (A), galões de polietileno para a coleta de água do lago (B), transferência da água do lago para os mesocosmos (C), realização do enriquecimento no interior das câmaras (D) e mesocosmos instalados contendo o substrato de colonização e a água do lago, após enriquecimento (E).....	8
Figura 3. Esquema mostrando as principais etapas do delineamento experimental e a disposição dos tratamentos dentro das câmaras de crescimento.....	9
Figura 4. Variação média diária da temperatura do ar na câmara sem aquecimento e com aquecimento durante o período experimental.....	13
Figura 5. Variação temporal da concentração de temperatura da água (A), pH (B), oxigênio dissolvido (C), CO ₂ livre (D), condutividade (E), fósforo total dissolvido (F), nitrogênio total (G), fósforo total (H), luz (I) (n = 4; DP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).....	16
Figura 6. Variação temporal da concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) (A) e a razão molar N:P (B) (n = 4; DP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).....	17
Figura 7. PCA das variáveis ambientais nos tratamentos com alta disponibilidade de nitrogênio sem aquecimento e aquecido. Abreviação dos escores: os primeiros números indicam o dia experimental (3, 10, 17, 24), a letra N indica tratamento N e AN tratamento AN e o último número indica a réplica (1, 2, 3, 4).....	18
Figura 8. Clorofila-a do perifíton (A), massa-seca-livre-de-cinzas (MSLC; B) e razão MSLC:Clorofila do perifíton (C) (n = 4; EP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).....	20

Figura 9. Biovolume total das algas e cianobactérias do perifiton (n = 4; EP) ao longo do período experimental, nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN).....	21
Figura 10. Biovolume relativo dos grupos de algas e cianobactérias do perifiton (n = 4) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN) ao longo do período experimental.....	22
Figura 11: Biovolume relativo das espécies de algas e cianobactérias descritoras da comunidade perifítica (n = 4) nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN) ao longo do período experimental.....	24
Figura 12: Biovolume médio das espécies de algas e cianobactérias descritoras da comunidade perifítica nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN) no período experimental.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil de temperatura aplicado nas duas câmaras de crescimento controlado.....	7
Tabela 2. Média e desvio padrão das variáveis abióticas nos tratamentos durante o período experimental. Abreviações: N tratamento com adição de nitrogênio e sem aquecimento e tratamento AN com adição de nitrogênio e aquecimento.....	15

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Material e métodos.....	3
2.1. Delineamento experimental.....	3
2.1.1 Amostragem e tempo de colonização do perifíton.....	5
2.1.2. Água a ser utilizada.....	6
2.1.3. Temperatura aplicada.....	6
2.1.4. Enriquecimento por nitrogênio.....	8
2.1.5. Variáveis ambientais analisadas.....	9
2.1.6. Atributos analisados da comunidade perifítica.....	10
2.1.7. Tratamento estatístico.....	11
3. Resultados.....	12
3.1. Variáveis analisadas no ambiente das câmaras de crescimento.....	12
3.2. Variáveis analisadas na água dos tratamentos.....	13
3.3. Comunidade perifítica.....	18
3.3.1. Biomassa.....	18
3.3.2. Biovolume total de algas e cianobactérias.....	21
3.3.3. Composição florística	21
3.3.4. Biovolume das espécies descritoras da comunidade de algas e cianobactérias.....	23
4. Discussão.....	25
Referências bibliográficas.....	31

1. Introdução

O perifiton é uma comunidade chave nos ecossistemas aquáticos, atuando na produção primária, nos ciclos biogeoquímicos e teias alimentares, especialmente em lagos e reservatórios pequenos e rasos, onde são geralmente abundantes (Vadeboncoeur et al. 2001; Vadeboncoeur & Steinman 2002; Dodds 2003; Tarkowska-Kukuryk, 2013). O perifiton é uma complexa comunidade de microrganismos constituída por algas, bactérias, fungos, animais e detritos orgânicos e inorgânicos aderidos a substratos submersos orgânicos ou inorgânicos, vivos ou mortos (Wetzel, 1983). Além do papel ecológico, o perifiton tem a capacidade de retenção de diversas substâncias, como o fósforo. A retenção de P pelo perifiton é uma estratégia determinante para o papel da comunidade na biorremediação de ambientes eutrofizados (Lu et al. 2014). Estima-se que perifiton possa ser responsável por imobilizar aproximadamente 60% do fósforo lagos de áreas vegetadas (Pacheco 2021). Contudo, estudos têm demonstrado que as mudanças climáticas provocam profundas alterações na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas lacustres rasos devido a alterações nos regimes hidrológicos e térmicos e processos biogeoquímicos, o que gera impactos diretos sobre a biodiversidade e produção primária (Jeppesen et al. 2010; Heino et al. 2021). Assim, as mudanças climáticas afetam diretamente as comunidades biológicas aquáticas, como o perifiton (Kazanjian et al. 2018). Estudos em região temperada tem demonstrado que o aumento da temperatura altera o crescimento da comunidade de algas perifíticas, podendo favorecer seu aumento (Cao et al. 2017; Mahdy et al. 2015) ou diminuição (Hao et al., 2020; Pacheco et al., 2021) dependendo das condições ambientais do ecossistema. As respostas da biomassa e da produção primária do perifiton ao aquecimento podem variar em função da sazonalidade e tipo de substrato (Hao et al., 2020; Kazanjian et al., 2018). Essa variabilidade aumenta a complexidade na compreensão dos efeitos do aquecimento global sobre o perifiton em cenários futuros, evidenciando a necessidade de estudos para melhorar previsão das mudanças na estrutura da comunidade em cenários futuros.

As mudanças climáticas podem levar a alterações na disponibilidade de nutrientes nos ecossistemas, influenciando a disponibilidade e estequiometria, o que tem reflexos diretos sobre os produtores primários (Kosten et al. 2009; Winder & Sommer 2012; Mahdy et al. 2015). Em lagos de baixa produtividade, o aquecimento pode afetar a sazonalidade da limitação de N, transformando a limitação de um único nutriente em co-limitação de NP para o perifíton (Trochine et al. 2017). Além disso, o aquecimento global tende a favorecer a produção fitoplanctônica em detrimento da bentônica em lagos rasos, o que pode significar aumento de competição por recursos e sombreamento (Vander-Zanden & Vadeboncoeur 2020; Pacheco et al. 2022). Em contraposição, a oligotrofização de ambientes eutróficos parece favorecer a produção perifítica/bentônica sobre a planctônica (Liboriussen & Jeppesen, 2003; Vadeboncoeur et al., 2003). Apesar do fósforo ser comumente o nutriente limitante primário das comunidades algais e o elemento chave no controle da eutrofização (Schindler et al. 2012), o nitrogênio é também um elemento desencadeador desse processo (Hungate et al. 2003; Yao et al. 2017). Estudos tem demonstrado que o aquecimento pode alterar a disponibilidade de nitrogênio na água, especialmente devido ao aumento da desnitrificação (Weyhenmeyer et al., 2007). Veraart et al. (2011) estimaram que um aumento de 3°C possa dobrar a taxa de desnitrificação em lagos rasos. O aquecimento e os baixos níveis de N podem resultar em mudanças na composição de espécies no fitoplâncton (Cottingham et al. 2015) e perifíton (Pacheco et al. 2021).

Estudos indicam que a combinação do aquecimento e limitação por N pode favorecer o aumento de cianobactérias diazotróficas (Cottingham et al. 2015; Pacheco et al. 2021), as quais poderiam compensar a deficiência relativa de N com fixação atmosférica de N₂ (Elliott 2012). Contudo, estudos apontam que a fixação de N₂ por cianobactérias não pode compensar baixos níveis de N, pois é um processo metabólico de elevado custo energético (Reynolds, 2006). Em escala ecossistêmica, a desnitrificação pode exceder as taxas de fixação de N₂ das cianobactérias (Scott et al. 2019). Embora a relação entre a variação na disponibilidade de N e

limitação sobre a produção de fitoplâncton seja bem estabelecida em ecossistemas de lagos (ex. Axler et al. 1981; Paerl et al. 2014; Scott et al. 2019), ainda existem lacunas no entendimento dessa relação para as comunidades perifíticas (Cao et al. 2017), especialmente em cenários de aquecimento global (Vargas & Novelo 2007; Pacheco et al. 2021).

Em relação aos ecossistemas lacustres, partimos do pressuposto que o aquecimento global pode aumentar a desnitrificação, superando a fixação biológica de N_2 (Weyhenmeyer et al., 2007; Veraart et al., 2011; Scott et al., 2019), além de favorecer a biomassa fitoplâncton (Kraemer et al. 2017). Esses efeitos do aquecimento podem influenciar o acúmulo de biomassa e estrutura da comunidade de algas (Pacheco et al. 2022; Sapucaia et al. 2024) e a composição química do perifíton (Kazanjan et al. 2017). Nesse sentido, investigamos o efeito do aquecimento sobre a biomassa, composição de espécies de algas e conteúdo de fósforo no perifíton em ambiente enriquecido por nitrogênio em dois cenários de temperatura. Nós analisamos o efeito do aquecimento sobre as mudanças no perifíton ao longo do processo de colonização. Nós hipotetizamos que o aquecimento: **(i)** pode reduzir o incremento de biomassa e biovolume algal no perifíton devido a mudanças na limitação por nutrientes e disponibilidade de luz; **(ii)** pode reduzir o conteúdo de P estocado na comunidade, **(iii)** pode modificar a composição de espécies alterando espécies descritoras da comunidade. Este estudo tem como objetivo contribuir para a melhorar as previsões sobre as alterações no perifíton e, por consequência suas funções no ecossistema, diante de cenários futuros de aquecimento global.

2. Material e métodos

2.1. Delineamento experimental

Para avaliar o efeito do enriquecimento por N sobre o perifíton em dois cenários de temperatura (I-cenário atual; II-cenário futuro), o experimento foi realizado em duas câmaras de crescimento (sem aquecimento e aquecida) com condição ambiental controlada de temperatura, luz e umidade do ar (Figura 1A). Os mesocosmos foram inseridos nas câmaras,

para avaliação semanal, durante 24 dias (3d, 10d, 14d, 24d) para determinação das variáveis físicas, químicas e biológicas. Para avaliar o efeito do aquecimento sobre a estrutura da comunidade de algas e cianobactérias do perifiton em condições de alta disponibilidade de nitrogênio, dois tratamentos com réplicas ($n = 4$) foram realizados: **N**, *tratamento com adição de nitrogênio e sem aquecimento* (Câmara não-aquecida; cenário atual; temperatura máxima de 25,1 °C); **AN** *tratamento com adição de nitrogênio e com aquecimento* (Câmara aquecida; simulando cenário futuro; temperatura máxima de 29°C). Além disso, um tratamento sem adição de N e sem aquecimento foi inserido na câmara não aquecida (cenário atual; 25,1 °C) com a finalidade de avaliar efeito isolado do enriquecimento por N sobre o perifiton. Para evitar possível perda de água por evaporação, e garantir que a umidade fosse a mesma em ambas as câmaras, inserimos caixas com água do lago na câmara II, a fim de equiparar as condições nas câmaras de crescimento.

O experimento foi realizado em mesocosmos, os quais consistiam em caixas de polietileno de alta densidade (PEAD) com capacidade para 60 litros previamente esterilizadas (Figura 1 A e B), onde os substratos para colonização do perifiton (lâminas de vidro com área total de 497,6cm) foram inseridos (Figura 1C). A comunidade perifítica foi analisada em substrato artificial para evitar a influência do substrato vivo (Burkholder & Wetzel 1990, Murdock & Dodds 2007, Bergey 2008). Para padronização, os mesocosmos foram distribuídas de forma aleatória (Figura 1D), a partir de sorteio, sendo as mesmas, opacas para que a radiação chegue apenas na superfície dos tratamentos. Os mesocosmos foram preenchidos com água no litoral do Lago das Ninfeias, que é um lago mesotrófico com alta diversidade de algas perifíticas (Fonseca & Bicudo 2011; Santos & Ferragut, 2019, Tavares et al. 2019). O lago e as câmaras de crescimento controlado estão ambos localizados no PEFI - Parque Estadual das Fontes do Ipiranga na região metropolitana da cidade de São Paulo. O PEFI constitui-se em uma grande área verde com vegetação natural (Mata Atlântica). Situa-se na região sudeste da cidade e apresenta uma área total de 526,38 ha e altitude média de 798 m (Bicudo et al. 2002). No lago,

a água foi coletada em galões devidamente esterilizados e distribuída de forma aleatória nos mesocosmos a fim de garantir a homogeneidade nos tratamentos.

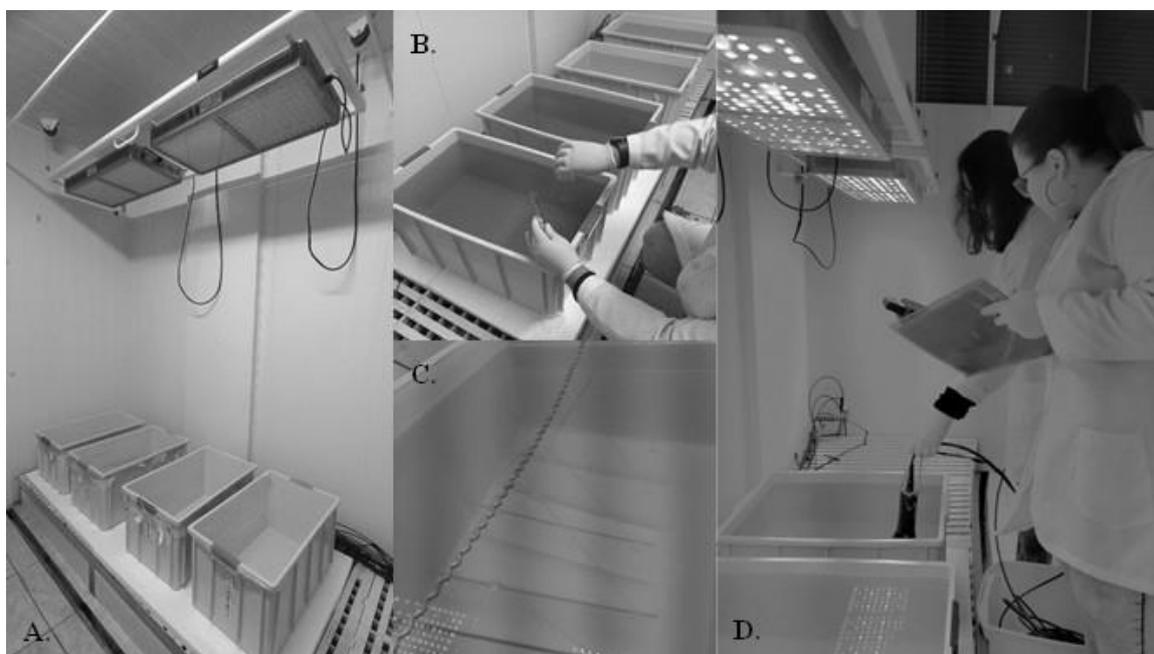


Figura 1. Parte da interna da câmara de crescimento (A), caixas de polietileno com água do lago e enriquecimento (B), substrato artificial colonizado pelo perifiton (C) e pesquisadores realizando amostragem nos mesocosmos no interior das câmaras (D).

2.1.1. Amostragem e tempo de colonização do perifiton

O tempo de colonização do perifiton foi de 24 dias, que é considerado suficiente para a biomassa atingir o pico no reservatório onde a água foi coletada (Casartelli et al. 2016). Os substratos artificiais para colonização do perifiton foram submersos na água (T0) dos mesocosmos, após um período de 3 dias de aclimação (10/julho a 03/agosto). As lâminas de vidro colonizadas foram retiradas cuidadosamente para evitar o desprendimento da comunidade. O material perifítico foi removido das placas de vidro através de raspagem com pincel e jatos de água destilada com volume conhecido. As amostras do perifiton coletadas foram acondicionadas em frascos plásticos opacos, dispostas em caixas de coleta contendo gelo e levadas para o laboratório. No laboratório, as amostras do perifiton foram diluídas com

volume conhecido de água e divididas em alíquotas para as posteriores análises. Um total de 48 amostras do perifíton e 108 amostras de água foram analisadas.

2.1.2. Água a ser utilizada

Os mesocosmos (caixas) foram preenchidas com a água de um lago mesotrófico (Lago das Ninféias, PEFI, São Paulo). O Lago das Ninféias é um reservatório pequeno, raso e mesotrófico, formado pelo barramento do córrego Pirarungaua com finalidade paisagística no Jardim Botânico de São Paulo (Figura 2A). Este reservatório apresenta uma região litorânea extensa e com grande abundância de macrófitas aquáticas (Casartelli et al. 2016). A água foi coletada por meio de galões de polietileno previamente esterilizados (Figura 2B). Optou-se por usar a água do Lago das Ninféias porque: i) a concentração média anual nitrogênio inorgânico dissolvido de 150µg/L (Banco de Dados, Carla Ferragut), a qual evitaria uma sobrecarga de N e a consequente limitação extrema de P devido ao desequilíbrio estequiométrico; ii) o perifíton tem elevada riqueza de espécies (Santos et al. 2020), o que favorece a identificação de espécies/grupos associadas as mudanças na disponibilidade de N; iii) proximidade do lago com a câmara de crescimento, o que facilitou o transporte da água. Amostras de água foram coletadas manualmente na subsuperfície por meio da introdução de frascos de polietileno em cada ponto de amostragem para determinação das variáveis limnológicas.

2.1.3. Temperatura aplicada

O experimento foi realizado no período seco (06/julho a 03/agosto/2023) uma vez que estudos anteriores no mesmo lago apontaram que a biomassa do perifíton tende a ser maior no outono-inverno do que em outras estações (Santos et al. 2020) e a comunidade perifítica é dominante na biomassa de algas. Por esta razão, a temperatura do inverno foi utilizada como referência. Considerando a temperatura média anual nos últimos 10 anos na região sul de São Paulo, o perifíton foi exposto a uma temperatura média de 25,1°C nos tratamentos sem

aquecimento (câmara 1). No tratamento com aquecimento (câmara 2), o perifíton foi exposto a um aumento de 5,7°C considerando as previsões do IPCC (2021; <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>). Em ambas as câmaras, as unidades experimentais foram expostas as oscilações de temperatura, simulando o perfil de temperatura médio diário (Tabela 1). Para determinação do perfil diário de temperatura, os dados climáticos de temperatura foram fornecidos pela Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, campus da Água Funda, que se localiza cerca de 200 metros do local de estudo (estacao.iag.usp.br).

Tabela 1 – Perfil de temperatura aplicado nas duas câmaras de crescimento controlado

Perfil de Temperatura			
Câmara I - sem aquecimento		Câmara II - aquecida	
Horário	Temperatura	Horário	Temperatura
1 - 4	14,2	1 - 4	19,9
5 - 6	13,9	5 - 6	19,6
7 - 8	15,0	7 - 8	20,7
9 - 10	18,6	9 - 10	24,3
11 - 12	21,2	11 - 12	26,9
13 - 14	22,6	13 - 14	28,3
15 - 16	22,1	15 - 16	27,8
17 - 18	19,0	17 - 18	24,7
19 - 20	16,6	19 - 20	22,3
21 - 24	15,2	21 - 24	20,9

2.1.4. Enriquecimento por nitrogênio

Para aumentar a concentração de N na água, foi aplicado nitrato de amônio nos tratamentos N+, na câmara I com temperatura ambiente e no tratamento AN+, na câmara II, com o aumento da temperatura, para que assim, possamos detectar diferenças no conteúdo de N com e sem aumento de temperatura. O nitrato de amônio PA foi o sal usado no enriquecimento do tratamento N+ e AN+ (Figura 2C e D). A quantidade de sal adicionada em cada mesocosmo foi de 0,01871g de NO_3NH_4 , usamos como base a concentração de N média, já conhecida, na água do lago (213,49 $\mu\text{g/L}$ de DIN). Considerando que o perifíton é P-limitante no Lago das Ninféias (Lambrecht et al. 2019), uma concentração de 0,00247g de KH_2PO_4 foi adicionado nos tratamentos N+ e AN+ para evitar a P-limitação (Figura 2D). Essa limitação pode ser uma variável de confusão. A figura 3 mostra o fluxograma das principais etapas do delineamento experimental.



Figura 2. Lago das Ninféias mostrando os bancos de macrófitas (cedida por B.G. Pellegrini 2009) (A), galões de polietileno para a coleta de água do lago (B), transferência da água do lago para os mesocosmos (C), realização do enriquecimento no interior das câmaras (D) e mesocosmos instalados contendo o substrato de colonização e a água do lago, após enriquecimento (E).

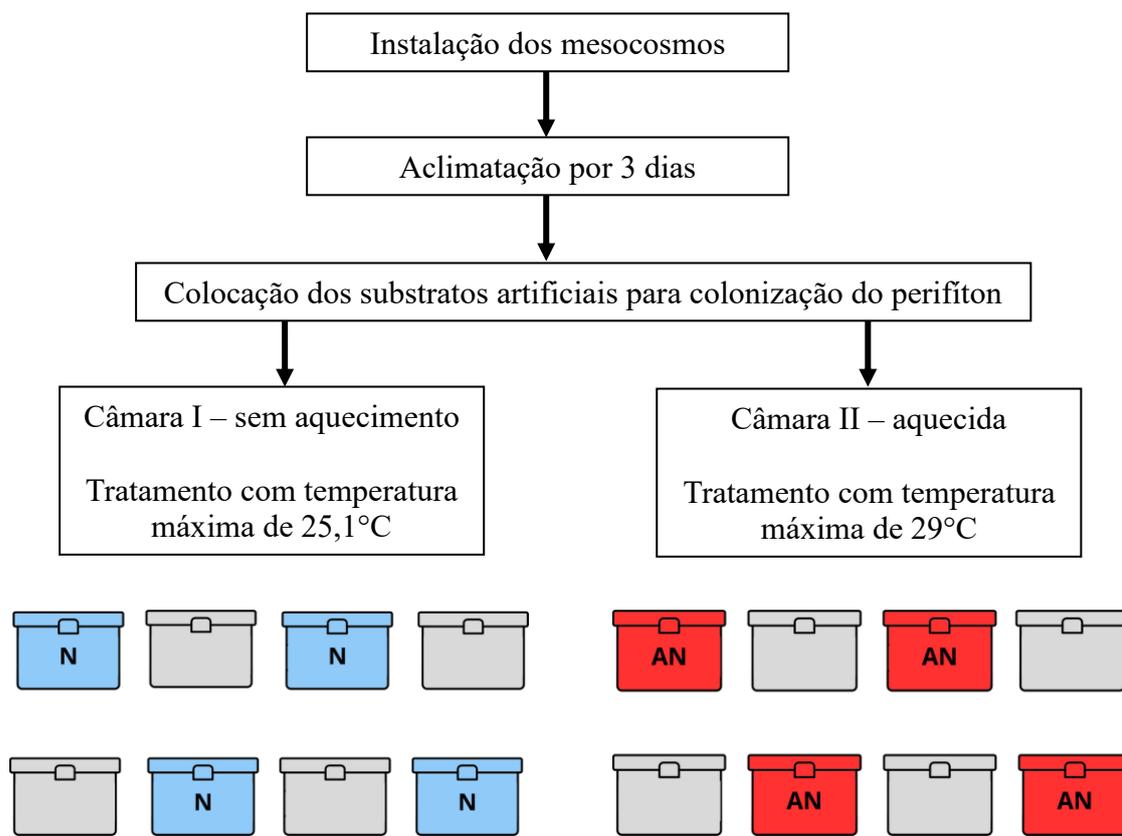


Figura 3. Esquema mostrando as principais etapas do delineamento experimental e a disposição dos tratamentos dentro das câmaras de crescimento, sendo tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).

2.1.5. Variáveis ambientais analisadas

As seguintes variáveis abióticas foram analisadas nos mesocosmos: temperatura, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos, pH (sonda subaquática multiparâmetros Horiba U53), radiação subaquática (PAR, luxímetro Li-Cor 250). Conforme métodos descritos no APHA (2012), foram determinadas as concentrações de alcalinidade (método da titulação), CO₂ livre e bicarbonato (calculado a partir da alcalinidade e pH), nitrito (método da diazotação) e nitrato (método da redução do cádmium), ortofosfato (método ácido

ascórbico), nitrogênio total e fósforo total (método do persulfato alcalino) e amônio (método do fenol).

2.1.6. Atributos analisados da comunidade perifítica

Medidas de Biomassa

Para determinação da biomassa fotossintética, a concentração de clorofila-*a* (com a correção de feofitina; mg/m²) do perifíton foi obtida através da filtração das amostras em filtros de fibra de vidro (Whatman GF/F) e pela extração da clorofila-*a* com etanol (90%), conforme Sartory & Grobblelar (1984).

Para determinação da massa total e biomassa (g/m²), a massa seca (MS) e massa seca livre de cinzas (MSLC) do perifíton foram determinadas através da filtração da amostra em filtro de fibra de vidro Whatman GF/F em bomba a vácuo sob baixa pressão (0,3 atm), conforme método descrito no APHA (2012). Os filtros foram previamente calcinados (500 °C; 1 hora) para eliminar possíveis resíduos orgânicos, em seguida, pesados em balança analítica para determinação da massa (gramas). Após filtração, os filtros contendo o perifíton foram colocados em estufa à 105 °C e pesados a cada 24 horas até obtenção de massa constante. Posteriormente, os filtros com material foram levados à mufla a 500 °C por 1 hora para obtenção da massa de cinzas e, posterior, cálculo da MSLC.

Estrutura da comunidade de algas e cianobactérias perifíticas

Para avaliar as mudanças na composição de espécies do perifíton, amostras foram fixadas com formalina 4% para análise qualitativa ao microscópio óptico (Zeiss Axioscop com câmara acoplada). A identificação das algas teve como base publicações regionais, principalmente referentes ao PEFI (Bicudo & Menezes 2006; Tucci et al. 2006; Ferragut et al. 2005), além de literatura internacional especializada (ex. Komárek & Fott 1983). As amostras do perifíton para análise quantitativa foram fixadas e preservadas em Lugol acético e, mantidas

no escuro até o momento da análise. Os dados de contagem das algas e cianobactérias foram obtidos a partir de um banco de dados do Laboratório de Ecologia Aquática do Instituto de Pesquisas Ambientais. A contagem das algas foi realizada em microscópio invertido (Axio Observer D1, Zeiss com câmera digital acoplada) e seguiu o método de Utermöhl (aumento de 400x). O critério de contagem usado foi a curva de rarefação de espécies. A densidade (ind cm^{-2}) e o biovolume ($\mu\text{m}^3 \text{ cm}^{-2}$) de algas e cianobactérias foram determinados. O biovolume de algas e cianobactérias foi determinado pelo biovolume médio das espécies descritas para os reservatórios da área de estudo em Fonseca et al. (2014) e, quando a espécie estava ausente na lista, o biovolume foi estimado de acordo Hillebrand et al. (1999). Espécies com densidade maior do que 50% da densidade total foram consideradas espécies dominantes. Foram consideradas espécies descritoras as algas e cianobactérias com contribuição para biovolume total maior do que 2%. A riqueza de espécies foi determinada com base no número total de táxons quantificados nas amostras.

2.1.7. Tratamento estatístico

Para análise descritiva univariada dos abióticos e bióticos, a média aritmética foi usada para medidas de tendência central e desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) e o coeficiente de variação (CV) foram usados como medidas de dispersão dos dados.

Realizou-se a análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA one-way) para detecção de diferença significativa das variáveis abióticas entre tratamentos (N e AN) e dias ($\alpha = 0,05$). A normalidade dos dados e homogeneidade de variância foram checadas. O teste de Tukey foi realizado para a comparação múltipla de médias entre tratamentos em cada dia ($\alpha = 0,05$). Testes foram realizados no programa Sigma Plot 12.0.

Os dados abióticos foram analisados conjuntamente através da Análise dos Componentes Principais (PCA) a partir de matriz de covariância e dos dados transformados por

$\log(x + 1)$. A correlação de Pearson (r) das variáveis ambientais e dos escores dos eixos 1 e 2 foram analisados. PCA foi realizada no programa PC-ORD 6.0 (McCune & Mefford 2011).

A diversidade e a dominância de espécies do perifíton foram determinadas no programa estatístico Past 4.17 (Hammer et al. 2001). A análise permutacional de variância multivariada (PERMANOVA 2-fatores) foi aplicada para determinar a diferença significativa na estrutura da comunidade de algas e cianobactérias no perifíton entre o tratamento com e sem aquecimento. Esta análise foi executada usando a similaridade de Bray-Curtis (Past 4.17; Hammer et al. 2001). Para detectar diferença nos dados de biomassa (clorofila-a; MSLC) entre tratamentos, foi realizado a RM-ANOVA two-way e o teste de Tukey foi realizado para a comparação múltipla de médias entre tratamentos em cada dia ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis analisadas no ambiente das câmaras de crescimento

As duas câmaras de crescimento foram programadas previamente e o perfil térmico foi aplicado ao longo dos 28 dias de colonização (Tabela 1). Nas câmaras de crescimento, a diferença média de temperatura do ar entre a câmara 1 (sem aquecimento; média = 17,3 °C; n = 2397) e a câmara 2 (aquecimento; média = 23,0 °C; n = 2397) foi de 5,7°C durante o período experimental (Figura 4).

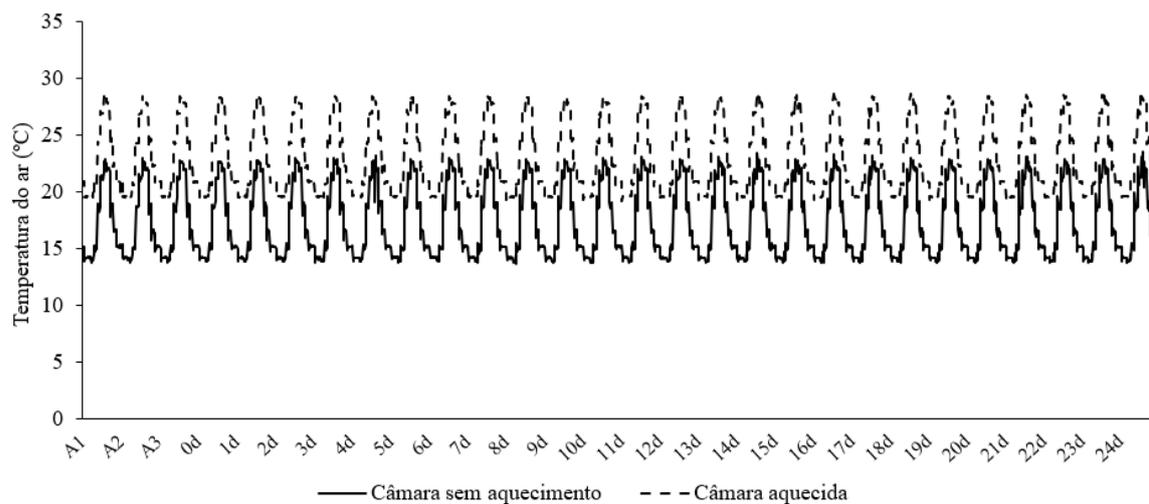


Figura 4. Variação média diária da temperatura do ar na câmara sem aquecimento e com aquecimento durante o período experimental.

3.2. Variáveis analisadas na água dos tratamentos

A Tabela 2 resume as condições limnológicas nos tratamentos durante o período experimental, bem como os resultados da análise de variância (two-way RM-ANOVA). A temperatura da água foi diferente entre tratamentos e sempre maior no tratamento AN, onde o ambiente era aquecido (Figura 5A). Os valores de pH foram diferentes entre tratamentos, dias e a interação entre fatores foi significativa, sendo os valores mais elevados no tratamento NA (Figura 5B). Em relação à condutividade, ocorreu uma tendência de aumento nos três tratamentos ao longo do período de estudo e os valores foram diferentes entre tratamentos e dias (Figura 5E). A quantidade de TDS aumentou com o aquecimento (Tabela 2). O aquecimento não teve efeito significativo sobre alcalinidade, OD, CO₂ livre e radiação subaquática.

Em relação aos nutrientes, a concentração de P-PO₄ esteve abaixo do limite do método e a de PDT foi acima do limite apenas no último dia (Figura 5E e F, respectivamente). A concentração de PT apresentou foi diferente entre tratamentos e os maiores valores foram encontrados no tratamento com aquecimento (exceto dia 17; Figuras 5G). O aquecimento

promoveu redução da concentração do NT (exceto dia 17; Figura 5H), bem como do NID (Figura 6A). No período experimental, a redução média de NID foi de 31,9%. A concentração de amônio e nitrato foram diferentes entre dias e tratamentos e a interação entre os fatores foi significativa (Tabela 2). A razão molar diminuir com o passar do tempo em ambos os tratamentos, mas, o aquecimento tornou o meio N limitante nos dias 10, 17 e 24 (Figura 6B). Destaca-se que a condição inicial era de P-limitação em ambos os tratamentos e o aquecimento promoveu a maior limitação por N.

Tabela 2. Média e desvio padrão das variáveis abióticas nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e tratamento com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).

	Tratamento N	Tratamento AN	Tratamento		Tempo		Interação	
			F	P	F	P	F	P
Alcalinidade (mEq L ⁻¹)	0,23±0,07	0,26±0,07	ns	ns	34,77	<0,001	15,91	<0,001
Bicarbonato (HCO ₃ ;µg L ⁻¹)	13,64±4,32	15,31±3,89	ns	ns	91,07	<0,001	52,66	<0,001
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	50,0±2,89	54,5±8,38	4,84	0,07	89,80	<0,001		ns
CO ₂ livre (mg L ⁻¹)	0,35±0,45	0,14±0,12	----	----	----	----	----	----
Fósforo total dissolvido (µg L ⁻¹)	<10	<10	----	----	----	----	----	----
Fósforo total (µg L ⁻¹)	16,3±3,0	18,1±3,8	11,30	0,015	5,74	0,006	13,60	<0,001
Luz da água (µmol s ⁻¹ cm ⁻²)	394,4±42,4	406,5±53,1	----	ns	7,32	0,002	3,99	0,024
Nitrogênio total (µg L ⁻¹)	393,0±36,89	310,07±22,19	23,45	0,003	25,42	<0,001	42,95	<0,001
N-NH ₄ (µg L ⁻¹)	43,5±23,9	45,1±24,8	11,83	0,014	81,63	<0,001	7,93	0,001
N-NO ₃ (µg L ⁻¹)	118,5 ±128,5	76,89±112,7	91,25	<0,001	113,64	<0,001	65,62	<0,001
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	7,18±1,52	6,23±1,04	ns	ns	13,06	<0,001		ns
Ortofosfato (µg L ⁻¹)	<10	<10	--	--	--	--	--	--
pH	8,11±0,5	8,46±0,5	37,63	<0,001	69,52	<0,001	39,76	<0,001
Sólidos Totais Dissolvidos (TDS)	0.032±0.002	0.036±0.004	928,2	<0,001	225,8	<0,001	34,1	<0,001
Temperatura da água (°C)	15,96±0,4	20,9±0,43	5826	<0,001	21,219	<0,001	0,415	0,744

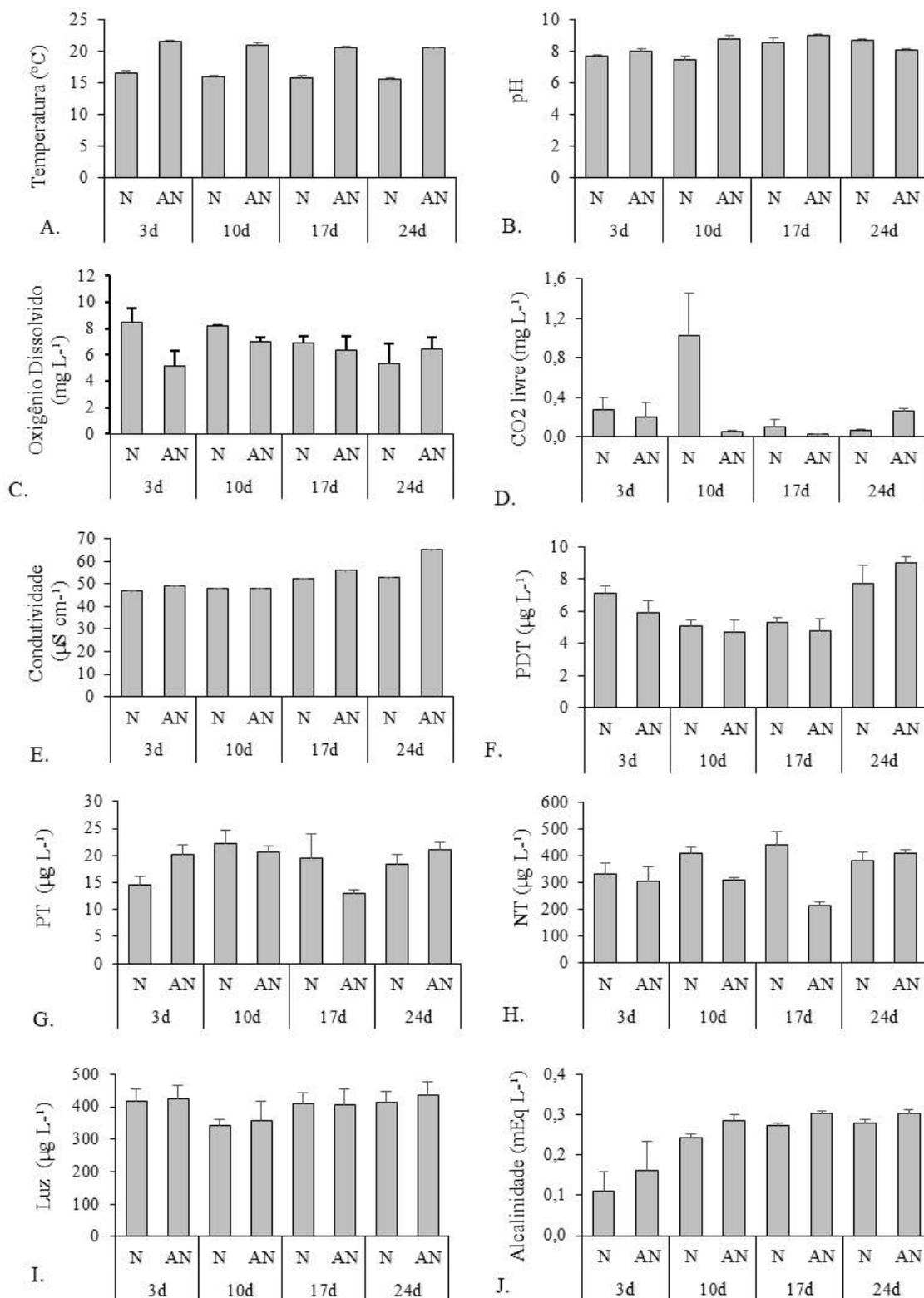


Figura 5. Variação temporal da concentração de temperatura da água (A), pH (B), oxigênio dissolvido (C), CO₂ livre (D), condutividade (E), fósforo total dissolvido (F), nitrogênio total (G), fósforo total (H), luz (I) (n = 4; DP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).

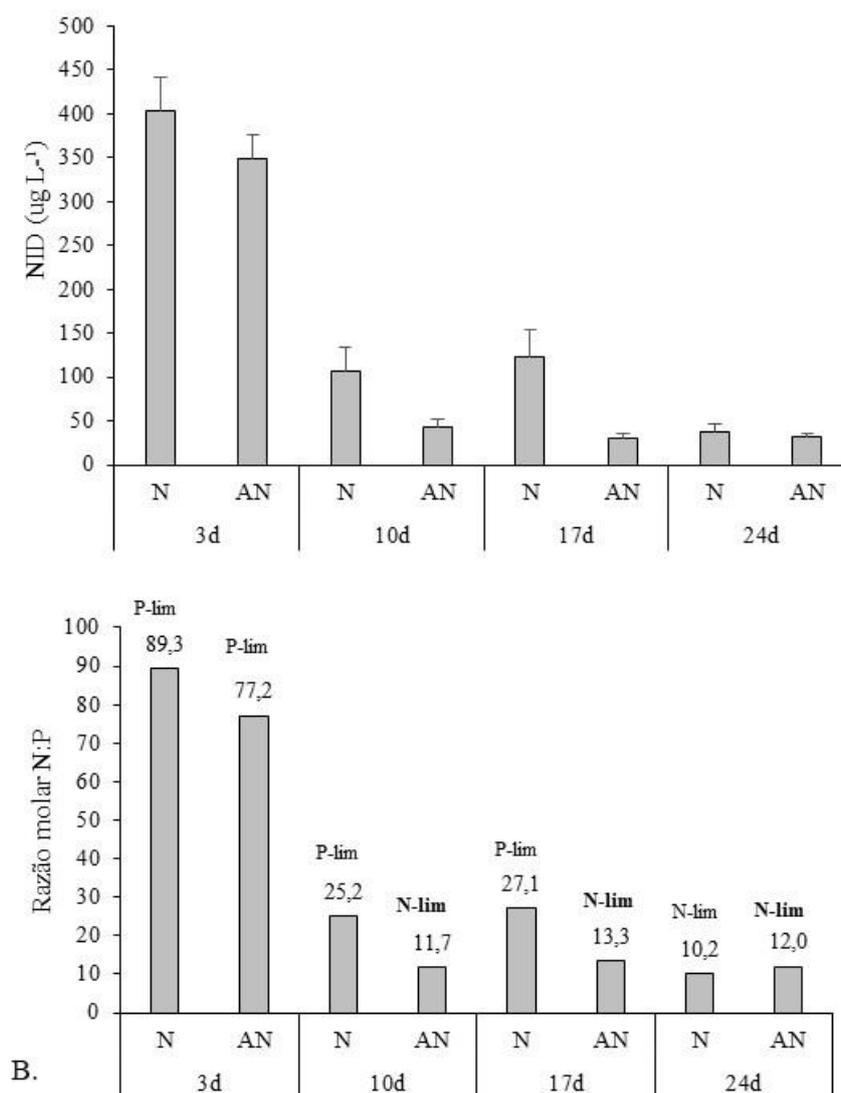


Figura 6. Variação temporal da concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) (A) e a razão molar N:P (B) ($n = 4$; DP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).

A avaliação conjunta das variáveis abióticas pela PCA foi realizada com 11 variáveis dos tratamentos N e NA (Figura 7). A análise resumiu 81,61% da variabilidade dos dados nos dois primeiros eixos. O teste de randomização foi significativo para o eixo 1 ($p < 0,0001$) e valores do "Broken stick" indicaram que os eixos 1 e 2 são passíveis de interpretação. O eixo 1 ordenou no lado positivo a maioria das unidades do tratamento NA (exceto 3d) e o 24d do tratamento N, os quais foram correlacionados com altos valores HCO_3 ($r = 0,60$) e pH ($r =$

0,90). No lado negativo, foram ordenadas a maioria das unidades do tratamento N e dia 3 do tratamento NA, que foram correlacionados com os maiores valores de nitrato ($r = -0,90$) e CO₂ livre ($r = -0,79$). A PCA mostrou que a aquecimento mudou as condições ambientais.

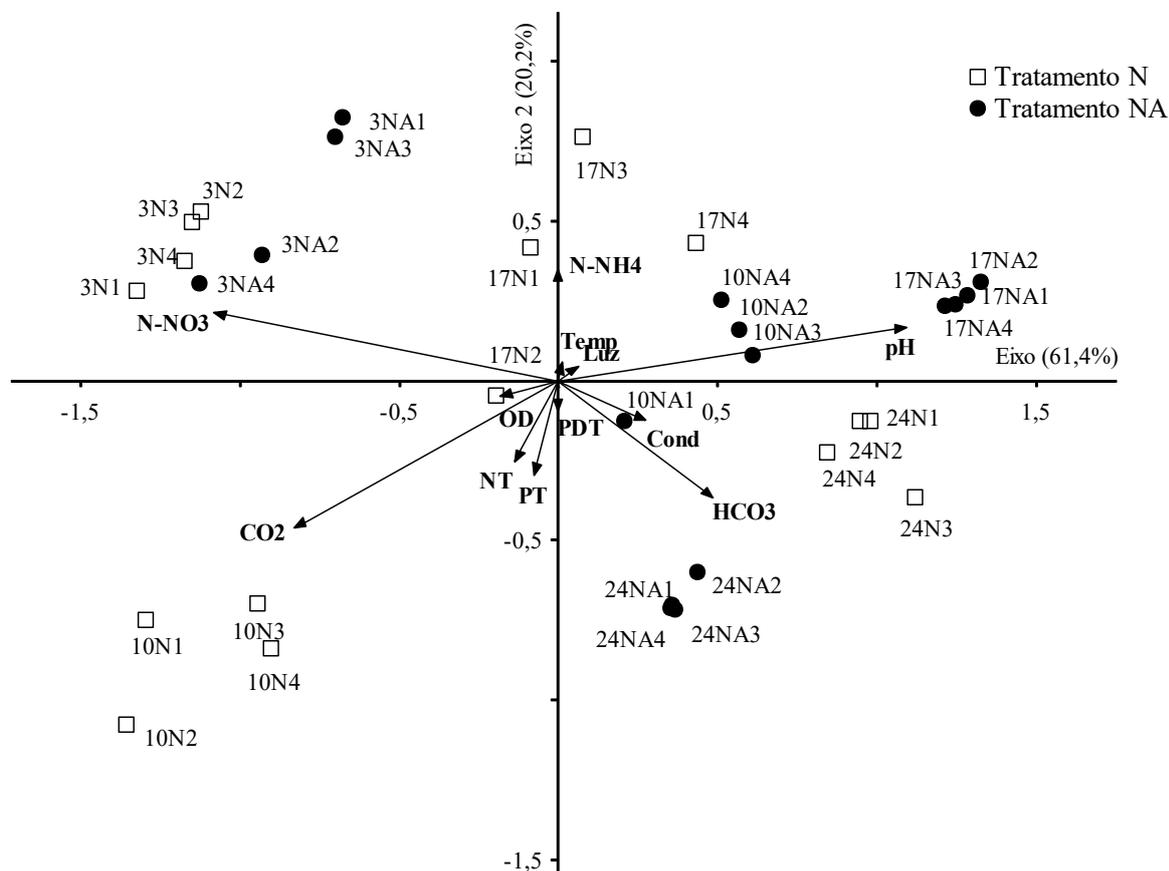


Figura 7. PCA das variáveis ambientais nos tratamentos com alta disponibilidade de nitrogênio sem aquecimento e aquecido. Abreviação dos escores: os primeiros números indicam o dia experimental (3, 10, 17, 24), a letra N indica tratamento N e AN tratamento AN e o último número indica a réplica (1, 2, 3, 4).

3.3. Comunidade perifítica

3.3.1. Biomassa

Considerando a biomassa fotossintética, o pico da clorofila-*a* do perifíton ocorreu no dia 10 no tratamento N e no 24° dia de colonização no tratamento AN (aquecido). Nenhuma

diferença significativa foi detectada na clorofila-a entre tratamentos. Quanto ao tratamento sem aquecimento, a clorofila-a teve seu pico no 10º dia e no tratamento N seguida por um declínio (Figura 8A). Considerando o período experimental, observou-se uma redução média de 44,5% na clorofila-a do perifiton com o aquecimento.

A MSLC do perifiton apresentou diferença significativa entre tratamentos (RM ANOVA: $F = 5,58$; $p = 0,05$), dias ($F = 5,59$; $p = 0,007$) e a interação entre fatores foi significativa ($F = 4,13$; $p = 0,022$). Em ambos os tratamentos, o pico da MSLC ocorreu no dia 24º dia e os maiores valores foram observados no tratamento aquecido (Figura 8B). O teste de Tukey mostrou que a diferença entre tratamentos foi detectada no dia 10 ($p = 0,001$).

A razão MSCL:Clorofila-a indicou que o aquecimento reduziu a biomassa fotossintética no perifiton. Verificou-se uma relação linear inversa entre a clorofila-a do perifiton e do fitoplâncton ($R^2 = 1,69$; Spearman: $r = -0,4$; $p = 0,05$; Figura 8C). Levando em conta a relação entre perifiton e fitoplâncton durante o tempo experimental, observamos uma relação negativa entre a clorofila-a do perifiton e do fitoplâncton em ambos os tratamentos (Pearson: $r = -0,67$; $p = 0,002$; Regressão: $R^2 \text{ adj} = 0,39$; $p = 0,018$) e WN (Pearson: $r = -0,58$; $p = 0,048$; Regressão: $R^2 \text{ adj} = 0,41$; $p = 0,015$). Embora a força da regressão tenha sido semelhante em ambos os tratamentos, explicando 39-41% da variabilidade do perifiton, a relação entre as comunidades foi mais fraca com o aquecimento.

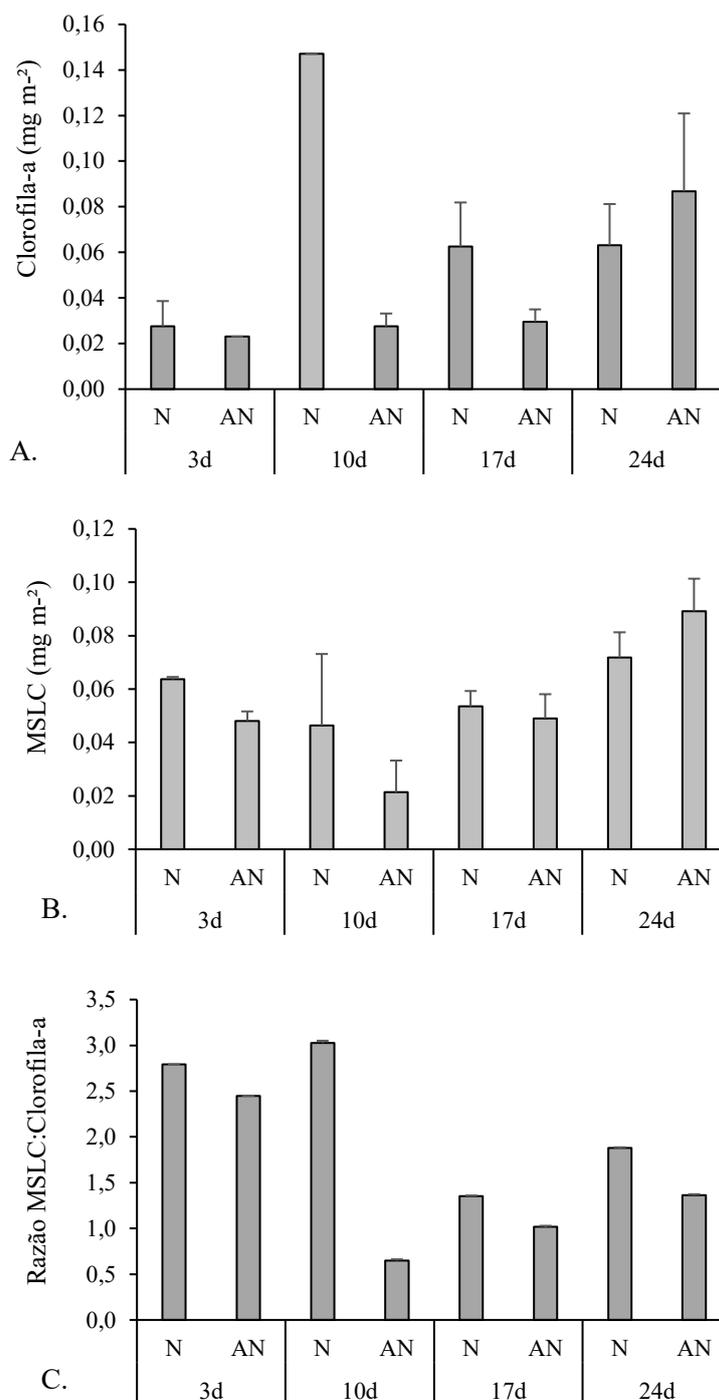


Figura 8. Clorofila-a do perifiton (A), massa-seca-livre-de-cinzas (MSLC; B) e razão MSLC:Clorofila do perifiton (C) (n = 4; EP) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN).

3.3.2. Biovolume total de algas e cianobactérias

O biovolume total de algas e cianobactérias variou entre tratamento e dias (Figura 9). Nos dias 3 e 24 do período experimental, houve perda de biovolume com aquecimento, enquanto, nos dias 10 e 17 ocorreu aumento. O pico do biovolume ocorreu no dia 3 no tratamento N e no dia 10 no tratamento AN. Detectou-se diferença significativa entre tratamentos (RM-ANOVA: $F = 10,39$; $p = 0,016$) e dias ($F=14,98$; $p < 0,001$) e a interação entre fatores tempo e tratamento foi significativa ($F = 4,54$; $p = 0,017$). Teste de Tukey detectou diferença entre tratamentos em todos os dias, exceto no dia 17 ($p > 0,04$).

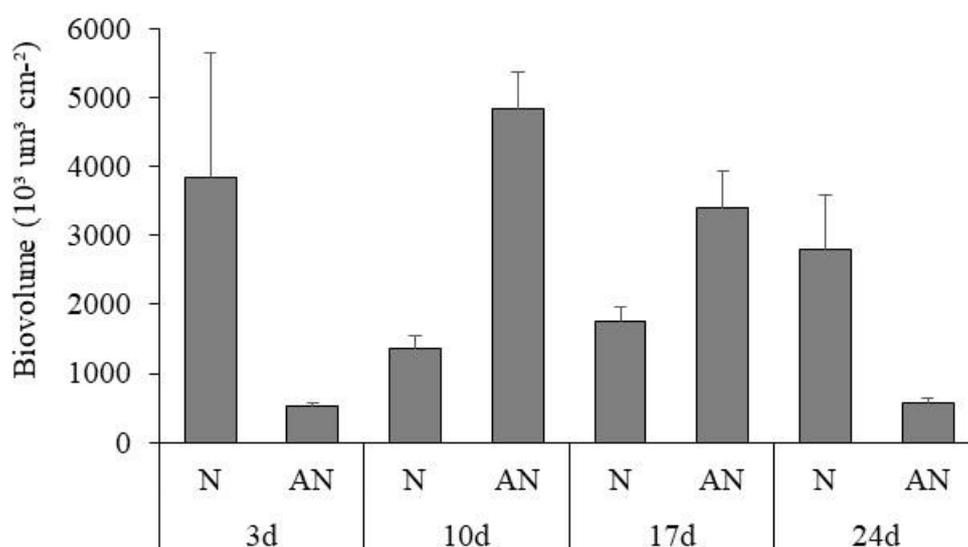


Figura 9. Biovolume total das algas e cianobactérias do perifíton ($n = 4$; EP) ao longo do período experimental, nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN).

3.3.3. Composição Florística

Na avaliação da composição de espécies da comunidade de algas perifíticas foi identificado o total de 79 táxons específicos, sendo 69 no tratamento N e 63 no tratamento NA. As espécies foram distribuídas em 8 classes taxonômicas: Chlorophyceae (32 táxons),

Zygnematophyceae (15 táxons), Cyanophyceae (9 táxons), Bacillariophyceae (8 táxons), Euglenophyceae (8 táxons), Chrysophyceae (3 táxons), Cryptophyceae (3 táxons) e Dinophyceae (1 táxon), sendo Chlorophyceae a classe de maior o número de espécies na comunidade de algas em ambos os tratamentos.

O biovolume relativo dos grupos de algas e cianobactérias do perifíton mudou entre tratamentos e ao longo do período experimental (Figura 10). No início do experimento, Chlorophyceae apresentou a maior contribuição para biovolume total no tratamento N e Bacillariophyceae para o tratamento AN. De 14 a 21 dias, Bacillariophyceae foi dominante em ambos os tratamentos (>50%). No dia 28, verificou-se o aumento de Zygnematophyceae no tratamento N e de Chrysophyceae no tratamento AN.

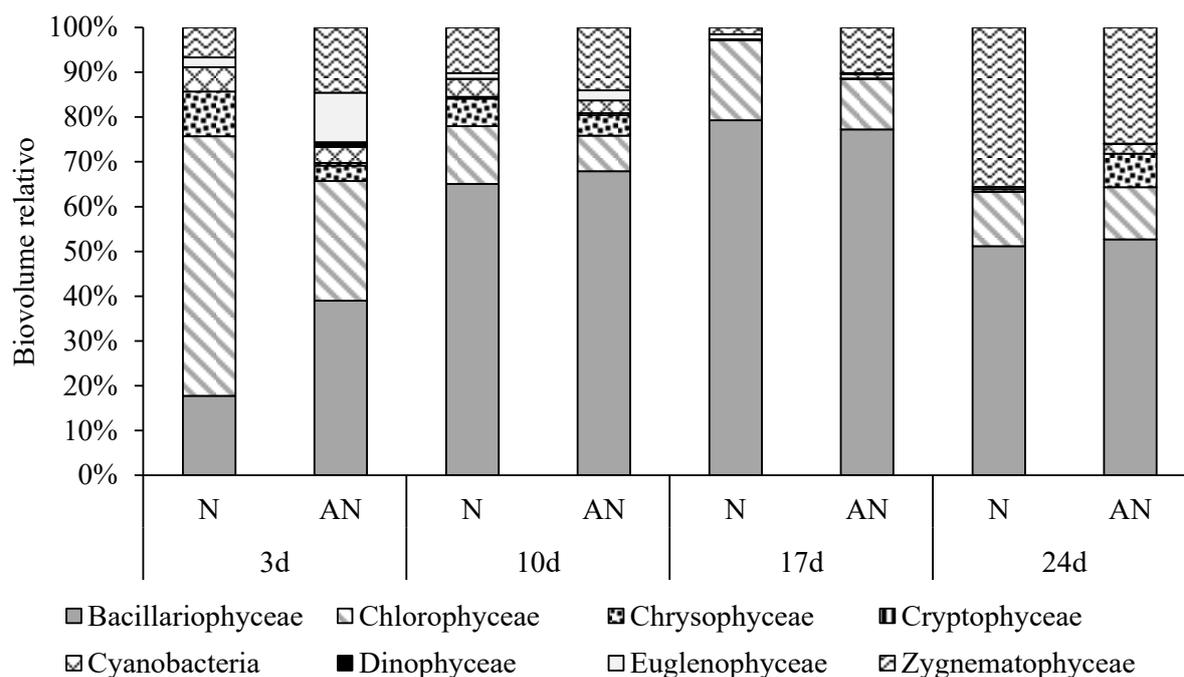


Figura 10. Biovolume relativo dos grupos de algas e cianobactérias do perifíton ($n = 4$) nos tratamentos com adição de nitrogênio e sem aquecimento (N) e com adição de nitrogênio e aquecimento (AN) ao longo do período experimental.

3.3.4. Biovolume das espécies descritoras da comunidade de algas e cianobactérias

Considerando o biovolume de todas as espécies de algas e cianobactérias, verificou-se que a estrutura da comunidade de algas e cianobactérias foi significativamente diferente entre tratamentos (PERMANOVA: $F= 2,72$; $p = 0,0287$), dias ($F= 7,90$; $p = 0,0001$) e a interação entre os fatores (tempo e tratamento) também foi significativa ($F = 3,53$; $p = 0,0004$). Apesar da elevado biovolume de *Ulnaria delicatissima* (W.Smith) Aboal & P.C.Silva nos dois tratamentos, a estrutura da comunidade mudou com o aquecimento, particularmente nos dias 3 e 24 (Figura 11). No tratamento N, *Ulnaria delicatissima* foi dominante na estrutura da comunidade até o dia 17 (85% em média), posteriormente, *Cosmarium contractum* var. *minutum* (Delponte) Coesel passou a ser dominante (68%; 24d). No tratamento com aquecimento (AN), *Ulnaria delicatissima* foi dominante (80% em média) somente nos dias 10 e 24. Contudo, ocorreu co-abundância entre *Ulnaria delicatissima* com *Desmodesmus* sp. (21%) no dia 3 e com *Staurastrum* sp. 1 (36%) no dia 24.

Considerando biovolume médio das espécies descritoras no período experimental (Figura 12), verificamos que aquecimento apresentou um efeito negativo mais evidente sobre o biovolume médio do *Cosmarium contractum* var. *minutum* e da *Ulnaria delicatissima*. Por outro lado, o aquecimento favoreceu o aumento, principalmente, do biovolume médio de 4 espécies, são elas: *Trachelomonas volvocinopsis*; *Trachelomonas lacustris*; *Staurastrum* sp.; *Cosmarium pachydermum*.

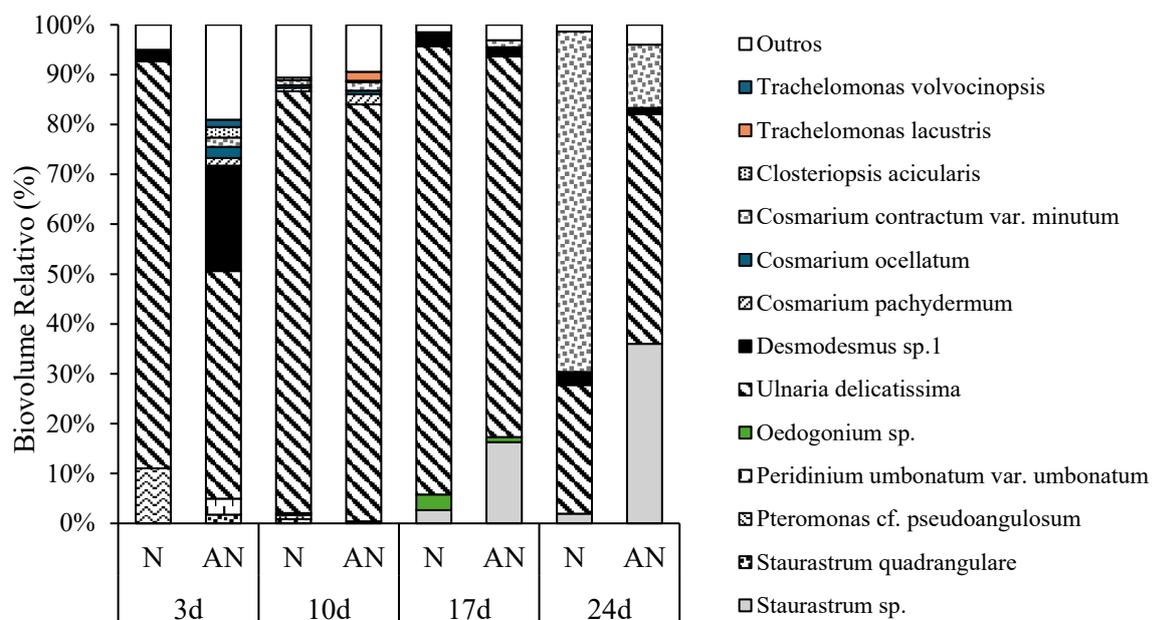


Figura 11: Biovolume relativo das espécies de algas e cianobactérias descritoras da comunidade perifítica ($n = 4$) nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN) ao longo do período experimental.

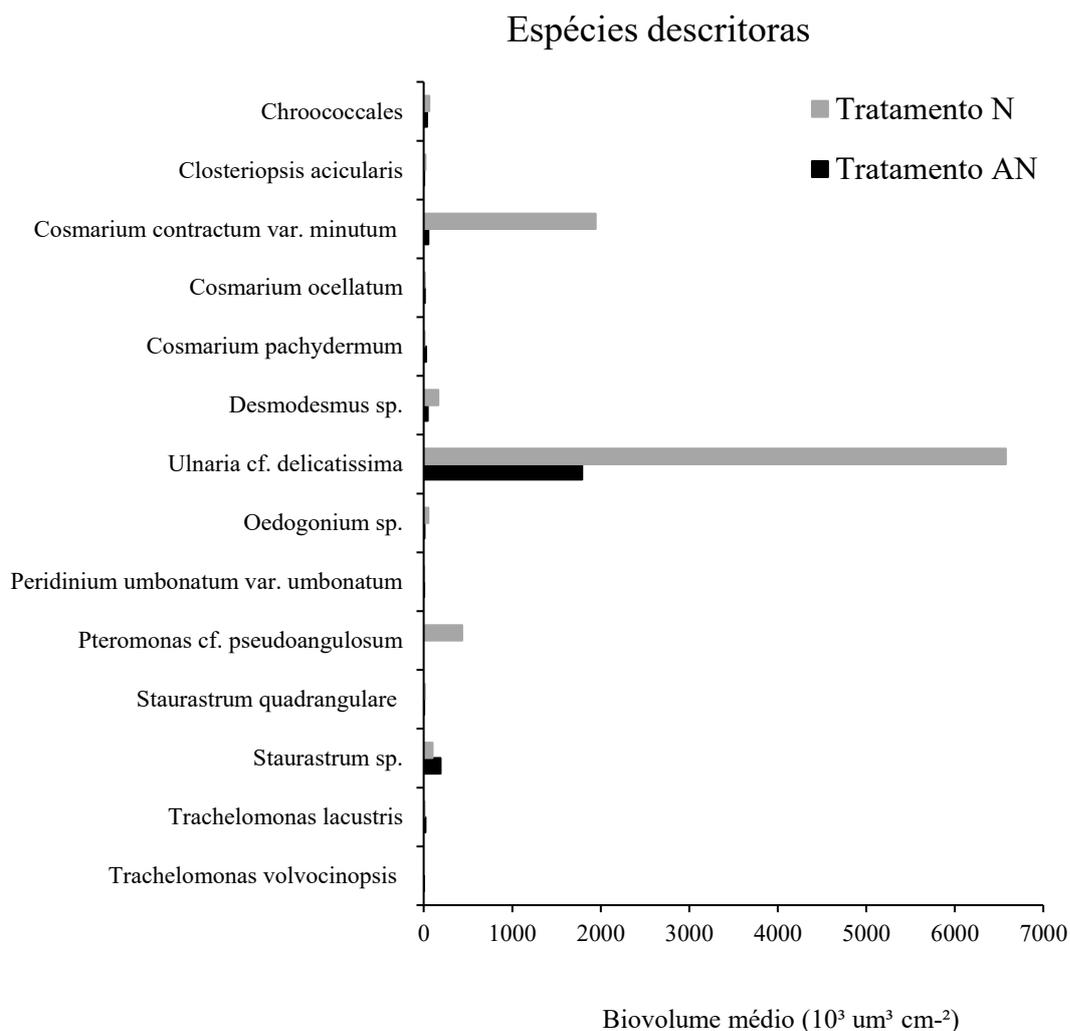


Figura 12: Biovolume médio das espécies de algas e cianobactérias descritoras da comunidade perifítica nos tratamentos com enriquecimento e sem aquecimento (N) e no tratamento com enriquecimento e aquecido (AN) no período experimental.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, o experimento teve como base a comunidade de algas e cianobactérias de um lago urbano mesotrófico, o Lago das Ninfeias, no período seco. Conforme estudos anteriores, o crescimento do perifíton em substrato natural ou artificial é maior no período seco do que chuvoso devido à menor competição com o fitoplâncton e macrófitas aquáticas (Santos et al. 2020; Souza et al. 2015). Além disso, um estudo experimental demonstrou que o lago é considerado P-limitante para comunidade perifítica, o que já indica

uma maior disponibilidade de nitrogênio do que de fósforo (Lambrecht et al. 2019). Uma amostragem prévia confirmou a condição P-limitante do lago. Estudos relatam que o aquecimento global pode levar ao aumento da desnitrificação nos ecossistemas, pois a perda de N pode exceder as taxas de fixação de N_2 atmosférico pelas cianobactérias e bactérias nitrificantes (Scott et al. 2019). A diminuição da concentração de N pode resultar em mudanças na composição de espécies do fitoplâncton (Cottingham et al. 2015) e do perifíton (Pacheco et al. 2021). A combinação entre aquecimento e limitação por N pode favorecer o aumento de cianobactérias diazotróficas (fixadoras de N_2) (Cottingham et al. 2015; Pacheco et al. 2021), as quais podem compensar a deficiência relativa de N com fixação atmosférica de N_2 (Elliott 2012). Partindo destas premissas, o experimento simulou um ambiente com elevada temperatura para o período de inverno e alta disponibilidade de nitrogênio para avaliar os efeitos dessa condição ambiental sobre a estrutura da comunidade de algas e cianobactérias perifíticas em substrato artificial.

O aquecimento do ambiente apresentou reflexo sobre as condições abióticas da água, especialmente sobre a concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido ($NID = N-NO_2 + N-NO_3 + N-NH_4$) que foi significativamente reduzida. No tratamento aquecido (AN), a razão molar N:P da água era inicialmente P-limitante mesmo após o enriquecimento por N. Contudo, após o dia 3, a disponibilidade de NID reduziu e a razão N:P indicou um meio N-limitante. Apesar de ter ocorrido uma redução da razão N:P ao longo do período experimental em ambos os tratamentos, a redução foi sempre maior e significativa no tratamento aquecido. No período experimental, a redução média da razão N:P no tratamento aquecido foi de 24,8%. Portanto, os resultados mostraram que o aquecimento levou a redução da disponibilidade de NID (tratamento AN).

Em cenário inicial de alta concentração de N e elevada temperatura ambiental para o inverno no tratamento AN, a comunidade perifítica respondeu às alterações. Os nutrientes e a temperatura estão entre os fatores mais importantes para impulsionar processos biológicos e

limitar a produção primária de lagos rasos (Elser et al., 2007). Alguns estudos mostraram que o aquecimento aliado ao enriquecimento por nutrientes pode alterar os efeitos da temperatura sobre o perifíton, sugerindo que os efeitos dos nutrientes e temperatura sobre o perifíton são interativos e (Trochine et al., 2014; Piggott et al., 2015). Estudos sugerem que as características de consumo das algas perifíticas pode favorecer o acúmulo de nitrogênio no substrato (Rosa & Valenti, 2011). Vários trabalhos apontam que o perifíton tem influência sobre os processos de nitrificação e absorção de nitrogênio (van Dam et al., 2002; Azim et al., 2003; Milstein et al., 2003, 2009). Além disso, grande parte do material particulado suspenso na água parece se aderir ao substrato, colaborando ainda mais para o acúmulo de nitrogênio junto ao perifíton (Rosa & Valenti, 2011). Apesar do papel do perifíton na retenção de N, no presente estudo, a biomassa fotossintética diminuiu em média, indicando que a perda de NID na água ao longo do tempo levou a comunidade para limitação por N, especialmente no tratamento aquecido. Os nossos achados demonstraram que o aquecimento influenciou a estrutura da comunidade de algas perifíticas ao longo da colonização, mudando a composição de espécies, espécies descritoras, favorecendo as algas pequenas (< 20 µm) e mixotróficas. Em uma síntese, Rühland et al. (2005) reportaram que as mudanças climáticas recentes são o principal fator de pontos de inflexão ecológica, resultando no sucesso recente de pequenas diatomáceas planctônicas em muitos sistemas aquáticos. Por outro lado, Pacheco et al. (2022) relataram que o aquecimento e a baixa disponibilidade de N promoveram o sucesso de cianobactérias diazotróficas e clorofíceas grandes (>200 µm) no perifíton, destacaram a capacidade da comunidade em reter nutrientes como uma vantagem em meio N-limitante. Talvez, a diferenças encontradas na dominância de algas pequenas no presente estudo e grandes em Pacheco et al. (2022) em condição de aquecimento e N-limitação esteja nas diferenças da concentração de DIN no controle, que variou de 118,5 a 76,9 µg L⁻¹ e de valores próximos a zero a cerca de 6000 µg L⁻¹, respectivamente. Diferentemente, um experimento observou espécies associadas ao decaimento

de Nox e não ao aquecimento (Stamenhovic et al. 2025) e com respostas da composição variando com a sazonalidade, estado nutricional e tipo de planta hospedeira (Hao et al. 2020).

Com base nos resultados da clorofila-*a* do perifíton, apesar da ausência de diferença significativa entre tratamentos, a biomassa fotossintética do perifíton parece ter sido afetada negativamente pelo aumento de temperatura e pela redução da disponibilidade de DIN ao longo período experimental, tendo uma redução média de 44,5%. Verbeek et al. (2018) reportaram que a disponibilidade de nutrientes altera os efeitos da temperatura na produção primária algal, tendo observado efeitos positivos quando os nutrientes são suficientes e negativos quando os nutrientes se tornavam escassos. Conforme De Nicola (1996), a temperatura pode ser um fator limitante quando as demais variáveis estão ótimas, uma vez que ela estabelece um limite de produção do perifíton. Apesar da elevada temperatura proporcionar aumento da atividade metabólica e levar a um processo mais acelerado de incremento de biomassa fotossintética (Esteves, 2011), estudos apontam que os nutrientes precisam estar disponíveis (De Nicola 1996). No presente estudo, o perifíton respondeu ao aumento de temperatura em condição de redução de DIN e o aumento da limitação por N, reduzindo a biomassa fotossintética. Os resultados encontrados sugerem que os nutrientes e a temperatura atuam de forma interativa sobre a biomassa fotossintética do perifíton.

Diferentemente da clorofila-*a* no perifíton, a massa seca livre de cinzas, que representa a matéria orgânica total (incluindo particulado e detritos), reduziu com o aquecimento até o dia 10, posteriormente, aumentou significativamente. Estes resultados mostram que o perifíton apresentou dificuldades em acumular matéria orgânica nas fases iniciais da colonização com o aquecimento, apesar das fases mais avançadas na colonização apresentar os maiores valores de MSCL, conforme observado nos resultados da clorofila-*a* e da razão MSCL:Clorofila. A razão MSCL:Clorofila é também conhecida por índice autotrófico e é uma medida que permite a avaliação da natureza trófica da comunidade perifítica (Schwarzbold et al., 1990; Fernandes et

al. 2003). No presente estudo, verificamos que o aquecimento aliado a redução do DIN tornou a comunidade mais heterotrófica ao longo da colonização.

Os resultados do biovolume total de algas e cianobactérias do perifiton mostraram que o aquecimento e a redução da disponibilidade de DIN promoveu mudanças ao longo da colonização da comunidade. O perifiton aumentou o biovolume com o aquecimento na fase intermediária da colonização, especialmente de *Ulnaria delicatissima*, que foi dominante no tratamento com e sem aquecimento. Contudo, perdas significativas de biovolume foram observadas no início e nos estádios mais avançados da colonização no tratamento com aquecimento, evidenciando que mudanças drásticas ocorreram durante a colonização, redirecionado a trajetória sucessional com aumento de temperatura. Um aspecto interessante demonstrado por Pacheco et al. (2021) em um estudo experimental foi uma relação inversa entre a biomassa do fitoplâncton e do perifiton, tendo o aquecimento efeito positivo sobre o fitoplâncton e negativo sobre o perifiton. No presente estudo, verificou-se também uma relação inversa entre a clorofila-a do perifiton e do fitoplâncton, evidenciando que o efeito positivo do aquecimento sobre o fitoplâncton pode ser um dos fatores que afeta negativamente o crescimento do perifiton.

Em relação as espécies de algas perifíticas, os nossos resultados demonstraram que o aquecimento apresentou efeito sobre a composição de espécies durante o tempo de colonização. A composição de espécies no perifiton no tratamento sem aquecimento sugere que processo sucessional foi mais estável e aparentemente sem retrocesso. Em oposição, os efeitos do aquecimento sobre a comunidade de algas no perifiton foi mais evidente no início da colonização (7 dias) e na fase mais avançada (28 dias), alterando a trajetória sucessional. Algumas espécies de algas foram sensíveis ao aquecimento, enquanto outras parecem tolerar ou até se beneficiar dessas condições, como as oportunistas. Nós encontramos que o aquecimento favoreceu, em média, o aumento do biovolume de *Trachelomonas volvocinopsis*, *Trachelomonas lacustris*, *Staurastrum* sp. e *Cosmarium pachydermum*. O aquecimento pode

favorecer a biomassa de flagelados, como as de *Trachelomonas* (Strecker et al. 2004), que são espécies ruderais. No perifiton, esses flagelados estão geralmente frouxamente aderidos à matriz, o que lhes confere maior mobilidade para explorar recursos e resistir a condições ambientais adversas. As espécies de *Staurastrum* sp. e *Cosmarium pachydermum* favorecidas com o aquecimento são zignematofíceas pequenas (<20 µm de máxima dimensão linear), sendo comumente associadas aos períodos mais quentes do ano na área de estudo (Santos et al. 2022). Adicionalmente, diversas espécies do gênero *Cosmarium* têm sido descritas em regiões de clima quente com temperaturas elevadas (Ramos et al. 2021), e há registros de espécies de *Cosmarium* e *Staurastrum* sp. tolerantes a temperaturas de até 40 °C (Vidyavati et al. 1985). Portanto, o aquecimento influenciou o processo sucessional e mudou as espécies descritoras, favorecendo o crescimento de espécies mixotróficas e desmídias pequenas.

Nós concluímos que o aquecimento mudou o nutriente limitante, tornado o meio N-limitante, para a comunidade de algas perifíticas. O aquecimento promoveu alterações no perifiton, como redução do acúmulo de biomassa e crescimento algal, mudanças na composição de espécies, com favorecimento de desmídias pequenas e algas mixotróficas no perifiton. Além disso, a perda de biomassa algal e redução de espécies grandes e com consumo luxuoso podem ter contribuído para a redução substancial do estoque de TP no perifiton com o aquecimento. Assim, os resultados sugerem a influência da composição de espécies algas perifíticas sobre perda de TP na comunidade. Considerando que o período seco é mais favorável para o crescimento do perifiton no lago urbano mesotrófico estudado (Souza et al. 2015; Santos et al. 2020), os nossos resultados demonstraram que aquecimento mudou o acúmulo de biomassa e a estrutura do perifiton, sugerindo que a comunidade pode reduzir seu papel ecológico no ecossistema em um cenário futuro de aquecimento global. Especificamente, esses resultados podem contribuir para a compreensão das alterações na biomassa e na estrutura das comunidades de algas e cianobactérias em lagos mesotróficos, em um cenário futuro de aquecimento global.

Referências bibliográficas

- Axler, R. P., Redfield, G. W., & Goldman, C. R.** 1981. The importance of regenerated nitrogen to phytoplankton productivity to phytoplankton productivity in a subalpine lake. *Ecology*, 62: 345-354.
- Birks, H.J.B.** 2010. Numerical methods for the analysis of diatom assemblage data. In: J.P. Smol & E.F. Stoermer (eds). *The diatoms: Applications for the Environmental and Earth Science*, 2º ed. Editora Cambridge University Press, pp. 23-54.
- Cao, Y., Olsen, S., Gutierrez, M. F., Brucet, S., Davidson, T. A., Li, W. & Jeppesen, E.** 2017. Temperature effects on periphyton, epiphyton and epipelton under a nitrogen pulse in low-nutrient experimental freshwater lakes. *Hydrobiologia* 795: 267-279.
- Cottingham, K. L., Ewing, H. A., Greer, M. L., Carey, C. C., & Weathers, K. C.** 2015. Cyanobacteria as biological drivers of lake nitrogen and phosphorus cycling. *Ecosphere* 6: 1-19.
- DeNicola, D. M.** 1996. Periphyton responses to temperature at different ecological levels. In Stevenson, R. J., Bothwell, M. L. & Lowe, R. L. [Eds.] *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 150–82.
- Dodds, W. K.** 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- Elliott, J. A.** (2012). Is the future blue green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. *Water Research* 46: 1364-1371.
- Esteves, F. A.** 2011. *Fundamentos de Limnologia*. 3ª. Ed. Editora Interciência.
- Fernandes, V. O., Esteves, F. A.** 2003. The use of indices for evaluating the periphytic community in two kinds of substrate in Imboassica Lagoon, Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 63: 233-243.
- Fernandes, S. & Bicudo, C. E. D. M.** 2009. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP: algas, 26: Chlorophyceae (famílias Chlorococcaceae e Coccomyxaceae). *Hoehnea* 36: 173-191.
- Hao, B., Wu, H., Zhen, W., Jo, H., Cai, Y., Jeppesen, E., & Li, W.** 2020. Warming effects on periphyton community and abundance in different seasons are influenced by nutrient state and plant type: A shallow lake mesocosm study. *Frontiers in Plant Science* 11: 404.
- Havens, K. E., T. L. East, Rodusky, A. J. & Sharfstein, B.** 1999. Littoral periphyton responses to nitrogen and phosphorus: an experimental study in a subtropical lake. *Aquatic Botany* 63: 267–290.
- Heino, J., Alahuhta, J., Bini, L. M., Cai, Y., Heiskanen, A. S., Hellsten, S. & Angeler, D. G.** 2021. Lakes in the era of global change: moving beyond single lake thinking in maintaining biodiversity and ecosystem services. *Biological Reviews* 96: 89-106.

- Hungate, B. A., Dukes, J. S., Shaw, M. R., Luo, Y., & Field, C. B.** 2003. Nitrogen and climate change. *Science* 302(5650): 1512-1513.
- Jeppesen, E., B. Moss, H. Bennion, L. Carvalho, L. DeMeester, H. Feuchtmayr, N. Friberg, M. O. Gessner, M. Hefting, T. L. Lauridsen & L. Liboriussen,** 2010. Interaction of climate change and eutrophication. *Climate Change Impacts on Freshwater Ecosystems* 17: 119-151.
- Jöbgen, A., Palm, A., & Melkonian, M.** 2004. Phosphorus removal from eutrophic lakes using periphyton on submerged artificial substrata. *Hydrobiologia* 528: 123-142.
- Kazanjian, G., Velthuis, M., Aben, R., Stephan, S., Peeters, E. T., Frenken, T., ... & Hilt, S.** (2018). Impacts of warming on top-down and bottom-up controls of periphyton production. *Scientific Reports* 8: 9901.
- Kosten, S., Kamarainen, A. M. Y., Jeppesen, E., van Nes, E. H., Peeters, E. T., Mazzeo, N., & Scheffer, M.** 2009. Climate-related differences in the dominance of submerged macrophytes in shallow lakes. *Global Change Biology* 15: 2503-2517.
- Lambrecht, R. W., Tavares, D. A., Santos, T. R., & Ferragut, C.** 2019. Responses of periphyton biomass and nutrient status to experimental enrichment and its relationships with changes in seston nutrient content and chlorophyll-a. *Hydrobiologia* 836: 141-153.
- Li, A., Stoecker, D. K., Coats, D. W., & Adam, E. J.** 1996. Ingestion of fluorescently labeled and phycoerythrin-containing prey by mixotrophic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology* 10: 139-147.
- Loverde-Oliveira, S. M., & Huszar, V. L. M.** 2007. Phytoplankton ecological responses to the flood pulse in a Pantanal Lake, Central Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 19: 117-130.
- Lu, H., Yang, L., Shabbir, S., & Wu, Y.** 2014. The adsorption process during inorganic phosphorus removal by cultured periphyton. *Environmental Science and Pollution Research*, 21: 8782-8791.
- Lu H., Yang L., Zhang S., Wu Y.** 2014 The behavior of organic phosphorus under non-point source wastewater in the presence of phototrophic periphyton. *Plos One* 9: e85910.
- Mahdy, A., Hilt, S., Filiz, N., Beklioglu, M., Hejzlar, J., Ozkundakci, D., Papastergiadou, E., Scharfenberger, U., M.Sorf, Stefanidis, K. & Tuvikene, L.** 2015. Effects of water temperature on summer periphyton biomass in shallow lakes: a pan-European mesocosm experiment. *Aquatic Sciences* 77: 499-510.
- Mendes-Santos, S.A., Santos, T. R., Furtado, M.S., Henry, R., & Ferragut, C.** 2018. Periphyton nutrient content, biomass and algal community on artificial substrate: response to experimental nutrient enrichment and the effect of its interruption in a tropical reservoir. *Limnology* 19: 209-218.
- Moss, B., S. Kosten, M. Meerhoff, R. W. Battarbee, E. Jeppesen, N. Mazzeo, K. Havens, G. Lacerot, Z. Liu, L. De Meester & H. Paerl,** 2011. Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland Waters* 1: 101–105.

- Pacheco, J. P. et al.** 2021. Small sized omnivorous fish induce stronger effects on food webs than warming and eutrophication in experimental shallow lakes. *Science of the Total Environment* 797: 148998.
- Pacheco, J. P., Aznarez, C., Levi, E. E., Baattrup-Pedersen, A., & Jeppesen, E.** 2022. Periphyton responses to nitrogen decline and warming in eutrophic shallow lake mesocosms. *Hydrobiologia* 849: 3889-3904.
- Paerl, H. W., Xu, H., Hall, N. S., Zhu, G., Qin, B., Wu, Y., & Joyner, A. R.** 2014. Controlling cyanobacterial blooms in hypertrophic Lake Taihu, China: will nitrogen reductions cause replacement of non-N₂ fixing by N₂ fixing taxa? *PLoS one* 9(11): e113123.
- Panswad, T., Doungchai, A., & Anotai, J.** 2003. Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Research* 37: 409-415.
- Piggott, J. J., Salis, R. K., Lear, G., Townsend, C. R., & Matthaei, C. D.** 2015. Climate warming and agricultural stressors interact to determine stream periphyton community composition. *Global Change Biology* 21: 206-222.
- Ramos, G. J. P., Santos, M. A. D., & Moura, C. W. D. N.** 2021. How hidden is the diversity of the genus *Cosmarium* (Desmidiaceae) in the Brazilian Caatinga? *Acta Botanica Brasilica*, 35: 188-214.
- Reynolds, C. S.** 2006. *The ecology of phytoplankton*, Cambridge University Press
- Rodríguez, P., & Pizarro, H.** 2015. Phytoplankton and periphyton production and its relation to temperature in a humic lagoon. *Limnologia* 55: 9-12.
- Rühland, K., & Smol, J. P.** 2005. Diatom shifts as evidence for recent Subarctic warming in a remote tundra lake, NWT, Canada. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 226: 1-16.
- Sand-Jensen, K., & Borum, J.** 1991. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwater and estuaries. *Aquatic Botany* 41: 137-175.
- Santos, T. R., Castilho, M. C., Henry, R., & Ferragut, C.** 2020. Relationship between epipelon, epiphyton and phytoplankton in two limnological phases in a shallow tropical reservoir with high *Nymphaea* coverage. *Hydrobiologia* 847: 1121-1137.
- Sapucaia, L. D., Carneiro, R. O., & Ferragut, C.** 2024. Effect of increasing temperature on periphyton accrual under controlled environmental conditions. *Limnology* 25: 255-265.
- Schindler, D. W.** 2012. The dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279(1746): 4322-4333.
- Scott, J. T., McCarthy, M. J., & Paerl, H. W.** 2019. Nitrogen transformations differentially affect nutrient-limited primary production in lakes of varying trophic state. *Limnology and Oceanography Letters* 4: 96-104.
- Stamenković, O., Pacheco, J. P., Levi, E. E., Jeppesen, E., & Davidson, T. A.** 2025. Nutrient inversion but not warming drive changes in periphyton biomass and composition in shallow lake mesocosms. *Limnology and Oceanography* 999: 1-15.

- Strecker, A. L., Cobb, T. P. & Vinebrooke, R. D.** 2004. Effects of experimental greenhouse warming on phytoplankton and zooplankton communities in fishless alpine ponds. *Limnology and Oceanography* 49: 1182-1190.
- Sutherland, D. L., & Craggs, R. J.** 2017. Utilising periphytic algae as nutrient removal systems for the treatment of diffuse nutrient pollution in waterways. *Algal Research* 25: 496-506.
- Tarkowska-Kukuryk, M.** 2013. Periphytic algae as food source for grazing chironomids in a shallow phytoplankton-dominated lake. *Limnologica* 43(4): 254-264.
- Trochine, C., Guerrieri, M., Liboriussen, L., Lauridsen, T. L., & Jeppesen, E.,** 2014. Effects of nutrient loading, temperature regime and grazing pressure on nutrient limitation of periphyton in experimental ponds. *Freshwater Biology* 59: 905–917.
- Trochine, C., Guerrieri, M., Liboriussen, L., Willems, P., Lauridsen, T. L., Søndergaard, M. & Jeppesen, E.,** 2017. Factors controlling the stable isotope composition and C: N ratio of seston and periphyton in shallow lake mesocosms with contrasting nutrient loadings and temperatures. *Freshwater Biology* 62: 1596–1613.
- 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.
- Vargas, R., & Novelo, E.** 2007. Seasonal changes in periphyton nitrogen fixation in a protected tropical wetland. *Biology and Fertility of Soils* 43: 367-372.
- Veraart, A. J., De Klein, J. J., & Scheffer, M.** 2011. Warming can boost denitrification disproportionately due to altered oxygen dynamics. *PLoS One* 6: e18508.
- Verbeek, L., Gall, A., Hillebrand, H., & Striebel, M.,** 2018. Warming and oligotrophication cause shifts in freshwater phytoplankton communities. *Global Change Biology* 24: 4532–4543.
- Vidyavati.** (1985). Environmental control of cell morphology in desmids. *Proceedings: Plant Sciences* 95: 193-198.
- Wehr, J.D. & Sheath, R.G.** 2003. *Freshwater algae of North America: ecology and classification.* Academic Press, San Diego.
- Weyhenmeyer, G. A., Jeppesen, E., Adrian, R., Arvola, L., Blenckner, T., Jankowski, T., Jennings, E., Noges, P., Noges, T., & Straile, D.** 2007. Nitrate-depleted conditions on the increase in shallow northern European lakes. *Limnology and Oceanography* 52: 1346–1353.
- Winder, M., & Sommer, U.** 2012. Phytoplankton response to a changing climate. *Hydrobiologia* 698: 5-16.
- Yao, X., Zhang, Y., Zhang, L., & Zhou, Y.** 2018. A bibliometric review of nitrogen research in eutrophic lakes and reservoirs. *Journal of Environmental Sciences* 66: 274-285.
- Yang, H., Cao, Y., Zhang, W., Pacheco, J. P., Liu, T., Zheng, Y., ... & Wang, L.** 2025. Prokaryotic and eukaryotic periphyton responses to warming, nutrient enrichment and small

omnivorous fish: a shallow lake mesocosms experiment. *Environmental Research* 269: 120242.