

**AVALIAÇÃO SAZONAL DOS EFEITOS DO
ENRIQUECIMENTO POR N E P SOBRE O PERIFÍTON
EM REPRESA TROPICAL RASA MESOTRÓFICA
(LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)**

FABIANA SCHUMACHER FERMINO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Vegetal).

Rio Claro
Estado de São Paulo - Brasil
2006

**AVALIAÇÃO SAZONAL DOS EFEITOS DO
ENRIQUECIMENTO POR N E P SOBRE O PERIFÍTON
EM REPRESA TROPICAL RASA MESOTRÓFICA
(LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)**

FABIANA SCHUMACHER FERMINO

Orientadora: Prof^a Dr^a DENISE DE CAMPOS BICUDO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Vegetal).

Rio Claro
Estado de São Paulo - Brasil
2006

Como filha e mãe que sou
só tenho motivos para exultar pelas vitórias diárias de vocês,
senhores e crianças,
fruto da beleza de caráter com que Deus os contemplou.
Assim, a vocês, pai, mãe, Arthur e Alexandre,
E muito especialmente ao meu esposo Geovane,
O meu *eterno* agradecimento!!!!

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Denise de Campos Bicudo, pesquisador científico do Instituto de Botânica, pela orientação deste trabalho e pela imensa dedicação, mostrando-me os melhores caminhos da ciência a serem seguidos e ensinando-me o espírito de trabalho em equipe; sobretudo, entretanto, pela confiança depositada em minha pessoa para a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo, pesquisador científico do Instituto de Botânica, pelo uso irrestrito de sua biblioteca particular e grande auxílio na identificação taxonômica das algas, transmitindo todo seu conhecimento adquirido nos anos dedicados à pesquisa ficológica.

A todos os pesquisadores e funcionários da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pelo cuidado e profissionalismo que possuem, para que o trabalho se desenvolvesse da melhor forma possível. De forma muito especial, à Dr^a Carla Ferragut, pesquisador científico do Instituto de Botânica, pelas sugestões e críticas valiosas apresentadas, de forma amiga e responsável, no decorrer deste trabalho e pelo empréstimo de sua bibliografia particular; e ao MS Clóvis Ferreira do Carmo, pesquisador científico do Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, pelos vários ensinamentos fornecidos quando trabalhou no Laboratório de Ecologia Aquática do Instituto de Botânica e pelas discussões sobre a metodologia desta tese.

À Prof^a Dr^a Julia Maria Pavan Soler e sua equipe de alunos (Kim Samejima Lopes, Larissa Teruko Kaneko e Paulo Henrique de Souza Lima) do Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo, pela coordenação e realização da análise estatística univariada, pelas sugestões feitas ao estudo estatístico deste trabalho e por toda a atenção e dedicação dispensadas, tornando clara a abordagem estatística das variáveis-resposta utilizadas.

Ao Duda (MS Eduardo Marques Barcelos), pela grande ajuda no campo para instalação dos SDN.

À equipe do Laboratório de Ecologia Aquática do Instituto de Botânica, Barbie, Carla, Clóvis, Crô, Dorinha, Duda, Flavinha, Francis, Tati, Vivian e Wendy, que muito colaboraram com as coletas e os trabalhos em laboratório. Reconheço o esforço de vocês e agradeço imensamente a todos. À aluna Priscila, da Seção de Ficologia, pelo auxílio na preparação dos SDN.

Ao Departamento de Ciências Atmosféricas do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo, pelo fornecimento dos dados climáticos.

À Dr^a Stella Maris (Companhia Riograndense de Saneamento, RS), Dr^a Vera Lúcia Maróstica Callegaro (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, RS) e Prof. Dr. Albano Schwarzbald (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS), por terem me iniciado no mundo científico através de iniciação científica, aperfeiçoamento e mestrado. Também à Dr^a Sandra Maria Alves da Silva (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, RS), pela sua amizade e contribuição taxonômica neste trabalho.

À Marli, à Dorinha, à Val e à Amariles, Técnicas de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Seção de Ecologia, pelo carinho e pelos apetitosos almoços. Às colegas da sala dos estagiários, Andréa, Ari, Dri, Ilka, Kika, Luisiana, Lu Godinho, Lu Morandi, Paty, Susi, Sandrinha, Silvinha Faustino e Silvinha Sant'Anna, pelos bons momentos que passamos juntas. Ao Yukio, por ser tão prestativo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área Biologia Vegetal, da Universidade Estadual Paulista, '*campus*' de Rio Claro, na pessoa do seu atual Coordenador, Prof. Dr. Antonio Fernando Monteiro Camargo, e à Sra. Heloísa Aparecida Scopinho Nicoletti, supervisora e oficial administrativo da Secretaria de Pós-Graduação do Instituto de Biociências, por toda a atenção dispensada durante o transcorrer deste doutorado.

À Direção do Instituto de Botânica na pessoa do Prof. Dr. Luiz Mauro Barbosa, Diretor Geral da Instituição, por franquear-me o uso irrestrito das dependências institucionais bem como de vários de seus serviços.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro representado pela reserva técnica e pela concessão da bolsa de doutorado (processo nº 00/05581-1), que permitiu o desenvolvimento deste estudo, bem como meu aprimoramento profissional.

Ao meu pai (Juarez) e à minha mãe (Marion), pelo apoio, de forma incondicional, em *tudo* que fiz em minha vida, atitude esta que só pode ser compreendida através do Amor.

À minha amada família "colorada" Juju, Marion, Teninho, Nandinho, Arlis, Titi, Gu e Gui. Valeram todas as formas de carinho que recebo de vocês. Sinto-os muito perto apesar dos 1.100 km de distância.

Aos meus dindos, tios, primos e amigos, por compartilharem comigo minha mudança para Sampa.

Ao meu Amor Geovane, amigo, companheiro e “estagiário”. Pessoa maravilhosa que Deus colocou em meu caminho e que hoje compartilhamos nossas vidas e nossos sonhos. Obrigada por ser tão presente, dividindo preocupações, responsabilidades, alegrias e tristezas. O sucesso de cada um de nós é o nosso sucesso.

Aos meus filhos Arthur e Alexandre, pela revolução mais Maravilhosa de minha vida.

Ao Tio Lico (*in memoriam*) e à Dona Cida, meus sogros, pelo carinho com que me receberam na cidade de São Paulo.

À Madá, à Rô, à Dê, à Clá e à Fer, minhas irmãs-de-coração, pela nossa intensa amizade em todos estes anos. É sempre muito bom quando podemos nos encontrar na *terrinha!*

*A todos os sons nativos que saem de um acordeon
e me ajudam a matar
as saudades do Rio Grande!*

ÍNDICE

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
Introdução.....	3
Hipóteses e Objetivos Gerais.....	5
Área de Estudo.....	6
Delineamento Experimental.....	9
Literatura Citada.....	12
CAPÍTULO 1	
AValiação sazonal dos efeitos do enriquecimento por N e P sobre o perifíton em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo)	
Resumo.....	15
Abstract.....	16
Introdução.....	16
Área de Estudo.....	18
Material e Métodos.....	18
Resultados.....	22
Variáveis climáticas.....	22
Condições Limnológicas Abióticas.....	22
Atributos da Comunidade Perifítica e Limitação por Nitrogênio e Fósforo.....	32
Avaliação Conjunta dos Atributos da Comunidade Perifítica.....	43
Discussão.....	45
Literatura Citada.....	51
Apêndice.....	55
CAPÍTULO 2	
Influência sazonal do enriquecimento por N e P sobre a composição florística da comunidade perifítica em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo)	
Resumo.....	57
Abstract.....	57
Introdução.....	58
Área de Estudo.....	59
Material e Métodos.....	59
Resultados.....	60
Discussão.....	69
Literatura Citada.....	72
CAPÍTULO 3	
Efeito sazonal do enriquecimento por N e P sobre a estrutura específica da comunidade de algas perifíticas em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo)	
Resumo.....	76
Abstract.....	77
Introdução.....	77

Área de Estudo.....	78
Material e Métodos.....	79
Resultados.....	80
Condições Limnológicas Abióticas.....	80
Estrutura da Comunidade de Algas Perifíticas.....	82
Análise Conjunta das Espécies.....	98
Análise Integrada dos Fatores Bióticos e Abióticos.....	100
Índices Biológicos.....	104
Discussão.....	106
Literatura Citada.....	111
Apêndice.....	115
CONCLUSÃO GERAL.....	118

RESUMO

O estudo visou (a) identificar o nutriente limitante ao desenvolvimento do perifíton em escala sazonal no Lago das Ninféias, (b) avaliar os principais atributos da comunidade indicadores desta limitação, (c) caracterizar as principais alterações estruturais da comunidade de algas perifíticas frente ao enriquecimento artificial por nitrogênio e/ou fósforo e hierarquizar os fatores direcionadores dessas modificações. Foram realizados enriquecimentos isolados e combinado por N e P em represa rasa mesotrófica em quatro épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno). Quatro tratamentos foram delineados utilizando substrato difusor de nutrientes (copos de poliestireno, preenchidos com solução Agar e nutrientes – controle: sem adição de nutrientes; N^+ : 0,75 M; P^+ : 0,05 M; NP^+ : adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). A abertura dos copos foi revestida com malha de 20 μm como substrato para o perifíton. Coletas foram realizadas aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização. A maior variabilidade dos dados limnológicos abióticos foi atribuída ao tipo de tratamento, seguida pela escala anual. A ACP indicou forte associação entre a adição de fósforo e, principalmente, adição combinada com as maiores densidades de algas, clorofila-a e conteúdo de fósforo do perifíton. O fósforo foi o nutriente limitante ao longo do ano e, dependendo do atributo, foi considerado como nutriente limitante, limitante primário ou co-limitado pelo nitrogênio. Exceto à massa orgânica, os demais atributos do perifíton foram bons indicadores da limitação e a composição química do perifíton foi decisiva na definição desta limitação. Foram encontrados 203 táxons, com maior representação da classe Chlorophyceae. A riqueza específica variou de 33 a 66 e sofreu maior influência da época do ano. A riqueza de espécies e de grandes grupos taxonômicos não foi sensível às mudanças com o enriquecimento experimental, enquanto que as associações de espécies foram claramente influenciadas pela disponibilidade de fósforo. Em termos quantitativos, as Chlorophyceae foram mais abundantes na quase totalidade dos tratamentos e época do ano. As Cryptophyceae contribuíram de forma consistente no tratamento NP^+ ao longo de todo período. Dentre as espécies descritoras, destacaram-se seis dominantes e 19 mais abundantes. *Chlamydomonas*, com quatro espécies descritoras, sempre participou de forma expressiva na estrutura da comunidade. No controle tais espécies, principalmente *C. sordida*, foram as mais abundantes, enquanto que nos tratamentos enriquecidos destacaram-se: *Gomphonema parvulum* e *C. sordida* (N^+), duas espécies de *Chromulina* e de *Chlamydomonas* (P^+), *Cryptomonas marssonii*, *C. curvata* e *Scenedesmus ecornis* (NP^+). A ACC permitiu a caracterização de duas guildas, constituídas, respectivamente, por cinco e quatro espécies associadas à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. Na guilda N, as desmídias também apresentaram grande associação com os períodos mais quentes do ano. As alterações da comunidade perifítica em nível de classes, mas principalmente de diversidade, nem sempre foram consistentes com o tipo de tratamento ou época do ano. Em nível taxonômico mais fino, a resposta foi primordialmente sensível ao tipo de enriquecimento. Desta forma, a maior disponibilidade de fósforo ou de nitrogênio constituiu o principal eixo de variação estrutural da comunidade, seguido pela época do ano (primavera/verão e inverno). Os resultados permitem afirmar que o Lago das Ninféias por ser um ambiente raso, com predomínio da biota litorânea, pode apresentar profundas mudanças de suas associações algais nativas mediante aportes de fósforo e, muito provavelmente, com maior impacto sobre as desmídias. Reforça-se o potencial de utilização do perifíton como sensor da eutrofização em sistemas lacustres rasos.

Palavras-chaves: algas, enriquecimento, estrutura de comunidade, fósforo, indicador biológico, limitação por nutriente, perifíton.

ABSTRACT

Study aimed at (a) identifying the nutrient limitation to the development of algal periphyton in a seasonal scale at the Ninfeias Reservoir; (b) evaluating the main indicator community attributes of nutrient limitation; and (c) characterizing the main structural modifications underwent by the algal periphytic community caused by the artificial enrichment by nitrogen and/or phosphorus, as well as ranking the driven factors responsible for such modifications. Isolate and combined enrichments were carried out in a shallow, mesotrophic reservoir during four occasions (spring, summer, fall, and winter). Four treatments were designed using diffusing substrate (polystyrene vials filled with agar solution and nutrients – control: no nutrient addition; N⁺: 0.75 M; P⁺: 0.05 M; NP⁺: combined addition of N and P, molar ratio N:P = 15). Vial mouth was covered with a 20 µm mesh cloth for periphyton colonization. Samplings were performed on the 15th, 20th, 25th, and 30th colonization days. The greatest abiotic limnological data variation was related to the kind of treatment, followed by the annual scale. PCA indicated a strong association between P and mainly combined P and N addition with the highest algal densities, chlorophyll a, and the P periphyton contents. Phosphorus was the limiting nutrient over the year, and depending on the periphyton attribute, it was either the only limiting nutrient, the primary limiting one, or co-limited with N. Except for the organic mass, the remaining periphyton attributes were good nutrient limitation indicators, and periphyton chemical composition was conclusive in defining limitation. Two hundred and three taxa were identified, Chlorophyceae being the dominant algal class. Species richness varied from 33 to 66, being influenced mostly by the time of the year. Species and classes richness were not sensitive to changes caused by the nutrient enrichment, whereas the species associations were clearly influenced by the P availability. On a quantitative basis, Chlorophyceae was the most abundant algal class in almost all treatments and time of the year. Cryptophyceae consistently contributed to the total density in the NP⁺ treatment during the entire study period. Among the community descriptor species, six were dominant and 19 the most abundant ones. *Chlamydomonas*, with four descriptor species, participated always expressively in the community structure. Such species were the most abundant ones in the control treatment, mainly *C. sordida*, whereas in the enriched ones emphasis was given to *Gomphonema parvulum* and *C. sordida* (N⁺), two *Chromulina* and two *Chlamydomonas* species (P⁺), and *Cryptomonas marssonii*, *C. curvata*, and *Scenedesmus ecornis* (NP⁺). CCA analysis allowed characterization of two guilds constituted by five and four species associated to P or N availability, respectively. In guild N, desmids had also great association with the warmer period of the year. Modifications in the algal periphytic community at the class level, but mainly in diversity, were not always consistent with the kind of treatment or the time of the year. At a more fine taxonomical level, however, response was driven mostly by the type of enrichment. Thus, the greatest P or N availability constituted the main structural variation axis of the community, followed by the time of the year (spring/summer and winter). Present results allow stating that the Ninfeias Pond, due to its shallowness and dominance of littoral biota, may present profound changes in its native algal associations, and most probably with greater impact on the desmids, due to P input. Finally, potential use of algal periphyton as a sensor for eutrophication in shallow lacustrine systems is reinforced.

Key words: algae, biological indicator, community structure, enrichment, nutrient limitation, periphyton, phosphorus.

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO

O perífiton como unidade ecológica é definido como “uma comunidade complexa de microbiota constituída por algas, bactérias, fungos, animais e detritos orgânicos e inorgânicos, que estão firmes ou frouxamente aderidos a substratos submersos orgânicos ou inorgânicos, vivos ou mortos” (WETZEL 1983). Pelo tipo de hábitat, seu desenvolvimento é favorecido nos ecossistemas rasos, em função da disponibilidade de luz e presença de vários tipos de substratos, tais como macrófitas aquáticas, pedras e sedimentos.

Com o reconhecimento de que a maioria dos ecossistemas lacustres no mundo é rasa, com predomínio de regiões de interface terra-água (WETZEL 1996), os estudos sobre a comunidade perifítica tornaram-se essenciais para a melhor compreensão ecológica dos ecossistemas aquáticos continentais. Esta comunidade desempenha reconhecido papel nos ciclos energéticos, consistindo na fonte principal ou dominante de síntese de matéria orgânica nas regiões litorais ou nos ecossistemas rasos, sendo responsáveis pela fixação de carbono e seqüestro de nutrientes essenciais como nitrogênio e fósforo, tornando-os disponíveis aos consumidores (WETZEL 1996, DODDS 2003). Desta forma, as algas perifíticas são componentes-chave no ecossistema lacustre tanto para os ciclos de nutrientes quanto para a cadeia alimentar (LOWE & PAN 1996, WETZEL 2001, VADEBOONCOEUR & STEINMAN 2002). É notória, ainda, a expressiva biodiversidade desta comunidade mesmo em relação ao fitoplâncton (FERRAGUT *et al.* 2005), que resulta, em parte, da heterogeneidade de hábitats, aliada às diferentes estratégias para a colonização dos substratos (STEVENSON 1996, GOLDSBOROUGH & ROBINSON 1996), bem como da interação e do intercâmbio de espécies com a comunidade fitoplanctônica (MARGALEF 1998, TANIGUSHI *et al.* 2005).

Além da ubiquidade do perífiton e de sua relevância no funcionamento dos ambientes rasos, várias características contribuem para sua utilização em estudos de qualidade da água. Dentre as mesmas destacam-se o hábito aderido a substratos; ciclo-de-vida curto, de forma a fornecer respostas rápidas diante de mudanças ambientais; a comunidade é primariamente autótrofa, promovendo o intercâmbio entre os componentes químicos, físicos e biológicos na cadeia alimentar; é rico em espécies em relação a outros grupos aquáticos, fornecendo um sistema rico de informações (STEVENSON 1996, LOWE & PAN 1996, MCCORMICK & STEVENSON 1998).

O efeito do enriquecimento experimental por nutrientes (N e/ou P) sobre o perifíton vem sendo empregado de forma crescente para avaliar a resposta desta comunidade frente a processos de eutrofização. As abordagens são variadas e vêm sendo baseadas na acumulação de biomassa (ALLEN & HERSHEY 1996, HAVENS *et al.* 1999, TANK & DODDS 2003), mas também neste atributo em associação a outro(s) tal(is) como composição química, estequiometria celular, espécies descritoras, enzima fosfatase (MCCORMICK *et al.* 1998, FRANCOEUR *et al.* 1999, PAN *et al.* 2000, HILL *et al.* 2000, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002). Nos últimos cinco anos, destaca-se a proposição de índices multimétricos de integridade biótica regionais com base no perifíton para sistemas lóticos nos Montes Apalaches (HILL *et al.* 2000) e áreas alagáveis subtropicais, nos Everglades da Flórida (PAN *et al.* 2000, MCCORMICK *et al.* 2001).

Os estudos realizados no Everglades da Flórida, região subtropical, apontam a importância do perifíton não apenas para o diagnóstico de impacto ambiental, mas também para detectar sinais precoces de eutrofização e estabelecer metas de recuperação (MCCORMICK & STEVENSON 1988, MCCORMICK *et al.* 1998, 2001). Ainda para este sistema, foi comprovado que a comunidade de espécies perifíticas nativas representa um importante indicador da condição do ecossistema e que sua perda tem várias implicações para seu equilíbrio ecológico (MCCORMICK & O'DELL 1996, MCCORMICK *et al.* 1996, PAN *et al.* 2000).

Entretanto, é surpreendente a escassez de informações ecológicas sobre o uso do perifíton na avaliação da disponibilidade de nutrientes e da qualidade ecológica do ecossistema em regiões tropicais, Brasil não se constituindo exceção, conforme síntese em HUSZAR *et al.* (2005). Em âmbito nacional existem sete trabalhos experimentais de manipulação de nutrientes com perifíton. Dois realizados em lagoas marginais, no Estado de São Paulo (SUZUKI 1991) e no Amazonas (ENGLE & MELACK 1993), um em reservatório também no Estado de São Paulo (CERRAO *et al.* 1991) e apenas um em sistema lótico, situado em Minas Gerais (MENDES & BARBOSA 2002). Os demais foram realizados na área do presente estudo (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, PEFI, São Paulo), sendo especificamente delineados para avaliar a questão da limitação de nutrientes (FERRAGUT 1999, 2004 e BARCELOS 2003). De todos trabalhos experimentais, apenas dois avaliaram as mudanças estruturais da comunidade perifítica frente a condições nutricionais (BARCELOS 2003, FERRAGUT 2004). Ainda, HUSZAR *et al.* (2005) elaboraram uma síntese do estado de arte sobre a limitação de nutrientes incluindo ambas as comunidades fitoplanctônica e perifítica. Finalmente, existe a contribuição de VERCELLINO

(2001), que compara a estrutura específica da comunidade perifítica natural em duas represas com estados tróficos extremos, também situadas no PEFI.

Este trabalho insere-se em projeto mais amplo e de longa duração, em desenvolvimento desde 1997 (“Tipologia, monitoramento e recuperação de represas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, PEFI, São Paulo”). Particularmente sobre a comunidade perifítica complementar trabalhos realizados em represas oligotrófica (FERRAGUT 1999, 2004, VERCELLINO & BICUDO 2006) e eutrófica (VERCELLINO 2001, BARCELOS 2002), trazendo contribuição pioneira para o sistema mesotrófico. Além disso, contribuirá de forma inédita sobre o efeito da escala sazonal na limitação de nutrientes em região tropical. Pretende-se, assim, ampliar a base de dados para a área de estudo, a fim de subsidiar futuras generalizações no que se refere à dinâmica da comunidade perifítica frente a aportes de nutrientes e de seu uso na avaliação de processos de eutrofização em sistemas rasos tropicais.

Finalmente, o trabalho é apresentado sob a forma de três capítulos, como segue:

Capítulo 1: Avaliação sazonal dos efeitos do enriquecimento por N e P sobre o perifíton em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo),

Capítulo 2: Influência sazonal do enriquecimento por N e P sobre a composição florística da comunidade perifítica em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo) e

Capítulo 3: Efeito sazonal do enriquecimento por N e P sobre a estrutura específica da comunidade de algas perifíticas em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo).

HIPÓTESES E OBJETIVOS GERAIS

As hipóteses do presente estudo são:

- O perifíton do Lago das Ninféias é limitado por fósforo e esta limitação se mantém ao longo da escala sazonal.
- Dentre os atributos indicadores da limitação de nutrientes, a composição química do perifíton trará resposta consistente frente às condições experimentais.
- O enriquecimento será o principal eixo de modificação da estrutura específica da comunidade de algas perifíticas ao longo do ano.

A partir dessas hipóteses, os seguintes objetivos foram propostos:

- identificar o nutriente limitante ao desenvolvimento do perifiton em escala sazonal no Lago das Ninféias,
- avaliar os principais atributos da comunidade indicadores desta limitação,
- caracterizar as principais alterações estruturais da comunidade de algas perifíticas frente ao enriquecimento artificial (N e/ou P) ao longo do ano e hierarquizar os fatores direcionadores dessas modificações.
- ampliar a base de dados para a área de estudo (PEFI), a fim de subsidiar futuras generalizações no que se refere à dinâmica da comunidade perifítica frente a aportes de nutrientes e de seu uso na avaliação de processos de eutrofização em sistemas rasos tropicais.

ÁREA DE ESTUDO

O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) está inserido na malha urbana de São Paulo, na região sudeste do município, entre os paralelos 23°38'08'' S e 23°40'18'' S; meridianos 46°36'48'' W e 46°38'00'' W, com altitude média de 798 m e área total de 526,4 hectares (FERNANDES *et al.* 2002) (Figura 1). Trata-se de uma área de conservação com perfil paisagístico bastante variado de matas naturais associadas a áreas desmatadas em consequência da ação antrópica e abriga a terceira maior reserva de Mata Atlântica do Município de São Paulo (BARROS *et al.* 2002). A caracterização do meio físico e biológico, bem como dos impactos antrópicos nesta Unidade de Conservação estão disponíveis em BICUDO, D. *et al.* (2002a).

Com base em séries climatológicas de temperatura do ar e de precipitação de 67 anos (1933-1999), os valores médios são: 1368 mm para precipitação anual, 15 °C para temperatura do mês mais frio (julho), 21,4-21,6 °C para temperatura do mês mais quente (janeiro-fevereiro) (SANTOS & FUNARI 2002). Conforme CONTI & FURLAN (2003), o clima do PEFI pode ser considerado tropical de altitude, com base em três critérios: (a) altitude por volta de 800 m a partir do Trópico de Capricórnio, (b) amplitude térmica (médias mensais máximas e mínimas anuais) não ultrapassando 6-8 °C e (c) média mensal de precipitação em dois meses do ano não ultrapassando 60 mm.



Figura 1. Localização do PEFI na região metropolitana de São Paulo (satélite LANDSAT).

No PEFI localizam-se pelo menos 24 nascentes que formam a cabeceira do Riacho do Ipiranga e que abastecem nove lagos artificiais. O Riacho do Ipiranga deságua no Rio Tamanduateí que, por sua vez, é afluente do Rio Tietê, fazendo parte da grande Bacia Hidrográfica do Alto Rio Tietê.

Para o presente estudo foi escolhida uma represa conhecida como Lago das Ninféias (Figuras 2, 3), que foi construída em 1930 a partir do barramento do córrego Pirarungaua, com o fim único de composição paisagística da área em que está situado o Jardim Botânico de São Paulo. O sistema apresenta área de 5.433 m², volume de 7.170 m³, profundidades máxima e média de 3,6 e 1,3 m, tempo médio de residência de 7,2 dias e abundante vegetação aquática submersa e flutuante (BICUDO, C. *et al.* 2002). O índice do estado trófico (IET) ponderado, calculado com base em TOLEDO *et al.* (1983) para os anos de 1997-2000, apresentou valor médio de $46 \pm 0,5$, ou seja, classificando o sistema como mesotrófico (Bicudo, D. *et al.* 2002b).

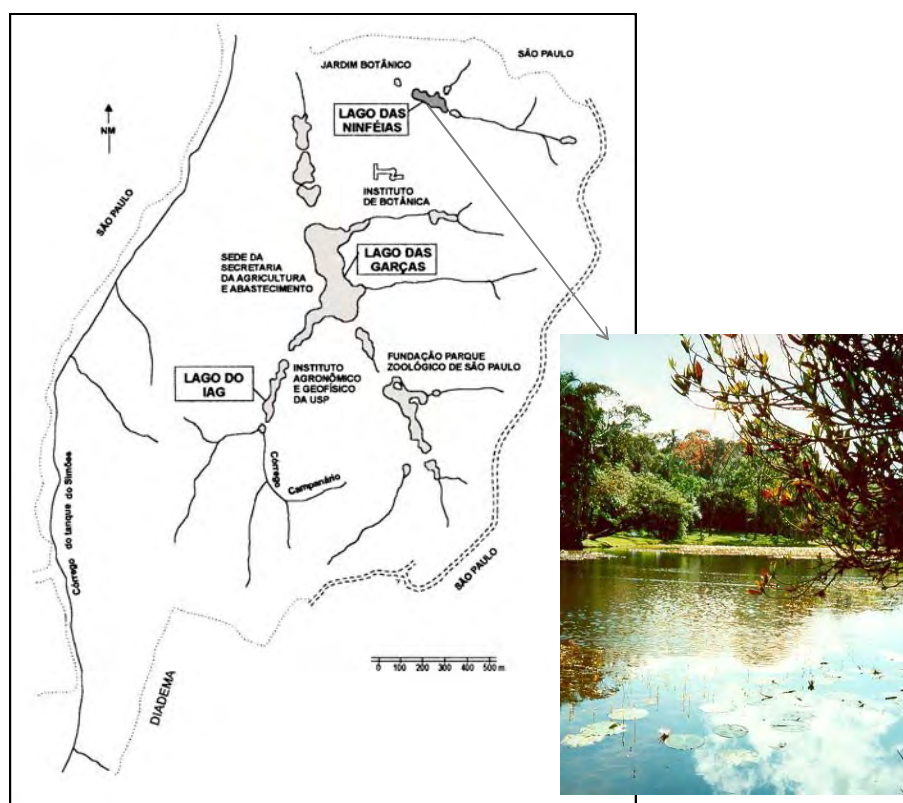


Figura 2. Mapa esquemático da rede hidrográfica do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, mostrando a localização do Lago das Ninféias.

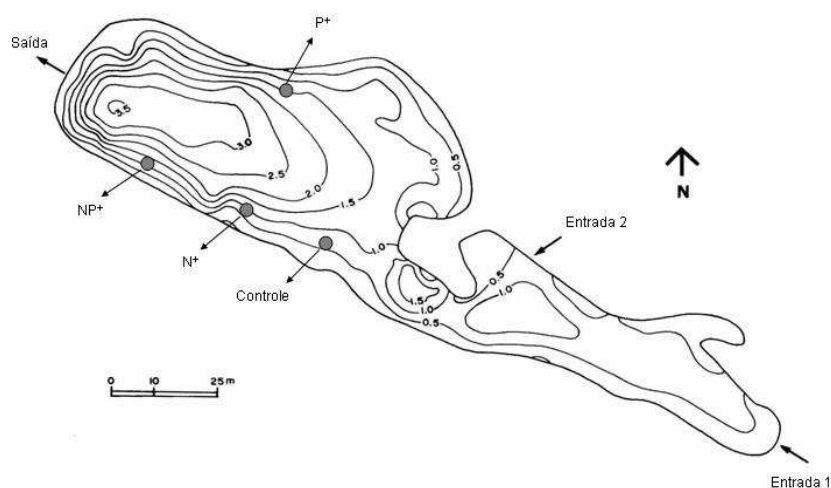


Figura 3. Mapa batimétrico do Lago das Ninféias (PEFI, São Paulo) com a localização das entradas e saída e dos experimentos (controle e tratamentos N^+ , P^+ e NP^+). Modificado de BICUDO, C. *et al.* (2002).

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado depois de um ensaio metodológico em condições controladas de laboratório durante 33 dias consecutivos onde se avaliou a eficácia dos SDN (substratos difusores de nutrientes), considerando a difusão de sais em recipientes com Agar 2% e com adição isolada de nitrogênio e fósforo e combinada desses nutrientes, bem como a eficiência dos recipientes difusores utilizados. A metodologia detalhada encontra-se em FERMINO *et al.* (2004). Obteve-se, com este ensaio, os coeficientes de difusão dos sais e a razão molar N/P pretendida nas condições experimentais durante os dias do experimento, o que permitiu a aplicação do método em campo, conforme detalhado a seguir.

Unidade experimental (SDN) e substrato para o perífíton – A unidade experimental constou de recipiente (copo de poliestireno) preenchido com solução Agar 2% e com adição isolada ou combinada de nitrogênio e fósforo. Apresentou volume de 330 cm³, altura de 110 mm e 80 mm de diâmetro de abertura (Figuras 4-5). A boca dos SDN foi revestida com malha de monofilamento de 20 µm de diâmetro de poro (malha de rede de plâncton), presa com elásticos e fita micropore resistente à água (Figura 6). Esta malha é inerte do ponto de vista químico, permite difusão dos nutrientes, bem como adesão de organismos diminutos pela baixa porosidade da rede. A área disponível para colonização do perífíton foi de 47,8 cm² (diâmetro da abertura do copo).

Enriquecimentos - O experimento constou de um controle (C: sem adição de sais) e três tipos de tratamentos: N⁺ (adição isolada de nitrogênio), P⁺ (adição isolada de fósforo) e NP⁺ (adição combinada de nitrogênio e fósforo). Os enriquecimentos foram feitos mediante adição de nitrato de sódio (NaNO₃ pa Merck) e/ou fosfato monobásico de potássio (Na₂HPO₄ pa Merck) em solução de Agar 2% (Merck). As adições constaram de:

- Tratamento N⁺: 0,75 M de NaNO₃, (correspondendo a 21,03g), condição P-limitante,
- Tratamento P⁺: 0,05 M de Na₂HPO₄, (correspondendo a 2,24g), condição N-limitante,
- Tratamento NP⁺: 0,75 M de NaNO₃ e 0,05 M de Na₂HPO₄, condição de disponibilidade de N e P (razão molar N : P = 15).

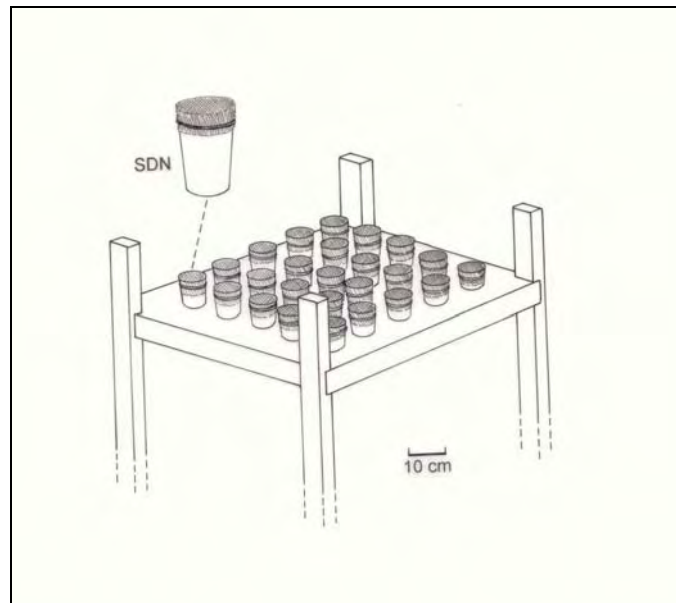


Figura 4. Desenho esquemático de um tablado com 25 SDN, destacando uma unidade experimental (SDN) (Fonte: FERMINO *et al.* 2004).

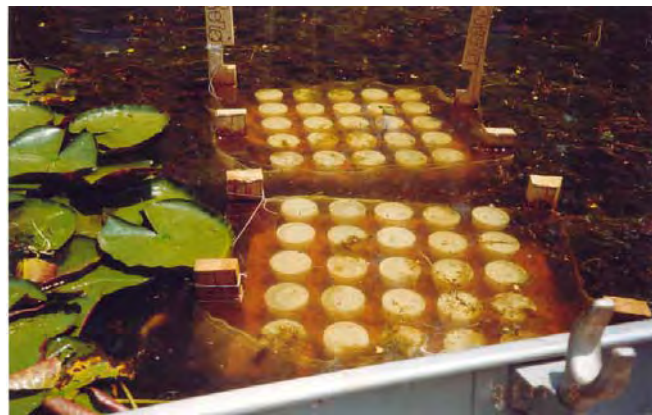


Figura 5. Um tratamento experimental instalado no Lago das Ninféias.



Figura 6. Dois SDN referentes ao tratamento P^+ , após 30 dias de colonização perifítica.

Amostragem - As amostragens contemplaram a escala sazonal de variação, sendo realizadas nas épocas de primavera (23/11-8/12/2001), verão (21/02-08/03/2002), outono (03/05-18/05/2002) e inverno (10/07-25/07/2002). Para cada período, os substratos foram incubados por tempo apropriado, ou seja, longo o suficiente para assegurar o desenvolvimento adequado de biomassa perifítica, mas também curto o necessário para prevenir o desprendimento autogênico da comunidade, conforme FRANCOEUR *et al.* (1999). Dessa forma foram realizadas quatro coletas, correspondentes aos 15°, 20°, 25° e 30° dias de colonização, em cada estação do ano e para cada tratamento. Os SDN foram coletados de forma aleatória, mediante processo de sorteio, para cada variável biológica.

O delineamento experimental desenhado (Figura 7) foi o fatorial completo 3 x 4 (3 fatores cada um com 4 níveis), com $n = 2$ para variáveis abióticas e densidade de algas e $n = 3$ para as demais variáveis bióticas. Os fatores e seus níveis foram: **estação** em 4 níveis (inverno, verão, outono e primavera); **tratamento** em 4 níveis (Controle, N⁺, P⁺ e NP⁺) e **dia de coleta** em 4 níveis (15°, 20°, 25°, 30° dias).

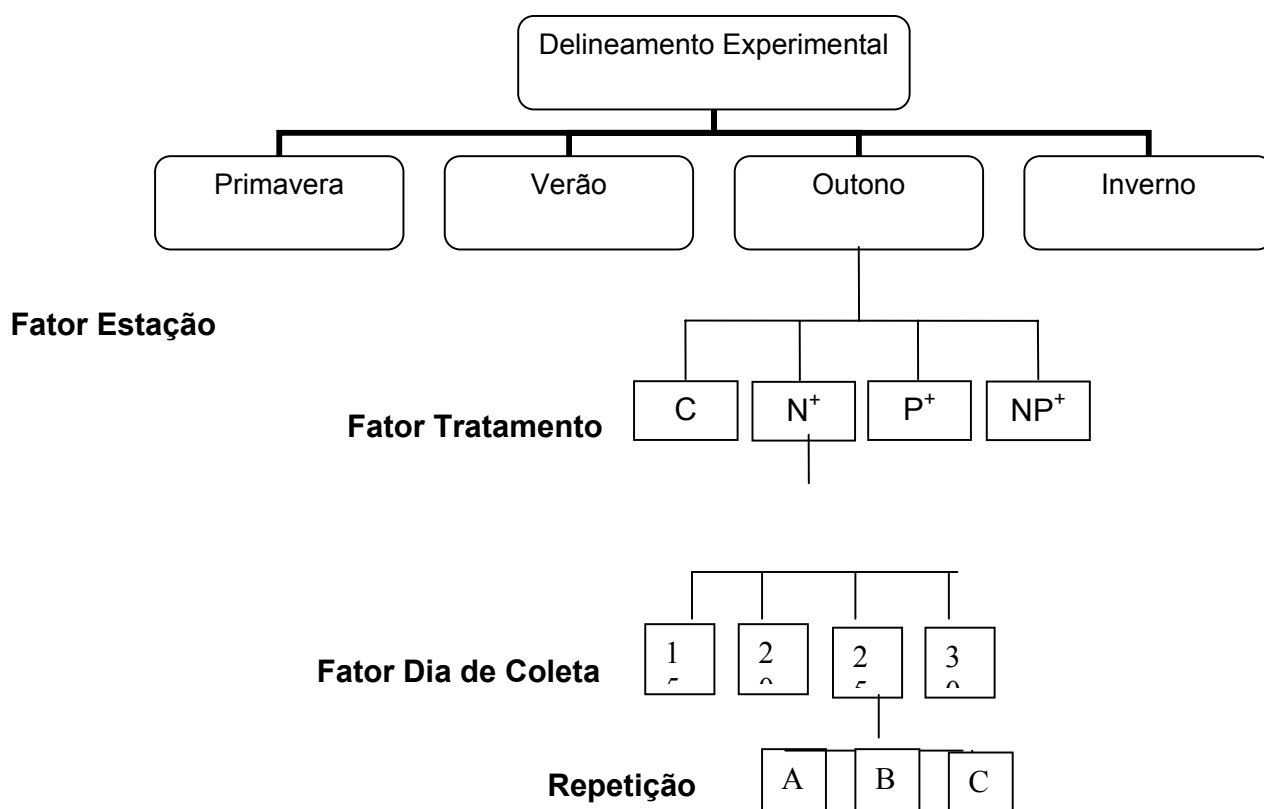


Figura 7. Diagrama do delineamento experimental desenhado conforme modelo fatorial completo 3 x 4 (3 fatores cada um com 4 níveis).

LITERATURA CITADA

- ALLEN, N.S. & HERSHEY, A.E. 1996. Seasonal changes in chlorophyll a response to nutrient amendments in a North Shore tributary of lake Superior. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 170-178.
- BARCELOS, E.M. 2003. Avaliação do perifíton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 118 p.
- BARROS, F., MAMEDE, M.C.H., MELO, M.M.R.F., LOPES, E.A., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., KIRIZAWA, M., MUNIZ, C.F.S., MAKINO-WATANABE, H., CHIEA, S.A.C. & MELHEM, T.S. 2002. A flora fanerogâmica do PEFI: composição, afinidades e conservação. *In: BICUDO, D.C., FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, p. 93-110.*
- BICUDO, C.E.M.; CARMO, C.F.; BICUDO, D.C.; HENRY, R.; PIÃO, A.C.S.; SANTOS, C.M. & LOPES, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 141-158.*
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. 2002a. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 351p.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C.; CARMO, C.F.; BOUROTE, C.; BICUDO, C.E.M.; MELFI, A.J. & LUCAS, Y. 2002b. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. *In: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 158-198.*
- CERRAO, G.C., MOSCHINI-CARLOS, V., SANTOS, M.J. & RIGOLIN, O. 1991. Efeito do enriquecimento artificial sobre a biomassa do perifíton em tanques artificiais na Represa do Lobo ("Broa"). *Revista Brasileira de Biologia* 51: 71-78.
- CONTI, J.B. & FURLAN, S.A. 2003. Geocologia: O Clima, Os Solos E A Biota. *In: ROSS, J.L. (Org.) Geografia Do Brasil. Edusp, São Paulo. p. 67-207.*
- DODDS, W.K. 2003. The role of periphyton in phosphorous retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- ENGLE, D.L. & MELACK, J.M. 1993. Consequences of riverine flooding for seston and the periphyton of floating meadows in a Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography* 38: 1500-1520.
- FERMINO, F.S.; BICUDO, D.C. & MERCANTE, T.J. 2004. Substrato difusor de nutrientes (SDN): avaliação do método em laboratório para experimentos *in situ* com perifíton. *Acta Scientiarum* 26: 273-280.
- FERNANDES, A.J.; REIS, L.A.M. & CARVALHO, A. 2002. Caracterização do Meio Físico. *In: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 49-62.*
- FERRAGUT, C. 1999. Efeito do enriquecimento por nitrogênio e fósforo sobre a colonização e sucessão da comunidade de algas perifíticas : biomanipulação em reservatório raso oligotrófico em São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 190 p.

- FERRAGUT, C. 2004. Respostas das algas perifíticas e planctônicas à manipulação de nutrientes (N e P) em reservatório urbano (Lago do IAG, São Paulo). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 184 p.
- FRANCOEUR, S.N., BIGGS, B.J.F., SMITH, R.A. & LOWE, R.L. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 242-260.
- GOLDSBOROUGH, K.D. & ROBINSON, G.G.C. 1996. Pattern in wetlands. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 78-117.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., RODUSKY, A.J. & SHARFSTEIN, B. 1999. Littoral periphyton responses to nitrogen and phosphorus: an experimental study in a subtropical lake. *Aquatic Botany* 63: 267-290.
- HILL, B.H., HERLHY, A.T., KAUFMANN, P.R., STEVENSON, R.J., MCCORMICK, F.H. & JOHNSON, C.B. 2000. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 50-67.
- HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, C.; MARTINELLI, L.A. & HENRY, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifíton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. *In*: ROLDAM, F., CÉSAR, D. & MARINHO, M. (orgs.) *Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais*. RiMa Editora, São Carlos. p. 243-260.
- LOWE, R.L. & PAN, Y. 1996. Benthic algal communities as biological monitors. *In*: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. (ed.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, USA. p.705-739.
- MARGALEF, R. 1998. La imprecisa frontera entre el plâncton y otros tipos de comunidades. *In*: AZEVEDO, M.T.P., Santos, D.P., Sormus, L., Menezes, M., Fujii, M., Yokoya, N.S., Senna, P.A.C. & Guimarães, S.M.P.B. (eds.). *Anais do 4º Congresso Latino-Americano de Ficologia, 2ª Reunião Ibero-Americana e 7ª Reunião Brasileira de Ficologia, Caxambú, MG*. p. 319-326.
- MCCORMICK, P.V. & O'DELL, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 450-468.
- MCCORMICK, P.V. & STEVENSON, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology* 34: 726-733.
- MCCORMICK, P.V., RAWLIK, P.S., LURDING, K., SMITH, E.P. & SKLAR, F.H. 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutrient gradient in the northern Florida Everglades. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 433-449.
- MCCORMICK, P.V., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W. 1998. Spatial and seasonal patterns of periphyton biomass and productivity in the northern Everglades, Florida, USA. *Hydrobiologia* 362: 185-208.
- MCCORMICK, P.V., O'DELL, M.B., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W.C. 2001. Periphyton responses to experimental phosphorus enrichment in a subtropical wetland. *Aquatic Botany* 71: 119-139.
- MENDES, R. S. & BARBOSA, F.A.R. 2002. Efeito do enriquecimento in situ sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia* 14: 77-86.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., VAITHIYANATHAN, P., SLATE, J. & RICHARDSON, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. *Freshwater Biology* 44: 339-353.

- SANTOS, P. & FUNARI, F.L. 2002. Clima local. In: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 29-48.
- STEVENSON, J.R. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. In: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. New York: Academic Press. p.3-30.
- SUZUKI, M.S. 1991. Mudanças na estrutura e sucessão das comunidades fitoplanctônicas e perifíticas da lagoa do Infernã (SP), causadas pelo processo de enriquecimento artificial. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TANIGUCHI, G.M., BICUDO, D.C. & SENNA, P.A.C. 2005. Gradiente litorâneo-limnético do fitoplâncton e ficoperifíton em uma lagoa da planície de inundação do Rio Mogi-Guaçu. Revista Brasileira de Botânica 28: 137-147.
- TANK, J.L. & DODDS, W.K. 2003. Nutrient limitation of epilithic and epixylic biofilms in ten North American streams. Freshwater Biology 48: 1031-1049.
- TOLEDO, A.P.; TALARICO, M.; CHINEZ, S.J. & AGUDO, E.G.A. 1983. A aplicação de modelos simplificados para a avaliação de processo da eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. In: XIX Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Camboriú, Santa Catarina. 57p.
- VADEBONCOEUR, Y. & STEINMAN, A.D. 2002. Periphyton function in lake ecosystems. The Scientific World Journal 2: 1449-1468.
- VERCELLINO, I. S. 2001. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em dois reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo: influência do estado trófico e período climatológico. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 176 p.
- VERCELLINO, I. & BICUDO, D.C. 2006. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em reservatório oligotrófico tropical (São Paulo, Brasil): comparação entre período seco e chuvoso. Revista Brasileira de Botânica 29: 363-377.
- WETZEL, R.G. 1983. Recommendation for future research on periphyton. In: WETZEL, R.G. (ed.). Periphyton of freshwater ecosystems. The Hague, Dr. W. Junk Publishers, p. 339-346.
- WETZEL, R.G. 1996. Benthic algal and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. In : STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L. & LOWE, R.L. (eds.) Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. New York: Academic Press. p. 641-667.
- WETZEL, R.G. 2001. Limnology. Academic Press, New York, 1006 p.

CAPÍTULO 1

AValiação sazonal dos efeitos do enriquecimento por N e P sobre o perifiton em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo)

Resumo - Foi avaliada a limitação de nutrientes sobre o perifiton em represa rasa mesotrófica em quatro épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno) a partir de enriquecimentos isolado e combinado por N e P. Quatro tratamentos foram delineados utilizando substrato difusor de nutrientes (copos de poliestireno, preenchidos com solução Agar e nutrientes – controle: sem adição de nutrientes; N⁺: 0,75 M; P⁺: 0,05 M; NP⁺: adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). A abertura dos copos foi revestida com malha de 20 µm como substrato para o perifiton. Coletas foram realizadas aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização. A maior variabilidade dos dados limnológicos abióticos foi atribuída ao tipo de tratamento, seguida pela escala anual. A ACP indicou forte associação entre a adição de fósforo e, principalmente, adição combinada com as maiores densidades de algas, clorofila-a e conteúdo de fósforo do perifiton, bem como dos tratamentos sem adição de fósforo com a razão N:P da comunidade. Exceto à massa orgânica, os demais atributos do perifiton foram bons indicadores da limitação. A composição química do perifiton (%P, %N, razão N:P) foi decisiva na definição da limitação, bem como mais preditiva do que a razão N:P da água. O fósforo foi o nutriente limitante ao longo do ano e, dependendo do atributo, foi considerado como nutriente limitante, limitante primário ou co-limitado pelo nitrogênio. Não houve clara mudança de resposta em escala anual. Na maioria das vezes, os atributos apontaram limitação primária por fósforo, sendo esta limitação mais branda na primavera. No inverno, outros fatores controladores, além dos nutrientes, influenciaram a comunidade. Este estudo permite inferir a importância do controle do aporte de fósforo no Lago das Ninféias, bem como reforça o uso do perifiton como sensor da eutrofização em sistemas rasos.

Palavras-chave: algas, biomassa, composição química, enriquecimento, fósforo.

Abstract – Nutrient limitation of periphyton was evaluated in four occasions (spring, summer, fall, and winter) in a shallow mesotrophic reservoir using isolated and combined N and P enrichments. Four treatments were designed using diffusing substrate (polystyrene vials filled with agar solution and nutrients – control: no nutrient addition; N⁺: 0.75 M; P⁺: 0.05 M; NP⁺: combined addition of N and P, molar ratio N:P = 15). Vial mouth was covered with a 20 µm mesh cloth for periphyton colonization. Samplings were performed on the 15th, 20th, 25th, and 30th colonization days. The greatest abiotic limnological data variation was related to the kind of treatment, followed by the annual scale. PCA indicated a strong association between P and mainly combined P and N addition with the highest algal densities, chlorophyll a, and the P

periphyton contents, as well as of the treatments with no addition of P with the community N:P ratio. Except for the organic mass, the remaining periphyton attributes were good nutrient limitation indicators. Periphyton chemical composition (%P, %N, N:P ratio) was conclusive in defining limitation, and provided more predictable results than water P:N ratio. Phosphorus was the limiting nutrient over the year, and depending on the periphyton attribute, it was either the only limiting nutrient, the primary limiting one, or co-limited with N. There was not a clear-cut response change at the annual scale. The attributes pointed out mostly for a primary P limitation, however, such limitation was less severe during the spring. During the winter, other controlling factors besides nutrients affected the community. Present study allows inferring the importance of the P control input into the Ninféias Pond as well as reinforcing the use of periphyton as an eutrophication sensor in shallow systems.

Key words: algae, biomass, chemical composition, enrichment, phosphorus.

INTRODUÇÃO

No limiar do século XXI, a crise da água é uma ameaça permanente à humanidade e à sobrevivência da biosfera como um todo. O crescimento populacional e as demandas sobre os recursos hídricos são algumas das causas fundamentais desta crise (TUNDISI 2005). Neste sentido, WETZEL (2001) destaca a necessidade do conhecimento pormenorizado das propriedades funcionais das águas doces para avaliar a influência que as atividades humanas têm sobre as características metabólicas das mesmas, de modo a maximizar a gestão dos recursos hídricos. Este autor, dentre vários outros, reconhece a eutrofização artificial como um dos processos mais claramente influenciados pelo impacto do homem nos ecossistemas aquáticos.

O enriquecimento por fósforo e/ou nitrogênio é tido como o principal desencadeador da eutrofização, já que tais nutrientes são comumente tidos como limitantes para o crescimento das algas em geral, incluindo as perifíticas e, quando disponíveis em maiores quantidades, são rapidamente assimilados provocando alterações estruturais e funcionais nas comunidades aquáticas (BORCHARDT 1996, DODDS 2003). Várias características têm levado à utilização do perifiton em estudos de qualidade de água. Dentre elas destacam-se sua ubiquidade, seu hábito sésil e sua capacidade de fornecer respostas rápidas diante de mudanças ambientais (LOWE & PAN 1996, MCCORMICK & STEVENSON 1998).

O efeito do enriquecimento experimental por nutrientes (N e/ou P) sobre o perifiton vem sendo empregado de forma crescente para avaliar a resposta desta comunidade frente a processos de eutrofização. As abordagens são variadas e vêm sendo baseadas na acumulação de biomassa (ALLEN & HERSHEY 1996, HAVENS *et al.* 1999, TANK & DODDS 2003), mas também neste atributo em associação a outro(s) tal(is) como composição química, estequiometria celular,

espécies descritoras, enzima fosfatase (MCCORMICK *et al.* 1998, FRANCOEUR *et al.* 1999, PAN *et al.* 2000, HILL *et al.* 2000, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002). Nos últimos cinco anos, destaca-se a proposição de índices multimétricos de integridade biótica regionais com base no perifíton para sistemas lóticos nos Montes Apalaches (HILL *et al.* 2000) e áreas alagáveis subtropicais, nos Everglades da Flórida (PAN *et al.* 2000, MCCORMICK *et al.* 2001).

Os estudos realizados apontam a importância do perifíton não apenas para o diagnóstico de impacto ambiental, mas também para detectar sinais precoces de eutrofização e estabelecer metas de recuperação (MCCORMICK & STEVENSON 1988, MCCORMICK *et al.* 1998, 2001).

O uso do perifíton para avaliar a disponibilidade de nutrientes ainda está fortemente centrado em sistemas lóticos, principalmente de regiões temperadas (BIGGS 1995, BORCHARDT 1996, FRANCOEUR *et al.* 1999). Os estudos em regiões subtropicais vêm sendo crescentes e têm dado grande impulso a esta abordagem. Concentram-se, principalmente, em alguns ecossistemas, a exemplo do Everglades da Flórida (VYMAZAL *et al.* 1994, MCCORMICK & STEVENSON 1988, MCCORMICK *et al.* 1998, 2001) e do Lago Okeechobe, também na Flórida (HAVENS *et al.* 1996, 1999, ZIMBA 1998, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002).

Entretanto, é notória a escassez de informação sobre o uso do perifíton na avaliação da disponibilidade de nutrientes para regiões tropicais, Brasil não constituindo exceção, conforme destacado em HUSZAR *et al.* (2005). Em âmbito nacional existem sete trabalhos experimentais de enriquecimento com perifíton. Dois realizados em lagoas marginais, no Estado de São Paulo (SUZUKI 1991) e no Amazonas (ENGLE & MELACK 1993), um em reservatório também no Estado de São Paulo (CERRAO *et al.* 1991) e apenas um para sistema lótico, situado em Minas Gerais (MENDES & BARBOSA 2002). Os demais foram especificamente delineados para avaliar a questão da limitação de nutrientes, sendo desenvolvidos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, em São Paulo (FERRAGUT 1999, 2004 e BARCELOS 2003). Finalmente, HUSZAR *et al.* (2005) elaboraram uma síntese do estado de arte sobre a limitação de nutrientes incluindo ambas as comunidades fitoplanctônica e perifítica.

O presente estudo tem por objetivos (a) identificar o nutriente limitante ao desenvolvimento do perifíton em um sistema raso mesotrófico tropical, (b) avaliar o efeito da escala sazonal sobre a limitação de nutrientes e (c) os principais atributos indicadores desta limitação. Pretende contribuir com a compreensão das respostas dessa comunidade frente a enriquecimentos e subsidiar o uso do perifíton para avaliação nutricional da água. A abordagem em escala anual é pioneira no país e em regiões tropicais/subtropicais.

ÁREA DE ESTUDO

O Lago das Ninféias (Figura 1) localiza-se no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (paralelos 23°38'08" S e 23°40'18" S e meridianos 46°36'48" W e 46°38'00" W), Unidade de Conservação circunscrita na malha urbana de São Paulo. Foi construído em 1930 a partir do barramento do córrego Pirarungaua, apresenta área de 5.433 m², volume de 7.170 m³, profundidade máxima e média, respectivamente de 3,6 e 1,3 m, e tempo médio de residência de 7,2 dias (BICUDO, C. *et al.* 2002). É um sistema mesotrófico polimítico (BICUDO, D. *et al.* 2002), com extensos bancos multiespecíficos de macrófitas submersas e flutuantes. O clima da região é tipicamente classificado como tropical de altitude (CONTI & FURLAN 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental - o experimento constou de um controle (sem adição de sais) e três tratamentos enriquecidos: N⁺ (adição isolada de nitrogênio, 0,75 M de NaNO₃, condição P-limitante), P⁺ (adição isolada de fósforo, 0,05 M de Na₂HPO₄, condição N-limitante) e NP⁺ (adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). Os quatro tratamentos foram posicionados na região litorânea da represa no sentido do fluxo da água e distanciados uns dos outros para evitar a contaminação entre tratamentos (Figura 1). Os substratos difusores de nutrientes (SDN) foram feitos de copo de poliestireno (330 cm³, altura de 110 mm, diâmetro da abertura de 80 mm) preenchidos com solução Agar 2% e com sais, conforme o tratamento. Sua abertura foi revestida com malha de monofilamento de 20 µm (malha de rede de fitoplâncton), que serviu de substrato para o desenvolvimento do perifíton (área de 47,75 cm²). Detalhes sobre a unidade experimental, conforme FERMINO *et al.* (2004).

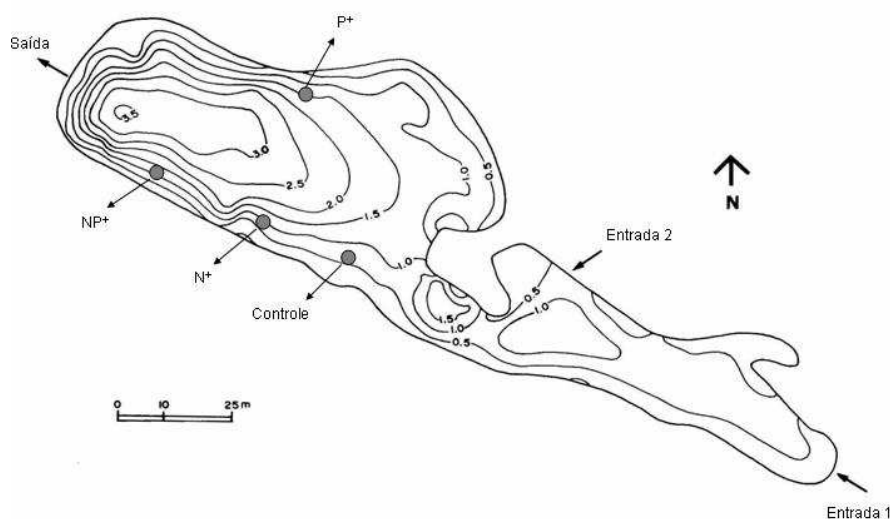


Figura 1. Mapa batimétrico do Lago das Ninféias (PEFI, São Paulo) com a localização das entradas e saída e dos experimentos (controle e tratamentos N^+ , P^+ e NP^+). Modificado de BICUDO, C. *et al.* (2002).

As amostragens contemplaram a escala anual de variação, sendo realizadas nas épocas de primavera (23/11-08/12/2001), verão (21/02-08/03/2002), outono (03/05-18/05/2002) e inverno (10/07-25/07/2002). Para cada período e tratamento, foram realizadas quatro coletas correspondentes aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização do perifíton.

Variáveis abióticas – as variáveis climatológicas (temperatura do ar, precipitação pluviométrica, vento e radiação solar) foram fornecidas pela Estação Meteorológica do Departamento de Ciências Atmosféricas do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências da Atmosfera da Universidade de São Paulo, situado cerca de 800 m do local de coleta.

As variáveis limnológicas analisadas foram: radiação subaquática ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, quantameter Li-COR, modelo LI-250); temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH e condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) mediante sonda multiparâmetro YSI 600R; oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, método de Winkler modificado pela azida, conforme GOLTERMAN *et al.* 1978); alcalinidade ($\text{mEq}\cdot\text{L}^{-1}$, segundo GOLTERMAN & CLYMO 1971); e formas inorgânicas de carbono ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), obtidas a partir dos dados de pH e alcalinidade, segundo MACKERET *et al.* (1978). Após filtração das amostras em filtros pré-calcinados GF/F, sob baixa pressão ($< 0,5\text{ atm}$), os seguintes nutrientes dissolvidos foram determinados e expressos pela concentração do elemento considerado: ortofosfato e

fósforo total dissolvido (STRICKLAND & PARSONS 1960); amônio (SOLORZANO 1969); nitrato e nitrito (MACKERET *et al.* 1978) e ácido ortossilícico (GOLTERMAN *et al.* 1978). Amostras não filtradas foram utilizadas para análise de fósforo total (PT) e nitrogênio total (NT), conforme VALDERRAMA (1981). As coletas foram realizadas com garrafas de polietileno na água sobrejacente aos tratamentos, em duplicatas. As análises foram processadas no dia de coleta, exceto aos nutrientes totais, que foram determinados em no máximo 7 dias.

Atributos do perifiton - as amostras (SDN) foram coletadas de forma aleatória, mediante processo de sorteio, com três repetições ($n = 3$), exceto para densidade de algas ($n = 2$). No laboratório, o perifiton foi imediatamente removido das superfícies por meio de escovação delicada e jatos de água destilada ou ultrapura. Dependendo da análise realizada, o material removido foi mantido em freezer a um volume conhecido de água ultrapura (composição química); foi filtrado em filtro GF/F (clorofila-a e massa seca), ou, ainda, fixado e preservado em lugol acético 0,5% a um volume conhecido (análise quantitativa das algas) para posterior análise.

As determinações de massa seca e massa orgânica (massa seca livre de cinzas, MSLC) seguiram SCHWARZBOLD *et al.* (1990); a clorofila-a corrigida da feofitina foi extraída com etanol a 90% aquecido por 5 minutos, não macerado (MARKER *et al.* 1980 e SARTORY & GROBBELAAR 1984); a composição química do perifiton (nitrogênio e fósforo) seguiu, para o fósforo, o método de ANDERSEN (1976) modificado para perifiton (POMPÊO & MOSCHINI-CARLOS 2003) e para o nitrogênio, o método microKjedahl, conforme UMBREIT *et al.* (1964). Os dados foram normalizados para massa seca livre de cinzas e expressos em porcentagem de concentração da massa orgânica perifítica (%P_p e %N_p), conforme BIGGS (1995).

A quantificação das algas seguiu o método de UTERMÖHL (1958), sendo processada em microscópio invertido Zeiss Oberkochen, em aumento de 400 vezes (LUND *et al.* 1958). O material removido do substrato foi imediatamente fixado e preservado em lugol acético 0,5% (BICUDO, C. 1990; VILLAFANE & REID 1995). O limite de contagem foi baseado em dois procedimentos, curva de rarefação de espécies e contagem de no mínimo 100 organismos da espécie mais comum (BICUDO, D. 1990).

Tratamento Estatístico – a análise descritiva foi inicialmente avaliada por meio de gráficos de perfis de média, histogramas, medidas de tendência central e dispersão dos dados. Para confecção de gráficos de caixa (“Box-plot”) usou-se o programa MINITAB, versão 14.1. A

análise inferencial ($P < 0,10$) para comparação de médias dos dados bióticos e abióticos foi feita pelo método de comparações múltiplas de Bonferroni, com coeficiente de confiança global de 90% a cada um dos contrastes apresentados no Modelo Linear Generalizado (MLG), com distribuição Gama dos erros (NETER *et al.* 1996; MYERS *et al.* 1999, PAULA 2004). Este método foi escolhido visto que houve heterocedasticidade entre variâncias e não-normalidade dos resíduos. O programa computacional utilizado foi o “R-project”, com pacote “multcomp” para elaboração de comparações múltiplas no modelo estatístico. As análises foram rodadas no Departamento de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo. A análise conjunta dos dados foi feita mediante análises estatísticas multivariadas. A análise de componentes principais (ACP) foi realizada a partir de matriz de covariância com transformação dos dados pelo $[\log(x + 1)]$ para os dados abióticos e pela amplitude de variação dos dados (*ranging*: $[(x - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min})]$) para os dados bióticos. As transformações de dados foram feitas a partir do programa FITOPAC (SHEPHERD 1996) e as análises multivariadas, pelo programa PC-ORD versão 4.0 para Windows (MCCUNE & MEFFORD 1999).

Critério de Limitação de Nutrientes - para avaliação da limitação de nutrientes para as variáveis-resposta clorofila-a, MSLC e densidade total de algas foram adotados os critérios de TANK & DODDS (2003), que foram originalmente estabelecidos com base na clorofila-a, conforme seguem abaixo (Tabela 1).

a) *Limitação isolada de nutrientes (N ou P)*: adição isolada de um único nutriente (N ou P) resulta em aumento significativo da variável-resposta em relação ao controle, mas sem haver interação significativa entre ambas adições;

b) *Co-limitação por N e P*:

- adição isolada de N ou P não se diferencia significativamente do controle, porém a adição conjunta dos nutrientes provoca aumento significativo da variável-resposta;

- adição isolada de N ou P resulta em aumento significativo da variável-resposta em relação ao controle, mas a resposta positiva de N ou P não difere entre si;

c) *Limitação secundária*: adição isolada de um nutriente (N ou P) resulta em aumento significativo da variável-resposta em relação ao controle, porém a adição conjunta provoca um aumento ainda maior e o efeito da interação é significativo. Nesta situação, a limitação primária é a do nutriente que isoladamente provocou resposta positiva.

Tabela 1. Interpretação das respostas da adição de N e P. O triângulo no tratamento N ou P indica efeito positivo significativo e o triângulo no tratamento N x P indica interação significativa.

Interpretação	Efeito do N	Efeito do P	Interação NxP
Limitação isolada por N	▲		
Limitação isolada por P		▲	
Co-limitação por N e P			▲
Co-limitação por N e P	▲	▲	
Co-limitação por N e P	▲	▲	▲
Limitação primária por N e secundária por P	▲		▲
Limitação primária por P e secundária por N		▲	▲
Sem limitação por N ou P			

Para avaliar as variáveis-resposta conteúdo de fósforo e de nitrogênio do perifiton (%Np, %Pp, razão molar N:P) adotou-se critério de BIGGS (1995), segundo o qual os limiares de limitação nutricional são de 0,5% para o fósforo e de 5% para o nitrogênio (% do elemento normalizada para massa seca livre de cinzas).

RESULTADOS

VARIÁVEIS CLIMÁTICAS

Os dados climáticos diários apresentados referem-se ao período de 30 dias consecutivos de amostragem nas quatro estações do ano, iniciando no dia em que foram colocados os SDN no Lago das Ninfeias. Maiores valores médios de radiação solar, precipitação e velocidade do vento foram registrados na primavera e no verão. O período de inverno caracterizou-se pelas temperaturas médias inferiores e, juntamente com o outono, pelo baixo regime pluviométrico (Figura 2).

CONDIÇÕES LIMNOLÓGICAS ABIÓTICAS

Os valores médios e erro padrão das características físicas e químicas da água dos tratamentos estão apresentados por período de amostragem (Tabelas 2-5). Na tabela 6 estão os valores médios da temperatura da água e da radiação sub-aquática medidos nos tratamentos ao longo do dia (8:00h, 10:00h, 12:00h, 14:00h, 16:00h e 18:00h) nas quatro épocas do ano.

As variáveis temperatura da água, radiação subaquática, pH, alcalinidade, condutividade e ortossilicato não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,10$) entre tratamentos nas quatro

estações do ano (Tabelas 2-5). Já, entre as estações do ano, estas duas primeiras variáveis (temperatura da água e radiação subaquática) apresentaram variação ao longo do ano (Tabela 6), sendo nitidamente inferiores no inverno. Os maiores valores registrados de radiação subaquática foram na primavera, seguidos pelo verão e outono. Já a temperatura apresentou diferenças significativas no inverno em relação às demais estações. De fato no inverno, a temperatura da água decaiu em torno de 10 °C em relação aos demais períodos do ano (Tabela 6).

Em relação aos nutrientes, apenas o nitrito não apresentou diferenças significativas, exceto ao outono entre os tratamentos controle e P⁺ (Tabela 4). As demais variáveis serão caracterizadas pelas estações do ano.

Primavera (Tabela 2) - O oxigênio dissolvido apresentou diferenças significativas entre tratamentos, com os menores valores registrados no controle. Somente os tratamentos N⁺ e NP⁺, com médias de 5,2 e 6,3 mg L⁻¹, não apresentaram diferenças significativas. O CO₂ livre e o HCO₃⁻ apresentaram os menores valores nos tratamentos com adição de fósforo. No que se refere à série fósforo, o tratamento com adição isolada deste nutriente apresentou os maiores teores. Mesma tendência, porém menos acentuada, foi observada em relação ao tratamento com adição combinada de fósforo e nitrogênio.

Em relação à série nitrogênio, tanto o nitrato quanto o nitrogênio total apresentaram os maiores teores nos tratamentos com adição isolada e combinada deste nutriente. O amônio apresentou valores acima do limite de detecção do método apenas em condições não-enriquecidas (controle).

Verão (Tabela 3) - Valores de oxigênio dissolvido foram significativamente mais elevados no tratamento NP⁺, enquanto que este mesmo tratamento apresentou os menores valores para CO₂ livre. O PT, PDT e ortofosfato, ainda que em alguns casos ficaram abaixo do limite de detecção do método, foram mais elevados nos tratamentos com adição de fósforo. Os teores de nitrato foram mais elevados nos tratamentos com adição de nitrogênio, havendo diferença significativa apenas entre os tratamentos NP⁺ e P⁺. O nitrogênio total apresentou valores médios mais constantes entre tratamentos, com tênue elevação nos tratamentos N⁺ e NP⁺, porém sem diferenças significativas. O amônio, na maioria do período, permaneceu abaixo do limite de detecção do método.

Outono (Tabela 4) – Os teores de oxigênio foram relativamente baixos em todos os tratamentos, sendo mais elevado no NP⁺. O dióxido de carbono apresentou os maiores teores no controle e os menores no tratamento NP⁺ ($p < 0,10$). Os valores de fósforo foram os mais baixos

encontrados entre todas estações do ano, sendo que o PT, PDT e ortofosfato ficaram quase sempre abaixo do limite de detecção do método. Assim mesmo, os maiores valores médios foram encontrados nos tratamentos com adição deste nutriente. O nitrato e o NT apresentaram teores mais elevados no tratamento N^+ , seguido dos tratamentos NP^+ e controle. O amônio teve os maiores teores no controle.

Inverno (Tabela 5) – Não houve diferença significativa entre os gases dissolvidos nos tratamentos nesta estação do ano. Os valores médios de PT, PDT e ortofosfato foram mais elevados quando comparados à primavera e ao outono, sendo que nos tratamentos com adição isolada ou combinada de P foram significativamente mais elevados. Os teores de nitrato, em geral, foram os mais baixos encontrados ao longo do ano, enquanto que o de amônio foram os mais elevados. Particularmente o tratamento N^+ destacou-se com os maiores valores de nitrato.

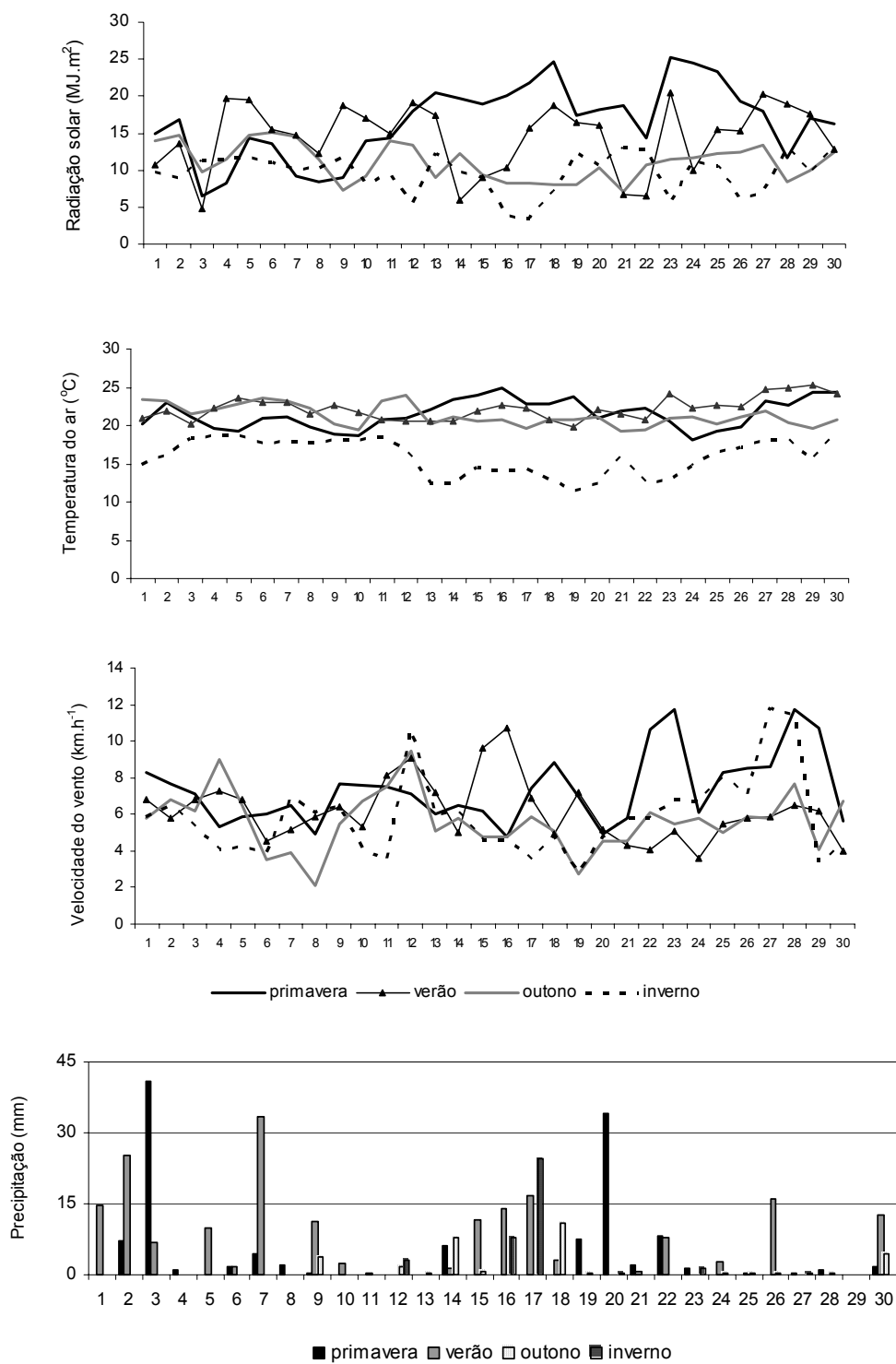


Figura 2. Variação diária da radiação solar, temperatura média do ar, velocidade do vento e precipitação durante 30 dias em cada época do ano na área do PEFL.

Tabela 2. Valores mínimo e máximo e, entre parênteses, média e erro padrão (n = 8) das variáveis limnológicas nos tratamentos realizados no Lago das Ninfêias, durante a primavera. Contrastes dos tratamentos pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: NS = não significativo; * diferença significativa ($P < 0,10$).

Variáveis	Controle	N ⁺	P ⁺	NP ⁺	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Temperatura (°C)	21,0 - 23,6 (22,7 ± 0,8)	21,9 - 24,8 (23,3 ± 0,9)	23,4 - 27,4 (24,5 ± 1,4)	23,2 - 27,6 (24,8 ± 1,4)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Rad. subaq. ($\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$)	1174,8	1183,3	1098,0	1224,7	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pH	6,1 - 6,3 (6,2 ± 0,03)	6,1 - 6,6 (6,3 ± 0,05)	6,3 - 7,0 (6,5 ± 0,10)	6,3 - 7,8 (6,8 ± 0,21)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alcalinidade (mEq.L ⁻¹)	0,290 - 0,317 (0,30 ± 0,001)	0,284 - 0,320 (0,30 ± 0,001)	0,273 - 0,319 (0,30 ± 0,001)	0,278 - 0,311 (0,30 ± 0,001)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	35,0 - 70,9 (46,4 ± 4,45)	36,0 - 62,6 (45,3 ± 3,49)	35,0 - 58,3 (43,7 ± 3,2)	36,0 - 57,2 (44,9 ± 2,68)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	0,51 - 2,60 (1,36 ± 0,25)	2,04 - 8,59 (5,23 ± 0,77)	1,34 - 8,98 (3,45 ± 1,08)	1,12 - 12,75 (6,26 ± 1,6)	*	*	*	*	NS	*
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	11,64 - 19,32 (16,78 ± 1,09)	5,79 - 19,49 (15,29 ± 1,80)	2,15 - 18,97 (12,75 ± 2,53)	0,44 - 19,43 (13,04 ± 2,9)	NS	*	*	*	NS	NS
HCO ₃ (mg.L ⁻¹)	15,83 - 22,68 (18,61 ± 0,69)	12,88 - 21,28 (17,30 ± 1)	7,53 - 18,41 (13,19 ± 1,59)	8,66 - 18,45 (14,98 ± 1,41)	*	*	*	*	*	*
PT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4-33,3 (22,75 ± 4,04)	5,79 - 30,57 (21,27 ± 3,05)	41,11 - 174,85 (98,16 ± 16,14)	17,3 - 65,6 (43,22 ± 6,41)	NS	*	*	*	*	*
PDT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4 - 4,27 (4,03 ± 0,03)	<4 - 5,19 (4,2 ± 0,15)	13,1 - 142,43 (50,87 ± 15,88)	<4 - 26,15 (11,99 ± 3,04)	NS	*	*	*	*	*
P-PO ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4	<4	<4 - 188,08 (51,36 ± 21,32)	<4 - 40,27 (12,97 ± 5,00)	---	---	---	---	---	---
NT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	208,4 - 771,9 (465,9 ± 70,4)	262,6 - 1395,5 (705,5 ± 127,1)	91,0 - 834,3 (457,0 ± 115,1)	134,4 - 1607,2 (705,2 ± 209,3)	*	NS	*	NS	NS	NS
N-NO ₂ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<5	<5	<5	<5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
N-NO ₃ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<8	45,72 - 342,53 (131,18 ± 32,5)	<8	42,46 - 240,67 (140,6 ± 0,91)	*	NS	*	*	NS	*
N-NH ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4,2 - 7,34 (4,6 ± 0,99)	<4,2	<4,2	<4,2	---	---	---	---	---	---
Si-SiH ₄ O ₄ (mg.L ⁻¹)	0,37 - 2,68 (1,18 ± 0,34)	0,40 - 2,58 (1,14 ± 0,32)	0,35 - 2,38 (0,98 ± 0,3)	0,31 - 2,30 (0,96 ± 0,29)	NS	NS	NS	NS	NS	NS

< valores abaixo do limite de detecção do método

Tabela 3. Valores mínimo e máximo e, entre parênteses, média e erro padrão (n = 8) das variáveis limnológicas nos tratamentos realizados no Lago das Ninféias, durante o verão. Contrastes dos tratamentos pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: NS = não significativo; * diferença significativa ($P < 0,10$).

Variáveis	Controle	N ⁺	P ⁺	NP ⁺	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Temperatura (°C)	22,3 - 24,6 (22,9 ± 0,8)	22,3 - 25,0 (23,0 ± 0,9)	22,4 - 25,6 (23,4 ± 1,0)	22,5 - 25,3 (23,4 ± 0,9)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Rad. subaq. ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	1026,4	1058,9	1011,0	979,9	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pH	5,9 - 6,3 (6,1 ± 0,03)	6,1 - 6,3 (6,2 ± 0,02)	6,1 - 6,4 (6,2 ± 0,03)	6,2 - 6,6 (6,3 ± 0,06)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alcalinidade (mEq.L ⁻¹)	0,233 - 0,253 (0,24 ± 0,001)	0,237 - 0,250 (0,24 ± 0,001)	0,246 - 0,263 (0,25 ± 0,001)	0,242 - 0,274 (0,25 ± 0,001)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Condutividade ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	46,0 - 53,6 (49,2 ± 0,92)	42,6 - 52,2 (47,3 ± 1,22)	45,7 - 53 (49,3 ± 0,94)	43,0 - 56,3 (49,8 ± 1,7)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	1,84 - 4,56 (3,12 ± 0,31)	2,48 - 4,56 (3,37 ± 0,26)	2,3 - 4,11 (2,89 ± 0,26)	3,09 - 8,63 (5,20 ± 0,65)	NS	NS	*	NS	*	*
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	11,69 - 24,76 (15,75 ± 1,43)	10,35 - 16,33 (13,41 ± 0,75)	8,48 - 18,81 (13,80 ± 1,14)	4,95 - 16,08 (11,53 ± 1,46)	NS	NS	*	NS	*	NS
HCO ₃ (mg.L ⁻¹)	14,21 - 15,4 (14,67 ± 0,14)	14,37 - 15,32 (14,73 ± 0,13)	14,99 - 16,02 (15,42 ± 0,16)	14,76 - 16,69 (15,61 ± 0,23)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	12,27 - 25,07 (19,45 ± 1,67)	14,48 - 22,02 (18,67 ± 1,09)	20,2 - 32,99 (27,71 ± 1,66)	15,77 - 35,74 (23,69 ± 2,24)	NS	*	NS	*	NS	NS
PDT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	<4 - 9,71 (6,25 ± 0,88)	<4 - 9,11 (6,24 ± 0,85)	4 - 12,96 (7,82 ± 1,46)	<4 - 10,91 (7,12 ± 1,08)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P-PO ₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	<4	<4 - 6,71 (4,33 ± 0,33)	<4 - 14,08 (6,39 ± 1,57)	<4 - 5,97 (4,34 ± 0,25)						
NT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	208,5 - 529,7 (404,1 ± 44,2)	240,3 - 727,4 (513,7 ± 59,2)	286,2 - 758,0 (492,4 ± 57,3)	305,9 - 786,4 (516,1 ± 66,8)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
N-NO ₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5,55 - 10,87 (8,75 ± 0,61)	<5 - 14,03 (9,83 ± 1,14)	<5 - 11,86 (9,20 ± 1,07)	<5 - 14,87 (11,22 ± 1,74)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
N-NO ₃ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	67,17-190,91 (132,52±12,94)	76,35 - 422,39 (177,57±39,00)	12,85 - 111,31 (58,59± 13,62)	40,75 - 741,78 (210,30±82,14)	NS	NS	NS	NS	NS	*
N-NH ₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	<4,2	<4,2	<4,2 - 83,63 (14,36± 10,36)	<4,2	---	---	---	---	---	---
Si-SiH ₄ O ₄ (mg.L ⁻¹)	0,24 - 2,96 (1,76 ± 0,4)	0,32 - 2,99 (1,63 ± 0,36)	0,31 - 3,17 (1,74 ± 0,37)	0,28 - 2,91 (1,69 ± 0,37)	NS	NS	NS	NS	NS	NS

< valores abaixo do limite de detecção do método

Tabela 4. Valores mínimo e máximo e, entre parênteses, média e erro padrão (n = 8) das variáveis limnológicas nos tratamentos realizados no Lago das Ninfêias, durante o outono. Contrastes dos tratamentos pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: NS = não significativo; * diferença significativa ($P < 0,10$).

Variáveis	Controle	N ⁺	P ⁺	NP ⁺	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Temperatura (°C)	20,0 - 21,5 (20,9 ± 0,5)	20,0 - 21,6 (20,9 ± 0,5)	21,2 - 21,8 (21,4 ± 0,2)	21,1 - 22,0 (21,5 ± 0,3)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Rad. subaq. ($\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$)	610,4	645,5	642,2	631,1	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pH	5,8 - 6,0 (5,9 ± 0,03)	5,8 - 6,1 (6,0 ± 0,04)	5,9 - 6,2 (6,0 ± 0,03)	6,0 - 6,2 (6,1 ± 0,02)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alcalinidade (mEq.L ⁻¹)	0,203 - 0,241 (0,22 ± 0,001)	0,221 - 0,248 (0,23 ± 0,001)	0,238 - 0,248 (0,24 ± 0,001)	0,225 - 0,257 (0,24 ± 0,001)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	44,3 - 62,8 (50,2 ± 2,12)	44,9 - 53,1 (48,7 ± 1,24)	44,6 - 54,7 (49 ± 1,48)	45,6 - 54,1 (49,2 ± 1,35)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	1,88 - 4,31 (2,60 ± 0,3)	1,72 - 3,76 (2,47 ± 0,22)	0,91 - 2,64 (1,88 ± 0,2)	2,13 - 4,21 (3,37 ± 0,27)	NS	*	*	*	*	*
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	19,55 - 31,3 (24,1 ± 1,52)	16,03 - 28,03 (22,86 ± 2,04)	16,06 - 27,28 (20,67 ± 1,49)	14,22 - 22,7 (18,43 ± 1,17)	NS	NS	*	NS	*	NS
HCO ₃ (mg.L ⁻¹)	12,37 - 14,69 (13,78 ± 0,27)	13,49 - 15,05 (14,37 ± 0,2)	13,72 - 15,66 (14,84 ± 0,2)	14,54 - 15,15 (14,79 ± 0,07)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4 - 11,77 (7,29 ± 1,21)	<4 - 8,86 (6,02 ± 0,83)	9,83 - 86,08 (45,32 ± 12,44)	<4 - 37,51 (15,51 ± 3,85)	NS	*	*	*	*	*
PDT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4 - 7,41 (4,96 ± 0,42)	<4 - 7,85 (4,97 ± 0,46)	<4 - 62,96 (17,76 ± 7,78)	<4 - 18,72 (9,4 ± 1,65)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P-PO ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4	<4	<4 - 52,51 (14,74 ± 6,40)	<4	---	---	---	---	---	---
NT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	687,1 - 933,1 (783,4 ± 31,4)	625,0 - 2929,2 (1077,3 ± 270,4)	229,5 - 817,2 (566,4 ± 75,7)	252,6 - 1499,3 (798,6 ± 147,7)	*	*	NS	*	NS	*
N-NO ₂ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<5 - 8,91 (5,78 ± 0,68)	<5 - 13,23 (8,21 ± 1,18)	<5 - 16,24 (10,93 ± 2,41)	<5 - 15,68 (8,64 ± 2,06)	NS	*	NS	NS	NS	NS
N-NO ₃ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	73,53 - 192,85 (109,87 ± 17,18)	119,82 - 477,06 (243,09 ± 45,75)	<8 - 69,25 (37,71 ± 8,5)	31,15 - 285,9 (144,22 ± 32,34)	NS	NS	NS	*	NS	*
N-NH ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4,2 - 63,76 (23,74 ± 7,97)	<4,2 - 7,5 (2,68 ± 1,32)	<4,2 - 43,67 (11,68 ± 6,45)	<4,2 - 24,37 (4,11 ± 2,98)	---	---	---	---	---	---
Si-SiH ₄ O ₄ (mg.L ⁻¹)	2,54 - 3,75 (3,22 ± 0,15)	2,59 - 3,79 (3,22 ± 0,16)	2,91 - 2,9 (3,41 ± 0,13)	2,84 - 3,84 (3,31 ± 0,15)	NS	NS	NS	NS	NS	NS

< valores abaixo do limite de detecção do método

Tabela 5. Valores mínimo e máximo e, entre parênteses, média e erro padrão (n = 8) das variáveis limnológicas nos tratamentos realizados no Lago das Ninfeias, durante o inverno. Contrastes dos tratamentos pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: NS = não significativo; * diferença significativa ($P < 0,10$).

Variáveis	Controle	N ⁺	P ⁺	NP ⁺	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Temperatura (°C)	14,4 - 16,0 (15,1 ± 0,5)	14,2 - 16,0 (14,9 ± 0,6)	14,4 - 16,2 (15,0 ± 0,6)	14,5 - 15,9 (15,0 ± 0,5)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Rad. subaq. ($\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$)	168,1	196,0	155,4	189,5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pH	6,2 - 6,5 (6,2 ± 0,03)	6,2 - 6,4 (6,3 ± 0,03)	6,2 - 6,5 (6,3 ± 0,04)	6,2 - 6,5 (6,3 ± 0,05)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alcalinidade (mEq.L ⁻¹)	0,231 - 0,254 (0,24 ± 0,001)	0,228 - 0,257 (0,24 ± 0,001)	0,230 - 0,258 (0,24 ± 0,001)	0,230 - 0,254 (0,24 ± 0,001)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	40,0 - 61,6 (48 ± 2,59)	39,0 - 49,1 (44,2 ± 1,32)	39,0 - 49,8 (43,2 ± 1,34)	41,0 - 48,9 (44,6 ± 1,07)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	3,64 - 6,58 (5,03 ± 0,45)	3,74 - 6,57 (5,09 ± 0,32)	3,95 - 7,49 (5,60 ± 0,45)	4,32 - 8,26 (5,85 ± 0,54)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	7,99 - 16,88 (14,2 ± 1,10)	9,5 - 17,29 (13,4 ± 1,02)	6,96 - 16,21 (12,72 ± 1,39)	6,47 - 16,71 (12,09 ± 1,48)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
HCO ₃ (mg.L ⁻¹)	14,07 - 15,48 (14,73 ± 0,18)	13,92 - 15,69 (14,68 ± 0,2)	14,05 - 15,72 (14,82 ± 0,19)	14,05 - 15,48 (14,75 ± 0,17)	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	5,46 - 9,99 (7,84 ± 0,58)	5,46 - 13,55 (8,21 ± 0,99)	13,07 - 86,72 (45,24 ± 9,73)	9,67 - 28,61 (15,92 ± 2,25)	NS	*	*	*	*	*
PDT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4 - 5,35 (4,26 ± 0,18)	<4 - 4,62 (4,14 ± 0,08)	7,56 - 37,09 (16,66 ± 4,06)	4,18 - 7,12 (5,53 ± 0,33)	NS	*	NS	*	NS	NS
P-PO ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	4,36 - 11,53 (8,16 ± 8,09)	5,38 - 12,26 (8,72 ± 7,95)	8,57 - 26,27 (14,9 ± 8,37)	<4 - 9,23 (6,0 ± 8,45)	---	---	---	---	---	---
NT ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	507,6 - 651,1 (585,3 ± 15,3)	574,2 - 3040,4 (1032,9 ± 288,8)	179,7 - 720,1 (438,3 ± 69,8)	344,2 - 875,2 (577,0 ± 71,6)	*	NS	NS	*	*	NS
N-NO ₂ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<5	<5	<5	<5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
N-NO ₃ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<8 - 44,5 (21,96 ± 5,88)	90,08 - 524,13 (232,92 ± 52,5)	<8 - 70,32 (30,2 ± 9,07)	<8 - 351,33 (129,55 ± 47,37)	*	NS	*	*	NS	*
N-NH ₄ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<4,2 - 11,77 (5,7 ± 1,51)	<4,2 - 349,58 (70,51 ± 45,65)	<4,2 - 375,62 (54,44 ± 45,97)	<4,2 - 478,21 (71,07 ± 58,46)	---	---	---	---	---	---
Si-SiH ₄ O ₄ (mg.L ⁻¹)	7,69 - 32,95 (22,24 ± 2,99)	9,89 - 45,04 (26,91 ± 3,8)	4,39 - 29,66 (17,71 ± 2,72)	12,08 - 25,26 (18,26 ± 1,68)	NS	NS	NS	NS	NS	NS

< valores abaixo do limite de detecção do método

Tabela 6. Valores mínimo e máximo da temperatura da água (n = 32) e radiação subaquática (n = 6) nas quatro estações do ano (P: primavera, V: verão, O: outono e I: inverno) no Lago das Ninféias. Contrastes dos tratamentos pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: NS = não significativo; * diferença significativa ($P < 0,10$).

Variável	Prim.	Ver.	Out.	Inv.	P x V	P x O	P x I	V x O	V x I	O x I
Temp. água (°C)	21-27,6	22,3-25,6	20-21,8	14,2-16,2	NS	NS	*	NS	*	*
Rad. subaq. ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	1174,8-1224,7	979,9-1058,9	610,4-645,5	155,4-189,5	*	*	*	*	*	*

Para avaliar as principais tendências de variação das características limnológicas abióticas nos tratamentos, durante as quatro estações do ano, foi aplicada análise de componentes principais (ACP). A análise resumiu 62,8% da variabilidade dos dados em seus dois primeiros eixos (Figura 3, Tabela 7). Na coordenada principal 1 (40,8%), as unidades amostrais posicionaram-se à esquerda do eixo em associação à maior disponibilidade de fósforo (PT e PDT) e à direita do eixo, em associação aos maiores teores de nitrato (NO_3). Tais variáveis apresentaram correlações elevadas com este eixo, respectivamente com valores de -0,7; -0,6 e 0,9. Desta forma, nos extremos do eixo 1 ordenaram-se, à esquerda, as unidades relativas ao tratamento com adição isolada de fósforo (P^+) e, à direita, as relativas ao tratamento com adição isolada de nitrogênio (N^+) e, em parte, as com adição combinada (NP^+). Ainda, próximo às unidades amostrais enriquecidas com fósforo ordenaram-se as condições sem enriquecimento (controle) no período da primavera, evidenciando uma maior disponibilidade de fósforo no Lago das Ninféias nesta estação do ano.

Na coordenada 2, as unidades amostrais ordenaram-se em seu lado positivo, fundamentalmente, em função da maior disponibilidade do amônio ($r = 0,9$) e, em seu lado negativo, pelos maiores valores de temperatura da água ($r = -0,4$). Associadas ao amônio posicionaram-se as observações do inverno, independentemente do tratamento e, do lado negativo, as estações mais quentes do ano (primavera e verão).

Em síntese, o eixo 1 indicou que a maior variabilidade dos dados abióticos foi atribuída, principalmente, ao tipo de enriquecimento, de forma que a maior disponibilidade de fósforo foi encontrada no tratamento com adição isolada de fósforo (na maioria) e maior disponibilidade de nitrato nos tratamentos com adição isolada, mas também combinada de nitrogênio. Já, no eixo 2, a ordenação deu-se mais em função da época do ano. Depreende-se, portanto, que a variabilidade limnológica abiótica foi fundamentalmente condicionada pelo tipo de tratamento, embora também pela escala anual de variação. Observa-se, também, que o

fósforo sofreu influência temporal, estando mais disponível em condições naturais (controle) no período da primavera.

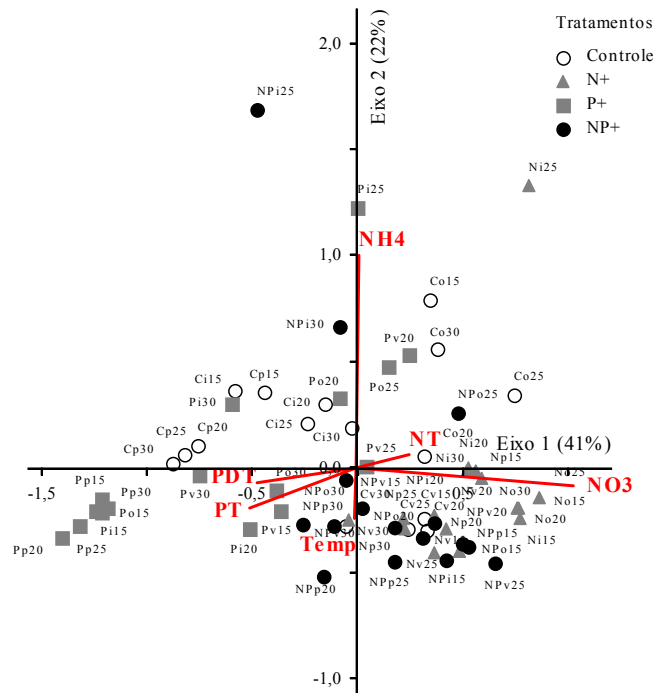


Figura 3. Ordenação pela ACP das unidades amostrais dos tratamentos (letras em maiúsculo: C, N, P, NP) nas quatro estações do ano (letra em minúsculo: p, v, o, i) ao longo do período experimental (números: dias do experimento). Abreviações - NH₄: amônio; NO₃: nitrato; NT: nitrogênio total; PDT: fósforo total dissolvido; PT: fósforo total; Temp: temperatura da água. Vetores menores que 0,200 foram excluídos.

Tabela 7. Correlação das variáveis abióticas com os eixos 1 e 2. Em negrito, $r \geq 0,5$.

Variáveis	Componentes Principais	
	1	2
Temp	-0,101	-0,451
Ph	-0,225	-0,074
Condutividade	0,113	-0,102
Oxigênio dissolvido	0,182	0,090
CO ₂ livre	0,147	-0,008
HCO ₃	0,040	-0,026
PT	-0,654	-0,399
PDT	-0,627	-0,249
NT	0,465	0,241
NO ₃	0,928	-0,278
NH ₄	0,122	0,916
Si	0,289	0,061
Varição Explicada	40,8%	22,0%

ATRIBUTOS DA COMUNIDADE PERIFÍTICA E LIMITAÇÃO POR NITROGÊNIO E FÓSFORO

Conteúdo de nitrogênio e fósforo total do perifíton - as modificações dos teores de nitrogênio (%Np) e fósforo (%Pp) total do perifíton, expressos em porcentagem de massa seca livre de cinzas são apresentadas a seguir.

Na maioria das vezes, as variações do conteúdo de nitrogênio e fósforo total do perifíton ao longo do período sucessional não seguiram tendências paralelas, indicando sinergismo na incorporação de ambos os nutrientes. Tal fato foi particularmente observado com adição combinada de N e P (Figura 4).

A primavera destacou-se como a estação do ano em que ocorreu a maior incorporação de nutrientes (N e P) ao longo da sucessão e em todos os tratamentos. De modo geral, os picos de maior incorporação ocorreram entre o 20-25º dias de sucessão. Em oposição, a incorporação de nutrientes no inverno foi gradual, mais lenta, contínua, paralela e, exceto ao tratamento NP⁺, com pico no último dia do experimento.

Nitrogênio total (% Np) - as porcentagens médias de nitrogênio total do perifíton ao longo da sucessão foram mais elevadas nos tratamentos com adição isolada ou conjunta de fósforo em todas as estações do ano (Figura 5, Tabela 8). Entretanto, diferença significativa ($P < 0,10$) só ocorreu entre todos os tratamentos em relação ao controle na primavera e entre o tratamento NP⁺ e controle no inverno. Houve interação entre tratamentos e estações, pois ocorreu diferença significativa entre o controle e demais tratamentos na primavera (Figura 5).

A primavera destacou-se como a época do ano que apresentou os valores mais elevados em todos os tratamentos, enquanto que no inverno ocorreram os menores teores (Figura 5, Tabela 8). Analisando as respostas ao longo das estações do ano, os tratamentos P⁺ e NP⁺ apresentaram mesma tendência, ou seja, em todas as estações do ano o conteúdo de N do perifíton foi significativamente maior do encontrado no inverno, mesmo em condições não-enriquecidas (controle), sugerindo diferenciação nos teores de nitrogênio nesta estação em relação às demais. O tratamento N⁺ apresentou diferença significativa ($P < 0,10$) apenas entre primavera e inverno, seguindo a tendência geral dos maiores e menores valores, respectivamente.

Considerando os critérios adotados de limitação de nutrientes, a comunidade perifítica apresentou indício de limitação por nitrogênio (%Np < 5%) em condições naturais (controle) em todas as épocas do ano (Figura 6). Manteve-se bem abaixo do limiar mínimo mesmo em condições de adição isolada de nutrientes (P⁺ ou N⁺) no outono e inverno, atingindo este limiar apenas em condições de adição conjunta no outono. No verão, o perifíton chegou próximo ao limiar mediante adição isolada de P, passando a valores acima da limitação no

tratamento NP⁺. Apenas na primavera a comunidade deixou de estar limitada por N mediante adição isolada (N⁺, P⁺) ou conjunta de nutrientes. No inverno, nem a adição conjunta de nutrientes levou o perifíton para níveis de ausência de limitação.

Fósforo Total (% Pp) – as porcentagens médias de fósforo total do perifíton ao longo da sucessão foram 30 a 70 vezes mais elevadas nos tratamentos com adição isolada ou conjunta deste nutriente em relação ao controle, não havendo diferença significativa ($P < 0,10$) entre os tratamentos P⁺ e NP⁺. Analisando cada tratamento ao longo do ano, a primavera sempre se destacou como a estação do ano com os valores significativamente mais elevados, inclusive na condição controle (Figura 7, Tabela 8). A diferença das médias nos tratamentos P⁺ e NP⁺ na primavera versus verão foi diferente da diferença das médias entre estas duas estações nos tratamentos controle e N⁺. Neste caso pode-se afirmar que houve interação entre tratamento e estação do ano (Figura 7, Tabela 8).

Em relação à limitação de nutrientes, a comunidade perifítica mostrou-se P-limitada (%Pp < 0,5) nas quatro estações do ano, superando esta limitação mediante enriquecimento isolado ou combinado de fósforo (Figura 8).

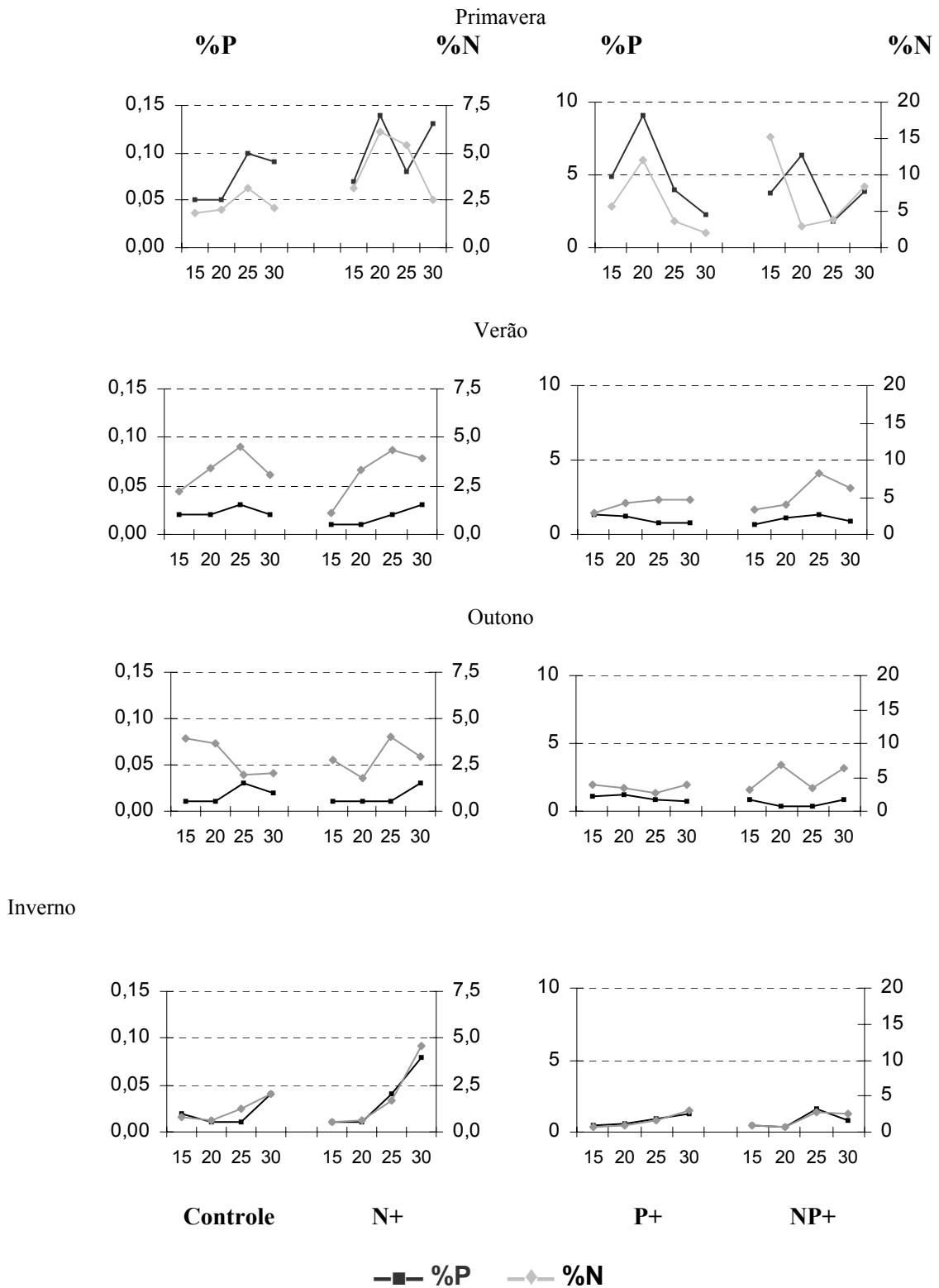


Figura 4. Valores médios (n = 3) do conteúdo de fósforo (%P) e de nitrogênio (%N) do perifíton ao longo de 30 dias em condições experimentais (controle e adição isolada e combinada de N e P) nas quatro estações do ano no Lago das Ninféias (escalas diferentes).

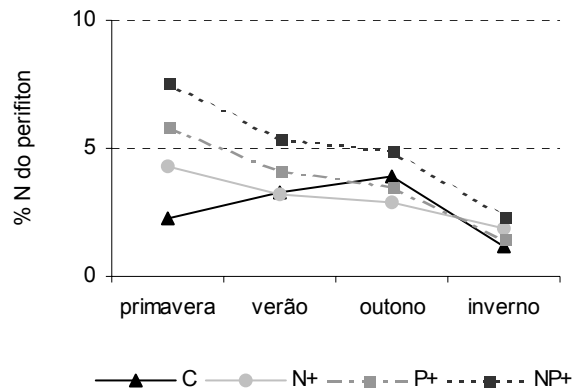


Figura 5. Variação da concentração média de nitrogênio total do perifiton (% MSLC, n = 12) nos tratamentos (C, N⁺, P⁺, NP⁺), ao longo do período experimental e nas quatro estações do ano.

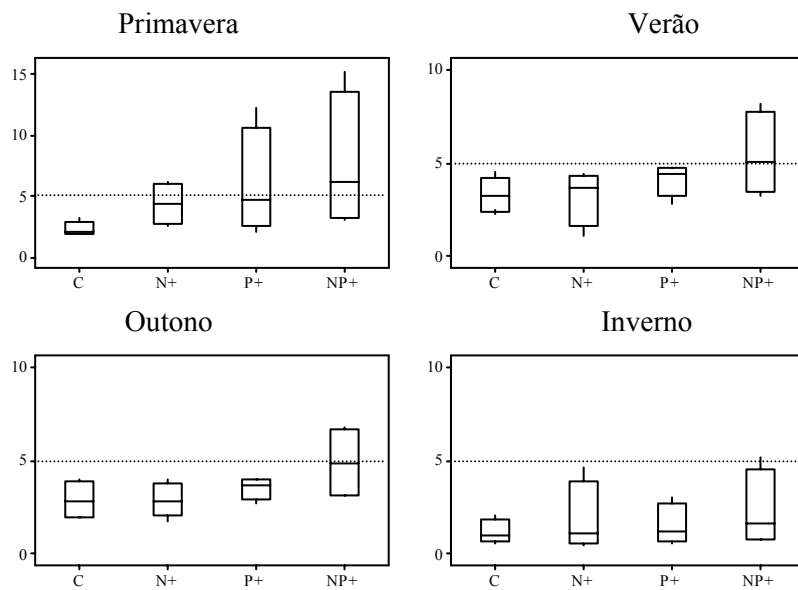


Figura 6. Gráfico de caixas esquemáticas (mediana, quartis, n = 3) da porcentagem de nitrogênio total do perifiton (%Np), por unidade de MSLC, nos quatro tratamentos (Controle, N⁺, P⁺, NP⁺) e nas quatro estações do ano no lago das Ninféias. Linha tracejada indica o limiar (0,5%) abaixo do qual há limitação pelo nutriente considerado (escalas diferentes).

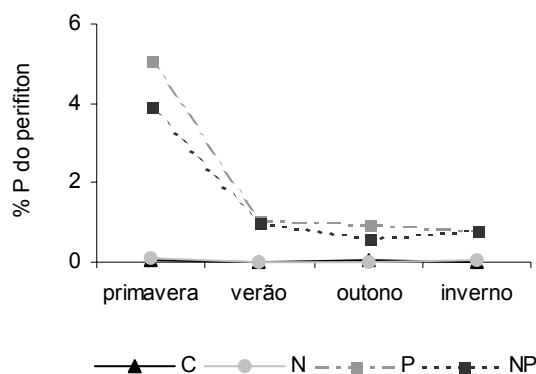


Figura 7. Variação da concentração média de fósforo total do perifiton (% MSLC, n = 12) nos tratamentos (C, N⁺, P⁺, NP⁺), ao longo do período experimental nas quatro estações do ano.

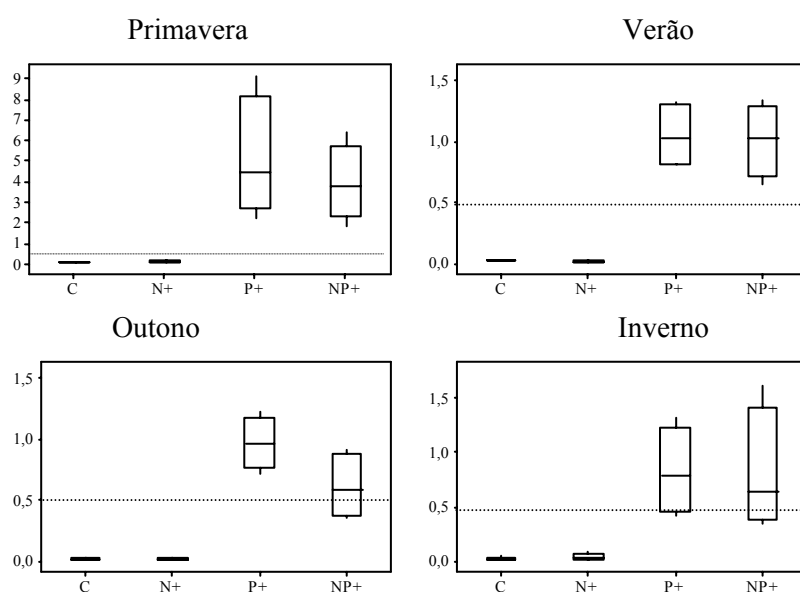


Figura 8. Gráfico de caixas esquemáticas (mediana, quartis, n = 3) da porcentagem de fósforo total do perifiton (%Pp), por unidade de MSLC, nos quatro tratamentos (Controle, N⁺, P⁺, NP⁺) e nas quatro estações do ano no lago das Ninfeias. Linha tracejada indica o limiar (0,05%) abaixo do qual há limitação pelo nutriente considerado (escalas diferentes).

Razão molar N:P - a razão molar N:P da água (Figura 9) indicou nítida limitação por fósforo (razão molar N:P = 45-238) em condição natural (controle) em todas estações do ano. A adição isolada de N aumentou a limitação por P. Já, a adição isolada de P alterou a água para condição de boa disponibilidade de recursos ($10 \leq N:P \leq 20-32$), exceto ao verão que permaneceu com limitação de P. Finalmente, a adição combinada (NP⁺) tornou o meio P-limitado, principalmente no outono. Desta forma, em condição de adição de fósforo (P⁺ e NP⁺), a razão da água não refletiu as condições experimentais pré-estabelecidas, quer sejam, de limitação por nitrogênio (P⁺) e de boa disponibilidade de recursos (NP⁺).

As razões molares N:P do perifíton corroboraram algumas tendências observadas para a água, mas, de modo geral, a comunidade respondeu de forma bem mais sensível às condições experimentais (Figura 10). Assim sendo, na condição controle e de adição de N, a razão N:P do perifíton foi extremamente elevada ($N:P = 80-561$), evidenciando P-limitação (Figura 10). A adição isolada de P causou N-limitação ($N:P < 10$). Apesar das razões próximas ou iguais a 10, no verão e principalmente no outono, o conteúdo de N (Figura 6, Tabela 8) apontou limitação por nitrogênio. Já com adição conjunta (NP^+), a razão demonstrou boa disponibilidade (repartição) de recursos. E, mesmo no outono, em que a razão foi superior a 32, os dados isolados de conteúdo de Np (Figura 6) e de Pp (Figura 8) indicaram ausência de limitação por estes recursos.

Em suma, considerando os resultados obtidos para composição química do perifíton e razão molar N:P da água e da comunidade, bem como pelos critérios adotados de limitação de nutrientes, pode-se considerar que o perifíton foi limitado pelo fósforo, ou primariamente por este nutriente, em todas as estações do ano. Especificamente na primavera, a adição isolada de P elevou os conteúdos de N e P do perifíton para níveis acima do limiar de limitação, entretanto, pela razão N:P, começa a faltar N. A adição conjunta de nutrientes promoveu razão de boa repartição de recursos. Desta forma, o fósforo foi considerado como o nutriente limitante primário para o perifíton na primavera. No verão, a adição isolada de P elevou os conteúdos de N e P do perifíton para níveis acima (%P) ou próximo (%N) do limiar de limitação. Ainda assim, a razão $N:P = 10$ parece não ter sido ideal, pois os teores de nitrogênio (4,1%) não atingiram o limiar mínimo de 5%. Desta forma, o fósforo foi considerado o nutriente limitante primário e o nitrogênio, secundário, sendo mais branda a limitação por nitrogênio em relação à primavera. No outono, com adição de fósforo, o perifíton ultrapassa o limiar de limitação ($> 0,5\%$), no entanto, ainda fica abaixo do limite mínimo para nitrogênio ($< 5\%$). Considera-se, então, limitação primária por P e secundária por N. Finalizando, no inverno, a adição isolada ou conjunta de P (P^+ , NP^+) suprimiu a limitação por P, entretanto a comunidade sempre permaneceu N-limitada, indicando a influência de outro fator controlador.

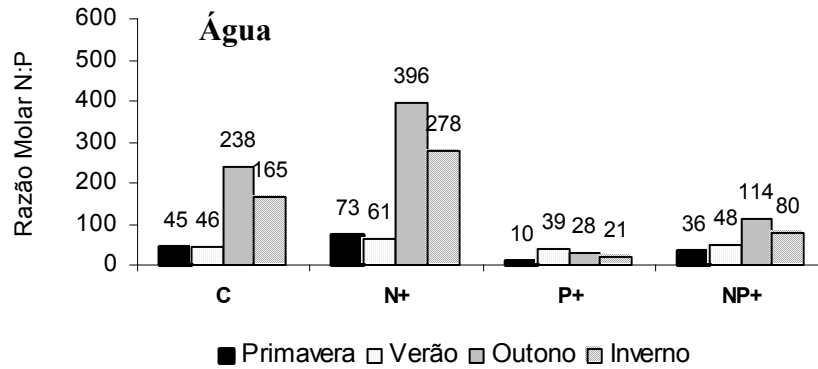


Figura 9. Valores médios ($n = 4$) da razão molar NT:PT da água ao longo do período experimental (30 dias), por tratamento (C = controle; N⁺ = adição isolada de nitrogênio; P⁺ = adição isolada de fósforo; NP⁺ = adição combinada) e nas quatro estações do ano no Lago das Ninféias.

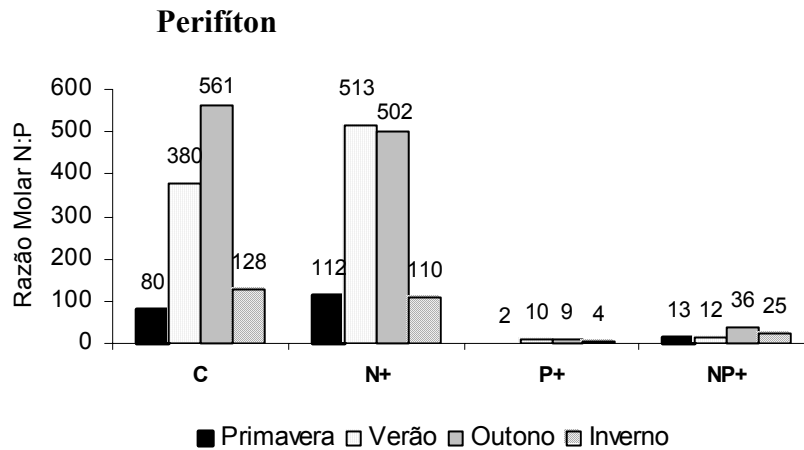


Figura 10. Valores médios ($n = 4$) da razão molar N:P do perifíton ao longo do período experimental (30 dias), por tratamento (C= controle; N⁺= adição isolada de nitrogênio; P⁺= adição isolada de fósforo; NP⁺= adição combinada) e nas quatro estações do ano no Lago das Ninféias.

Massa seca livre de cinzas (MSLC) - os maiores valores médios de MSLC do perifíton foram encontrados no inverno em todos tratamentos, contrapondo com a estação primavera (Figura 11, Tabela 8). A contribuição da MSLC para a massa seca perifítica foi bastante variável (3 a 46%), com valores marcadamente baixos apenas no verão (NP⁺ = 9%) e outono (N⁺ = 3%). Desconsiderando tais extremos, a média geral foi de 31% (primavera: 28,5%, verão: 31,3%, outono: 24,7% , inverno: 40,9%).

Na grande maioria não houve diferença significativa entre tratamentos. Todavia, ocorreram diferenças entre o mesmo tratamento ao longo do ano, exceto entre verão e outono. Houve interação entre tratamento e estação do ano, pois a diferença entre os tratamentos P⁺ e controle foi significativa ($P < 0,10$) no verão e não significativa na primavera, demonstrando influência da escala anual.

Aplicando-se os critérios de TANK & DOODS (2003) para avaliar a limitação por nutrientes com base na massa orgânica, as respostas da comunidade ao longo do ano foram as seguintes ($P < 0,10$):

- Primavera – ausência de limitação, uma vez que não houve efeito com adição de nutrientes.
- Verão – P-limitação, pois apenas nos tratamentos com adição de P a massa orgânica foi significativamente maior do controle, porém com mesmo efeito ($P = NP$).
- Outono – co-limitação, pois somente o tratamento com adição conjunta de nutrientes teve efeito significativo ($NP > C$).
- Inverno - ausência de limitação, uma vez que não houve efeito com adição de nutrientes.

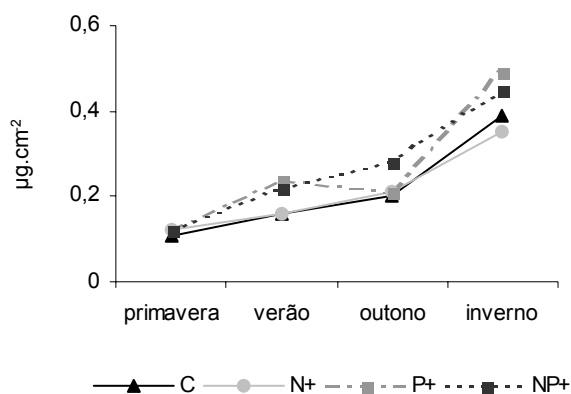


Figura 11. Variação da concentração média de massa seca livre de cinzas ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, $n = 12$) do perifiton, nas quatro estações do ano, por tratamento (controle e adição isolada ou combinada com N e P) no Lago das Ninféias.

Clorofila-a - os teores de clorofila-a do perifiton ao longo do período experimental (dias de sucessão) apresentaram tendência de aumento nos tratamentos P^+ e NP^+ em todas as épocas do ano, mas principalmente no inverno. Na primavera, a adição isolada de P não provocou este efeito. Como tendência geral ao longo das estações, tratamentos sem adição de fósforo (C e N^+) apresentaram os menores valores para clorofila-a, enquanto que os tratamentos P^+ e NP^+ apresentaram a maior acumulação de biomassa (Figura 12).

Com base nos teores médios de clorofila-a para o período experimental e em relação ao controle, os valores foram significativamente mais elevados no tratamento NP^+ em todas as estações do ano (Figura 13, Tabela 8). Os teores médios neste tratamento foram 2 vezes (verão), 4,5 (outono), 6 (inverno) a 8 vezes (primavera) maiores do que o controle. Nota-se, portanto, o efeito mais pronunciado da adição combinada sobre a acumulação de clorofila-a nos períodos de primavera e inverno. Com adição isolada de nutrientes, a biomassa foi

significativamente maior do que o controle na primavera (N^+), no verão (P^+), outono (N^+ , P^+) e inverno (P^+) (Figura 13, Tabela 8). Pode-se considerar que houve interação entre tratamento e estação do ano, pois se observou mudança de resposta nos tratamentos ao longo do ano (Figura 13). O mesmo não pode ser afirmado sobre o tratamento NP^+ na primavera que apresentou um efeito grande, diferenciando-se significativamente de todos os demais tratamentos.

A comparação do mesmo tipo de tratamento ao longo do ano permite afirmar que a adição combinada de nutrientes propiciou mesma acumulação de clorofila-a independentemente da época do ano ($P > 0,10$). Considerando as condições sem enriquecimento, apenas não houve diferença significativa entre os períodos de outono e inverno.

Aplicando-se os critérios de TANK & DOODS (2003) com base na clorofila-a, as respostas da comunidade foram diferentes considerando a escala anual:

- Primavera: co-limitação (adição isolada de N resultou em aumento significativo em relação ao controle, mas a resposta positiva de N ou P não diferiu entre si). Embora tenha ocorrido diferença significativa com adição isolada de N^+ , não houve entre este tratamento e o de adição isolada de P^+ ($N = P$). Além disso os valores só foram marcadamente maiores com adição combinada ($NP > C$).
- Verão: limitação primária por P e secundária por N (efeito isolado de P e interação $N \times P$),
- Outono: co-limitação (efeito isolado de N e P; interação $N \times P$).
- Inverno: limitação isolada por P (efeito isolado de P, sem interação $N \times P$).

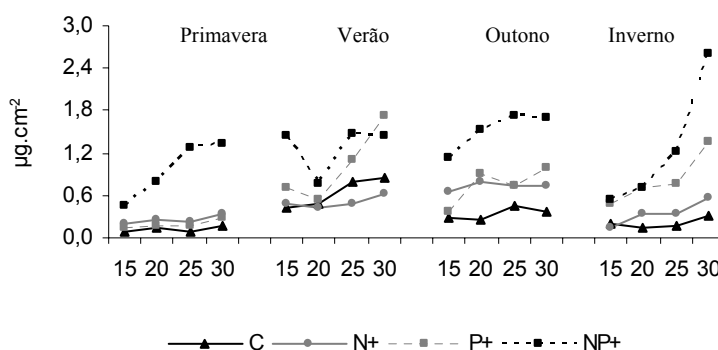


Figura 12. Variação da concentração média ($n = 3$) de clorofila-a ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) do perifíton ao longo do período experimental (15º, 20º, 25º e 30º dias de sucessão) em quatro tratamentos por estação do ano no Lago das Ninféias.

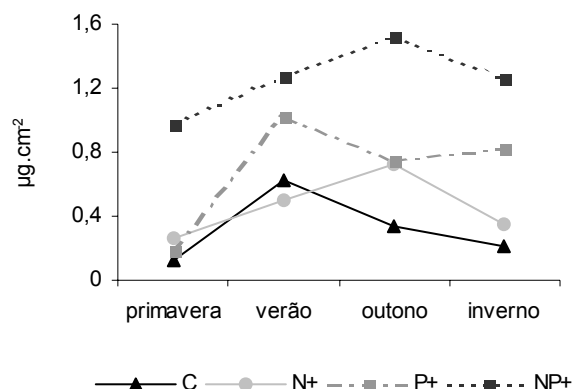


Figura 13. Variação da concentração média de clorofila-a ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, $n = 12$) do perifiton, nas quatro estações do ano, por tratamento (controle e adição isolada ou combinada com N e P) no Lago das Ninfeias.

Densidade de Algas do Perifiton - considerando o período experimental as densidades de algas foram influenciadas tanto pelo tipo de tratamento quanto pela estação do ano (Figura 14). De modo geral, as densidades foram mais elevadas no tratamento NP⁺, principalmente na primavera e inverno, sendo que os menores valores foram mantidos no tratamento N⁺. As estações verão e outono não apresentaram diferenças ($P > 0,10$) entre os tratamentos ao longo da sucessão. Na estação primavera, o controle diferenciou-se do tratamento NP⁺ aos 20 e 30 dias de sucessão e do tratamento P⁺ somente no 30º dia.

Os valores médios de densidade de algas perifíticas variaram de 19.241 ind.cm⁻² (inverno: tratamento N⁺) a 217.519 ind.cm⁻² (primavera: tratamento NP⁺). De modo geral, as maiores densidades ocorreram nos tratamentos com adição isolada e combinada de fósforo e as menores no tratamento com adição isolada de nitrogênio (Figura 15). Em relação ao controle, as densidades no tratamento NP⁺ foram 4,3 (primavera), 2,4 (verão), 1,8 (inverno) e 1,4 (outono) vezes maior (Tabela 8). Não houve diferença significativa entre controle e o tratamento P⁺ no outono e inverno, nem em relação ao NP⁺ no outono.

Comparando cada tratamento na escala anual, o tratamento NP⁺ não apresentou diferença significativa. O tratamento N⁺ esteve sempre severamente limitado por P, tendo valores médios abaixo até mesmo do controle. O tratamento P⁺ apresentou as menores densidades no inverno. Uma vez que se observou mudança de tendências da resposta da densidade de algas dos tratamentos na escala anual, considera-se que houve interação entre tratamentos e estações do ano (Figura 15).

Aplicando-se os critérios de TANK & DOODS (2003), para densidade de algas, as respostas da comunidade foram diferentes, dependendo da estação do ano:

- Primavera: Limitação primária por fósforo e secundária por N (efeito isolado de P e interação N x P),
- Verão: Limitação isolada por fósforo (efeito por P, ausência de interação N x P),
- Outono: Co-limitação por P e N (interação N x P). Embora sem diferença significativa, a densidade no tratamento NP⁺ foi 44% maior do que no controle, o que foi considerado para o critério de co-limitação.
- Inverno: Co-limitação pelo P e N (interação N x P).

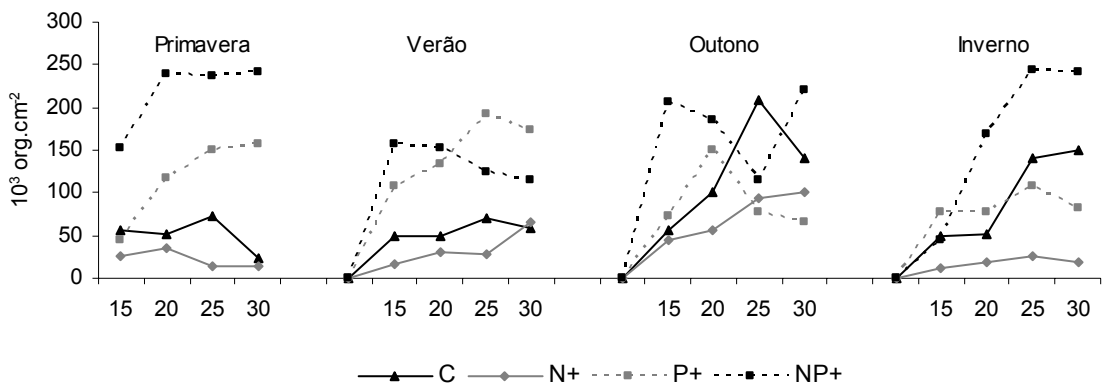


Figura 14. Variação da densidade média de algas do perifiton (10^3 org.cm^{-2} , $n = 2$) ao longo do período experimental (15°, 20°, 25° e 30° dias de sucessão) em quatro tratamentos por estação do ano no Lago das Ninféias.

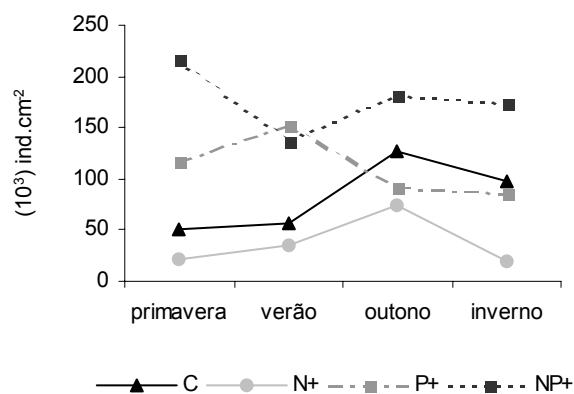


Figura 15. Variação da densidade média de algas do perifiton (10^3 org.cm^{-2} , $n = 8$), nas quatro estações do ano, por tratamento (controle e adição isolada ou combinada com N e P) no Lago das Ninféias.

Tabela 8. Porcentagem média e, entre parênteses, erro padrão de nitrogênio total e fósforo total do perifíton, razão molar N:P, massa seca livre de cinzas (MSLC), clorofila-a (n = 12) e de densidade de algas do perifíton (n = 8) nas quatro estações do ano e em quatro tratamentos (controle e adição isolada e combinada com N e P) no Lago das Ninféias.

<i>Est. / Trat.</i>	C	N+	P+	NP+
Nitrogênio (% MSLC)				
Primavera	2,28 (0,37)	4,27 (0,59)	5,85 (1,31)	7,59 (1,81)
Verão	3,29 (0,33)	3,18 (0,51)	4,10 (0,28)	5,40 (0,72)
Outono	3,89 (0,38)	2,86 (0,39)	3,49 (0,31)	4,91 (0,87)
Inverno	1,17 (0,20)	1,83 (0,52)	1,50 (0,32)	2,31 (0,56)
Fósforo (% MSLC)				
Primavera	0,07 (0,00)	0,10 (0,02)	5,07 (0,83)	3,93 (0,53)
Verão	0,02 (0,00)	0,01 (0,00)	1,04 (0,08)	1,00 (0,09)
Outono	0,02 (0,00)	0,01 (0,00)	0,96 (0,07)	0,61 (0,13)
Inverno	0,02 (0,00)	0,03 (0,00)	0,82 (0,11)	0,81 (0,15)
Razão Molar N:P				
Primavera	80 (0)	112 (0)	2 (0)	13 (1)
Verão	380 (0)	513 (0)	10 (0)	12 (0)
Outono	561 (0)	502 (0)	9 (0)	36 (1)
Inverno	128 (0)	110 (0)	4 (0)	25 (0)
MSLC ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)				
Primavera	0,11 (0,01)	0,12 (0,01)	0,12 (0,01)	0,12 (0,01)
Verão	0,16 (0,02)	0,16 (0,01)	0,24 (0,03)	0,22 (0,02)
Outono	0,20 (0,02)	0,21 (0,03)	0,21 (0,02)	0,28 (0,03)
Inverno	0,39 (0,06)	0,35 (0,07)	0,49 (0,07)	0,45 (0,06)
Clorofila-a ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)				
Primavera	0,12 (0,01)	0,26 (0,02)	0,19 (0,02)	0,97 (0,13)
Verão	0,63 (0,08)	0,50 (0,02)	1,02 (0,17)	1,28 (0,10)
Outono	0,34 (0,03)	0,73 (0,06)	0,75 (0,13)	1,52 (0,13)
Inverno	0,21 (0,02)	0,35 (0,06)	0,82 (0,14)	1,26 (0,25)
Densidade ($10^3 \text{ ind}\cdot\text{cm}^{-2}$)				
Primavera	50,8 (7,3)	22,0 (4,1)	116,7 (22,6)	217,5 (25,2)
Verão	56,5 (6,7)	35,1 (7,5)	151,5 (15,1)	137,2 (7,8)
Outono	126,7 (28,3)	74,4 (121,6)	91,2 (14,4)	181,8 (29,3)
Inverno	97,7 (190,6)	19,2 (2,1)	86,0 (11,1)	174,7 (32,5)

AValiação Conjunta dos Atributos da Comunidade Perifítica

Para avaliar as principais tendências de variação dos atributos do perifíton em função dos tratamentos e das épocas do ano foi aplicada análise multivariada de componentes principais (ACP).

A análise resumiu 65% da variabilidade conjunta dos dados em seus dois primeiros eixos (Figura 16, Tabela 9). As variáveis que mais pesaram para ordenação no eixo 1 foram densidade total ($r = 0,9$), clorofila-a ($r = 0,7$) e %P ($r = 0,5$) em seu lado positivo e a razão N:P ($r = -0,6$) no lado negativo. As unidades amostrais sem adição de fósforo (controle e N⁺) associaram-se com as maiores razões N:P do perifíton, posicionando-se à esquerda do eixo, enquanto que as com adição de fósforo (P⁺ e NP⁺) associaram-se aos maiores valores de densidade, clorofila-a e %P, ordenando-se à direita do eixo. No eixo 2, as unidades amostrais

localizaram-se, em seu lado negativo, em função das maiores porcentagens de conteúdo de nitrogênio (%N, $r = -0,6$) e, em seu lado positivo, pelos maiores valores de massa seca livre de cinzas (MSLC, $r = 0,9$). Neste caso, associaram-se todas unidades amostrais relativas ao período de inverno, independentemente do tipo de tratamento.

A ACP indicou a forte associação da adição de fósforo e, principalmente, da adição conjunta (NP^+) com as maiores densidades de algas, biomassa fotossintética e conteúdo de fósforo do perifiton, bem como dos tratamentos sem adição de fósforo com a razão N:P.

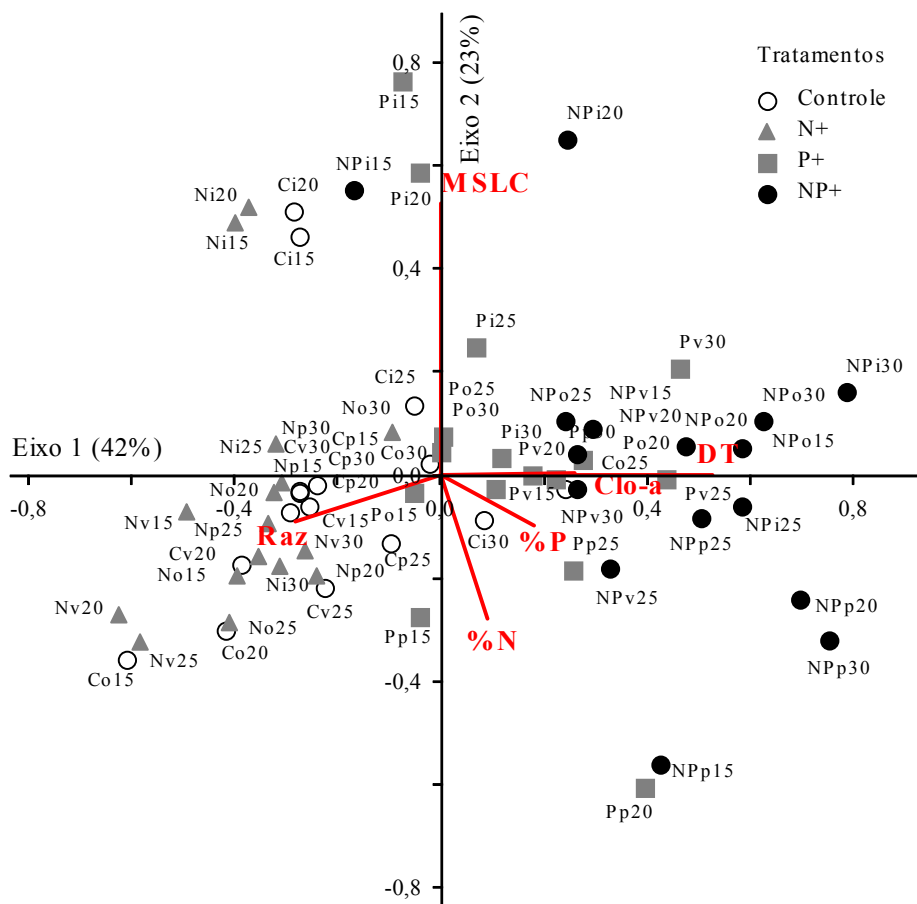


Figura 16. Ordenação pela ACP das unidades amostrais dos tratamentos (letras em maiúsculo – C: controle, N^+ : adição isolada de N, P^+ : adição isolada de P, NP^+ : adição conjunta) nas quatro estações do ano (letra em minúsculo – p: primavera, v: verão, o: outono, i: inverno), ao longo do período experimental (números: dias do experimento). Abreviação dos vetores conforme tabela 10.

Tabela 9. Correlação do atributos do perifíton com os componentes principais 1 e 2 da ACP. Em negrito as correlações > 0,5.

Variáveis		Componentes Principais	
		1	2
Clorofila-a	Clo-a	0,679	0,059
Massa seca livre de cinzas	MSLC	0,011	0,897
Razão Molar N:P	Raz	-0,627	-0,427
Conteúdo de fósforo	%P	0,535	-0,358
Conteúdo de nitrogênio	%N	0,408	-0,642
Densidade total de algas	DT	0,906	-0,086
Variação Explicada		42%	23%

Para a análise síntese da resposta dos atributos do perifíton à limitação de nutrientes ao longo do ano no Lago das Ninféias, a massa seca livre de cinzas foi desconsiderada uma vez que se associou ao período do ano e não aos tratamentos (Figura 16). Esta análise síntese (Tabela 10) demonstrou que nem sempre os atributos responderam da mesma forma para cada estação do ano. E que, exceto à composição química do perifíton, ocorreram diferentes tipos de limitação de nutrientes na escala anual (Tabela 10).

Tabela 10. Síntese das respostas dos atributos da comunidade perifítica sobre a limitação de nutrientes em quatro épocas do ano no Lago das Ninféias.

Variável-resposta	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Clorofila-a	Co-limitação	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N	Co-limitação	P-limitação
Densidade de Algas	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N	P-limitação	Co-limitação	Co-limitação
Composição química (%N, %P e N/P)	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N	1 ^{ria} P, 2 ^{ria} N

DISCUSSÃO

Condições abióticas - As propriedades qualitativas e quantitativas do perifíton resultam da interação de uma série complexa de aspectos ambientais, dentro da escala do sistema lacustre, tais como fatores físicos, químicos e biológicos, além de fatores definidos pela paisagem como geologia, clima e atividades humanas (BIGGS 1996).

O Lago das Ninféias é um sistema raso ($Z_{max} = 3,6$ m) e mesotrófico, sem cargas pontuais de nutrientes (BICUDO C. *et al.* 2002, CARMO *et al.* 2002). Apresenta extensos bancos de macrófitas aquáticas, principalmente submersas e flutuantes. Assim sendo, é um ambiente propício para o profuso desenvolvimento de perifíton, o qual deve assumir importante papel no funcionamento do mesmo, como destacado para sistemas rasos em geral (WETZEL 1996, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002, DOODS 2003, RODRIGUES *et al.* 2003).

O delineamento experimental utilizado permitiu avaliar os efeitos da variação limnológica anual do sistema sobre o perifíton e em condições mais próximas das naturais possíveis, já que foram utilizados substratos difusores de nutrientes, que não demandam o enclausuramento da comunidade.

Os resultados obtidos demonstraram que a maior fonte de variabilidade abiótica deveu-se ao tipo de tratamento, ou da adição isolada e/ou combinada de nitrogênio e fósforo, seguido pela variabilidade em escala anual. Neste caso, com destaque para a precipitação, radiação solar e subaquática, bem como temperatura. O inverno caracterizou-se pelos menores valores destes fatores, sendo a temperatura inferior em até 10°C em relação às das demais épocas do ano. Contrapondo está a primavera, com os valores mais elevados das variáveis mencionadas. Ainda, nesta época, ocorreram os maiores teores de fósforo em condições naturais (controle), cujas unidades amostrais se associaram à maior disponibilidade de fósforo (lado esquerdo da ACP-1, Figura 3).

Considerando as variações entre tratamentos, nas condições de enriquecimento combinado foram encontrados, exceto para o inverno, teores significativamente maiores de oxigênio dissolvido e menores de dióxido de carbono, evidenciando a maior atividade fotossintética nessas condições nutricionais. Mesma tendência foi encontrada em experimentos de enriquecimento realizado com mesocosmos, em represa oligotrófica durante o inverno no PEFI (FERRAGUT 1999). Os nutrientes manipulados responderam coerentemente, sendo o fósforo (PT, PDT) nitidamente mais elevado no tratamento com adição isolada de fósforo e o nitrogênio (NO_3^-), nos tratamentos com adição isolada ou conjunta de nitrogênio. De modo geral, entretanto, a liberação de ortofosfato pelos SDN não foi suficiente para incrementar seus teores na água sobrejacente aos tratamentos, muito provavelmente pela assimilação imediata por parte da comunidade perifítica desenvolvida sobre os SDN, bem como por outros componentes da biota na água circundante. Estas tendências também foram encontradas por FERRAGUT (2004) que também utilizou SDN, porém com diferentes níveis de adição de fósforo durante o inverno em represa oligotrófica do PEFI.

Limitação de nutrientes pelo perifíton -os trabalhos experimentais sobre limitação de nutrientes para o perifíton vêm demonstrando, com mais frequência, co-limitação por nitrogênio e fósforo (ou limitação primária por um nutriente com limitação secundária por outro), seguida pela limitação por P e, em menor número, de condição N-limitante, conforme trabalhos mais abrangentes ou de síntese para sistemas lóticos (TANK & DODDS 2003) e lênticos (MABERLY *et al.* 2002, HUSZAR *et al.* 2005). Entretanto, a maior parte das contribuições concentra-se em regiões de clima temperado. Como as informações para

sistemas tropicais e subtropicais lênticos são bem mais escassas e concentradas em certos locais ou ambientes, é impossível apontar alguma tendência. Os vários trabalhos desenvolvidos nos Everglades na Flórida comprovam a limitação pelo fósforo (VYMAZAL *et al.* 1994, MCCORMICK *et al.* 1996, PAN *et al.* 2000), enquanto que os realizados no Lago Okeechobe indicam co-limitação ou N-limitação (HAVENS *et al.* 1996, 1999).

É notória, ainda, a quase ausência de informações sobre limitação de nutrientes em escala anual. Esta abordagem, extremamente escassa em literatura mundial, vem sendo utilizada em sistemas temperados, lóticos (FRANCOEUR 1999, WOLD & HERSHEY 1999) e, menos ainda, em sistema lêntico (MABERLY *et al.* 2002).

No presente, com base nos critérios de limitação de nutrientes de TANK & DODDS (2003) e BIGGS (1995), a resposta do perifíton dependeu do atributo considerado e da época do ano.

No período da primavera, o perifíton foi caracterizado como co-limitado com base na clorofila-a, ou com limitação 1^{ria} por fósforo e 2^{ria} por nitrogênio, a partir da densidade de algas e da composição química. De modo geral, nesta época do ano a comunidade apresentou as respostas mais conspícuas em relação à adição combinada de nutrientes para todos os atributos, indicando que outros recursos eram adequados, tais como luz e temperatura. Neste período também houve maior disponibilidade de fósforo em condição natural, corroborado pelos níveis de nitrogênio total do perifíton que atingiram o limiar de limitação com adição isolada de N (Figura 6), bem como pela razão da composição química ser bem inferior a das demais épocas do ano (Figura 10, controle), indicando menor limitação por fósforo. Todavia, apesar dos maiores níveis deste nutriente no ambiente, apenas a adição isolada de P ou combinada tornou a comunidade não limitada por este recurso (Figura 8).

No verão, o perifíton apresentou limitação 1^{ria} por P e 2^{ria} por N com base na clorofila-a e composição química e P-limitação a partir da densidade. Nesta época do ano, as condições de luz, temperatura e de repartição de recursos (razão molar N/P da água) foram muito similares a das primavera, entretanto tanto as condições abióticas (controle) quanto a composição química do perifíton apontaram baixa disponibilidade de fósforo.

No outono, a comunidade esteve co-limitada (clorofila-a e densidade de algas) ou com limitação primária por P e secundária por N (composição química). Finalmente no inverno, o perifíton apresentou respostas distintas para cada variável-resposta: P-limitação (clorofila-a), co-limitação (densidade de algas) e limitação 1^{ria} por P e 2^{ria} por N (composição química). Destaca-se que apenas neste período, nem a adição conjunta de nutrientes levou o perifíton para níveis de ausência de limitação de nitrogênio, indicando a influência de outro(s) fator(es) controlador(es). No inverno, dentre as características abióticas avaliadas, particularmente as

variáveis luz e temperatura foram significativamente menores. Como os experimentos foram realizados na subsuperfície da água, muito provavelmente a temperatura (ca. 10°C menor) possa ter atuado mais como um dos fatores controladores do desenvolvimento da comunidade. Usualmente esta variável não consiste em fator limitante, porém pode estabelecer limite máximo de crescimento quando outros recursos estão disponíveis (DENICOLA 1996).

A avaliação conjunta das respostas encontradas pelos diferentes atributos do perifiton permite afirmar que o fósforo sempre se configurou como um nutriente limitante ao longo do ano no Lago das Ninféias. E que esta condição nutricional variou de limitação isolada por fósforo (2 vezes), limitação 1^{ria} por este nutriente (6 vezes) a co-limitação pelo nitrogênio (4 vezes). Em nenhuma situação o nitrogênio foi identificado como o nutriente limitante ou limitante primário ao perifiton. Os resultados encontrados corroboram trabalhos experimentais realizados em outras represas na área de estudo (PEFI) durante o inverno, em que os autores reportaram limitação isolada ou 1^{ria} por fósforo em sistema oligotrófico (FERRAGUT 1999, 2004) ou em condição de empobrecimento em sistema eutrófico (BARCELOS 2003). Em relação a outros locais no Brasil, discordam de (ENGLE & MELACK 1993), que reportaram limitação por nitrogênio, principalmente considerando a composição química do perifiton para uma lagoa marginal no Amazonas. Os demais trabalhos (SUZUKI 1991 e CERRAO *et al.* 1991) não permitem comparação visto que não avaliaram o efeito da adição isolada de P e/ou N.

Não foi observada mudança clara da limitação nutricional para o perifiton ao longo do ano no Lago das Ninféias. Na maior parte das vezes os atributos apontaram limitação primária por P. Todavia, no outono, houve maior tendência de co-limitação e, no inverno, indício de outros fatores controladores além de nutrientes. Aparentemente a única informação disponível refere-se a 31 lagos de altitude em região temperada (Cumbria, País de Gales, Escócia e Irlanda do Norte) nos quais o perifiton, com base na clorofila-a, apresentou mudança sazonal na limitação por nutrientes (MABERLY *et al.* 2002). Os autores observaram co-limitação (54%), P-limitação (26%) e N-limitação (20%), havendo aumento progressivo de co-limitação com o avanço das estações, a partir da primavera.

Atributos indicadores da limitação de nutrientes - a avaliação conjunta das variáveis-resposta do perifiton, indicou estreita associação entre tipo de tratamento e os atributos clorofila-a, densidades de algas e composição química (%Pp, razão N/P).

A massa orgânica do perifiton (massa seca livre de cinzas) associou-se ao período do ano e não aos tratamentos, não sendo, portanto, considerada como bom atributo indicador da

limitação nutricional dessa comunidade, corroborando trabalhos anteriores realizados no PEFI (FERRAGUT 1999, 2004, BARCELOS 2003).

A clorofila-a e densidade de algas, diferentemente dos demais atributos, medem a resposta do componente algal da comunidade. Ambas associaram-se positivamente com a adição de fósforo isolada ou combinada, fornecendo respostas bem sensíveis ao tipo de enriquecimento.

A clorofila-a, em particular, vem sendo grandemente utilizada, como atributo único ou combinado, em todas avaliações sobre a limitação de nutrientes para o perifiton (e.g. MCCORMICK *et al.* 1996, ZIMBA 1998, PAN *et al.* 2000, MABERLY *et al.* 2002, TANK & DODDS 2003, FERRAGUT 1999, 2004), fornecendo uma boa base comparativa. Entretanto, deve-se considerar que este atributo pode sofrer adaptações cromáticas (STEVENSON 1996), ou variar conforme a representatividade do grupo taxonômico algal. Embora raro, existe relato de ausência de resposta pela clorofila-a em condições crescentes de disponibilidade de fósforo em represa oligotrófica situada no PEFI (FERRAGUT 2004).

A densidade de algas é usualmente menos utilizada, mas fornece respostas sensíveis a diferentes condições nutricionais corroborando resultados para a área do PEFI (FERRAGUT 1999, 2004, BARCELOS 2003).

A composição química do perifiton engloba todos os componentes da comunidade, inclusive detritos, e vem sendo empregada com sucesso como indicadora da disponibilidade de nutrientes (e.g. VYMAZAL *et al.* 1994, BIGGS 1995, BORCHARDT 1996, FRANCOUER *et al.* 1999, STELZER & LAMPERTI 2001, MABERLY *et al.* 2002).

Conforme BORCHARDT (1996), o conteúdo de um dado elemento (N e P) no perifiton reflete apenas condições em que haja limitação pelo nutriente considerado. A razão molar N:P do perifiton tem sido bastante empregada para indicar o estado nutricional da comunidade, tendo como base a razão ótima (16) de REDFIELD (1958), proposta para plâncton marinho. De modo geral, os estudos sobre perifiton de águas continentais vêm utilizando a razão molar menor do que 10 para condição N-limitante, maior do que 20 para P-limitante e, entre 10-20, para boa repartição de recursos (BIGGS 1995, BORCHARDT 1996, STELZER & LAMBERTI 2001). De acordo com BORCHARDT (1996), estudos de enriquecimento têm comprovado estes valores. Com base em revisão de literatura para o perifiton de águas continentais, KAHLERT (1998) considerou a razão molar acima de 32 como indicadora de P-limitação, inferior a 12, de N- limitação e razão ótima de 18.

Os presentes resultados sobre composição química do perifiton foram extremamente sensíveis aos enriquecimentos, fornecendo respostas condizentes com as faixas mais

comumente utilizadas para limitação de nutrientes. Tanto a razão molar, quanto os teores de nitrogênio e fósforo do perifíton apresentaram respostas fundamentais na avaliação da limitação de nutrientes, corroborando trabalhos realizados para outras represas do PEFI (FERRAGUT 1999, 2004, BARCELOS 2003). Ainda, de acordo com tais trabalhos, a razão N:P da água foi considerada menos preditiva das condições de limitação nutricional, particularmente em condições de enriquecimento.

Considerações finais - Em relação aos atributos utilizados do perifíton, exceto à massa orgânica, os demais foram bom indicadores da limitação de nutrientes e forneceram respostas complementares. Em particular, a composição química da comunidade (%Pp, %Np, razão N:P) foi essencial para esta avaliação.

O fósforo configurou-se como um nutriente limitante ao longo do ano no Lago das Ninféias, atuando como nutriente limitante único, limitante primário ou, ainda, estando co-limitado pelo nitrogênio. Nenhuma variável-resposta identificou o nitrogênio como o nutriente limitante ou como limitante primário ao perifíton nas diferentes épocas do ano.

Considerando a escala anual, não houve clara mudança na limitação nutricional, sendo que, na maioria das vezes, os atributos apontaram limitação primária por fósforo. Entretanto, a limitação por este nutriente foi mais branda na primavera e, no inverno, outros fatores controladores, além de nutrientes, influenciaram o desenvolvimento do perifíton.

Os resultados evidenciaram o papel do perifíton na retenção de fósforo, uma vez que a liberação de ortofosfato pelos SDN não provocou alteração de seus teores na água sobrejacente aos experimentos, apesar do marcado aumento de P no perifíton. Mesma tendência foi observada por FERRAGUT (2004) que utilizou SDN com diferentes níveis de adição de fósforo em represa oligotrófica do PEFI. A importância do perifíton na retenção e ciclagem de nutrientes vem sendo comprovada e salientada para ecossistemas rasos (WETZEL 1996, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002, DODDS 2003).

Os resultados também permitem inferir que o Lago das Ninféias é bem mais sensível ao aporte de fósforo e que, dependendo da carga deste nutriente, pode haver alterações profundas na estrutura e funcionamento deste sistema. E, finalmente, reforça-se o uso do perifíton como sensor de aportes de fósforo, contribuindo para propostas de prevenção e recuperação de ecossistemas lacustres rasos tropicais/subtropicais, conforme demonstrado para os Everglades na Flórida (McCORMICK *et al.* 1996, McCORMICK & O'DELL 1996, McCORMICK & STEVENSON 1998, PAN *et al.* 2000).

LITERATURA CITADA

- ALLEN, N.S. & HERSHEY, A.E. 1996. Seasonal changes in chlorophyll a response to nutrient amendments in a North Shore tributary of lake Superior. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 170-178.
- ANDERSEN, J.M. 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Resources* 10: 329-331.
- BARCELOS, E.M. 2003. Avaliação do perifíton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 118 p.
- BICUDO, C.E.M. 1990. Metodologia para o estudo qualitativo das algas do perifíton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 477-491.
- BICUDO, C.E.M.; CARMO, C.F.; BICUDO, D.C.; HENRY, R.; PIÃO, A.C.S.; SANTOS, C.M. & LOPES, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 141-158.
- BICUDO, D.C. 1990. Considerações sobre metodologias de contagem de algas do perifíton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 459-475.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C.; CARMO, C.F.; BOUROTE, C.; BICUDO, C.E.M.; MELFI, A.J. & LUCAS, Y. 2002. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 158-198.
- BIGGS, B.J.F. 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. *Freshwater Biology* 33: 419-448.
- BIGGS, B.J.F. 1996. Patterns in benthic algae of streams. *In*: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.) *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 31-51.
- BORCHARDT, M.A. 1996. Nutrients. *In*: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L. & LOWE, R.L. (eds.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego. p. 184-227.
- CARMO, C.F., HENRY, R., BICUDO, D.C. & BICUDO, C.E.M. 2002. A degradação da água nos reservatórios do PEFI. *In*: BICUDO, D.C., FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (orgs.) Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 271-296.
- CERRAO, G.C., MOSCHINI-CARLOS, V., SANTOS, M.J. & RIGOLIN, O. 1991. Efeito do enriquecimento artificial sobre a biomassa do perifíton em tanques artificiais na Represa do Lobo ("Broa"). *Revista Brasileira de Biologia* 51: 71-78.
- CONTI, J.B. & FURLAN, S.A. 2003. Geocologia: O Clima, Os Solos E A Biota. *In*: ROSS, J.L. (Org.) *Geografia Do Brasil*. Edusp, São Paulo. p. 67-207.
- 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*. New York: Academic Press. p. 150-176.
- DODDS, W.K. 2003. The role of periphyton in phosphorous retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- ENGLE, D.L. & MELACK, J.M. 1993. Consequences of riverine flooding for seston and the periphyton of floating meadows in a Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography* 38: 1500-1520.

- FERMINO, F.S.; BICUDO, D.C. & MERCANTE, T.J. 2004. Substrato difusor de nutrientes (SDN): avaliação do método em laboratório para experimentos *in situ* com perifíton. *Acta Scientiarum* 26: 273-280.
- FERRAGUT, C. 1999. Efeito do enriquecimento por nitrogênio e fósforo sobre a colonização e sucessão da comunidade de algas perifíticas : biomanipulação em reservatório raso oligotrófico em São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 190 p.
- FERRAGUT, C. 2004. Respostas das algas perifíticas e planctônicas à manipulação de nutrientes (N e P) em reservatório urbano (Lago do IAG, São Paulo). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 184 p.
- FRANCOEUR, S.N., BIGGS, B.J.F., SMITH, R.A. & LOWE, R.L. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 242-260.
- GOLTERMAN, H.L. & CLYMO, R.S. 1971. *Methods for chemical analysis of freshwaters*. Ed. Oxford and Edinburg, Blackwell Scientific Publications. International Biological Programmer. 166 p.
- GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R.S., OHMSTAD, M.A.M. 1978. *Methods for physical and chemical analysis of freshwaters*. 2^a edition. Blackwell Scientific Publications. International Biological Program, Oxford, 213 p. (Handbook, 8).
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., MEEKER, R.H. & DAVIS, W.P. 1996. Phytoplankton and perifíton responses to *in situ* experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *Journal of Plankton Research* 18: 551-556.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., RODUSKY, A.J. & SHARFSTEIN, B. 1999. Littoral periphyton responses to nitrogen and phosphorus: an experimental study in a subtropical lake. *Aquatic Botany* 63: 267-290.
- HILL, B.H., HERLHY, A.T., KAUFMANN, P.R., STEVENSON, R.J., MCCORMICK, F.H. & JOHNSON, C.B. 2000. Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 50-67.
- HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, C.; MARTINELLI, L.A. & HENRY, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifíton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. In: ROLDAM, F., CÉSAR, D. & MARINHO, M. (orgs.) *Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais*. RiMa Editora, São Carlos. p. 243-260.
- KAHLERT, M. 1998. C:N:P ratios of freshwater benthic algae. *Archives fur Hydrobiologie, Advances in Limnologia* 51: 105-114.
- LOWE, Y. 1996. Periphyton patterns in lakes. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L. (ed.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, USA. p. 57-72.
- LOWE, R.L. & PAN, Y. 1996. Benthic algal communities as biological monitors. In: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. (ed.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, USA. p.705-739.
- LUND, J.W.G., KIPLING, C. & LÊ-CREN, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hidrobiologia* 11: 143-170.
- MABERLY, S.C., KING, L., DENT, M.M., JONES, R.I. & GIBSON, C.E. 2002. Nutrient limitation of phytoplankton and periphyton growth in upland lakes. *Freshwater Biology* 47: 2136-2152.
- 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. 117 p.
- MARKER, A.F.H., NUSCH, H., RAI, H. & RIEMANN, B. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusion and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie* 14: 91-106.

- MCCORMICK, P.V. & O'DELL, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 450-468.
- MCCORMICK, P.V., O'DELL, M.B., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W.C. 2001. Periphyton responses to experimental phosphorus enrichment in a subtropical wetland. *Aquatic Botany* 71: 119-139.
- MCCORMICK, P.V., RAWLIK, P.S., LURDING, K., SMITH, E.P. & SKLAR, F.H. 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutrient gradient in the northern Florida Everglades. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 433-449.
- MCCORMICK, P.V., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W. 1998. Spatial and seasonal patterns of periphyton biomass and productivity in the northern Everglades, Florida, USA. *Hydrobiologia* 362: 185-208.
- MCCORMICK, P.V. & STEVENSON, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology* 34: 726-733.
- MCCUNE, B. & MEFFORD, M.J. 1999. PC-ORD for Windows. Multivariate analysis of ecological data, version 4.10. MjM Software Design, Oregon. 47 p.
- MENDES, R. S. & BARBOSA, F.A.R. 2002. Efeito do enriquecimento in situ sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia* 14: 77-86.
- MYERS, R.H., MONTGOMERY, D.C. & VINING, G.G. 2002. *Generalized Linear Models: with applications in engineering and the sciences*. Ed. John Wiley & Sons Inc. New York. 342 p.
- NETER, J., KUTNER, M.H., NACHTSHEIM, C.J. & WASSERMAN, W. 1996. *Applied Linear Statistical Models*. Chicago. Irwin. 1408p.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., VAITHIYANATHAN, P., SLATE, J. & RICHARDSON, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. *Freshwater Biology* 44: 339-353.
- PAULA, G.A. 2004. *Modelos de regressão com apoio computacional*. Editora do IME.
- POMPÊO, M.L.M. & MOSCHINI-CARLOS, V. 2003. *Macrófitas aquáticas e perifiton: aspectos ecológicos e metodológicos*. Editora RIMA. 124 p.
- REDFIELD, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*. p. 205-221.
- RODRIGUES, L.; BICUDO, D.C. & MOSCHINI-CARLOS, V. 2003. O papel do perifiton em áreas alagáveis e nos diagnósticos ambientais. In: THOMAZ, S.M. & BINI, L.M. (orgs.) *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. p. 211-229.
- SARTORY, D.P. & GROBBELAAR, J.U. 1984. Extraction of Chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- SCHWARZBOLD, A., ESTEVES, F.A. & PANOSSO, R.F. 1990. Relações entre peso seco e clorofila-a do perifiton em função de diferentes idades e épocas de coletas de pecíolos de *Eichhornia azurea* (Sw) Künth. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 493-515.
- SHEPHERD, G.J. 1996. *Fitopac 1: manual do usuário*. Departamento de Botânica, UNICAMP. 95p.
- SOLORZANO, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14: 799-801.
- STELZER, R.S. & LAMBERTI, G.A. 2001. Effects of N:P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community structure, biomass, and elemental composition. *Limnology and Oceanography* 46: 356-367.

- STEVENSON, J.R. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. New York: Academic Press. p.3-30.
- STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. 1960. A manual of sea water analysis. Bulletin of Fisheries Research Board of Canada 125: 1-185.
- SUZUKI, M.S. 1991. Mudanças na estrutura e sucessão das comunidades fitoplanctônicas e perifíticas da lagoa do Infernã (SP), causadas pelo processo de enriquecimento artificial. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TANK, J.L. & DODDS, W.K. 2003. Nutrient limitation of epilithic and epixylic biofilms in ten North American streams. *Freshwater Biology* 48: 1031-1049.
- TUNDISI, J.G. 2005. Água no século XXI: enfrentando a escassez. São Carlos, RiMa, IIE, 2ª ed. 251p.
- UMBREIT, W.W., BURRIS, R.H. & STAUFFER, J.F. 1964. Manometric methods applicable to the study of tissue metabolism. Ed. Burgess publishing Company. p. 208-209.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitative phytoplankton: methodic. *Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- VADEBONCOEUR, Y. & STEINMAN, A.D. 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *The Scientific World Journal* 2: 1449-1468.
- VALDERRAMA, G.C. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109 – 112.
- VILLAFANE, V.E. & REID, F.M.H. 1995. Metodos de microscopia para la cuantificacion del fitoplancton. *In*: Alves, K., Ferrario, E.C. & Sar, E. (eds.). Manual de métodos ficologicos. Concepcion: Universidad de Concepcion. p. 169-185.
- VYMAZAL, J., CRAFT, C.B. & RICHARDSON, C.J. 1994. Periphyton response to nitrogen and phosphorus additions in Florida Everglades. *Archiv fur Hydrobiologie, Algological Studies* 73: 75-97.
- WETZEL, R.G. 1996. Benthic algal and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. *In* : STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L. & LOWE, R.L. (eds.) Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. New York: Academic Press.p. 641-667.
- WETZEL, R.G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. Academic Press, San Diego, 3ª Ed., 1006p.
- WOLD, A.P. & HERSHEY, A.E. 1999. Spatial and temporal variability of nutrient limitation in 6 north shore tributaries to Lake Superior. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 2-14.
- ZIMBA, P.V. 1998. The use of nutrient enrichment bioassays to test for limiting factors affecting epiphytic growth in Lake Okeechobee, Florida: confirmation of nitrogen and silica limitation. *Archiv fuer Hydrobiologie* 141:459-468.

APÊNDICE

Apêndice 1. Contrastes das médias ($n = 12$) da variável-resposta nitrogênio total do perifiton (% Np) entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	*	*	*	NS	NS	NS
Verão	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Outono	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Inverno	NS	NS	*	NS	NS	NS
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	NS	NS	*	NS	*	*
N ⁺	NS	NS	*	NS	NS	NS
P ⁺	NS	NS	*	NS	*	*
NP ⁺	NS	NS	*	NS	*	*

Apêndice 2. Contrastes das médias ($n = 12$) da variável-resposta fósforo total do perifiton (% Pp) entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	NS	*	*	*	*	NS
Verão	NS	*	*	*	*	NS
Outono	NS	*	*	*	*	NS
Inverno	NS	*	*	*	*	NS
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	*	*	*	NS	NS	NS
N ⁺	*	*	*	NS	*	*
P ⁺	*	*	*	NS	NS	NS
NP ⁺	*	*	*	NS	NS	NS

Apêndice 3. Contrastes das médias ($n = 12$) da variável-resposta razão molar N/P do perifiton entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	NS	*	*	*	*	*
Verão	NS	*	*	*	*	NS
Outono	NS	*	*	*	*	*
Inverno	NS	*	*	*	*	*
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	*	*	NS	NS	*	*
N ⁺	*	*	NS	NS	*	*
P ⁺	*	*	NS	NS	*	*
NP ⁺	NS	*	*	*	*	*

Apêndice 4. Contrastes das médias ($n = 12$) da variável-resposta MSLC do perifíton entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Verão	NS	*	NS	*	NS	NS
Outono	NS	NS	*	NS	NS	NS
Inverno	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	*	*	*	NS	*	*
N ⁺	NS	*	*	NS	*	*
P ⁺	*	*	*	NS	*	*
NP ⁺	*	*	*	NS	*	*

Apêndice 5. Contrastes das médias ($n = 12$) da variável-resposta clorofila-a do perifíton entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	*	NS	*	NS	*	*
Verão	NS	NS	*	*	*	NS
Outono	*	*	*	NS	*	*
Inverno	NS	*	*	*	*	NS
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	*	*	*	*	*	NS
N ⁺	*	*	NS	NS	NS	*
P ⁺	*	*	*	NS	NS	NS
NP ⁺	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Apêndice 6. Contrastes das médias ($n = 8$) da variável-resposta densidade de algas do perifíton entre tratamentos e entre estações por época do ano pelo método de Bonferroni aplicado no Modelo Linear Generalizado (MLG). Legenda: C = controle; N = tratamento com adição de nitrogênio; P = tratamento com adição de fósforo, NP = tratamento com adição de nitrogênio e fósforo. NS = diferença não significativa; * = diferença significativa ($P < 0,10$).

Est. / Trat.	C x N	C x P	C x NP	N x P	N x NP	P x NP
Primavera	*	*	*	*	*	*
Verão	NS	*	*	*	*	NS
Outono	*	NS	NS	NS	*	*
Inverno	*	NS	*	*	*	*
Trat. / Est.	pri x ver	pri x out	pri x inv	ver x out	ver x inv	out x inv
C	NS	*	*	*	*	NS
N ⁺	NS	*	NS	*	*	*
P ⁺	NS	NS	NS	NS	*	NS
NP	NS	NS	NS	NS	NS	NS

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA SAZONAL DO ENRIQUECIMENTO POR N E P SOBRE A COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA DA COMUNIDADE PERIFÍTICA EM REPRESA TROPICAL RASA MESOTRÓFICA (LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)

Resumo - Foi avaliado o efeito da adição experimental de nitrogênio e/ou fósforo sobre a riqueza e a composição florística da comunidade de algas perifíticas em represa rasa mesotrófica, em quatro épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno). Quatro tratamentos foram delineados utilizando substrato difusor de nutrientes (copos de poliestireno, preenchidos com solução Agar e nutrientes – controle: sem adição de nutrientes; N⁺: 0,75 M; P⁺: 0,05 M; NP⁺: adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). A abertura dos copos foi revestida com malha de 20 µm como substrato para o perifíton. Coletas foram realizadas aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização. Foram encontrados 203 táxons, com predomínio da classe Chlorophyceae. A riqueza específica variou de 33 a 66 e sofreu maior influência da época do ano do que das condições experimentais, sendo mais elevada no verão e outono. A similaridade da comunidade foi primordialmente condicionada pelo tipo de tratamento, agrupando as associações de algas do controle, dos tratamentos P⁺ e NP⁺, e do tratamento N⁺. A análise de TWINSpan indicou que a classificação hierárquica das espécies foi definida pela disponibilidade de fósforo. A riqueza de espécies e de grandes grupos taxonômicos não foi sensível às mudanças com o enriquecimento experimental, enquanto que as associações de espécies foram claramente influenciadas pela disponibilidade de fósforo. O resultados permitem afirmar que o Lago das Ninféias por ser um ambiente raso, com predomínio da biota litorânea, pode apresentar profundas mudanças de suas associações algais nativas mediante aportes de fósforo.

Palavras-chave: algas, enriquecimento, fósforo, perifíton, similaridade, TWINSpan.

Abstract – Effects of experimental addition of nitrogen and/or phosphorus on the species richness and floristic composition of the periphytic algal community in a shallow, mesotrophic reservoir was evaluated in four occasions of the year (spring, summer, fall, and winter). Four treatments were designed using diffusing substrate (polystyrene vials filled with agar solution and nutrients – control: no nutrient addition, N⁺: 0.75 M; P⁺: 0.05 M; NP⁺: combined addition of N and P, molar N:P ratio = 15). Vials mouth was covered with a 20 µm

mesh cloth for periphyton colonization. Samplings were performed on the 15th, 20th, 25th, and 30th colonization days. Two hundred and three taxa were identified, the Chlorohyceae being dominant. Species richness varied from 33 to 66 and was highest during the summer and fall, mostly influenced by the time of the year than by the experimental conditions. Community similarity was mainly determined by the kind of treatment, grouping algal associations of (1) the control, (2) treatments P⁺ and NP⁺, and (3) treatment N⁺. TWINSpan analysis indicated that the hierarchic classification of species was defined by the P availability. Species and classes richness was not sensitive to changes caused to the nutrient enrichment, whereas the species associations were clearly influenced by the P availability. Present results allow stating that the Ninféias Pond, due to its shallowness and dominance of littoral biota, may present profound changes in its native algal associations due to P input.

Key words: algae, enrichment, periphyton, phosphorus, similarity, TWINSpan.

INTRODUÇÃO

O entendimento dos fatores que regulam a biodiversidade aquática e dos responsáveis pela sua manutenção ou declínio são questões-chave em ecologia, sendo que seu decréscimo pelo efeito antrópico tornou-se um tópico de grande preocupação (HILLBRAND & SOMMER 2000).

A elevada biodiversidade das algas perifíticas em ambientes rasos resulta, em parte, da heterogeneidade de habitats e de superfícies disponíveis (plantas, sedimento, pedras), aliada às diferentes estratégias para colonização das mesmas (STEVENSON 1996, GOLDSBOROUGH & ROBINSON 1996), bem como da interação e do intercâmbio de espécies com a comunidade fitoplanctônica (MARGALEF 1998, TANIGUSHI *et al.* 2005). Em tais sistemas espera-se, assim, a maior contribuição de espécies perifíticas do que fitoplanctônicas. O único trabalho florístico comparativo entre ambas as comunidades no Brasil, demonstrou que a não inclusão do perifiton levaria a uma subestimativa de 43% da biodiversidade de algas em uma represa oligotrófica (FERRAGUT *et al.* 2005). Estudos ecológicos experimentais de enriquecimento (FERRAGUT 2004) e de empobrecimento (CROSSETTI & BICUDO 2005, BARCELOS 2003) em represas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo), também reforçaram essa tendência.

A comunidade de espécies perifíticas nativas representa um importante indicador da condição do ecossistema e sua perda tem várias implicações para seu equilíbrio ecológico, conforme comprovado para o Everglades na Flórida (MCCORMICK & O'DELL 1996). Assim, seu declínio pela eutrofização tem despertado muito interesse nos últimos anos (*e.g.* MCCORMICK *et al.* 1996, PAN *et al.* 2000, HILLBRAND & SOMMER 2000, STELZER & LAMBERTI 2001). No Brasil, a única contribuição que inclui esta abordagem foi realizada a partir de enriquecimentos em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004).

Este trabalho pretende avaliar o efeito da adição experimental de nutrientes em escala sazonal sobre a riqueza e a composição florística da comunidade de algas perifíticas em represa rasa mesotrófica.

ÁREA DE ESTUDO

O Lago das Ninféias (Capítulo 1: figura 1) localiza-se no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (paralelos 23°38'08" S e 23°40'18" S e meridianos 46°36'48" W e 46°38'00" W), Unidade de Conservação circunscrita na malha urbana de São Paulo. Foi construído em 1930 a partir do barramento do córrego Pirarungaua, apresenta área de 5.433 m², volume de 7.170 m³, profundidade máxima e média, respectivamente de 3,6 e 1,3 m, e tempo médio de residência de 7,2 dias (BICUDO, C. *et al.* 2002). É um sistema mesotrófico polimítico (BICUDO, D. *et al.* 2002), com extensos bancos multiespecíficos de macrófitas submersas e flutuantes. O clima da região é tipicamente classificado como tropical de altitude (CONTI & FURLAN 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental - O experimento constou de um controle (sem adição de sais) e três tratamentos enriquecidos: N⁺ (adição isolada de nitrogênio, 0,75 M de NaNO₃, condição P-limitante), P⁺ (adição isolada de fósforo, 0,05 M de Na₂HPO₄, condição N-limitante) e NP⁺ (adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). Os quatro tratamentos foram posicionados na região litorânea da represa no sentido do fluxo da água e distanciados uns dos outros para evitar a contaminação entre tratamentos. Os substratos difusores de nutrientes (SDN) foram feitos de copo de poliestireno (330 cm³, altura de 110 mm, diâmetro da abertura de 80 mm) preenchidos com solução Agar 2% e com sais, conforme o tratamento. Sua abertura foi revestida com malha de monofilamento de 20 µm (malha de rede de fitoplâncton), que serviu de substrato para o desenvolvimento do perifíton (área de 47,75 cm²). Detalhes sobre a unidade experimental, conforme FERMINO *et al.* (2004).

As amostragens contemplaram a escala sazonal de variação, sendo realizadas nas épocas de primavera (23/11-08/12/2001), verão (21/02-08/03/2002), outono (03/05-18/05/2002) e inverno (10/07-25/07/2002). Para cada período e tratamento, foram realizadas quatro coletas correspondentes aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização do perifíton, mediante processo randômico.

Análise das algas perifíticas - A comunidade foi removida das superfícies colonizadas, mediante escovação delicada e jatos de água destilada, sendo fixadas em formalina 3-4 %

(BICUDO, C. 1990). O estudo taxonômico baseou-se em 64 amostras, coletadas em cada período sucessional, em cada tratamento e estação do ano. A oxidação e o preparo das lâminas permanentes de diatomáceas seguiram HASLE & FRYXELL (1970), utilizando Hyrax como meio de inclusão. As análises foram feitas ao microscópio binocular Zeiss Oberkochen, com câmara-clara e ocular de medição. O sistema de classificação adotado para classes e ordens foi o de VAN DER HOEK *et al.* (1997) e para nível específico utilizou-se literatura especializada (*e.g.* KOMÁREK & ANAGNOSTIDIS 1999, KRAMMER & LANGE-BERTALOT 1986, PARRA & BICUDO 1995, TELL & COMFORTI 1986).

A comparação da composição florística da comunidade baseou-se no estudo quantitativo das algas, com o propósito de uniformizar o esforço de amostragem e de análise entre os dias de sucessão, tratamentos e épocas do ano ($n = 2$). Para quantificação, o material removido do substrato foi imediatamente fixado e preservado em lugol acético a 0,5 % (BICUDO, C. 1990, VILLAFANE & REID 1995). A contagem foi feita pelo método de UTERMÖHL (1958), ao microscópio invertido Zeiss Oberkochen, em aumento de 400 vezes (LUND *et al.* 1958). O limite de contagem baseou-se em dois procedimentos, curva de rarefação de espécies e contagem de no mínimo 100 organismos da espécie mais comum (BICUDO, D. 1990).

Tratamento Estatístico - a análise conjunta dos dados foi feita a partir de análises estatísticas multivariadas. Para análise classificatória hierárquica dicotômica das unidades amostrais em função da composição florística das algas perifíticas foi utilizada Análise de Espécies Indicadoras de Dupla Entrada - "TWINSPAN" (HILL 1979). A análise seguiu a configuração padrão, ou seja, tamanho mínimo do grupo para divisão: 5; número máximo de indicadores por divisão: 4; número máximo de espécies na tabela final: 142; designada, especialmente, para dados amostrais de unidades amostrais *versus* espécies (MCCUNE & GRACE 2002). Também foi feita análise de agrupamento calculada por associação média (UPGMA), empregando o índice de Sorensen (Bray-Curtis). Ambas análises basearam-se em uma matriz de densidade de espécies de algas com abundância relativa $\geq 1,0\%$, considerando cada unidade amostral, a qual foi transformada para uma matriz de presença/ausência.

RESULTADOS

A composição taxonômica das algas perifíticas, incluindo tratamentos e épocas do ano, foi representada por 203 táxons infragenéricos, distribuídos em 9 classes, 13 ordens e 85 gêneros.

A riqueza média de espécies, por tratamento e estação do ano, variou duas vezes, ou seja, de 33 (inverno, tratamento N⁺) a 66 (outono, controle) (Figura 1). Considerando apenas os tratamentos, a média para o ano variou de 43 (N⁺) a 49 (controle). Fazendo o mesmo para as épocas do ano, a riqueza entre tratamentos variou de 39 (primavera e inverno), 52 (verão) a 54 (outono).

Em relação aos grandes grupos taxonômicos, a adição isolada de nitrogênio (N⁺) apresentou o menor número de classes (5 na primavera e 6 nas demais estações), o controle e o tratamento P⁺ variaram entre 6 e 8 dependendo do período, havendo maior número de classes (8) ao longo de todo período no tratamento NP⁺ (Figura 2).

De modo geral, no outono e verão ocorreu o maior número de táxons por classe em seus tratamentos, contrapondo com a primavera e inverno. A classe Chlorophyceae foi a mais bem representada em número de táxons (24 a 46) em todos tratamentos e períodos, seguida pelas Bacillariophyceae, Zygnemaphyceae e Euglenophyceae (Figura 2). Qualitativamente os gêneros mais bem representados foram *Scenedesmus* (17 espécies), *Cosmarium* (10 espécies) e *Monoraphidium* (8 espécies).

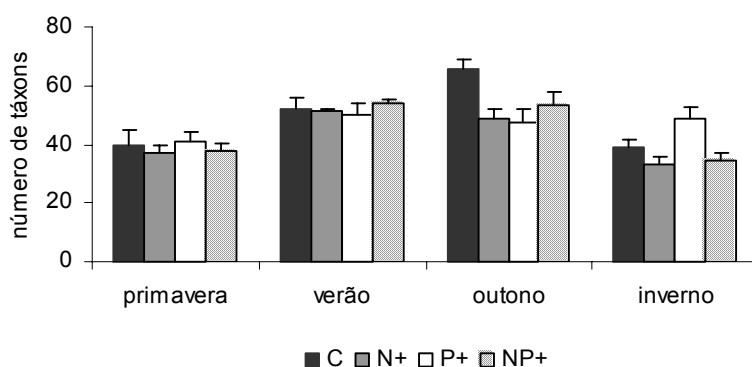


Figura 1. Número médio de riqueza com erro padrão (n = 4) em condições experimentais de enriquecimento (C = controle, P⁺, N⁺, NP⁺) em cada estação do ano no Lago das Ninfêias.

A análise de agrupamento realizada a partir da matriz de presença/ausência de 142 espécies formou dois grandes grupos (Figura 3). O primeiro deles abrangeu dois subgrupos, caracterizados pelo subgrupo-controle (32% de similaridade) e pelo subgrupo-adição isolada e combinada de fósforo (26% de SIMI), exceto à adição combinada no inverno que formou um grupo à parte (90% de SIMI). Em maior nível de detalhamento, o subgrupo-controle foi separado pelas estações do ano (primavera + verão e outono + inverno) e, posteriormente, pelos dias sucessionais, cujas similaridades foram maiores do que 90%. Da mesma forma, no subgrupo-adição de P⁺ e NP⁺, os níveis subseqüentes de corte separaram os tratamentos por

época do ano (SIMI > 90%). Todavia, não houve agrupamento completo dos tratamentos P⁺ ou NP⁺, sendo que a primavera sempre permaneceu um pouco mais separada dos demais subgrupos.

O segundo grande grupo reuniu o tratamento com adição isolada de nitrogênio (37,5% SIMI), cujos níveis subsequentes de corte agruparam as estações do ano, com similaridades variando de 70-75%, ou seja, menores do que nos demais tratamentos.

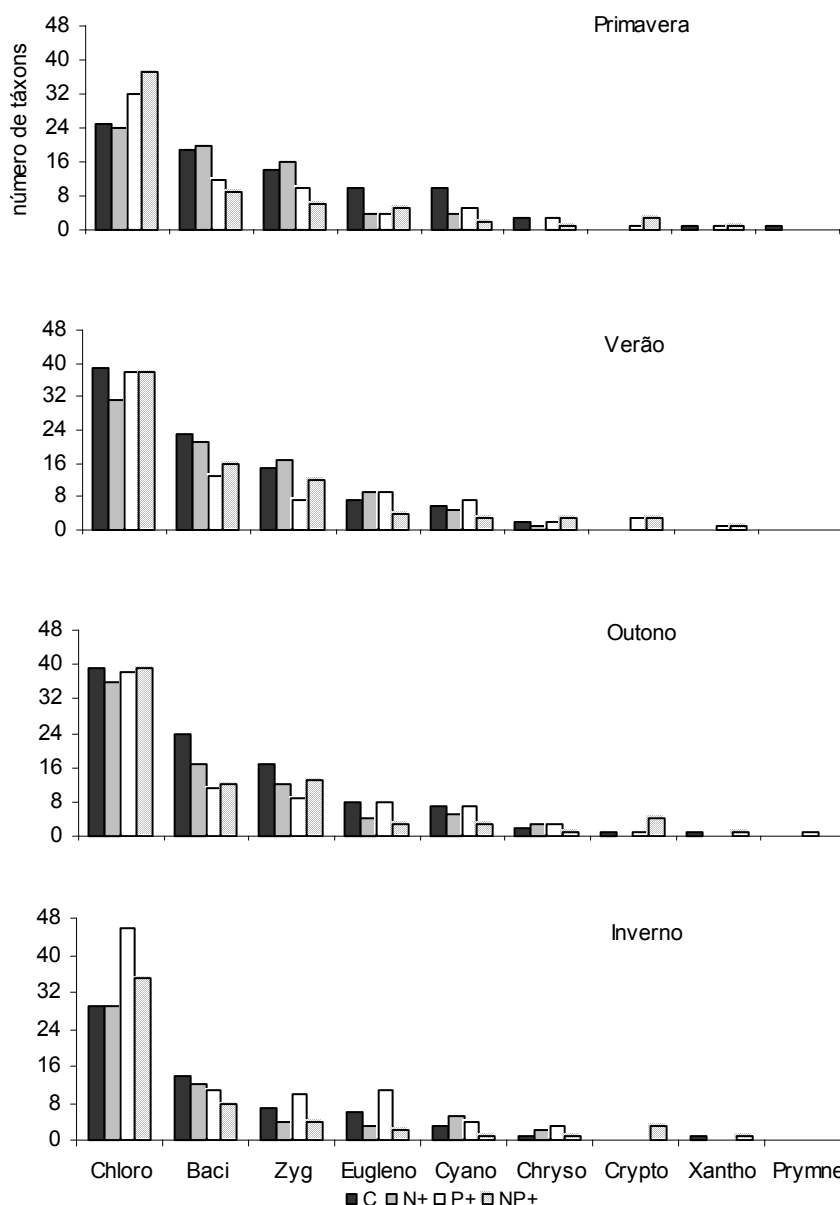


Figura 2. Número médio de táxons (n = 8) das classes de algas perifíticas em condições experimentais de enriquecimento (C = controle, P⁺, N⁺, NP⁺) em cada estação do ano no Lago das Ninféias. Legenda: Chloro: Chlorophyceae; Baci: Bacillariophyceae; Zyg: Zygnemaphyceae; Eugleno: Euglenophyceae; Cyano: Cyanophyceae; Chryso: Chrysophyceae; Crypto: Cryptophyceae; Xantho: Xanthophyceae; Prymne: Prymnesiophyceae.

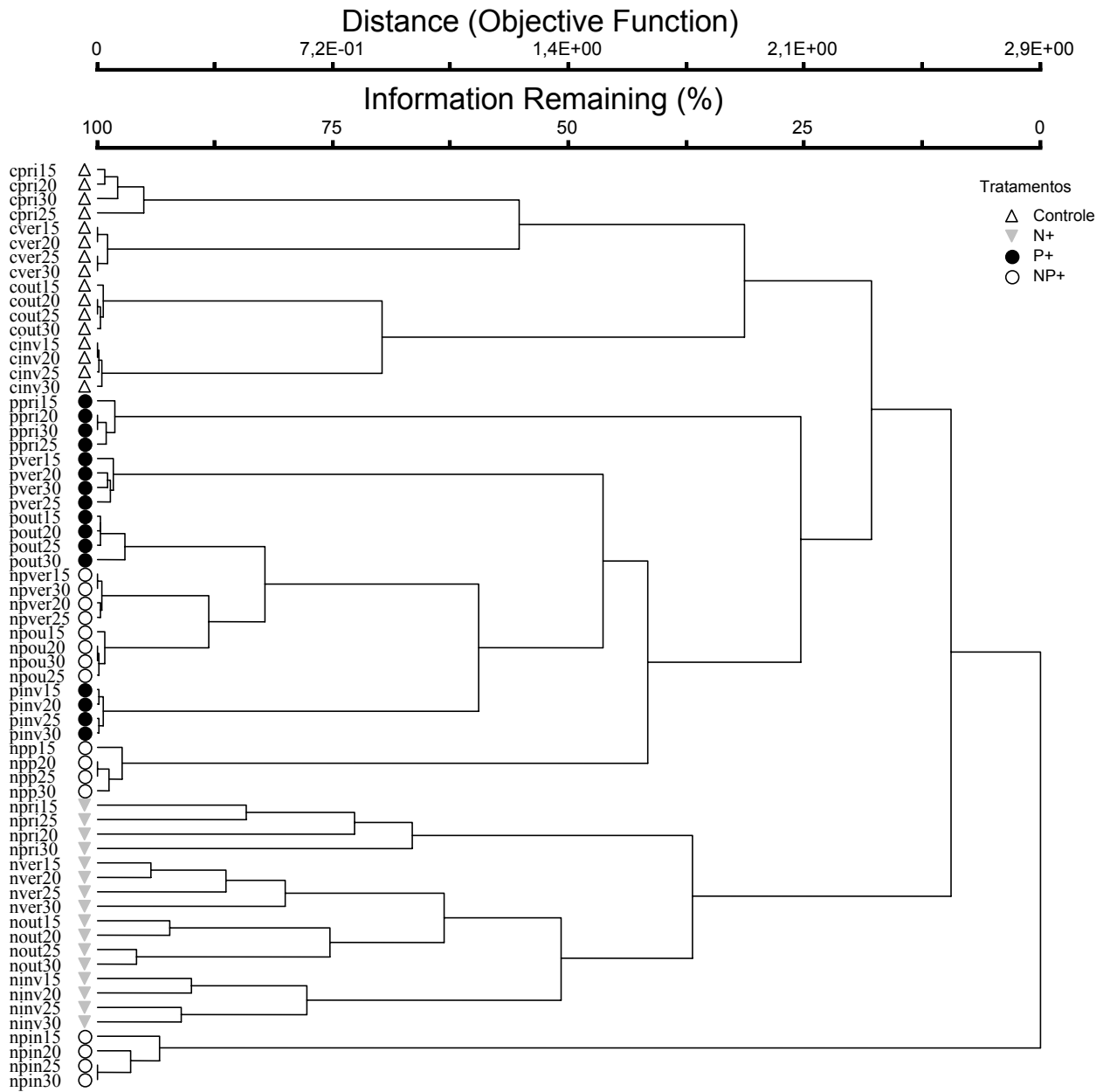


Figura 3. Análise de agrupamento de similaridade (índice de Sorensen, Bray-Curtis) entre as algas perifíticas no controle e tratamentos enriquecidos. Abreviações - primeira letra: tratamento, as três ou duas seguintes: estação do ano, c: controle, n: tratamento N⁺, p: tratamento P⁺, np: tratamento NP⁺, pri: primavera, out: outono, ver: verão, inv: inverno, números: dias da sucessão.

A análise de classificação de TWINSpan permitiu diferenciar, após o quarto nível de divisão, treze grupos amostrais em 12 divisões (Figura 4, Tabela 1).

A divisão 1 separou completamente as unidades amostrais do controle e tratamento N⁺ das unidades amostrais dos tratamentos com adição de fósforo (P⁺ e NP⁺), apresentando autovalor (λ) de 0,3795.

A divisão 2 ($\lambda = 0,3559$), com o total de 32 unidades amostrais, separou completamente o controle do tratamento N⁺. As divisões subsequentes, referentes a estas observações, evoluíram até o 4^o nível de divisão, resultando em oito grupos amostrais assim designados: A, B, C, D, E, F, G e H.

O primeiro e o segundo níveis de divisão separaram as unidades amostrais pelo tratamento. A partir deste nível, a separação ocorreu primordialmente pela estação do ano. Os grupos foram constituídos da seguinte forma:

- Grupo A: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento controle no inverno.
- Grupo B: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento controle no outono.
- Grupo C: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento controle no verão.
- Grupo D: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento controle na primavera.
- Grupo E: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento N⁺ na primavera.
- Grupo F: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento N⁺ no verão e uma estação no outono.
- Grupo G: três unidades amostrais referentes ao tratamento N⁺ no outono e uma no inverno.
- Grupo H: três unidades amostrais referentes ao tratamento N⁺ no inverno.

A divisão 3 ($\lambda = 0,3572$), com todas unidades amostrais dos tratamentos enriquecidos com fósforo (P⁺, NP⁺), separou as estações do ano independentemente do tipo de tratamento, ficando a primavera, o verão e outono no grupo negativo e o inverno no grupo positivo. As divisões subsequentes evoluíram até o 4^o nível de divisão, resultando em cinco grupos amostrais, assim designados: I, J, K, L e M. No segundo nível de divisão as estações do ano pesaram mais do que os tratamentos. A partir do terceiro nível ora as estações, ora os tratamentos, tiveram maior contribuição para a divisão (Figura 4, Tabela 1). Os grupos foram constituídos de:

- Grupo I: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento P⁺ na primavera.
- Grupo J: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento P⁺ no verão.
- Grupo K: dezesseis unidades amostrais referentes ao tratamento P⁺ no outono e NP⁺ na primavera, no verão e outono.

- Grupo L: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento P⁺ no inverno.
- Grupo M: quatro unidades amostrais referentes ao tratamento NP⁺ no inverno.

As três espécies que mais contribuíram para a divisão 1 foram: *Cosmarium margaritatum* (Lundell) Ruy & Bisset (coma: 91% de frequência) e *Frustulia rhomboides* (Ehrenberg) De Toni var. *saxonica* (Rabenhorst) De Toni (frsa: 69% de frequência), pelas suas presenças exclusivas no controle e tratamento N⁺, bem como *Tetralanthos lagerheimii* Teiling (tela: 72% de frequência), pela sua presença nos tratamentos com adição de fósforo e ausência nos demais.

As espécies indicadoras da divisão 2 foram: *Monoraphidium irregulare* (G.M. Smith) Komárková-Legnerová (moir) e *Cosmarium exiguum* Archer (coex), ambas com 81% de frequência nos tratamentos enriquecidos com nitrogênio e ausentes no controle. Nas demais divisões destes dois tratamentos (divisões 4, 5, 8, 9 10 e 11), as espécies indicadoras tiveram frequência que variou de 50 a 100% em um grupo e ausência em outro grupo.

As espécies indicadoras da divisão 3 (compreendendo todas unidades amostrais dos tratamentos com adição isolada e combinada de fósforo) foram *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat (scaa), *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson *sensu* Chodat (scqu) e *Tetraëdron caudatum* (Corda) Hansgirg (teca), todas com 100% de frequência na estação inverno e ausência nas demais épocas do ano e tratamentos.

A tabela estruturada resume toda a variação da composição de espécies (Tabela 1). Com base na mesma, percebe-se um grupo de espécies exclusivas do controle e tratamento com adição isolada de nitrogênio. Mais abaixo, no meio da tabela 1 encontram-se as espécies generalistas, que ocorreram em todos tipos de tratamentos e em todas estações do ano, tais como *Chlamydomonas sordida* Ettl, *Scenedesmus ecornis* (Ehrenberg) Chodat e *Gomphonema parvulum* Kützing, que ocorreram em 94, 88 e 84% das unidades amostrais, respectivamente; bem como as espécies que tiveram maior frequência em tratamentos com adição de fósforo, mas não todas exclusivas destes. Neste último grupo destaca-se, entre outras, a diatomácea *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith que apresentou frequência de 81% contra 15% nos tratamentos sem adição de fósforo. (adição P e NP).

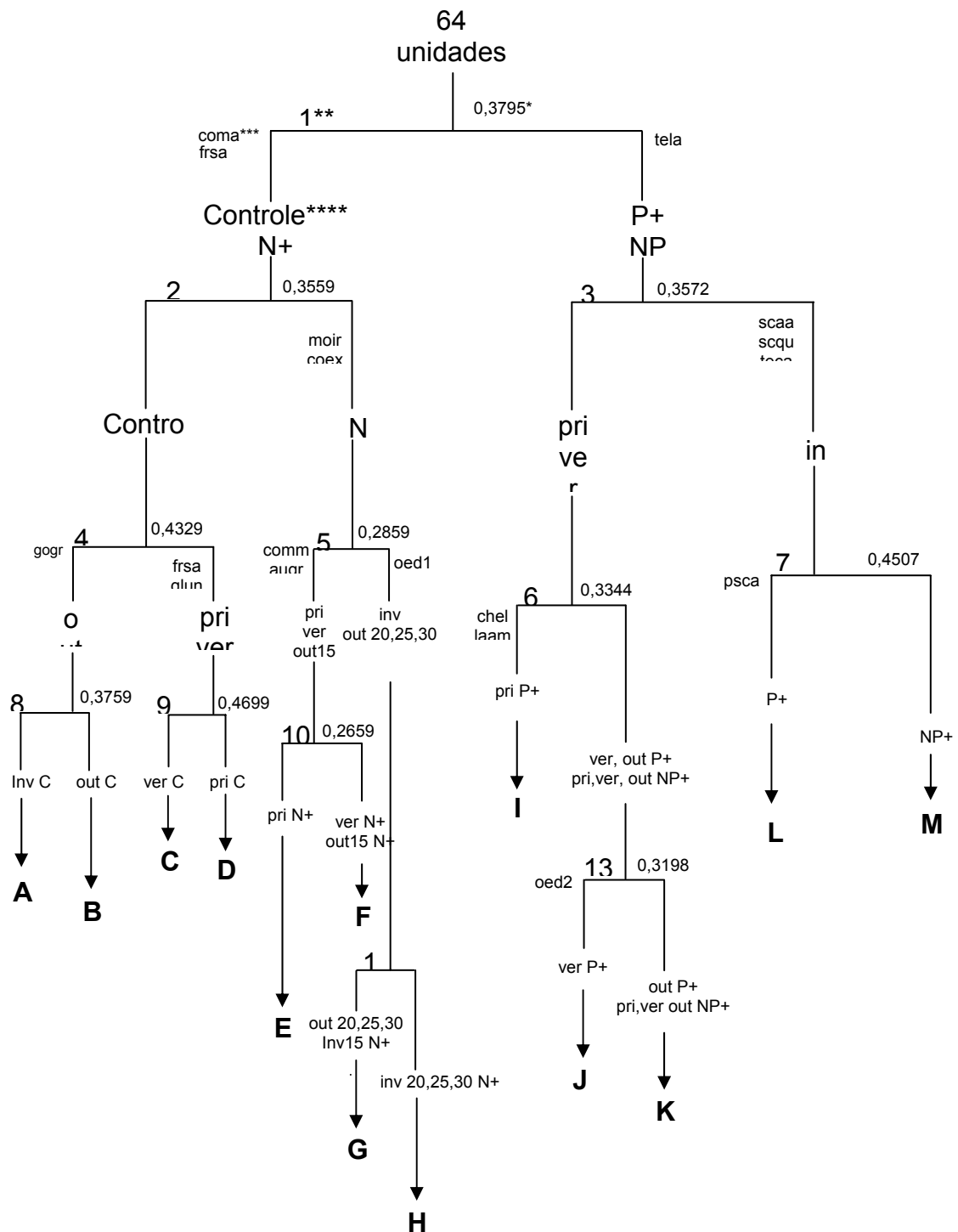


Figura 4. Classificação divisória hierárquica (TWINSpan) das espécies de algas perifíticas em condições experimentais de enriquecimento (controle, N⁺, P⁺, NP⁺) e em quatro estações do ano (pri: primavera; ver: verão; out: outono; inv: inverno) no Lago das Ninfêias. * (autovalores), ** (a divisão), *** (as espécies associadas), e **** (estações do ano e tratamentos), número: estádios sucessionais. Abreviações - augr: *Aulacoseira granulata*, coex: *C. exiguum*, chel: *Chromulina elegans*, coma: *C. margaritatum*, comm: *Cosmarium contractum* var. *minutum*, frsa: *Frustulia rhomboides* var. *saxonica*, glun: *Geitlerinema unigranulatum*, gogr: *Gomphonema gracile*, laam: *Lagynion ampullaceum*, moir: *Monoraphidium irregulare*, oed1: *Oedogonium* sp1., oed2: *Oedogonium* sp2., scaa: *Scenedesmus acuminatus*, scqu: *S. quadricauda*, psca: *Pseudanabaena catenata*, teca: *Tetraëdron caudatum* e tela: *Tetralanthos lagerheimii*.

Tabela 1. Continuação.

Táxons de algas perifíticas	Tratamentos e Grupos Amostrais												
	Controle				Trat. N ⁺				Trat. com adição de P (P ⁺ , NP ⁺)				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
<i>Nephroclamys willeana</i>	AAAA	BBBB	CCCC	DDDD	EEEE	FFFF	GGGG	HHH	IIII	JJJJ	KKKK	LLLL	MMMM
<i>Oedogonium</i> sp.2	-----	-----	-----	-----	-----	1111	1111	-----	-----	1111	-----	1111	1111
<i>Chlamydomonas sagitulla</i>	-----	-----	-----	-----	-----	11	11	-----	-----	111	-----	1	-----
<i>Tetraëdron minimum</i>	-----	-----	-----	-----	-----	11	11	-----	-----	1111	-----	-----	-----
<i>Acnanthidium microcefalum</i>	-----	-----	-----	-----	-----	1111	1111	11	-----	1111	1111	-----	-----
<i>Monoraphidium circinale</i>	-----	-----	-----	-----	-----	1	-----	111	-----	111	-----	1111	1111
<i>M. griffithii</i>	-----	1111	1111	-----	1	1	1	1111	1111	1111	1111	1111	1111
<i>Oedogonium</i> sp.1	-----	1111	-----	-----	-----	1111	1111	-----	-----	1111	1111	1111	1111
<i>Scenedesmus dispar</i>	-----	-----	-----	-----	-----	11	-----	-----	-----	11	1	-----	11
<i>Cryptomonas marsonii</i>	-----	1111	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	1111	1111	-----
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	-----	1111	-----	-----	11	1111	1111	1111	1111	1111	1111	1111	1111
<i>Chromulina verrucosa</i>	1111	1111	1111	-----	-----	1111	1111	-----	1111	1111	1111	1111	11
<i>Heterotrix stichococcoides</i>	1111	-----	111	-----	-----	-----	-----	-----	1111	111	-----	1	-----
<i>Pseudoanabaena catenata</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	111	-----	1111	-----
<i>Chlamydomonas planctogloea</i>	-----	-----	-----	-----	-----	11	1	-----	-----	11	-----	1111	1111
<i>Scenedesmus spinosus</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	-----
<i>Ulothrix subtilissima</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11
<i>Cryptomonas erosa</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	111
<i>Chromulina elegans</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1111	-----	-----	11	-----
<i>Tetralanthos lagerheimii</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1111	1111	1111	1111
<i>Chloromonas grovei</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	111	-----	-----
<i>Oocystis lacustris</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1	-----	-----	1111	-----	-----	-----
<i>O. parva</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	-----	-----
<i>Stigeoclonium</i> sp.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	111	-----	11	-----
<i>Heimansia pusilla</i>	-----	-----	-----	-----	-----	11	-----	-----	-----	1111	-----	1111	-----
<i>Cryptomonas curvata</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1111	1111	-----	1111
<i>C. ovata</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	1	11	-----
<i>C. obovata</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1	11	-----	-----
<i>Nitzschia palea</i>	-----	-----	1	11	1	1	-----	-----	-----	1111	1111	1111	1111
<i>Spirogyra</i> sp.	-----	-----	-----	-----	-----	1	11	-----	-----	111	-----	1111	1111

DISCUSSÃO

A riqueza específica do perifíton no Lago das Ninfêias sofreu maior influência da época do ano do que das condições experimentais uma vez que foi mais elevada no verão e outono, independentemente do tipo de tratamento. Tal resultado corrobora estudos realizados no PEFI, que envolveram a comparação da sucessão do perifíton em duas épocas do ano e em represas oligotrófica e eutrófica (VERCELLINO 2001) e de oligotrofização experimental em sistema eutrófico (BARCELOS 2003), nos quais a riqueza não variou em função das condições de trofia. Todavia, trabalhos de enriquecimento realizados no período de inverno em represa oligotrófica no PEFI apontaram aumento da riqueza mediante adição isolada de fósforo, porém pouca alteração com adições crescentes deste nutriente (FERRAGUT 2004). Particularmente no Lago das Ninfêias, apenas no inverno foi observado aumento de riqueza do perifíton em condições de adição isolada de fósforo. De qualquer forma, a avaliação em escala sazonal não permitiu relacionar riqueza com adição de nutrientes.

Em termos de grandes grupos taxonômicos, as Chlorophyceae sempre se destacaram em número de táxons em todos os tratamentos e épocas do ano. De modo geral, este grupo de algas apresenta grande riqueza no hábitat perífítico (STEVENSON 1996). A predominância qualitativa desta classe e, particularmente, das Chlorococcales é comum em vários ambientes lacustres tropicais e subtropicais, tanto no perifíton (*e.g.* BARCELOS 2003, FERRAGUT 2004, FERRAGUT *et al.* 2005, VERCELLINO & BICUDO 2006) quanto no fitoplâncton (*e.g.* FIGUEIREDO & GIANI 2001, TUCCI 2002, FERRAGUT 2004, FONSECA 2005, FERRAGUT *et al.* 2005), independentemente das condições nutricionais.

Em nível taxonômico mais fino, ou seja, das espécies presentes nas diferentes condições experimentais, a resposta da comunidade foi marcadamente distinta. A similaridade da comunidade foi primordialmente condicionada pelo tipo de tratamento, já que agrupou as associações de algas do controle, do tratamento com adição isolada ou combinada de fósforo e do tratamento com adição isolada de nitrogênio. Em seguida, principalmente em condição sem adição de fósforo (C, N⁺), pesou a escala sazonal de variação e, por último, os dias sucessionais, que se agruparam em seus respectivos tratamentos e período do ano com similaridades maiores do que 80%. Percebe-se ainda, que a comunidade no inverno formou um grupo à parte (90% SIMI) em condição de suprimento de nitrogênio e fósforo, bem como um subgrupo mais separado com adição isolada de fósforo. Conforme dados anteriores (capítulo 1), apenas nesta época do ano o perifíton manteve-se N-limitado mesmo em condições de enriquecimento por N e P, indicando outros fatores controladores além de nutrientes. A sensibilidade da composição específica da comunidade de algas perífíticas a diferentes suprimentos de N e/ou P também foi verificada em represa oligotrófica, na qual a similaridade respondeu primordialmente à disponibilidade de fósforo (FERRAGUT 2004). As associações qualitativas de espécies perífíticas também foram boas indicadoras de condições ambientais na planície de inundação do alto Rio Paraná, visto que separaram tipo de ambientes (lêntico, semilótico e lótico), seguido pela época do ano (águas altas e baixas) e, finalmente, pelo tipo de substrato (RODRIGUES & BICUDO 2001).

A análise de espécies indicadoras de dupla entrada indicou que a classificação divisória hierárquica das espécies de algas perífíticas foi dirigida pela disponibilidade de fósforo. Em condição de baixa disponibilidade deste nutriente (controle e N⁺) pesaram, pela ordem, tipo de tratamento e época do ano. E em condição de adição (P⁺ e NP⁺), pesou inicialmente o período do ano, principalmente a estação de inverno, seguido pelo tipo de tratamento. Desta forma, com o aumento da disponibilidade de fósforo, as estações do ano passaram a ter mais peso na

classificação das espécies do que o tratamento com adição isolada ou combinada deste nutriente.

Dentre as espécies relacionadas às condições sem enriquecimento por fósforo, destacaram-se a desmídia *Cosmarium margaritatum* e a diatomácea *Frustulia rhomboides* var. *saxonica* (divisão 1 TWINSPAN). Outras espécies de *Cosmarium* (*C. exiguum*, *C. contractum* Kirchner) também se associaram a estas condições (divisão 2 e 5 TWINSPAN), dependendo do tratamento (C, N⁺) e da época do ano. As desmídias exibem preferência por águas ácidas com pH entre 4,5 e 7,0, muitas espécies são comumente encontradas em ambientes oligotróficos (RUTS 1983) e, em sua maioria, ocorrem nas formas de vida perifítica ou metafítica (COESEL 1996). A profusa vegetação aquática do Lago das Ninféias, o pH levemente ácido (5,9-6,8, capítulo 1), e, em especial, as condições nutricionais (sem fósforo) devem ter favorecido tal grupo de algas. Em relação às diatomáceas, ambas *Frustulia rhomboides* var. *saxonica* (divisão 1 TWINSPAN) e *Gomphonema gracile* Ehrenberg (divisão 4, controle, outono e inverno) são reportadas como espécies associadas a ambientes oligotróficos (MORO & FÜRSTENBERGER 1997).

Quatro espécies de Chlorococcales (*Tetralanthos lagerheimii*, *Scenedesmus acuminatus*, *S. quadricauda*, *Tetraëdron caudatum*, divisão 1 e 3 TWINSPAN) indicaram as condições de enriquecimento isolado ou combinado por fósforo. No fitoplâncton, particularmente o gênero *Scenedesmus* é favorecido em níveis elevados de fósforo (REYNOLDS 1984, HAPPEY-WOOD 1988, GONZALEZ & ORTAZ 1998), sendo *S. ecornis* e *S. quadricauda* frequentemente relacionados a ambientes mesotrófico e eutrófico (ROSEN 1981, PATRICK & PALAVAGE 1994). No perifíton, espécies de *Scenedesmus* também foram encontradas em meios enriquecidos por nitrogênio e/ou fósforo (FAIRCHILD *et al.* 1989, FERRAGUT 2004) e em represa eutrófica no PEFI (BARCELOS 2003).

Dentre as generalistas, a diatomácea *Nitzschia palea*, apesar de não ter sido responsável pelas divisões na análise TWINSPAN, apresentou 81% de frequência nos tratamentos com adição de fósforo. É comum a associação desta espécie a ambientes com suprimento de fósforo (PRINGLE 1990) ou eutrófico (LOEZ & TOPALIÁN 1999). Na área do PEFI, a mesma também apresentou associação com o perifíton de represa eutrófica (VERCELLINO 2001) e oligotrófica sob suprimento experimental de fósforo (FERRAGUT 2004).

Em síntese, a riqueza de espécies e de grandes grupos taxonômicas da comunidade de algas perifíticas não foi sensível às mudanças de enriquecimento experimental no Lago das Ninféias. Todavia, as associações de espécies foram claramente influenciadas pela disponibilidade de fósforo, que foi considerado o nutriente limitante ou limitante primário do

perifiton no Lago das Ninféias (capítulo 1), assim como em outras represas do PEFI (HUSZAR *et al.* 2005).

Apesar de vários fatores interagirem sobre a estrutura específica de comunidades algais perifíticas, os intensos estudos descritivos e experimentais realizados no Everglades da Flórida também reconheceram o fósforo como o principal fator determinante da composição taxonômica e da perda de associações de espécies oligotróficas, mesmo em níveis pouco acima dos basais, acarretando sérias conseqüências para o equilíbrio do ecossistema (MCCORMICK *et al.* 1996, MCCORMICK & O'DELL 1996, PAN *et al.* 2000).

Os resultados permitem afirmar que o Lago das Ninféias por ser um ambiente raso, com penetração total de luz na quase totalidade do ano (FONSECA 2005) e com grande extensão de macrófitas aquáticas, ou seja, com predomínio da biota litorânea, pode apresentar profundas mudanças de suas associações algais nativas mediante aportes de fósforo.

LITERATURA CITADA

- BARCELOS, E.M. 2003. Avaliação do perifiton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 118 p.
- BICUDO, C.E.M. 1990. Metodologia para o estudo qualitativo das algas do perifiton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 477-491.
- BICUDO, C.E.M.; CARMO, C.F.; BICUDO, D.C.; HENRY, R.; PIÃO, A.C.S.; SANTOS, C.M. & LOPES, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 141-158.
- BICUDO, D.C. 1990. Considerações sobre metodologias de contagem de algas do perifiton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 459-475.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C.; CARMO, C.F.; BOUROTE, C.; BICUDO, C.E.M.; MELFI, A.J. & LUCAS, Y. 2002. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 158-198.
- COESEL, P.F.M. 1996. Biogeography of desmids communities. *Hydrobiologia* 336: 41-53.
- CONTI, J.B. & FURLAN, S.A. 2003. Geoecologia: O Clima, Os Solos E A Biota. *In*: ROSS, J.L. (Org.) *Geografia Do Brasil*. Edusp, São Paulo. p. 67-207.
- CROSSETTI, L. & BICUDO, C.E.M. 2005. Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia* 541: 71-85.
- FAIRCHILD, G.W., SHERMAN, J.W. & ACKER, F.W. 1989. Effects of nutrients (N, P, C) enrichment, grazing and depth upon littoral periphyton of softwater lake. *Hydrobiologia* 173:69-83.
- FERMINO, F.S.; BICUDO, D.C. & MERCANTE, T.J. 2004. Substrato difusor de nutrientes (SDN): avaliação do método em laboratório para experimentos *in situ* com perifiton. *Acta Scientiarum* 26: 273-280.

- FERRAGUT, C. 2004. Respostas das algas perifíticas e planctônicas à manipulação de nutrientes (N e P) em reservatório urbano (Lago do IAG, São Paulo). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 184 p.
- FERRAGUT, C.; LOPES, M.R.M.; BICUDO, D.C.; BICUDO, C.E.M., & VERCELLINO, S. 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). *Hoehnea* 32: 137-184.
- FIGUEIREDO, C.C. & GIANI, A. 2001. Seasonal variation in the diversity and species richness of phytoplankton in a tropical eutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 445:165-174.
- FONSECA, B.M. 2005. Diversidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em dois reservatórios rasos com diferentes estados tróficos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 208p.
- GOLDSBOROUGH, K.D. & ROBINSON, G.G.C. 1996. Pattern in wetlands. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 78-117.
- GONZÁLEZ, E.J & ORTAZ, M. 1998. Efectos del enriquecimiento com N y P sobre la comunidad del fitoplancton en microcosmo de un enbalse tropical (La Mariposa, Venezuela). *Revista de Biología Tropical* 46:27-34.
- HAPPEY-WOOD, V.M. 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. *In*: Sandgreen, C.D. (ed.) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 175-226.
- HASLE, G.R. & FRYXELL, G.A. 1970. Diatoms: cleaning and mouting for light and electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society* 89: 469-474.
- HILL, M.O. 1979. TWINSPLAN – A FORTRAN program for arranging multivariate data in na ordered two way table by classification of individuals and atributes. Cornell University Ithaca, New York, 90 p.
- HILLBRAND, H. & SOMMER, U. 2000. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication. *Aquatic Botany* 67: 221-236.
- HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, C.; MARTINELLI, L.A. & HENRY, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifiton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. *In*: ROLDAM, F., CÉSAR, D. & MARINHO, M. (orgs.) *Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais*. RiMa Editora, São Carlos. p. 243-260.
- KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1999. Cyanoprocaryota, 1: Chroococcales. *In*: Huber-Pestalozzi, G. (ed.). *Das phytoplankton des sysswasser: Systematik und Biologie, band 7*. Schwarzerbart'sche Verlargsbuchhandlung, Stuttgart, 1044 p.
- KRAMMER, K. & LANGE-BERTALOT, H. 1986. Bacillariophyceae, 1: Naviculaceae, *In*: Ettl, H., Gerloff, F. & Heynig, H. (eds.). *Stuswasserflora von Mitteleuropa*. Band 2(1). Gustav Fischer, Sttugart, 876 p.
- LOEZ, C.R. & TOPÁLIAN, M.L. 1999. Use of algae monitoring rivers in Argentina with a special emphasis for the Reconquista river (region of Buenos Aires). *In*: PRYGIEL, J., WHITTON, B.A., BUKOWSKA, J. (eds.). *Use of algae for monitoring rivers III*. p. 72 – 83.
- LUND, J.W.G., KIPLING, C. & LÊ-CREN, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hidrobiologia* 11: 143-170.
- MARGALEF, R. 1998. La imprecisa frontera entre el plâncton y otros tipos de comunidades. *In*: AZevedo, M.T.P., Santos, D.P., Sormus, L., Menezes, M. Fujii, M., Yokoya, N.S., Senna, P.A.C. & Guimarães, S.M.P.B. (eds.). *Anais do 4º Congresso Latino-Americano de Ficologia, 2ª Reunião Ibero-Americana e 7ª Reunião Brasileira de Ficologia, Caxambú, MG*. p. 319-326.

- MCCORMICK, P.V. & O'DELL, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 450-468.
- MCCORMICK, P.V., RAWLIK, P.S., LURDING, K., SMITH, E.P. & SKLAR, F.H. 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutrient gradient in the northern Florida Everglades. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 433-449.
- MCCUNE, B. & GRACE, J.B. 2002. *Analysis of Ecological Communities*. MjM Software Design, Oregon, 300 p. (com a contribuição de Dean L. Urban).
- MORO, R.S. & FÜRSTENBERGER, C.B. 1997. Catálogo dos principais parâmetros ecológicos de diatomáceas não-marinhas. Editora UEPG, Ponta Grossa, Paraná. 282 p.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., VAITHIYANATHAN, P., SLATE, J. & RICHARDSON, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. *Freshwater Biology* 44: 339-353.
- PARRA, O.O. & BICUDO, C.E.M. 1995. *Introducción a la biología y sistemática de las algas de aguas continentales*. Santiago: Editora da Universidad de Concepción. 268p.
- PATRICK, R. & PALAVAGE, D.M. 1994. The value of species as indicators of water quality. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 145: 55-92.
- PRINGLE, C.M. 1990. Nutrient spatial heterogeneity: effects on community structure, physiognomy, and diversity of stream algae. *Ecology* 71: 905-920.
- REYNOLDS, C.S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, 384p.
- RODRIGUES, L. & BICUDO, D.C. 2001. Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradient of the upper Paraná river floodplain, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 24 (3): 235 – 248. São Paulo.
- ROSEN, G. 1981. Phytoplankton indicators and their relations to certain chemical and physical factors. *Limnologica* 13: 263-296.
- RUTS, M. 1983. Desmids as biological indicators of water quality in two natural reserves of Campine (Belgium). *Biologisch Jaarboek Dodoneae* 51: 243-253.
- STELZER, R.S. & LAMBERTI, G.A. 2001. Effects of N:P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community structure, biomass, and elemental composition. *Limnology and Oceanography* 46: 356–367.
- STEVENSON, J.R. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p.3-30.
- TANIGUCHI, G.M., BICUDO, D.C. & SENNA, P.A.C. 2005. Gradiente litorâneo-limnético do fitoplâncton e ficoperifiton em uma lagoa da planície de inundação do Rio Mogi-Guaçu. *Revista Brasileira de Botânica* 28: 137-147.
- TELL, G. & COMFORTI, V. 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. *Biblioteca Phycologica* 75: 1-301.
- TUCCI, A. 2002. Sucessão da comunidade fitoplanctônica de um reservatório urbano e eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 274 p.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitative phytoplankton: methodic. *Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- VAN-DER-HOEK, C., MANN, D. G., & JAHNS, H. M. 1997. *An introduction to phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, 627p.

- VERCELLINO, I. S. 2001. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em dois reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo: influência do estado trófico e período climatológico. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 176 p.
- VERCELLINO, I. & BICUDO, D.C. 2006. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em reservatório oligotrófico tropical (São Paulo, Brasil): comparação entre período seco e chuvoso. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 363-377.
- VILLAFANE, V.E. & REID, F.M.H. 1995. Metodos de microscopia para la cuantificacion del fitoplancton. *In*: ALVES, K., FERRARIO, E.C. & SAR, E. (eds.). *Manual de métodos fiicologicos*. Concepcion: Universidad de Conception. p. 169 - 185.

CAPÍTULO 3

EFEITO SAZONAL DO ENRIQUECIMENTO POR N E P SOBRE A ESTRUTURA ESPECÍFICA DA COMUNIDADE DE ALGAS PERIFÍTICAS EM REPRESA TROPICAL RASA MESOTRÓFICA (LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)

Resumo - Foi avaliado o efeito da adição experimental de nitrogênio e/ou fósforo sobre a estrutura específica da comunidade de algas perifíticas em represa rasa mesotrófica, em quatro épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno). Quatro tratamentos foram delineados utilizando substrato difusor de nutrientes (copos de poliestireno, preenchidos com solução Agar e nutrientes – controle: sem adição de nutrientes; N⁺: 0,75 M; P⁺: 0,05 M; NP⁺: adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). A abertura dos copos foi revestida com malha de 20 µm como substrato para o perifíton. Coletas foram realizadas aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de sucessão. A densidade de algas foi maior nos tratamentos com adição de fósforo (P⁺, NP⁺). A classe Chlorophyceae foi a mais abundante na quase totalidade dos tratamentos e época do ano. As Cryptophyceae contribuíram de forma consistente (30-57%) no tratamento NP⁺ ao longo de todo período. Dentre as espécies descritoras da comunidade, destacaram-se seis dominantes e 19 mais abundantes. *Chlamydomonas*, com quatro espécies descritoras, sempre participou de forma expressiva na estrutura da comunidade. No controle tais espécies, principalmente *C. sordida*, foram as mais abundantes, enquanto que nos tratamentos enriquecidos destacaram-se: *Gomphonema parvulum* e *C. sordida* (N⁺), duas espécies de *Chromulina* e de *Chlamydomonas* (P⁺), *Cryptomonas marssonii*, *C. curvata* e *Scenedesmus ecornis* (NP⁺). A análise de correspondência canônica permitiu a caracterização de duas guildas indicadoras das condições de enriquecimento, constituídas, respectivamente, por cinco e quatro espécies associadas à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. Na guilda N, as desmídias também apresentaram grande associação com os períodos mais quentes do ano. As alterações da comunidade perifítica em nível de classes, mas principalmente de diversidade, nem sempre foram consistentes com o tipo de tratamento ou época do ano. Em nível taxonômico mais fino, a resposta foi primordialmente sensível ao tipo de enriquecimento. Desta forma, a maior disponibilidade de fósforo ou de nitrogênio constituiu o principal eixo de variação estrutural da comunidade, seguido pela época do ano (primavera/verão e inverno). Os resultados permitem afirmar que aportes de fósforo podem alterar a comunidade perifítica natural do Lago das Ninféias, com maior impacto sobre as desmídias, mas também sobre algumas espécies descritoras de diatomáceas e cianobactérias.

Palavras-chave: diversidade, enriquecimento, fósforo, guildas, nitrogênio, perifíton.

Abstract – Effect of experimental N and P addition on the algal periphytic community species structure in a shallow, mesotrophic reservoir was evaluated during four occasions of the year (spring, summer, fall, and winter). Four treatments were designed using diffusing substrate (polystyrene vials filled with agar solution and nutrients – control: no nutrient addition, N⁺: 0.75 M; P⁺: 0.05 M; NP⁺: combined addition of N and P, molar N:P ratio = 15). Vial mouth was covered with a 20 µm mesh cloth for periphyton colonization. Samplings were performed on the 15th, 20th, 25th, and 30th colonization days. Algal density was higher in the treatments with P addition (P⁺, NP⁺). Chlorophyceae was the most abundant algal class in almost all treatments and time of the year. Cryptophyceae consistently contributed (30-57%) to the total density in the NP⁺ treatment during the entire study period. Among the community descriptor species, six were dominant and 19 the most abundant ones. *Chlamydomonas*, with four descriptor species, participated always expressively in the community structure. Such species were the most abundant ones in the control treatment, mainly *C. sordida*, whereas in the enriched ones emphasis was given to *Gomphonema parvulum* and *C. sordida* (N⁺), two *Chromulina* and two *Chlamydomonas* species (P⁺), and *Cryptomonas marssonii*, *C. curvata*, and *Scenedesmus ecornis* (NP⁺). Canonical correspondence analysis allowed characterization of two guilds indicative of enriched conditions constituted of five and four species associated to P or N availability, respectively. In guild N, desmids had also great association with the warmer period of the year. Modifications in the algal periphytic community at the class level, but mainly in diversity, were not always consistent with the kind of treatment or the time of the year. At a more fine taxonomical level, however, response was mainly driven by the type of enrichment. Thus, the greater P or N availability constituted the main structural variation axis of the community, followed by the time of the year (spring/summer and winter). Present results indicate that P input may change the natural algal periphytic community structure of the Ninfeias Pond, with greater impact on the desmids, but also on some diatom and cyanobacteria descriptor species.

Key words: diversity, enrichment, phosphorus, guilds, nitrogen, periphyton.

INTRODUÇÃO

O reconhecimento da relevância da comunidade perifítica nos ecossistemas aquáticos rasos é notório. O perifíton desempenha papel-chave na produtividade e nos fluxos de energia e nutrientes (WETZEL 2001, VADEBONCOEUR & STEINMAN 2002), bem como contribui de forma expressiva com a biodiversidade de algas (GOLDSBOROUGH & ROBINSON 1996, STEVENSON 1996, FERRAGUT *et al.* 2005).

As propriedades qualitativas e quantitativas dessa comunidade resultam da interação de uma série complexa de aspectos ambientais, definidos pela escala do sistema aquático, tais como fatores físicos, químicos e biológicos, bem como pela escala da paisagem, como geologia, clima e atividades humanas (BIGGS 1996, PAN *et al.* 2000).

Em decorrência do sucesso da utilização do perifíton como ferramenta avaliadora de processos de eutrofização (PAN *et al.* 2000, MCCORMICK *et al.* 2001), as abordagens experimentais com manipulação de nutrientes tornaram-se crescentes, tanto no exterior

(FRANCOEUR *et al.* 1999, HAVENS *et al.* 1999, TANK & DODDS 2003), quanto no Brasil (ENGLE & MELACK 1993, FERRAGUT 1999, Mendes & Barbosa 2002, BARCELOS 2003, FERRAGUT 2004, HUSZAR *et al.* 2005).

Particularmente, os vários trabalhos realizados nos Everglades da Flórida, região subtropical, apontam a importância da manutenção da comunidade oligotrófica de algas perifíticas para o equilíbrio do ecossistema (MCCORMICK & O'DELL 1996, PAN *et al.* 2000). Tais contribuições resultaram na proposição de um índice de integridade biótica para este sistema, que utiliza, dentre outras métricas, a representatividade de certas espécies algais (MCCORMICK & STEVENSON 1998).

Apesar da necessidade de se conhecer os nutrientes que possam controlar, ou mesmo, dirigir a dinâmica da estrutura de espécies da comunidade perifítica, raríssimos são os trabalhos em regiões tropicais em geral, Brasil não sendo exceção. Neste sentido, existem apenas duas contribuições no país, uma em condição de oligotrofização experimental em represa eutrófica (BARCELOS 2003) e outra sobre adição de nutrientes em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004), situadas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo), ambas durante o período seco.

Este trabalho pretende contribuir com o melhor entendimento de comunidades perifíticas naturais e com os possíveis impactos gerados pelo aporte de nutrientes. Mais especificamente, visa: (a) avaliar o efeito da adição experimental de nutrientes sobre a estrutura específica da comunidade de algas perifíticas em um sistema raso mesotrófico tropical, (b) analisar o efeito da escala sazonal sobre as condições de enriquecimento e (c) identificar guildas de espécies indicadoras das condições de disponibilidade de fósforo e/ou nitrogênio.

AREA DE ESTUDO

O Lago das Ninféias (Capítulo 1: figura 1) localiza-se no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (paralelos 23°38'08" S e 23°40'18" S e meridianos 46°36'48" W e 46°38'00" W), Unidade de Conservação circunscrita na malha urbana de São Paulo. Foi construído em 1930 a partir do barramento do córrego Pirarungaua, apresenta área de 5.433 m², volume de 7.170 m³, profundidade máxima e média, respectivamente de 3,6 e 1,3 m, e tempo médio de residência de 7,2 dias (BICUDO, C. *et al.* 2002). É um sistema mesotrófico polimítico (BICUDO, D. *et al.* 2002), com extensos bancos multiespecíficos de macrófitas submersas e flutuantes. O clima da região é tipicamente classificado como tropical de altitude (CONTI & FURLAN 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental - o experimento constou de um controle (sem adição de sais) e três tratamentos enriquecidos: N^+ (adição isolada de nitrogênio, 0,75 M de $NaNO_3$, condição P-limitante), P^+ (adição isolada de fósforo, 0,05 M de Na_2HPO_4 , condição N-limitante) e NP^+ (adição combinada dos dois sais, razão molar N:P = 15). Os quatro tratamentos foram posicionados na região litorânea da represa no sentido do fluxo da água e distanciados uns dos outros para evitar a contaminação entre tratamentos. Os substratos difusores de nutrientes (SDN) foram feitos de copo de poliestireno (330 cm³, altura de 110 mm, diâmetro da abertura de 80 mm) preenchidos com solução Agar 2% e com sais, conforme o tratamento. Sua abertura foi revestida com malha de monofilamento de 20 μm (malha de rede de fitoplâncton), que serviu de substrato para o desenvolvimento do perifíton (área de 47,75 cm²). Detalhes sobre a unidade experimental, conforme FERMINO *et al.* (2004).

As amostragens contemplaram a escala anual de variação, sendo realizadas nas épocas de primavera (23/11-08/12/2001), verão (21/02-08/03/2002), outono (03/05-18/05/2002) e inverno (10/07-25/07/2002). Para cada período e tratamento, foram realizadas quatro coletas correspondentes aos 15^o, 20^o, 25^o e 30^o dias de colonização do perifíton.

Variáveis abióticas - as variáveis limnológicas analisadas foram: radiação subaquática ($\mu mol.s^{-1}.m^{-2}$, quantameter Li-COR, modelo LI-250); temperatura ($^{\circ}C$), pH e condutividade elétrica ($\mu S cm^{-1}$) mediante sonda multiparâmetro YSI 600R; oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$, método de Winkler modificado pela azida, conforme GOLTERMAN *et al.* 1978); alcalinidade ($mEq.L^{-1}$, segundo GOLTERMAN & CLYMO 1971); formas inorgânicas de carbono ($mg.L^{-1}$), obtidas a partir dos dados de pH e alcalinidade, segundo MACKERET *et al.* (1978). Após filtração das amostras em filtros pré-calcinados GF/F, sob baixa pressão ($< 0,5 atm$), os seguintes nutrientes dissolvidos foram determinados e expressos pela concentração do elemento considerado: ortofosfato e fósforo total dissolvido (STRICKLAND & PARSONS 1960); amônio (SOLORZANO 1969); nitrato e nitrito (MACKERET *et al.* 1978) e ácido ortossilícico (GOLTERMAN *et al.* 1978). Amostras não filtradas foram utilizadas para análise de fósforo total (PT) e nitrogênio total (NT), conforme VALDERRAMA (1981). As coletas foram realizadas com garrafas de polietileno na água sobrejacente aos tratamentos, em duplicatas. As análises foram processadas no dia de coleta, exceto aos nutrientes totais, que foram determinados em no máximo 7 dias.

Quantificação das algas – as amostras (SDN) foram coletadas de forma aleatória, mediante processo de sorteio, com duas repetições ($n = 2$). No laboratório, o perifíton foi imediatamente removido das superfícies por meio de escovação delicada e jatos de água

destilada ou ultrapura. O material removido do substrato foi imediatamente fixado e preservado em lugol acético 0,5% (BICUDO, C. 1990; VILLAFANE & REID 1995). A quantificação seguiu o método de UTERMÖHL (1958), sendo processada em microscópio invertido Zeiss Oberkochen, em aumento de 400 vezes (LUND *et al.* 1958). O limite de contagem foi baseado em dois procedimentos, curva de rarefação de espécies e contagem de no mínimo 100 organismos da espécie mais comum (BICUDO, D. 1990). Foram consideradas espécies dominantes aquelas cujas densidades superaram 50% da densidade total da amostra e espécies abundantes as que superaram a densidade média de cada amostra (LOBO & LEIGHTON 1986).

Índices biológicos - Foram calculados o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') (SHANNON & WEAVER 1963), índice de dominância de Simpson (D) (SIMPSON 1949), a riqueza de espécies (número de táxons por unidade amostral) e equitatividade (E) (LLOYD & GHELARDI 1964).

Tratamento Estatístico - os resultados foram inicialmente avaliados por meio de estatística descritiva. Para análise conjunta dos dados foi aplicada análise estatística multivariada. A análise de componentes principais (ACP) foi realizada a partir de matriz de covariância com transformação dos dados pelo $[\log(x + 1)]$, tanto para os dados abióticos quanto para os de densidade de algas. Na construção da matriz foram consideradas as espécies com abundância relativa média (para a sucessão) igual ou superior a 5% da densidade total para cada tratamento e período do ano. Este nível de corte abrangeu entre 78-92 % da densidade total da comunidade, em cada tratamento e em cada época do ano. A ordenação das variáveis bióticas em função das abióticas foi realizada a partir da análise de correspondência canônica (ACC) com dados transformados por logaritmo $[\log(x + 1)]$, sendo utilizada a mesma matriz biológica para a ACP citada acima. As transformações de dados foram feitas a partir do programa FITOPAC (SHEPHERD 1996) e as análises multivariadas, pelo programa PC-ORD versão 4.0 para Windows (MCCUNE & MEFFORD 1999).

RESULTADOS

CONDIÇÕES LIMNOLÓGICAS ABIÓTICAS

As informações detalhadas sobre as variáveis limnológicas abióticas nos tratamentos e ao longo do período experimental foram fornecidas no capítulo 1. Desta forma será apresentada apenas uma síntese das principais tendências de variação dos dados.

A análise de componentes principais resumiu 62,8% da variabilidade das informações em seus dois primeiros eixos (Figura 1, Tabela 1). O eixo 1 indicou que a maior fonte de

variação foi atribuída, principalmente, ao tipo de enriquecimento, de forma que a maior disponibilidade de fósforo foi encontrada no tratamento com adição isolada de fósforo (na maioria) e a maior disponibilidade de nitrato nos tratamentos com adição isolada, mas também combinada de nitrogênio. Já, no eixo 2, a ordenação deu-se mais em função da época do ano. Depreende-se, portanto, que a variabilidade limnológica abiótica foi fundamentalmente condicionada pelo tipo de tratamento, embora também pela escala anual de variação. Observa-se, também, que o fósforo sofreu influência temporal, estando mais disponível em condições naturais (controle) no período da primavera.

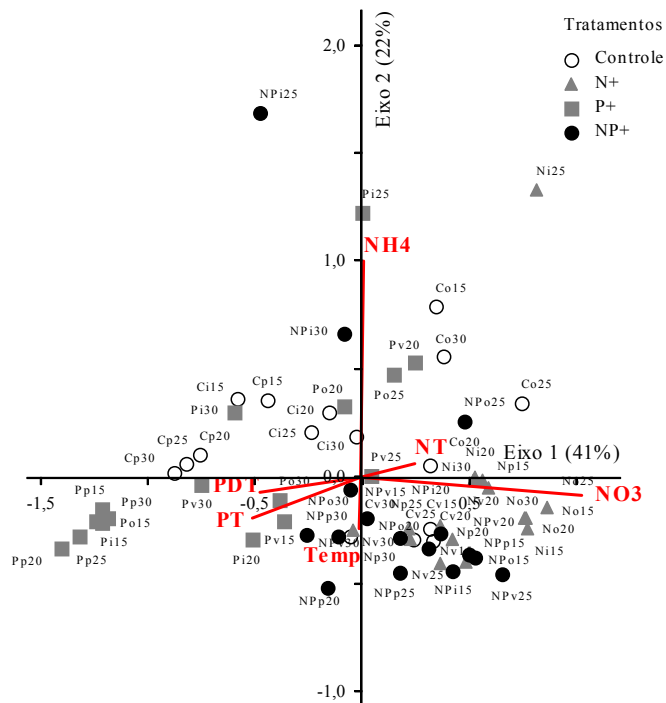


Figura 1. Ordenação pela ACP das unidades amostrais dos tratamentos (letras em maiúsculo: C, N, P, NP) nas quatro estações do ano (letra em minúsculo: p, v, o, i) ao longo do período experimental (números: dias do experimento). Abreviações - NH_4 : amônio; NO_3 : nitrato; NT: nitrogênio total; PDT: fósforo total dissolvido; PT: fósforo total; Temp: temperatura da água. Vetores menores que 0,200 foram excluídos.

Tabela 1. Correlação das variáveis abióticas com os eixos 1 e 2. Em negrito, $r \geq 0,5$.

Variáveis	Componentes Principais	
	1	2
Temp	-0,101	-0,451
Ph	-0,225	-0,074
Condutividade	0,113	-0,102
Oxigênio dissolvido	0,182	0,090
CO ₂ livre	0,147	-0,008
HCO ₃	0,040	-0,026
PT	-0,654	-0,399
PDT	-0,627	-0,249
NT	0,465	0,241
NO ₃	0,928	-0,278
NH ₄	0,122	0,916
Si	0,289	0,061
Varição Explicada	40,8%	22,0%

ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE ALGAS PERIFÍTICAS

Foram identificados 203 táxons, distribuídos em 9 classes, 13 ordens e 85 gêneros, sendo que a classe Chlorophyceae foi a mais bem representada em número de táxons (24 a 46) em todas estações do ano e em todos tratamentos, seguida pelas classes Bacillariophyceae, Zygnemaphyceae e Euglenophyceae (Capítulo 2).

De modo geral, as densidades seguiram tendência de aumento ao longo do período sucessional nos tratamento com adição isolada ou combinada de fósforo, sendo mais elevadas no tratamento NP⁺, exceto ao verão. Os menores valores ocorreram no tratamento N⁺. Observa-se, assim, a influência tanto das condições experimentais quanto da época do ano sobre a densidade da comunidade (Figura 2).

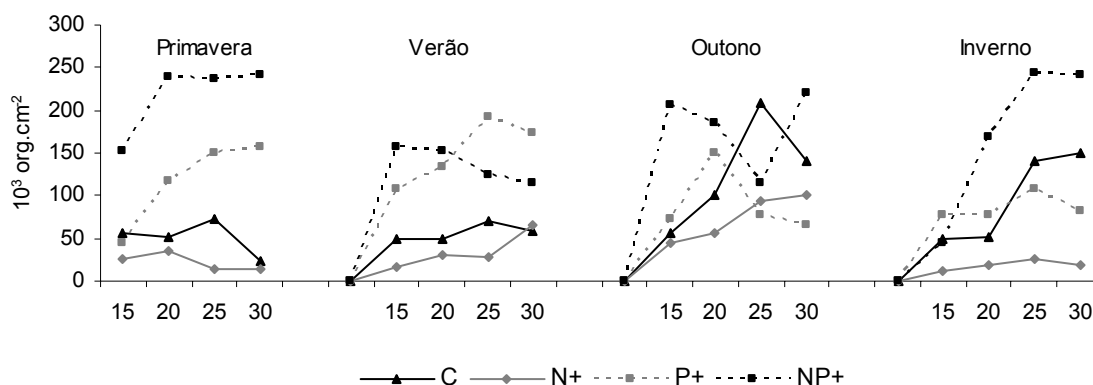


Figura 2. Variação da densidade total média ($n = 2$) de algas (ind.cm^{-2}) do perifíton ao longo do período experimental (15°, 20°, 25° e 30° dias de sucessão) em quatro tratamentos por estação do ano no Lago das Ninféias.

A classe Chlorophyceae foi, usualmente, a mais abundante nos tratamentos e épocas do ano e, em particular, na condição controle (50-83%) e P⁺ (35-69% de contribuição). Os demais grupos apresentaram maior representação em função do tratamento e/ou época do ano (Figura 3).

As Bacillariophyceae destacaram-se no tratamento N⁺, atingindo contribuição de até 41-44% durante o verão e outono. As Xanthophyceae apareceram com maior abundância apenas no controle e durante a primavera, devido à contribuição (26%) de *Xanthonema stichococcoides*. As Chrysophyceae apresentaram maior representação (51%) apenas no tratamento P⁺, durante a primavera. As Cryptophyceae, por sua vez, contribuíram de forma consistente (30-57%) apenas no tratamento NP⁺ (Figura 3).

Com base na densidade média populacional para a sucessão, nenhum táxon apresentou contribuição superior a 50% da comunidade para um dado tratamento ou período do ano. Por outro lado, 58 espécies superaram a densidade média da comunidade para o período sucessional. Dentre as de distribuição mais amplas estão, pela ordem: *Chlamydomonas sordida* (85% de ocorrência), *Scenedesmus ecornis* (81%), *Monoraphidium griffithii* (69%), *Trachelomonas volvocinopsis* (62%), *Chromulina elegans* e *Gomphonema parvulum* (56%). Quatro espécies apresentaram distribuição ampla e exclusiva para dadas condições experimentais: *Cryptomonas curvata* com 14 a 28% de contribuição no tratamento NP⁺, dependendo da época do ano, *Nitzschia palea* com 2 a 8% nos tratamentos com adição de fósforo (P⁺, NP⁺), bem como *Staurastrum quadrangulare* (2 a 5%) e *S. tetracerum* (1 a 3%) nos tratamentos sem adição de fósforo (Controle e N⁺).

Primavera (Figura 4) –os 10 táxons mais abundantes na primavera contribuíram com 69 a 85% da densidade total da comunidade, dependendo do tratamento. Duas espécies destacaram-se no controle e nos tratamentos com adição de fósforo (P⁺ e NP⁺), enquanto que no tratamento N⁺ os táxons apresentaram repartição mais uniforme. De modo geral, *Chlamydomonas sordida* foi a espécie mais bem representada nos tratamentos, contribuindo com 27% (controle), 21% (N⁺) e 20% (P⁺) da densidade total. No controle, foi seguida em representatividade pela Xanthophyceae *Xanthonema stichococcoides* (26%), que conjuntamente perfizeram 53% da densidade da comunidade. No tratamento P⁺, *C. sordida* foi suplantada pela Chrysophyceae *Chromulina elegans* (48%), sendo que as duas contribuíram com 68% da comunidade. No tratamento N⁺, as três espécies que se seguiram contribuíram bem menos, ou seja, com apenas 7-9% da densidade total. No tratamento NP⁺ a estrutura específica foi nitidamente distinta das demais condições experimentais, visto que *C. sordida* não ocorreu dentre as principais e apenas duas espécies de Chrytophyceae já

contribuíram com 55% da densidade total da comunidade (*Cryptomonas marssonii*: 29% e *C. curvata*: 26%).

Verão (Figura 5) –os 10 táxons mais abundantes no verão contribuíram com 66-76% da densidade total da comunidade, dependendo do tratamento. No controle, *Chlamydomonas sordida* manteve-se como a mais abundante (25%), seguida por *Leptolyngbya perelegans* (16%) e *Gomphonema parvulum* (13%). No tratamento N⁺, a repartição das espécies foi menos uniforme, de forma que duas espécies, também importantes no controle, foram mais abundantes (*Gomphonema parvulum*: 37% e *Leptolyngbya perelegans*: 15%). Assim como na primavera, *C. sordida* (30%) nitidamente destacou-se no tratamento P⁺ e *Cryptomonas curvata* (28%) figurou dentre as principais espécies na condição NP⁺.

Outono (Figura 6) –os 10 táxons mais abundantes no outono contribuíram com 69-78% da densidade total da comunidade. *Chlamydomonas sordida* ocorreu dentre os 10 mais abundantes em todos os tratamentos, com destaque para o controle cuja contribuição foi de 48%. No tratamento N⁺, foram mantidas as duas espécies mais abundantes do verão (*Gomphonema parvulum*: 34% e *Leptolyngbya perelegans*: 14%). Dentre os tratamentos no outono, o P⁺ foi o que apresentou melhor repartição de táxons, de forma que os três mais abundantes contribuíram, cada um, com apenas 11 a 14%. Ainda, nenhum deles foi observado dentre os principais nas demais épocas do ano neste tratamento. No tratamento NP⁺ três espécies destacaram-se, todas já reportadas dentre as com maiores densidades nas estações anteriores neste tratamento. Foram elas: *Scenedesmus ecornis* (18,3%), *Cryptomonas curvata* (14%) e *C. marssonii* (12%).

Inverno (Figura 7) –os 10 táxons mais abundantes no inverno contribuíram com 63 a 91% da densidade total da comunidade. No controle, três táxons de *Chlamydomonas* contribuíram com 75% da densidade total da comunidade. No tratamento N⁺, as duas primeiras espécies (*Chlamydomonas sordida* e *Gomphonema parvulum*) foram as mesmas encontradas na primavera e atingiram 50% de contribuição. Já, na condição P⁺, a repartição entre espécies foi mais uniforme, de forma que as duas mais abundantes contribuíram com apenas 25% da densidade total. Finalmente, no tratamento NP⁺, destacaram-se quatro espécies, sendo que as duas primeiras (*Cryptomonas curvata* e *Scenedesmus ecornis*), conjuntamente, contribuíram com 41%. Tais espécies também foram expressivas neste tratamento no período da primavera e outono, sendo que a primeira sempre participou da comunidade como 1^a ou 2^a mais abundante ao longo do ano.

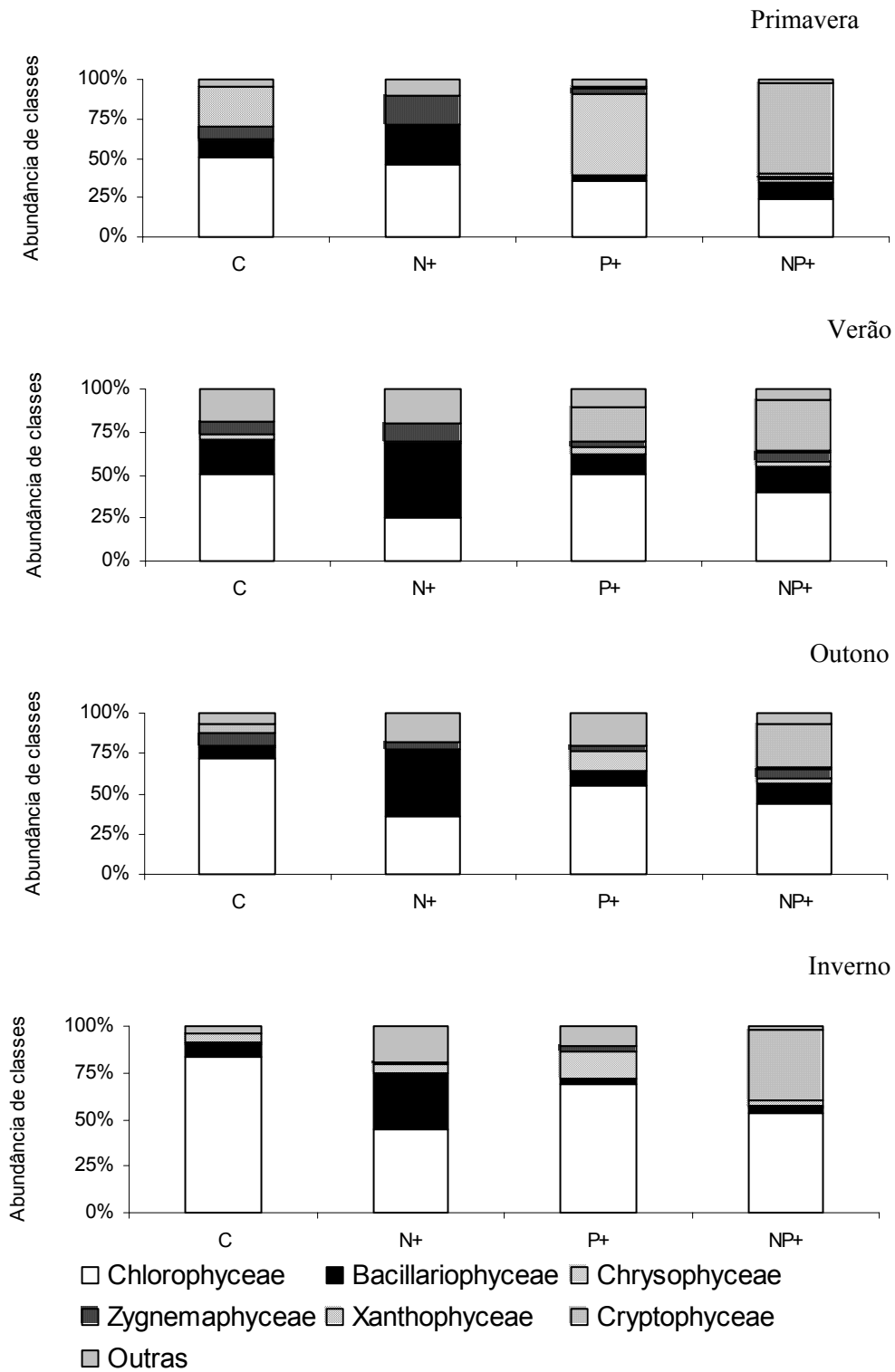


Figura 3. Abundância relativa média (n = 4) das principais classes de algas periféricas em condições experimentais (C: controle, N⁺, P⁺: adição isolada de nitrogênio ou fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes), nas quatro estações do ano.

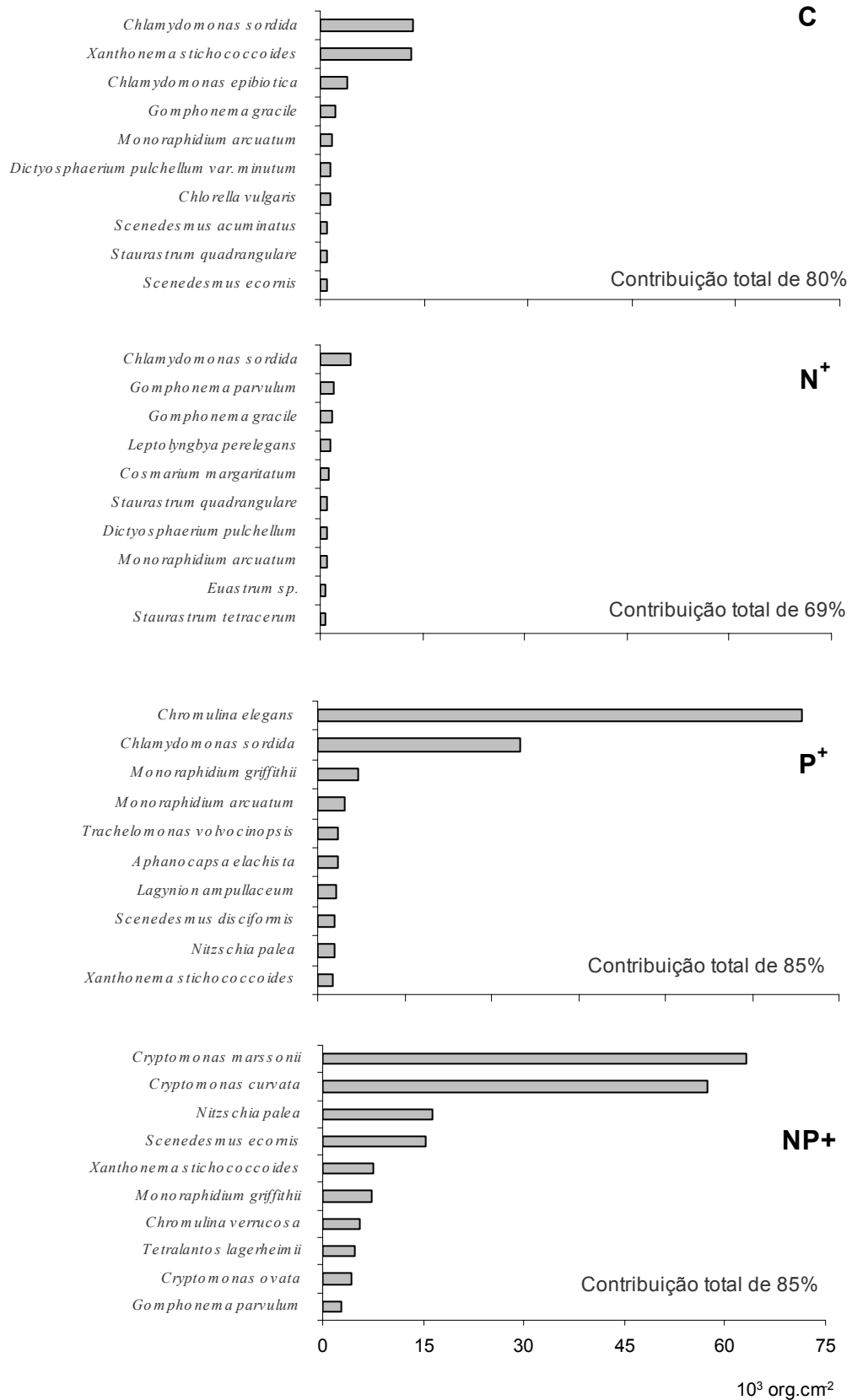


Figura 4. Densidade média para a sucessão das 10 espécies de algas perifíticas de maior abundância em cada condição experimental (C: controle, N⁺, P⁺: adição isolada de nitrogênio ou fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes), durante a primavera no Lago das Ninféias.

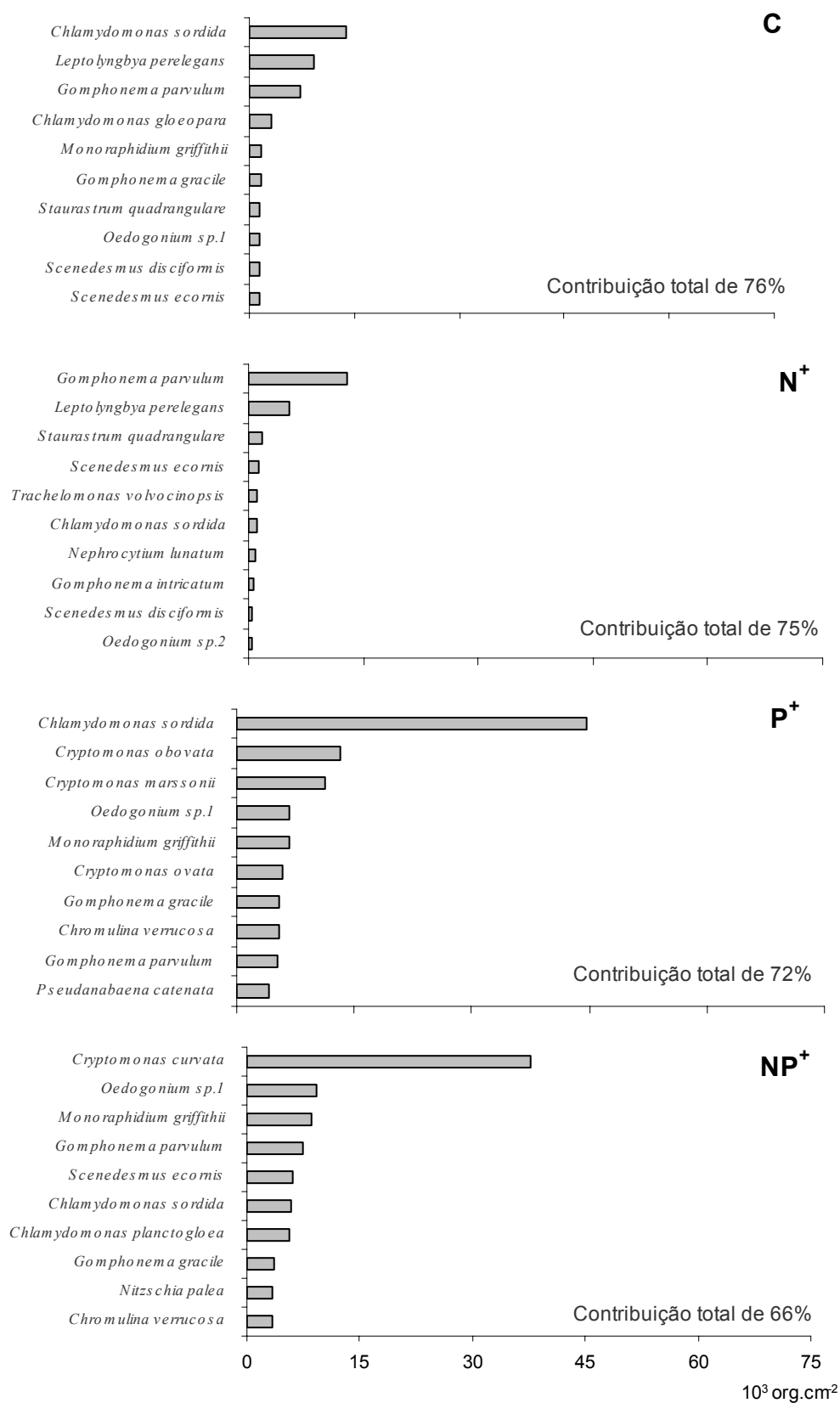


Figura 5. Densidade média para a sucessão das 10 espécies de algas perifíticas de maior abundância em cada condição experimental (C: controle, N⁺, P⁺: adição isolada de nitrogênio ou fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes), durante o verão no Lago das Ninféias.

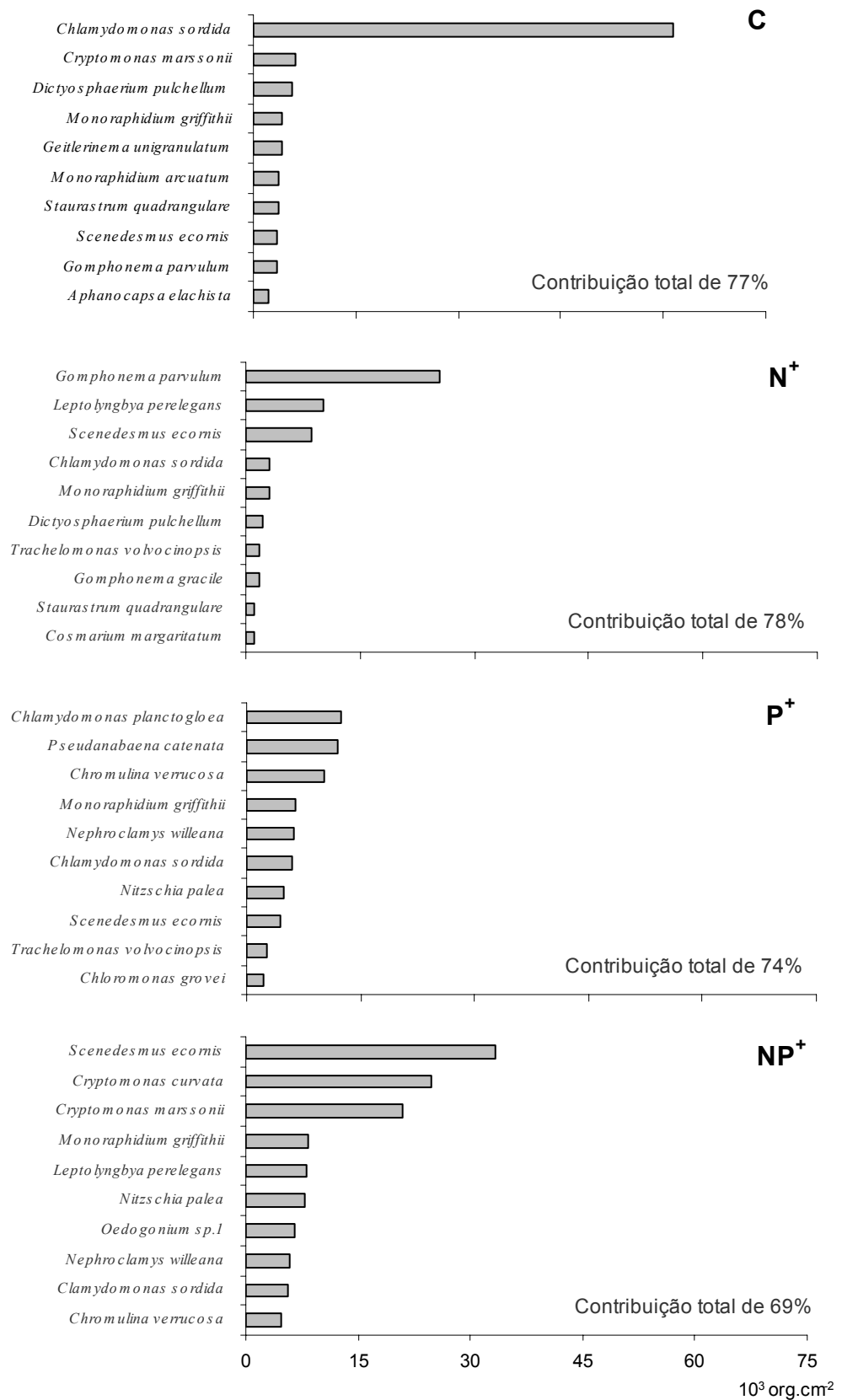


Figura 6. Densidade média para a sucessão das 10 espécies de algas perifíticas de maior abundância em cada condição experimental (C: controle, N⁺, P⁺: adição isolada de nitrogênio ou fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes), durante o outono no Lago das Ninféias.

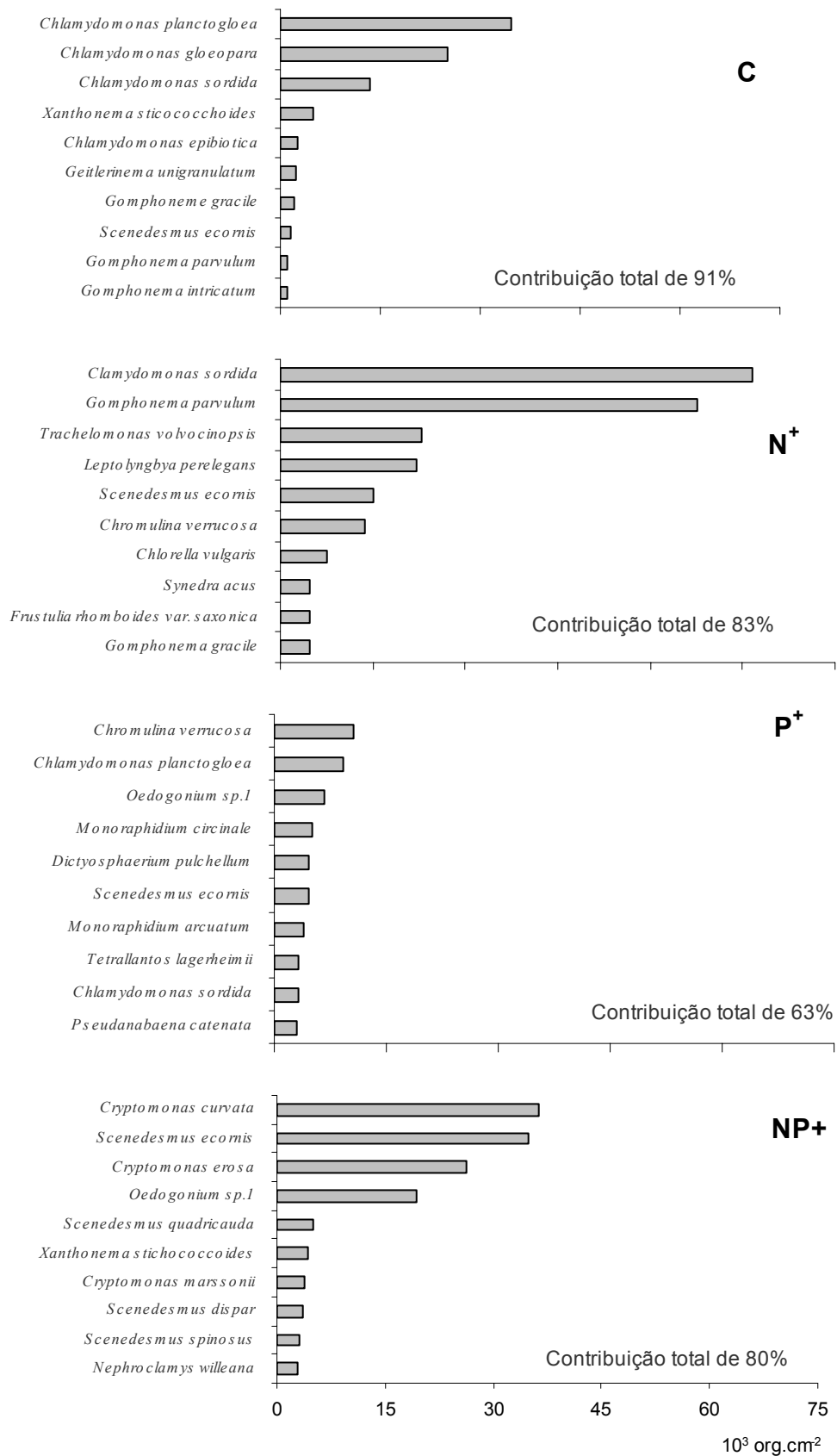


Figura 7. Densidade média para a sucessão das 10 espécies de algas perifíticas de maior abundância em cada condição experimental (C: controle, N⁺, P⁺: adição isolada de nitrogênio ou fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes), durante o inverno no Lago das Ninféias.

Considerando, agora, as mudanças ao longo dos dias sucessionais, foram observados seis táxons dominantes com contribuição entre 51 a 61%, distribuídos preferencialmente na primavera, como seguem: *Chlamydomonas sordida* (primavera e outono, no controle), *C. planctogloea* (inverno, no controle), *Xanthonema stichococoides* (primavera, no controle), *Chromulina elegans* (primavera, no tratamento P⁺), *Cryptomonas curvata* e *C. marssonii* (primavera, no tratamento NP⁺). O total de 60 táxons abundantes foi encontrado, porém, os que participaram com 5% ou mais da densidade total média para o período sucessional restringiram a 25. A soma percentual destes variou de 43% (tratamento NP⁺, outono) a até 80% (controle, inverno).

Primavera (Figura 8) - Exceto a *Chlamydomonas sordida*, na primavera não houve espécie comum entre tratamentos. No controle, ocorreu marcada flutuação das principais espécies, de forma que *C. sordida*, que era dominante no 15º dia (57%), reduziu drasticamente sua contribuição até o 25º dia, retomando maior representatividade no 30º dia. *Xanthonema stichococoides* tornou-se dominante (51%) no 20º dia, passando a dividir sua contribuição no 25º dia com *Chlamydomonas epibiotica*. Nos tratamentos N⁺ e P⁺ não houve substituição de espécies no período, havendo, porém, aumento acentuado da participação de *Leptolyngbya perelegans* e *Gomphonema gracile* na condição N⁺. Observou-se, ainda, marcada redução no número de espécies em condição de adição isolada de fósforo, havendo dominância de *Chromulina elegans* no 30º dia (57%). No tratamento NP⁺ também houve acentuada flutuação de espécies, com dominância de *Cryptomonas marssonii* no 15º dia (54%) e grande abundância até o 20º dia (48%), sendo então suplantada por *Cryptomonas curvata*, que chegou a dominar (51%) no final do período experimental.

Verão (Figura 9) – No verão não ocorreu mudanças abruptas na representação de espécies, exceto no tratamento P⁺, no qual *Cryptomonas obovata* praticamente substituiu *C. marssonii* a partir do 25º dia. *Chlamydomonas sordida* destacou-se durante a sucessão no controle e no tratamento P⁺ e, no tratamento N⁺, houve predomínio de *Gomphonema parvulum*. Na condição de adição combinada (NP⁺), *Cryptomonas curvata* teve destaque durante todo período.

Outono (Figura 10) – No outono ocorreu rápida substituição de *Cryptomonas marssonii*, no 20º dia no controle, por *Chlamydomonas sordida*, que passou a dominar (50-61%). No tratamento N⁺ houve maior contribuição de *Gomphonema parvulum* ao longo de todo período. A comunidade no tratamento P⁺ diferiu dos demais pelo grande número de táxons abundantes, com destaque para *Chlamydomonas planctogloea* e *Pseudanabaena catenata*, no início do período e, depois, para *C. sordida* e *Chromulina verrucosa*. No

tratamento NP⁺, apenas três espécies principais participaram da sucessão. Destacou-se a nítida diferença do número de táxons ($\geq 5\%$ da densidade total média) que participaram da sucessão entre tratamentos.

Inverno (Figura 11) – O período de inverno caracterizou-se pelo grande número de táxons que participaram da sucessão em todos os tratamentos. No controle, destacaram-se duas espécies de *Chlamydomonas* (*C. planctogloea* e *C. gloeopara*). Também no tratamento N⁺, houve maior contribuição de duas espécies (*Chlamydomonas sordida* e *Gomphonema parvulum*). Já no tratamento P⁺, todas espécies, exceto *Dictyosphaerium pulchellum*, apresentaram tendência de aumento de densidade ao longo da sucessão. No tratamento NP⁺, quatro espécies oscilaram em representação, com maior participação de *Scenedesmus ecornis* no início e de *Cryptomonas curvata* ao final do período.

Elevando o nível de corte da densidade média da sucessão para 10%, restaram 8 táxons, cujos perfis temporais, por tratamento, estão nas figuras 12 e 13. Quatro deles: *Scenedesmus ecornis* (Figura 12A), *Cryptomonas marssonii* (Figura 12B), *Cryptomonas curvata* (Figura 12C) e *Chromulina verrucosa* (Figura 12D) apresentaram maior distribuição ao longo do ano nos tratamentos com adição isolada ou combinada de fósforo. *Chromulina verrucosa* destacou-se, exceto na primavera, na condição P⁺, enquanto *Cryptomonas curvata* claramente levou vantagens competitivas sob adição combinada de nutrientes em todas as épocas do ano. Por sua vez, *Gomphonema parvulum* (Figura 13A) teve maior representação com adição isolada de nitrogênio (exceto na primavera). Os demais não apresentaram preferências quanto ao tipo de tratamento, variando suas melhores representações em função da época do ano: *Chlamydomonas planctogloea* destacou-se no inverno (controle, Figura 13B), *C. sordida* (Figura 13C) no outono (controle) e na primavera e no verão (P⁺) e *Leptolyngbya perelegans* (Figura 13D), no outono (NP⁺) e verão (controle).

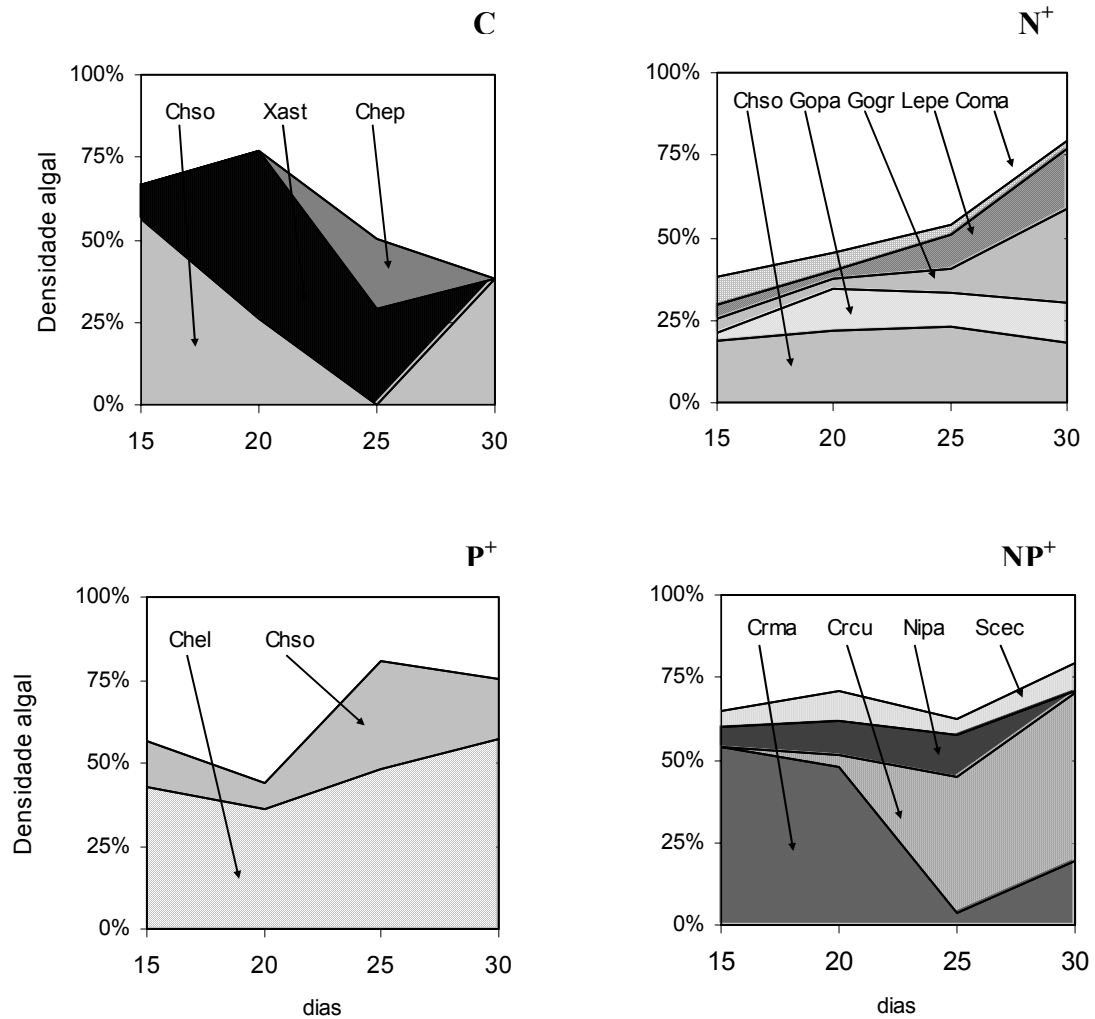


Figura 8. Abundância relativa da densidade de algas perifíticas mais abundantes (densidade total média para a sucessão $\geq 5\%$) na primavera, no controle (C) e tratamentos enriquecidos (N⁺, P⁺, NP⁺). Legenda: **Chel:** *Chromulina elegans*, **Chso:** *Chlamydomonas sordida*, **Chep:** *Chlamydomonas epibiotica*, **Coma:** *Cosmarium margaritatum*, **Crcu:** *Cryptomonas curvata*, **Crma:** *Cryptomonas marssonii*, **Gogr:** *Gomphonema gracile*, **Gopa:** *Gomphonema parvulum*, **Lepe:** *Leptolyngbya perelegans*, **Nipa:** *Nitzschia palea*, **Scec:** *Scenedesmus ecornis*, **Xast:** *Xanthonema stichococcoides*.

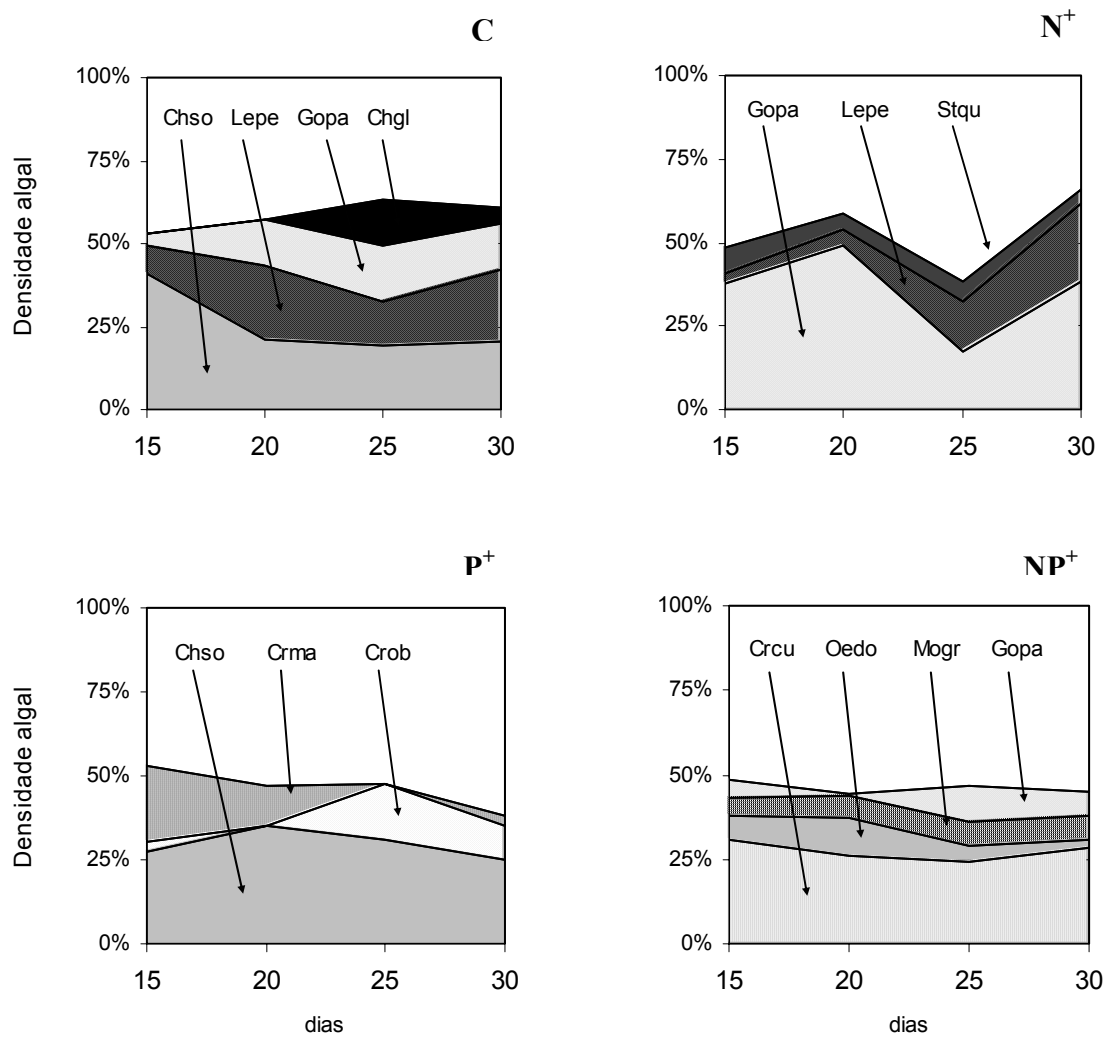


Figura 9. Abundância relativa da densidade de algas perifíticas mais abundantes (densidade total média para a sucessão $\geq 5\%$) no verão, no controle (C) e tratamentos enriquecidos (N⁺, P⁺, NP⁺).
 Legenda: **Chgl:** *Chlamydomonas gloeopara*, **Chso:** *Chlamydomonas sordida*, **Crcu:** *Cryptomonas curvata*, **Crma:** *Cryptomonas marssonii*, **Crob:** *Cryptomonas obovata*, **Gopa:** *Gomphonema parvulum*, **Lepe:** *Leptolyngbya perelegans*, **Mogr:** *Monoraphidium griffithii*, **Oedo:** *Oedogonium* sp.1, **Stqu:** *Staurastrum quadrangulare*.

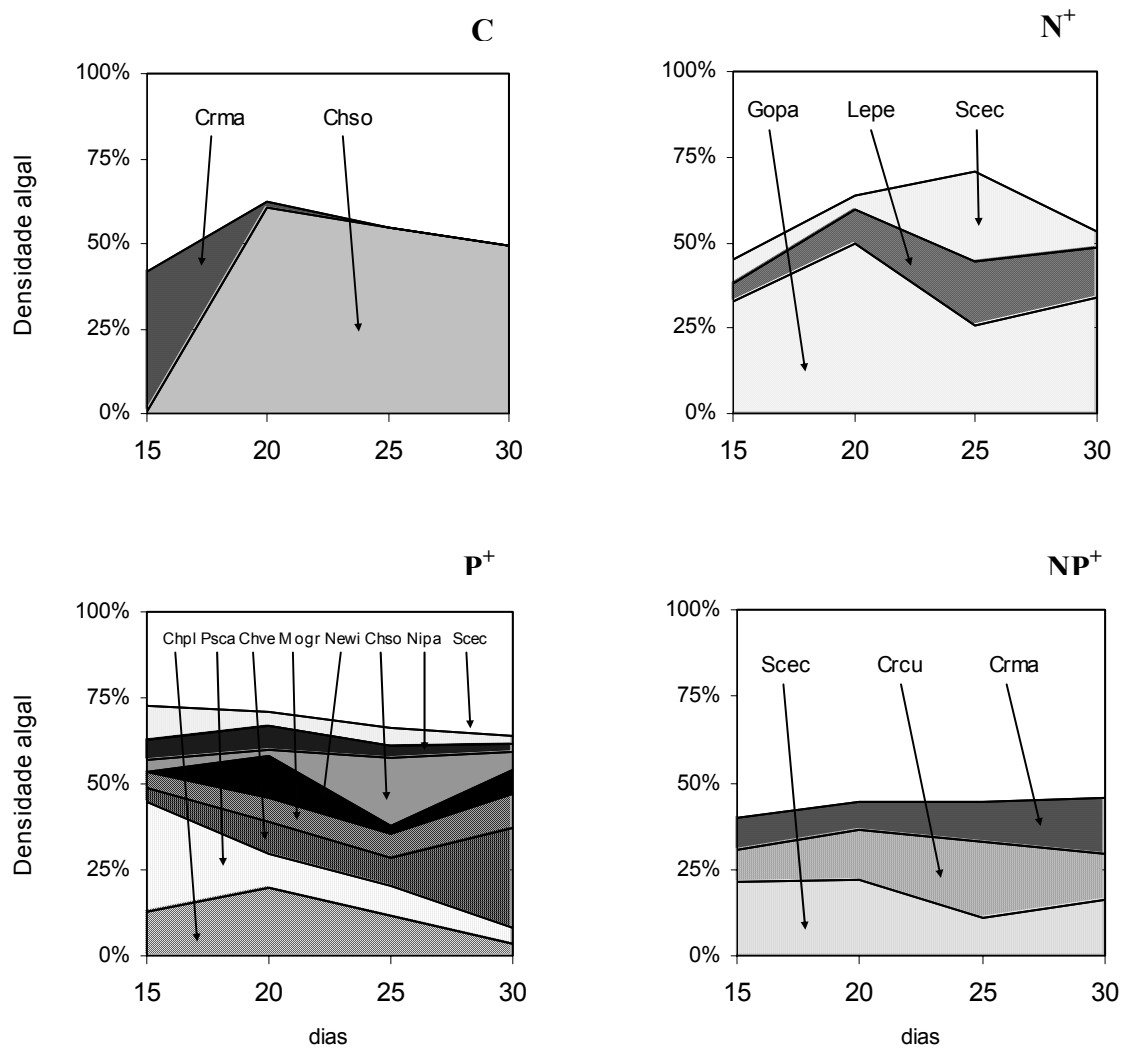


Figura 10. Abundância relativa da densidade de algas perifíticas mais abundantes (densidade total média para a sucessão $\geq 5\%$) no outono, no controle (C) e tratamentos enriquecidos (N⁺, P⁺, NP⁺).
 Legenda: **Chso:** *Chlamydomonas sordida*, **Chve:** *Chromulina verrucosa*, **Chpl:** *Chlamydomonas planctogloea*, **Crcu:** *Cryptomonas curvata*, **Crma:** *Cryptomonas marssonii*, **Gopa:** *Gomphonema parvulum*, **Lepe:** *Leptolyngbya perelegans*, **Mogr:** *Monoraphidium griffithii*, **Newi:** *Nephroclamys willeana*, **Nipa:** *Nitzschia palea*, **Psca:** *Pseudanabaena catenata*, **Scec:** *Scenedesmus ecornis*.

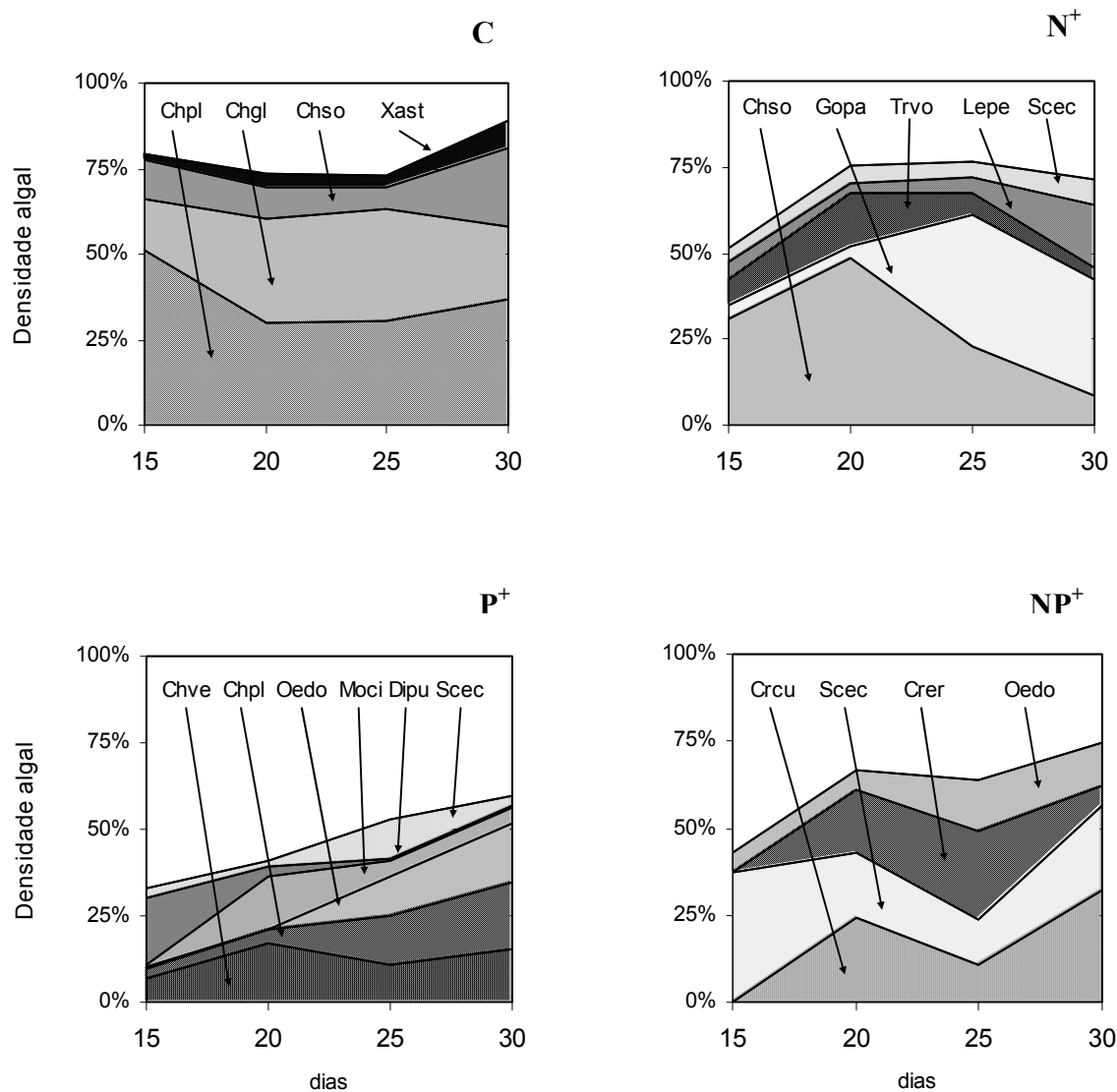


Figura 11. Abundância relativa da densidade de algas perifíticas mais abundantes (densidade total média para a sucessão $\geq 5\%$) no inverno, no controle (C) e tratamentos enriquecidos (N⁺, P⁺, NP⁺). Legenda: **Chgl:** *Chlamydomonas gloeopara*, **Chso:** *Chlamydomonas sordida*, **Chve:** *Chromulina verrucosa*, **Chpl:** *Chlamydomonas planctogloea*, **Crcu:** *Cryptomonas curvata*, **Crer:** *Cryptomonas erosa*, **Dipu:** *Dictyosphaerium pulchellum*, **Gopa:** *Gomphonema parvulum*, **Lepe:** *Leptolyngbya perelegans*, **Moci:** *Monoraphidium circinale*, **Oedo:** *Oedogonium* sp.1, **Scec:** *Scenedesmus ecornis*, **Trvo:** *Trachelomonas volvocinopsis*, **Xast:** *Xanthonema stichococcoides*.

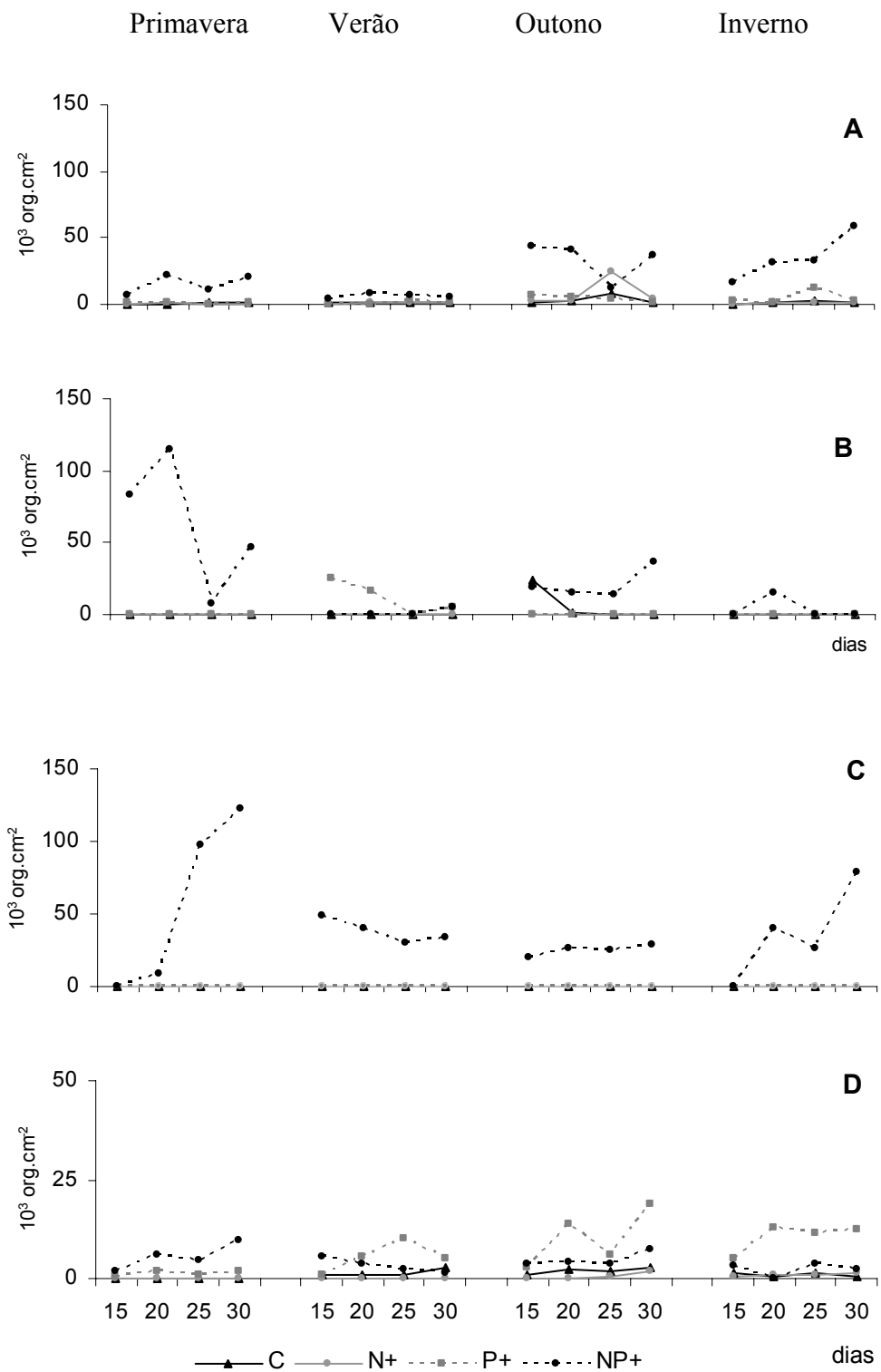


Figura 12. Variação sucessional das espécies que contribuíram com densidades $\geq 10\%$ da comunidade em pelo menos dois tratamentos ou duas épocas do ano. C: controle, N⁺: adição isolada de nitrogênio, P⁺: adição de fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes. A: *Scenedesmus ecornis*; B: *Cryptomonas marssonii*; C: *Cryptomonas curvata*; D: *Chromulina verrucosa*. Escalas diferentes.

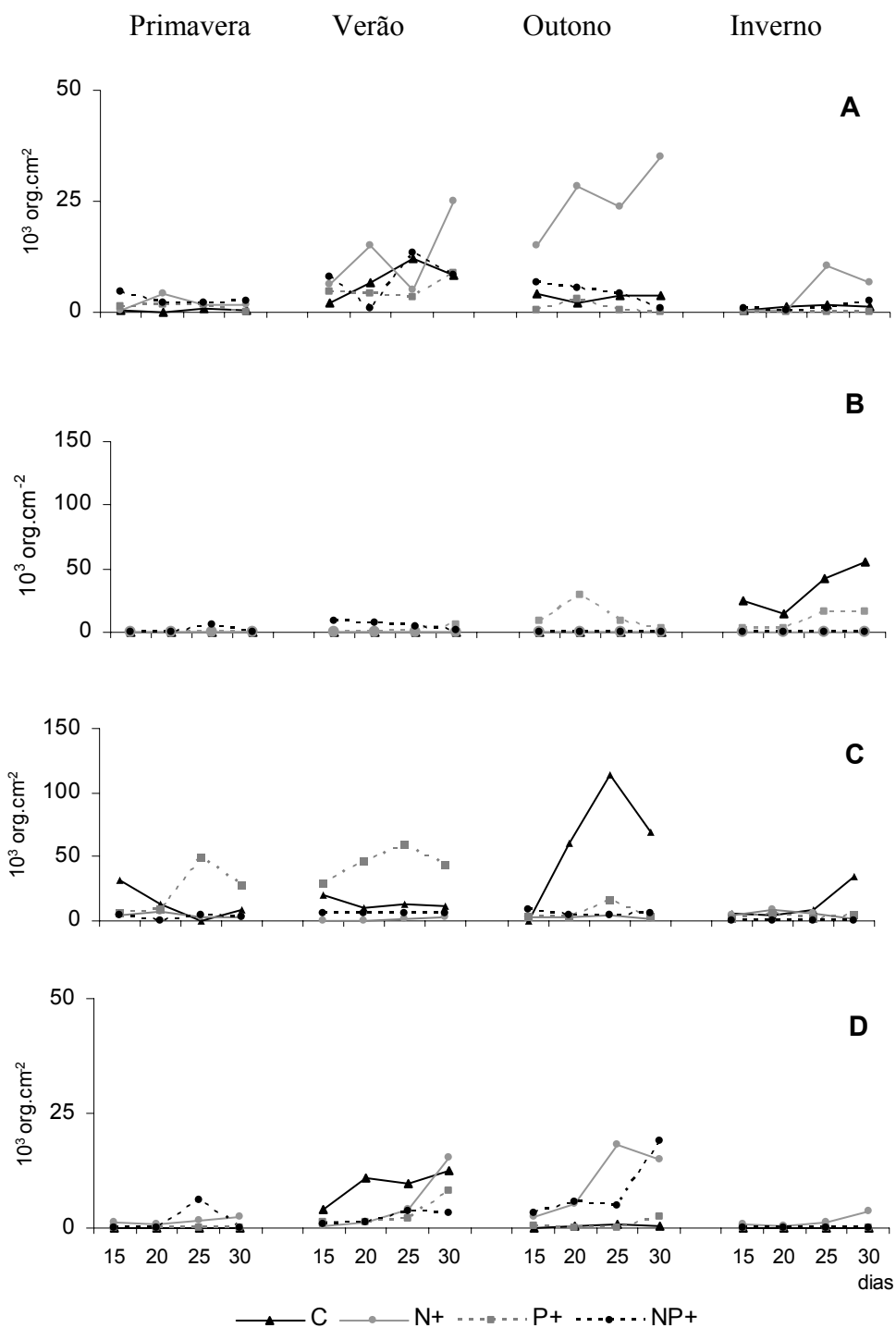


Figura 13. Variação sucessional das espécies que contribuíram com densidades $\geq 10\%$ da comunidade em pelo menos dois tratamentos ou duas épocas do ano. C: controle, N⁺: adição isolada de nitrogênio, P⁺: adição de fósforo e NP⁺: adição combinada de nutrientes. A: *Gomphonema parvulum*, B: *Chlamydomonas planctogloea*, C: *Chlamydomonas sordida*, D: *Leptolyngbya perelegans*. Escalas diferentes.

ANÁLISE CONJUNTA DAS ESPÉCIES

A análise de componentes principais levou em consideração tipo de tratamento, época do ano e dias sucessionais e foi baseada na densidade de 25 táxons, que apresentaram abundância igual ou superior a 5% em cada unidade amostral. A análise resumiu 38% da variabilidade dos dados em seus dois primeiros eixos (Figura 14, Tabela 2).

No eixo 1 (24%), as observações relativas aos tratamentos com adição de fósforo (P^+ e NP^+) ordenaram-se à direita do eixo e se associaram à maior contribuição de oito espécies: *Oedogonium* sp.1 ($r = 0,8$), *Monoraphidium circinale* ($r = 0,8$), *Chromulina verrucosa* ($r = 0,7$), *Nitzschia palea* ($r = 0,7$) e *Cryptomonas curvata* ($r = 0,7$), *Scenedesmus ecornis* ($r = 0,7$) e *Monoraphidium griffithii* ($r = 0,6$) e *Cryptomonas marssonii* ($r = 0,6$). Do lado esquerdo do eixo, posicionaram-se as unidades amostrais sem adição de fósforo (controle e N^+), associadas às maiores densidades das desmídias *Cosmarium margaritatum* e *Staurastrum quadrangulare* ($r = -0,4$).

No eixo 2 (14%), as unidades amostrais distribuíram-se principalmente em função da época do ano, de forma que no lado positivo localizaram-se as relativas à primavera e ao inverno e, no negativo, ao verão e outono. Duas espécies associaram-se aos períodos de primavera e inverno (*Chlamydomonas epibiotica* e *Xanthonema stichococcoides*, $r = 0,6$), enquanto que *Leptolyngbya perelegans* ($r = 0,8$) e *Gomphonema parvulum* ($r = 0,6$) associaram-se aos períodos de outono e verão, independentemente do tipo de tratamento.

Em síntese, as unidades amostrais ordenaram-se primordialmente em função do enriquecimento ou não por fósforo e, em seguida, pelas épocas do ano, separadas pelos períodos outono/verão e primavera/inverno. Os dias sucessionais não pesaram na ordenação no primeiro plano fatorial.

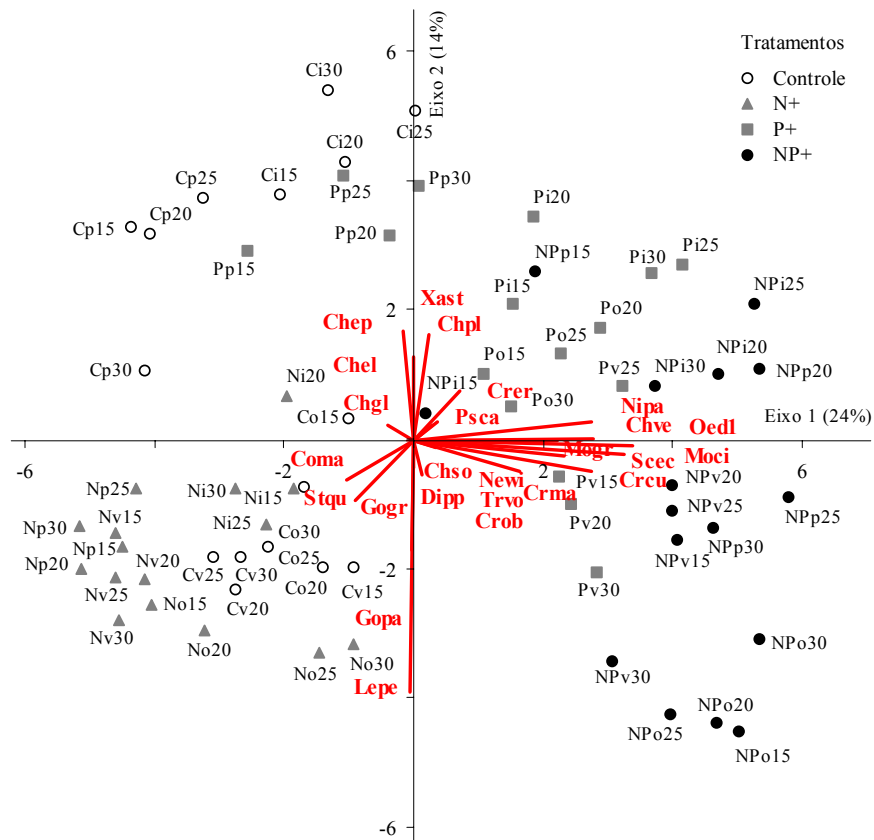


Figura 14. Ordenação pela ACP das unidades amostrais das condições experimentais de enriquecimento (C: controle, N: adição isolada de N, P: adição isolada de P, NP: adição combinada de N e P) nas quatro estações do ano (p: primavera, v: verão, o: outono, i: inverno), ao longo do período experimental (números: dias de sucessão). Abreviações das espécies conforme Tabela 2.

Tabela 2. Correlação das espécies de algas com os eixos 1 e 2. Em negrito, correlações $\geq 0,5$.

Espécies de Algas / abreviação		Componentes Principais	
		1	2
<i>Chlamydomonas epibiotica</i>	Chep	-0,177	0,565
<i>Chlamydomonas gloeopara</i>	Chgl	-0,278	0,223
<i>Chlamydomonas planctogloea</i>	Chpl	0,368	0,384
<i>Chlamydomonas sórdida</i>	Chso	-0,009	-0,056
<i>Chromulina elegans</i>	Chel	-0,074	0,493
<i>Chromulina verrucosa</i>	Chve	0,719	0,085
<i>Cosmarium margaritatum</i>	Coma	-0,440	-0,342
<i>Cryptomonas curvata</i>	Crcu	0,715	-0,295
<i>Cryptomonas erosa</i>	Crer	0,267	0,235
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Crma	0,551	-0,303
<i>Cryptomonas obovata</i>	Crob	0,256	-0,153
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	Dipp	0,160	-0,315
<i>Gomphonema gracile</i>	Gogr	-0,029	-0,285
<i>Gomphonema parvulum</i>	Gopa	-0,101	-0,562
<i>Leptolyngbya perelegans</i>	Lepe	-0,119	-0,850
<i>Monoraphidium circinale</i>	Moci	0,777	-0,195
<i>Monoraphidium griffithii</i>	Mogr	0,643	-0,066
<i>Nephroclamys willeana</i>	Newi	0,464	-0,013
<i>Nitzschia palea</i>	Nipa	0,716	0,240
<i>Oedogonium</i> sp.1	Oed1	0,795	-0,130
<i>Pseudanabaena catenata</i>	Psca	0,236	0,206
<i>Scenedesmus ecornis</i>	Scec	0,656	-0,224
<i>Staurastrum quadrangulare</i>	Stqu	-0,411	-0,415
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Trvo	0,454	-0,040
<i>Xanthonema stichococcoides</i>	Xast	0,225	0,552
Varição Explicada		24%	14%

ANÁLISE INTEGRADA DOS FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS

A análise de correspondência canônica (ACC) foi feita a partir de 5 variáveis ambientais e 25 espécies de algas perifíticas, cujas densidades foram $\geq 5\%$ em cada unidade amostral (Figura 15, Tabela 3-5). Os autovalores do eixo 1 ($\lambda = 0,089$) e 2 ($\lambda = 0,042$) explicaram conjuntamente 15% da variabilidade dos dados. As correlações espécie-ambiente foram elevadas e significativas para o eixo 1 ($r = 0,8$) e 2 ($r = 0,8$). Pelo teste de Monte Carlo a ordenação foi estatisticamente significativa nos eixos 1 e 2 ($p = 0,01$) (Tabela 3).

No eixo 1 ocorreu a separação das unidades amostrais dos tratamentos com adição isolada de fósforo (P^+), mas também das do controle na primavera, situadas à direita do eixo. Do lado esquerdo, posicionaram-se as observações do tratamento com adição isolada de nitrogênio (N^+), principalmente, e parte das do tratamento NP^+ . Tanto os coeficientes canônicos quanto as correlações “intra-set”, as quais consideram a relação espécie-ambiente, indicaram que o fósforo total e o nitrato foram as variáveis ambientais que mais pesaram na

ordenação do eixo 1 (Tabela 3). As espécies que mais se correlacionaram à maior disponibilidade de fósforo e menor de nitrogênio foram: *Chromulina elegans* (**Chel**: $r = 0,5$), *Nitzschia palea* (**Nipa**: $r = 0,4$), *Chlamydomonas epibiotica* (**Chep**: $r = 0,4$), e *Pseudanabaena catenata* (**Psca**: $r = 0,4$). E as espécies que se associaram com a maior disponibilidade de nitrogênio e menor de fósforo foram: *Leptolyngbya perelegans* (**Lepe**: $r = -0,7$), *Gomphonema parvulum* (**Gopa**: $r = -0,5$), *Cosmarium margaritatum* (**Coma**: $r = -0,4$) e *Staurastrum quadrangulare* (**Stqu**: $r = -0,4$) (Tabela 5).

No segundo eixo, a temperatura foi a variável de grande peso na ordenação, tanto pelo coeficiente canônico quanto pela correlação “intra-set”, seguida, com menor peso, pelo fósforo total (Tabela 4). Este eixo separou as observações das épocas do ano de maiores temperaturas da água (primavera e verão), situadas do lado positivo do eixo, das do período de inverno de todos os tratamentos, ordenados do lado negativo (Figura 15). As espécies mais associadas ($r = 0,4$) ao período quente foram as desmídias *Cosmarium margaritatum* (**Coma**) e *Staurastrum quadrangulare* (**Stqu**) e, ao período mais frio, apenas *Chlamydomonas gloeopara* (**Chgl**: $-0,4$).

Pode-se considerar, assim, que o eixo 1 representou as condições experimentais de enriquecimento, enquanto que o eixo 2, a escala temporal de variação.

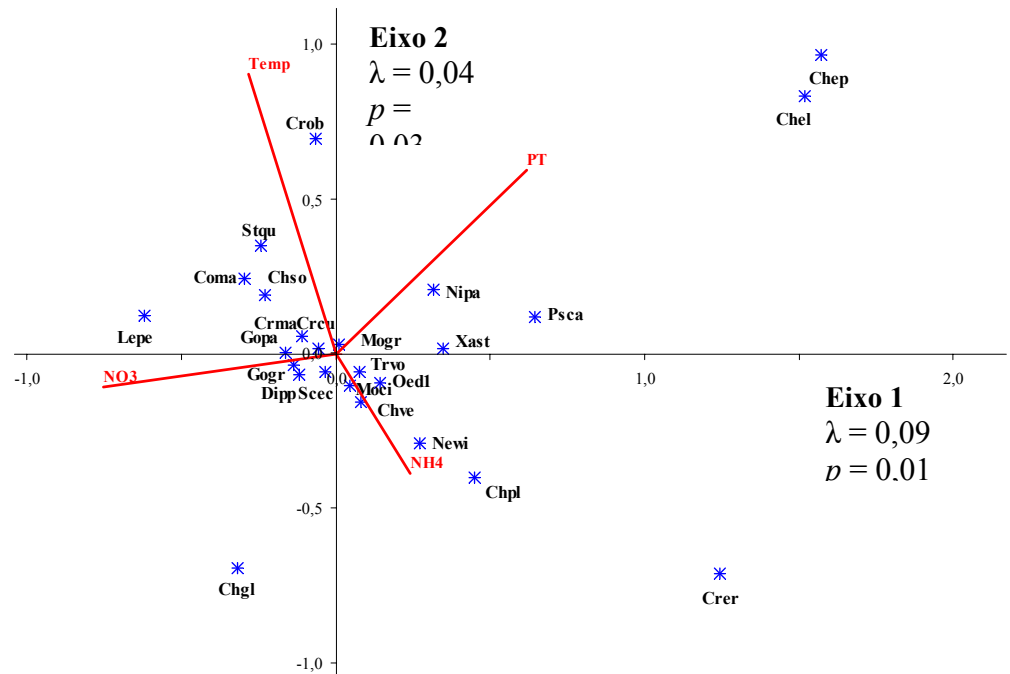
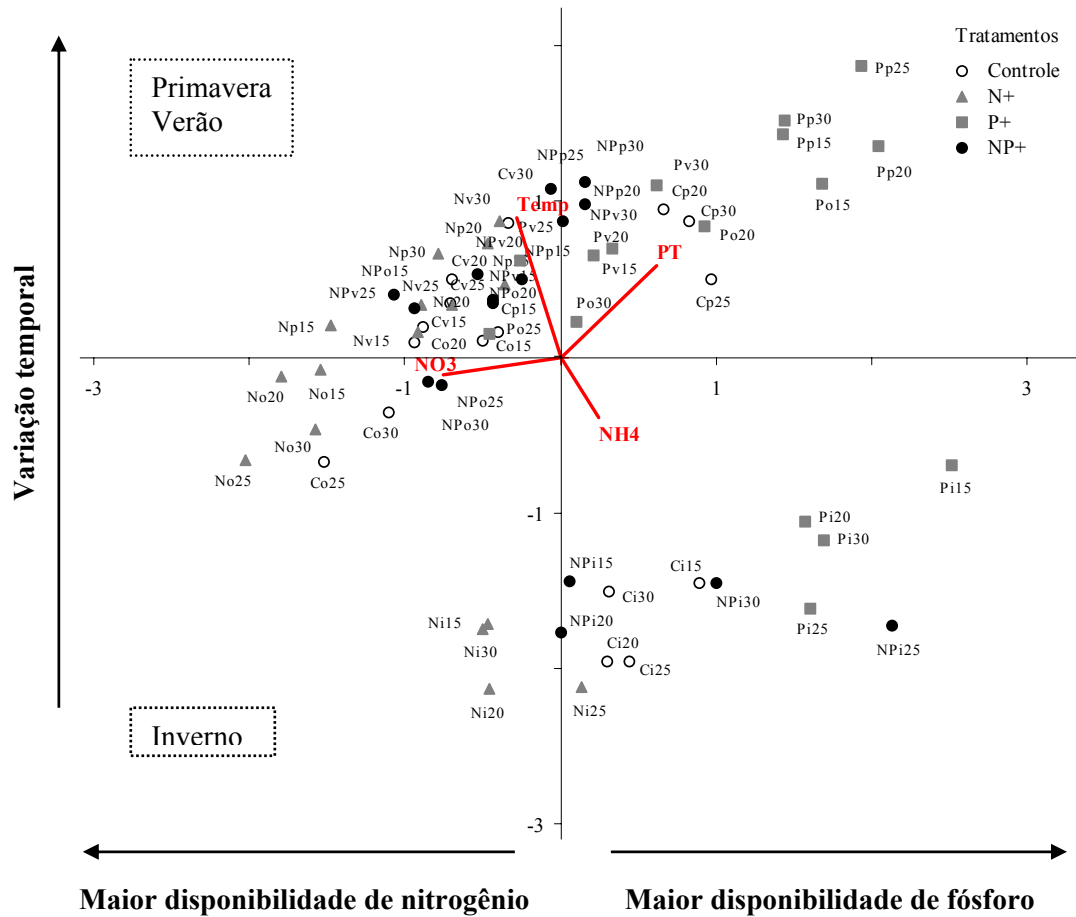


Figura 15. Ordenação pela ACC das unidades amostrais relativas aos tratamentos (C: controle, P e N: adição isolada de fósforo ou nitrogênio, NP: adição conjunta), épocas do ano (p: primavera, v: verão, o: outono, i: inverno) e dias sucessionais (15, 20, 25, 30), gerada a partir de cinco variáveis abióticas (abreviação na tabela 3) e densidade de 25 espécies de algas perifíticas (abreviação na tabela 4). Gráfico superior: ordenação das unidades amostrais, gráfico inferior: ordenação das espécies. Nível de corte do vetor: 0,2.

Tabela 3. Síntese dos resultados da ACC realizada a partir dos dados abióticos e bióticos.

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores (λ)	0,089	0,042
Porcentagem de variância explicada	10,2	4,9
Porcentagem de variância acumulada	10,2	15,1
Correlação de Pearson (espécie-ambiente)	0,807	0,778
Kendall Spp-Envt	0,574	0,515
Teste Monte Carlo (p)	0,01	0,01
Autovalores	0,01	0,03

Correlações espécies-ambiente

Tabela 4. Correlações de Pearson & Kendall, coeficientes canônicos e correlações “intra-set” das variáveis ambientais com os dois primeiros eixos da ACC.

Variável ambiental	Correlação com os eixos		Coeficiente Canônico		Correlações “intra-set”	
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
Temp	-0,239	0,718	-0,396	0,866	-0,296	0,924
CO ₂	-0,194	0,020	-0,196	0,140	-0,240	0,025
PT	0,522	0,474	0,645	0,348	0,647	0,609
NO ₃	-0,637	-0,084	-0,525	-,0080	-0,790	-0,108
NH ₄	0,204	-0,306	0,201	0,006	0,253	-0,393

Tabela 5. Correlações das espécies de algas com os eixos 1 e 2. Em negrito, correlações $\geq 0,35$.

Espécies de Algas / abreviação		Correlação de Pearson e Kendall	
		1	2
<i>Chlamydomonas epibiotica</i>	Chep	0,369	0,228
<i>Chlamydomonas gloeopara</i>	Chgl	-0,158	-0,356
<i>Chlamydomonas planctogloea</i>	Chpl	0,320	-0,252
<i>Chlamydomonas sordida</i>	Chso	-0,140	0,178
<i>Chromulina elegans</i>	Chel	0,523	0,289
<i>Chromulina verrucosa</i>	Chve	0,283	-0,121
<i>Cosmarium margaritatum</i>	Coma	-0,374	0,366
<i>Cryptomonas curvata</i>	Crcu	-0,044	0,041
<i>Cryptomonas erosa</i>	Crer	0,344	-0,186
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Crma	-0,127	0,218
<i>Cryptomonas obovata</i>	Crob	-0,010	0,178
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	Dipp	-0,150	-0,068
<i>Gomphonema gracile</i>	Gogr	-0,307	-0,039
<i>Gomphonema parvulum</i>	Gopa	-0,508	0,094
<i>Leptolyngbya perelegans</i>	Lepe	-0,698	0,174
<i>Monoraphidium circinale</i>	Moci	0,090	-0,112
<i>Monoraphidium griffithii</i>	Mogr	0,093	0,152
<i>Nephroclamys willeana</i>	Newi	0,211	-0,189
<i>Nitzschia palea</i>	Nipa	0,377	0,255
<i>Oedogonium</i> sp1	Oed1	0,107	-0,115
<i>Pseudanabaena catenata</i>	Psca	0,352	0,076
<i>Scenedesmus ecornis</i>	Scec	-0,064	-0,190
<i>Staurastrum quadrangulare</i>	Stqu	-0,352	0,371
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Trvo	0,258	-0,091
<i>Xanthonema stichococcoides</i>	Xast	0,277	0,030

ÍNDICES BIOLÓGICOS

Os índices biológicos avaliados não apresentaram mesma tendência de variação, ou seja, foram influenciados pelo tratamento e/ou estação do ano, bem como pelos dias sucessionais (Figura 16).

De modo geral, a riqueza (S) foi mais baixa na primavera e no inverno, independentemente do tratamento. No verão e outono foram observadas as menores e maiores influências das condições experimentais de enriquecimento, respectivamente. E apenas no inverno houve tendência de aumento de riqueza mediante adição isolada de fósforo.

A equitatividade (E) apresentou pouca variação, sofrendo maior influência do tipo de tratamento do que da época do ano. Em relação à dominância de Simpson (D), a variabilidade foi mais marcada e dependente tanto do tratamento quanto da época do ano. Assim, foi maior no controle nos períodos de outono e inverno, sendo mais similar no verão.

O índice de diversidade de Shannon (H') seguiu tendências opostas ao do índice de dominância, apresentando valores superiores principalmente no verão. Exceto à primavera, sofreu aumento em condição de enriquecimento por fósforo isolado (inverno e outono) ou combinado (verão e outono).

Sumarizando, na **primavera** a comunidade apresentou riqueza mais baixa e similar entre tratamentos, maior uniformidade e menor dominância com adição isolada de nitrogênio e, portanto, maior diversidade nesta condição experimental. No **verão**, foi observada a menor influência dos tratamentos, de forma que em todos a riqueza foi mais elevada, a dominância menor e, por conseguinte, a diversidade maior. O **outono** foi a estação em que as diferenças entre tratamentos foram mais acentuadas. Nesta época, a riqueza foi mais elevada, assim como no verão, e a diversidade aumentou em condição de adição combinada de nutrientes, por conta do aumento da equitatividade. Finalmente, **no inverno**, a riqueza foi mais baixa e tanto a equitatividade quanto a diversidade aumentaram com a adição isolada de fósforo.

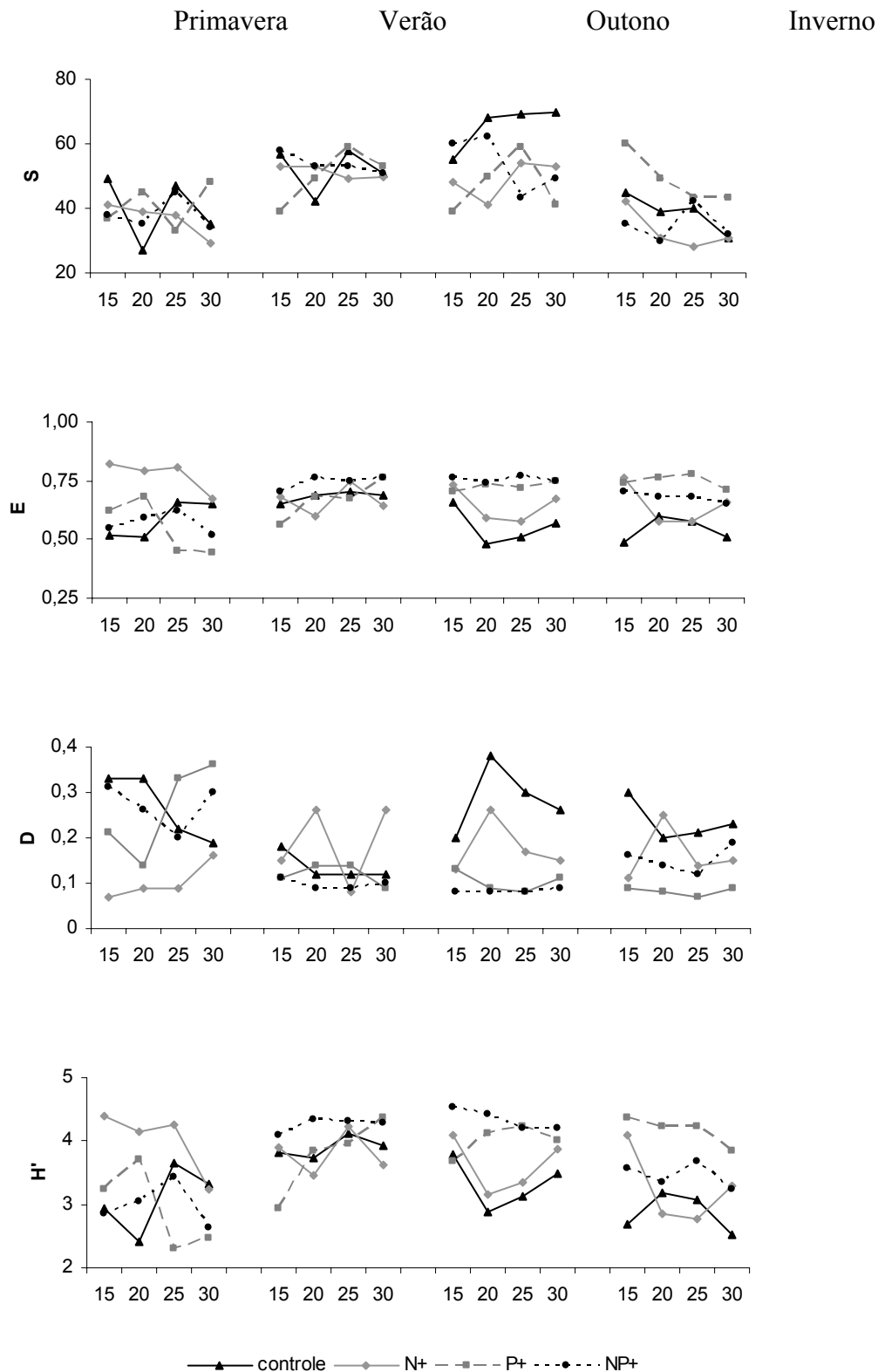


Figura 16. Variação temporal da riqueza (S) e dos índices de equitabilidade (E), dominância de Simpson (D) e de diversidade de Shannon (H' , bits.ind⁻¹) da comunidade de algas periféricas em condições experimentais de enriquecimento (C: controle, N+ e P+: adição isolada de nitrogênio e fósforo, NP+: adição combinada) nas quatro estações do ano (primavera, verão, outono e inverno).

DISCUSSÃO

A densidade das algas perifíticas sofreu maior influência do tipo de tratamento do que da época do ano, uma vez que, após 30 dias de colonização, foi consistentemente maior nos tratamentos com enriquecimento de fósforo isolado (verão) ou combinado (demais épocas do ano). Tais resultados confirmam a limitação do perifíton pelo fósforo ao longo do ano no Lago das Ninféias, o qual atuou como nutriente limitante único, primário, ou, ainda, estando co-limitado pelo nitrogênio (Capítulo 1). Outros trabalhos de enriquecimento realizados em sistemas lênticos no Brasil também apontam o aumento de densidade perifítica mediante adição isolada ou conjunta de fósforo (SUZUKI 1991, FERRAGUT 2004).

As Chlorophyceae foram claramente o grupo mais bem representado na quase totalidade das condições experimentais e época do ano. Nas represas da área de estudo (PEFI), esta classe de algas foi predominante no perifíton de sistema oligotrófico (VERCELLINO & BICUDO 2005), dobrando sua representatividade nesta represa mediante adição de fósforo (FERRAGUT 2004). Apesar de relatos sobre o favorecimento das clorofíceas perifíticas em elevados níveis nutricionais (BIGGS 1996, SLÁDECKOVÁ 1998) ou apenas de fósforo (HAVENS *et al.* 1996), no presente não houve mesma tendência de alteração de abundância conforme o tipo de tratamento. Muito provavelmente o estado mesotrófico do Lago das Ninféias (BICUDO, D. *et al.* 2002) tenha propiciado a grande participação desta classe de algas. Em experimento de oligotrofização em represa eutrófica (PEFI), foi observada a substituição quantitativa, no perifíton, de cianobactérias (meio eutrófico) por clorofíceas sob condição de mesotrofia (BARCELOS 2003). Vale considerar, ainda, que as clorofíceas abrangem vários grupos de algas, sendo muito comumente as principais contribuintes em termos numéricos e de biomassa em ambientes oligotróficos (HAPPY-WOOD 1988).

Dentre todas as classes, apenas as Cryptophyceae apresentaram resposta consistente em uma dada condição experimental, sendo bem expressiva nos tratamentos com adição combinada de fósforo e nitrogênio em todo período experimental. São escassas as informações ecológicas sobre as estratégias de sobrevivência deste grupo de algas (WETZEL 2001). No fitoplâncton apresentam crescimento rápido, a dispersão é eficiente, requerem grande quantidade de energia para reprodução e são consideradas espécies oportunistas (KLAIVENESS 1988). Em geral, utilizam nichos temporários abertos pelo declínio de outras espécies, em decorrência, por exemplo, de perturbações. Em termos nutricionais são consideradas euritróficas, ou seja, toleram amplo espectro de condições tróficas (Reynolds 1976, apud RAMIREZ 1996). Entretanto, os resultados para o Lago das Ninféias corroboraram estudo comparativo do perifíton realizado em represa oligotrófica e eutrófica no PEFI, no qual

foi demonstrada a associação desta classe com o ambiente eutrófico e, mais especificamente, com a maior disponibilidade de fósforo ($r = 0,9$) e amônio ($r = 0,6$) (VERCELLINO 2001).

Em nível taxonômico mais fino, a comunidade perifítica forneceu resposta marcada, principalmente frente às condições experimentais.

Dentre as espécies descritoras da comunidade, destacaram-se seis dominantes, pelo menos em parte da sucessão, e 19 mais abundantes.

O gênero *Chlamydomonas* (Volvocales), representado por quatro espécies descritoras, duas das quais dominantes, participou de forma expressiva na estrutura da comunidade, em todas as épocas do ano e em praticamente todos os tratamentos. Na comunidade fitoplanctônica do Lago das Ninféias, este grupo também teve grande expressão (FONSECA 2005). *Chlamydomonas sordida* foi a de distribuição mais ampla, tendo dominado no controle (primavera e outono) ou quase dominado no tratamento N⁺ (inverno). *Chlamydomonas planctogloea* também dominou no controle durante o inverno. Esta espécie foi reportada como a principal descritora do perifíton (VERCELLINO & BICUDO 2005) e do fitoplâncton (LOPES *et al.* 2005) em represa oligotrófica no PEFI. LEMBI (1980) menciona que algumas espécies deste gênero são características de águas ácidas e oligotróficas, como no ambiente em questão. Todavia, no perifíton de represa eutrófica (PEFI), *C. planctogloea* também teve boa representação (9-23%) (VERCELLINO 2001). Ainda, tanto *C. planctogloea* quanto *C. sordida* foram as principais descritoras do perifíton em represa oligotrófica (PEFI), porém em condição de adição combinada de fósforo e nitrogênio (FERRAGUT 2004). Conforme este autor, apesar destas espécies também serem abundantes na condição controle, as mesmas foram consideradas, com base na análise de correspondência canônica, descritoras ambientais da condição de enriquecimento combinado neste sistema. Tal resultado discorda de VERCELLINO & BICUDO (2005), para os quais nenhuma espécie de *Chlamydomonas* foi descritora ambiental. Para o perifíton do Lago das Ninféias, *C. planctogloea* e *C. sordida* apenas foram descritoras da comunidade, enquanto que *C. epibiotica* e *C. gloeopara* foram descritoras ambientais, associando-se, principalmente à condição de adição de fósforo (na primavera) e ao período de inverno (condição de adição de nitrogênio), respectivamente. Conforme FERRAGUT (2004), possivelmente o sucesso destas espécies esteja em seu pequeno tamanho, pois levam vantagem seletiva tanto em condições oligotróficas, devido à alta razão superfície/volume, como em eutróficas, já que são oportunistas e crescem em pulsos devido ao seu ciclo de vida curto (HAPPY-WOOD 1988). Ao que tudo indica, muito provavelmente as espécies mencionadas de *Chlamydomonas* estejam bem representadas nas represas do PEFI, indicando que sejam euritróficas, ou seja, tolerantes a amplo espectro de condições tróficas.

Três espécies de Chlorococcales (*Scenedesmus ecornis*, *Monoraphidium circinale* e *M. griffithii*) também se destacaram como descritoras da comunidade, sendo mais abundantes nas condições de enriquecimento isolado ou combinado por fósforo. No fitoplâncton, o gênero *Scenedesmus* apresenta elevada taxa de crescimento em níveis mais altos de fósforo (HAPPEY-WOOD 1988), sendo *S. ecornis* frequentemente relacionada a sistemas mesotróficos a eutróficos (ROSEN 1981, PATRICK & PALAVAGE 1994). No PEFI, a espécie já foi associada ao perifíton de represa eutrófica (BARCELOS 2003) e à condição de adição de fósforo em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004). Particularmente o último autor incluiu espécies de *Scenedesmus* como descritoras ambientais, ou seja, representantes da guilda P e NP, isto é, do agrupamento de espécies nas condições de enriquecimento isolado ou combinado por fósforo no sistema oligotrófico. O gênero *Monoraphidium*, por sua vez, é comumente associado a ambientes rasos e enriquecidos (REYNOLDS *et al.* 2002). No perifíton para os ambientes do PEFI, *Monoraphidium contortum* foi associado à guilda de eutrofia em experimento de oligotrofização (BARCELOS 2003), bem como à maior disponibilidade de fósforo em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004). Ainda, tanto esta espécie quanto *M. griffithii* foram beneficiadas mediante suprimento de fósforo em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004). No Lago das Ninféias, apesar dessas espécies de Chlorococcales terem sido descritoras, principalmente nas condições de suprimento de fósforo, não pertenceram a nenhuma guilda.

Quatro espécies de *Cryptomonas* foram descritoras da comunidade, com destaque a duas (*C. marssonii* e *C. curvata*) que chegaram a dominar na primavera em condições de adição combinada de nutrientes. Tais espécies associaram-se com o suprimento isolado de fósforo, mas principalmente combinado com o nitrogênio. Tais resultados concordam, em parte, com VERCELLINO (2001), no sentido de espécies de *Cryptomonas* (*C. erosa* e *C. tenuis*) estarem associadas à represa eutrófica no PEFI. Todavia, diferentemente deste autor, as principais espécies encontradas no Lago das Ninféias não foram consideradas descritoras ambientais, uma vez que não pertenceram a nenhuma guilda. Por outro lado, *C. erosa*, apesar de não ter se destacado dentre as descritoras da comunidade, associou-se com menor correlação ($r = 0,34$) à condição de adição combinada de nutrientes (inverno). Mediante estudos de enriquecimento de lagos, espécies de *Cryptomonas* já foram consideradas próprias de ambientes meso-eutróficos (NASELLI-FLORES *et al.* 2003).

Associadas, ainda, ao enriquecimento isolado por fósforo destacaram-se duas espécies de *Chromulina* (*C. elegans* e *C. verrucosa*). A primeira foi dominante na primavera sob adição isolada de fósforo e, por isso, considerada descritora ambiental pela CCA nestas condições. Todavia, esta mesma espécie foi descritora da comunidade perifítica (mais

abundante) em condição controle (natural) de represa oligotrófica no PEFI, porém não se associou a características do meio (FERRAGUT 2004).

Dentre todas as espécies associadas ao suprimento isolado ou combinado de fósforo, destaca-se a diatomácea *Nitzschia palea*, que foi importante espécie descritora da comunidade (PCA) e descritora ambiental (CCA). O gênero *Nitzschia* é rico em espécies e muitos táxons apresentam afinidade com águas ricas em nutrientes, destacando *N. palea* como própria de ambientes hipereutróficos e tolerante à poluição (VAN DAM *et al.* 1994, PATRICK & PALAVAGE 1994). Vários estudos sobre perifiton associaram esta espécie a condições de enriquecimento por nitrogênio e fósforo (HAVENS *et al.* 1999) e, mais especificamente, como espécie indicadora de elevada disponibilidade de fósforo (PRINGLE 1990, PAN *et al.* 1996, MCCORMICK & STEVENSON 1998, WINTER & DUTHIE 2000). Para a comunidade perifítica nas represas do PEFI, esta espécie também foi associada a ambiente eutrófico (VERCELLINO 2001) e muito correlacionada à elevada disponibilidade de fósforo em condições experimentais em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004).

Em relação às espécies associadas à menor disponibilidade de fósforo e maior de nitrogênio, estão quatro espécies, uma cianobactéria (*Leptolyngbya perelegans*), uma diatomácea (*Gomphonema parvulum*) e duas desmídias (*Cosmarium margaritatum* e *Staurastrum quadrangulare*). Conforme síntese em MORO & FÜRSTENBERGER (1997), *G. parvulum* já foi reportada para ambientes oligotróficos, eutróficos e hipereutróficos, sendo, portanto, uma espécie euritrófica. Ainda, foi considerada dentro das espécies generalistas no Lago das Ninféias (Capítulo 2). As desmídias tiveram destaque nesta associação, uma vez que foram simultaneamente apontadas dentre as principais descritoras da comunidade (PCA) e do ambiente (CCA). As desmídias exibem preferência por águas ácidas com pH entre 4,5 e 7,0, muitas espécies são comumente encontradas em ambientes oligotróficos (RUTS 1983) e, em sua maioria, ocorrem nas formas de vida perifítica ou metafítica (COESEL 1996). A profusa vegetação aquática do Lago das Ninféias, o pH levemente ácido (5,9-6,8, capítulo 1), e, em especial, as condições nutricionais (sem fósforo) devem ter favorecido tal grupo de algas. As desmídias e, particularmente, *Cosmarium majae* Strom também foram associadas ao perifiton de represa oligotrófica no PEFI (VERCELLINO 2001). Ainda, *C. margaritatum* foi destacada como a principal espécie presente no perifiton do Lago das Ninféias como discriminadora da condição sem adição de fósforo (Capítulo 2).

Em síntese, foi possível caracterizar duas guildas principais na comunidade perifítica a partir do enriquecimento artificial de nutrientes no Lago das Ninféias. A guilda P, associada à adição de fósforo, foi constituída por quatro a cinco espécies (*Chlamydomonas epibiotica*,

Chromulina elegans, *Nitzschia palea*, *Pseudanabaena catenata* e, muito provavelmente, *Cryptomonas erosa*). As duas primeiras estiveram, ainda, mais associadas ao período da primavera, enquanto que *N. palea* e *P. catenata* a diferentes períodos do ano. A guilda N, associada à adição de nitrogênio, foi representada por quatro espécies (*Cosmarium margaritatum*, *Gomphonema parvulum*, *Leptolyngbya perelegans* e *Staurastrum quadrangulare*), sendo que as desmídias também apresentaram grande associação com os períodos mais quentes, ou seja, primavera e verão. Percebe-se que nem sempre as principais espécies descritoras da comunidade, destacadas pela análise de componentes principais, estiveram correlacionadas com as condições de enriquecimento, porém todas descritoras ambientais (CCA) figuraram dentre as espécies abundantes, embora nem sempre dentre as mais bem representadas.

No que se refere à diversidade de espécies da comunidade perifítica em relação a estudos de enriquecimentos, os resultados são bastante controversos. Há relatos de diminuição da diversidade com a eutrofização ou adição de nutrientes (CARRICK *et al.* 1988, HILLEBRAND & SOMMER 2000), bem como de aumento (PRINGLE 1990, JEPPESEN *et al.* 2000, PAN *et al.* 2000). Para a área do PEFI, não foi encontrada diferença de diversidade perifítica entre represas oligotrófica e eutrófica (VERCELLINO 2001). Todavia, em experimento de oligotrofização, a maior diversidade ocorreu em condição mesotrófica (BARCELOS 2003). Foi observada, ainda, maior diversidade a partir da adição de fósforo em represa oligotrófica, porém não em condição de adição crescente deste nutriente (FERRAGUT 2004).

Para o Lago das Ninféias, os menores valores ($H' = 2,9-3,0 \text{ bits.ind}^{-1}$) foram encontrados nas diferentes condições experimentais, porém os mais elevados ocorreram sob adição isolada e combinada de fósforo ($P^+ : 4,2$; $NP^+ : 4,3$). De qualquer forma, tais valores podem ser considerados elevados uma vez que se situaram entre ou até acima da faixa de 1,5 a 3,5 bits.ind^{-1} (MARGALEF 1992). Índices iguais ou acima de 4,0 já foram reportados para o perifíton na área do PEFI (VERCELLINO 2001, BARCELOS 2003, FERRAGUT 2004). De modo geral e exceto à primavera, a diversidade apresentou tendência de aumento em condição de enriquecimento isolado e combinado de fósforo no Lago das Ninféias. Entretanto, apenas no inverno, observou-se maior influência da adição de fósforo, que propiciou aumento da riqueza e diversidade.

A partir das considerações acima, conclui-se que a estrutura da comunidade perifítica do Lago das Ninféias foi profundamente alterada frente às mudanças nas condições nutricionais do meio. As respostas em nível de classes algais, mas principalmente dos índices utilizados nem sempre foram consistentes com o tipo de tratamento, indicando influência da época do

ano, entre outros fatores. Em nível taxonômico mais fino, a comunidade forneceu resposta primordialmente sensível ao tipo de enriquecimento, formando grupos de espécie (guildas) que covariam em condições ambientais semelhantes. Desta forma, a maior disponibilidade de fósforo ou de nitrogênio constituiu o principal eixo de variação estrutural da comunidade, seguido pela época do ano (primavera/verão e inverno). Os resultados permitem afirmar que aportes de fósforo podem alterar a comunidade perifítica natural do Lago das Ninféias, com maior impacto sobre as desmídias, Desta forma, a maior disponibilidade de fósforo ou de nitrogênio constituiu o principal eixo de variação estrutural da comunidade, seguido pela época do ano (primavera/verão e inverno). Os resultados permitem afirmar que aportes de fósforo podem alterar a comunidade perifítica natural do Lago das Ninféias, com maior impacto sobre as desmídias, mas também sobre algumas espécies descritoras de diatomáceas e cianobactérias.

LITERATURA CITADA

- BARCELOS, E.M. 2003. Avaliação do perifíton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 118 p.
- BICUDO, C.E.M.; CARMO, C.F.; BICUDO, D.C.; HENRY, R.; PIÃO, A.C.S.; SANTOS, C.M. & LOPES, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 141-158.
- BICUDO, D.C. 1990. Considerações sobre metodologias de contagem de algas do perifíton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 459-475.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C.; CARMO, C.F.; BOURTE, C.; BICUDO, C.E.M.; MELFI, A.J. & LUCAS, Y. 2002. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 158-198.
- BIGGS, B.J.F. 1996. Patterns in benthic algae of streams. *In*: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.) *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 31-51.
- CARRICK, H.J., LOWE, R.L. & ROTENBERRY, J.T. 1988. Guilds of benthic algae along nutrient gradients: relationship to algal community diversity. *J. N. American Journal of Benthological Society* 7: 117-128.
- COESEL, P.F.M. 1996. Biogeography of desmids communities. *Hydrobiologia* 336: 41-53.
- CONTI, J.B. & FURLAN, S.A. 2003. Geocologia: O Clima, Os Solos E A Biotas. *In*: ROSS, J.L. (Org.) *Geografia Do Brasil*. Edusp, São Paulo. p. 67-207.
- ENGLE, D.L. & MELACK, J.M. 1993. Consequences of riverine flooding for seston and the periphyton of floating meadows in a Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography* 38: 1500-1520.
- FERMINO, F.S.; BICUDO, D.C. & MERCANTE, T.J. 2004. Substrato difusor de nutrientes (SDN): avaliação do método em laboratório para experimentos *in situ* com perifíton. *Acta Scientiarum* 26: 273-280.

- FERRAGUT, C. 1999. Efeito do enriquecimento por nitrogênio e fósforo sobre a colonização e sucessão da comunidade de algas perifíticas : biomanipulação em reservatório raso oligotrófico em São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 190 p.
- FERRAGUT, C. 2004. Respostas das algas perifíticas e planctônicas à manipulação de nutrientes (N e P) em reservatório urbano (Lago do IAG, São Paulo). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 184 p.
- FERRAGUT, C.; LOPES, M.R.M.; BICUDO, D.C.; BICUDO, C.E.M., & VERCELLINO, S. 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). *Hoehnea* 32: 137-184.
- FONSECA, B.M. 2005. Diversidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em dois reservatórios rasos com diferentes estados tróficos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 208p.
- FRANCOEUR, S.N., BIGGS, B.J.F., SMITH, R.A. & LOWE, R.L. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 242-260.
- GOLDSBOROUGH, K.D. & ROBINSON, G.G.C. 1996. Pattern in wetlands. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 78-117.
- GOLTERMAN, H.L. & CLYMO, R.S. 1971. methods for chemical analysis of freshwaters. Ed. Oxford and Edinburg, Blackwell Scientific Publications. International Biological Programmer. 166 p.
- GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R.S., OHMSTAD, M.A.M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. 2^a edition. Blackwell Scientific Publications. International Biological Program, Oxford, 213 p. (Handbook, 8).
- HAPPEY-WOOD, V.M. 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. *In*: Sandgreen, C.D. (ed.) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 175-226.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., MEEKER, R.H. & DAVIS, W.P. 1996. Phytoplankton and periphyton responses to in situ experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *Journal of Plankton Research* 18: 551-556.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., HWANG, S.J., RODWSKY, A.J., SHARFSTEIN, B. & STEINMANN, A.D. 1999. Algal responses to experimental nutrient addition in the littoral community of a subtropical lake. *Freshwater Biology* 42: 329-344.
- HILLEBRAND, H. & SOMMER, U. 2000. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication. *Aquatic Botanic* 67: 221-223.
- HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, C.; MARTINELLI, L.A. & HENRY, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifiton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. *In*: ROLDAM, F., CÉSAR, D. & MARINHO, M. (orgs.) *Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais*. RiMa Editora, São Carlos. p. 243-260.
- JEPPESEN, E., JENSEN, J. P., SONDERGAARD, M., LAURIDSEN, T. & LANDKILDEHUS, F. 2000. Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology* 45: 201-218.
- KLAIVENESS, D. 1988. Ecology of the Cryptomonadida: a first review. *In*: SANDGREN, C.D. *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press, 105-133p.
- LEMBI, C.A. 1980. Unicellular chlorophytes. *In*: COOX, E.R. (ed.) *Phytoflagellates*. Amsterdam: Elsevier-North Holand, 5-59p.

- LLOYD, M. & GHELARDI, R.J. 1964. A table for calculating the equitability component of species diversity. *Journal An. Ecology* 33: 217 – 225.
- LOBO, A.E. & LEIGHTON, G. 1986. Estruturas de las fitocenosis planctônicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. *Revista de Biología Marina* 22: 143-170.
- LOPES, M.R., BICUDO, C.E.M. & FERRAGUT, C. 2005. Short term spatial and temporal variation of phytoplankton in a shallow tropical oligotrophic reservoir, southeast Brazil. *Hydrobiologia* 542: 235-247.
- LUND, J.W.G., KIPLING, C. & LÊ-CREN, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hidrobiologia* 11: 143-170.
- 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. 117 p.
- MARGALEF, R. 1992. Homage to Evelyn Hutchinson, or why is there an upper limit to diversity. *Trans. Connect. Acad. Arts Sci.* 44: 221-235.
- MCCORMICK, P.V. & O'DELL, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 450-468.
- MCCORMICK, P.V. & STEVENSON, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology* 34: 726-733.
- MCCORMICK, P.V., O'DELL, M.B., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W.C. 2001. Periphyton responses to experimental phosphorus enrichment in a subtropical wetland. *Aquatic Botany* 71: 119-139.
- MCCUNE, B. & MEFFORD, M.J. 1999. *PC-ORD for Windows*. Multivariate analysis of ecological data, version 4.10. MjM Software Design, Oregon. 47 p.
- MENDES, R. S. & BARBOSA, F.A.R. 2002. Efeito do enriquecimento in situ sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia* 14: 77-86.
- MORO, R.S. & FÜRSTENBERGER, C.B. 1997. *Catálogo dos principais parâmetros ecológicos de diatomáceas não-marinhas*. Editora UEPG, Ponta Grossa, Paraná. 282 p.
- NASELLI-FLORES, L., PADISAK, J., DOKULIL, M.T. & CHORUS, I. 2003. Equilibrium/steady-state concept in phytoplankton ecology. *Hydrobiologia* 502: 395-403.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., HILL, B.H., HERLIHY, A.T. & COLLINS, G.B. 1996. Using diatoms as indicators of ecological conditions in lotic systems: a regional assessment. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 481-495.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., VAITHIYANATHAN, P., SLATE, J. & RICHARDSON, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. *Freshwater Biology* 44: 339-353.
- PATRICK, R. & PALAVAGE, D.M. 1994. The value of species as indicators of water quality. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 145: 55-92.
- PRINGLE, C.M. 1990. Nutrient spatial heterogeneity: effects on community structure, physiognomy, and diversity of stream algae. *Ecology* 71: 905-920.
- RAMIREZ, J.J. 1996. *Variação espacial vertical e nictemeral da estrutura da comunidade fitoplanctônica e variáveis ambientais em quatro dias de amostragem de diferentes épocas do ano no Lago das Garças, São Paulo*. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 283p.

- 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: 417-428.
- ROSEN, G. 1981. Phytoplankton indicators and their relations to certain chemical and physical factors. *Limnologica* 13: 263-296.
- RUTS, M. 1983. Desmids as biological indicators of water quality in two natural reserves of Campine (Belgium). *Biol. Jb. Dodonaea* 51: 243-253.
- SHANNON, C.E. & WEAVER, W. 1963 *The mathematical theory of communication*. Urbana: Illinois University Press. 177 p.
- SHEPHERD, G.J. 1996. *Fitopac 1: manual do usuário*. Departamento de Botânica, UNICAMP. 95p.
- SIMPSON, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688.
- SLÁDECKOVÁ, A. 1998. Green algae in water supplies: a review. *Biologia (Slovak Republic). Section Botany* 53: 557-565.
- SOLORZANO, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14: 799-801.
- STEVENSON, J.R. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. *In: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p.3-30.
- STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. 1960. A manual of sea water analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 125: 1-185.
- SUZUKI, M.S. 1991. Mudanças na estrutura e sucessão das comunidades fitoplanctônicas e perifíticas da lagoa do Infernã (SP), causadas pelo processo de enriquecimento artificial. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TANK, J.L. & DODDS, W.K. 2003. Nutrient limitation of epilithic and epixylic biofilms in ten North American streams. *Freshwater Biology* 48: 1031-1049.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitative phytoplankton: methodic. *Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- VADEBONCOEUR, Y. & STEINMAN, A.D. 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *The Scientific World Journal* 2: 1449-1468.
- VALDERRAMA, G.C. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109 – 112.
- VAN DAM, H., MERTENS, A. & SINKILDAM, J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-133.
- VERCELLINO, I. S. 2001. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em dois reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo: influência do estado trófico e período climatológico. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 176 p.
- VERCELLINO, I. & BICUDO, D.C. 2006. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em reservatório oligotrófico tropical (São Paulo, Brasil): comparação entre período seco e chuvoso. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 363-377.
- VILLAFANE, V.E. & REID, F.M.H. 1995. Metodos de microscopia para la cuantificacion del fitoplancton. *In: ALVES, K., FERRARIO, E.C. & SAR, E. (eds.). Manual de métodos fiicologicos*. Concepcion: Universidad de Concepcion. p. 169 - 185.
- WETZEL, R.G. 2001. *Limnology*. Academic Press, New York, 1006 p.
- WINTER, J.G. & DUTHIE, H.C. 2000. Epilithic diatoms as indicators of stream total N and total P concentration. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 19: 32-49.

CONCLUSÃO GERAL

O delineamento experimental utilizado neste trabalho permitiu avaliar os efeitos da variação limnológica anual do sistema sobre o perifíton em condições mais próximas possível das naturais, já que foram utilizados substratos difusores de nutrientes, que não demandam o confinamento da comunidade como os mesocosmos.

A maior fonte de variabilidade abiótica foi o tipo de enriquecimento, seguido pela variabilidade em escala anual, com destaque para as variáveis precipitação, radiação solar e subaquática e temperatura. As duas estações do ano mais contrastantes foram inverno e primavera. O inverno caracterizou-se pelos menores valores dos fatores mencionados, sendo a temperatura da água inferior em até 10 °C em relação aos demais períodos. A primavera caracterizou-se pelos valores mais elevados das variáveis acima, bem como pelos maiores teores de fósforo em condições naturais (controle).

Limitação de nutrientes pelo perifíton – A resposta do perifíton em relação à limitação de nutrientes teve influência do atributo da comunidade considerado e da época do ano.

Na primavera, o perifíton foi co-limitado por fósforo e nitrogênio (com base na clorofila-a) ou apresentou limitação 1^{ria} por fósforo e 2^{ria} por nitrogênio (densidade de algas e composição química). No verão, apresentou limitação 1^{ria} por P e 2^{ria} por N (clorofila-a e composição química) ou P-limitação (densidade). No outono, a comunidade esteve co-limitada (clorofila-a e densidade de algas) ou apresentou limitação 1^{ria} por P e 2^{ria} por N (composição química). Finalmente, no inverno, o perifíton apresentou respostas distintas para cada variável-resposta: P-limitação (clorofila-a), co-limitação (densidade de algas) e limitação 1^{ria} por P e 2^{ria} por N (composição química). Apenas neste período, a adição conjunta de nutrientes não foi suficiente para elevar o perifíton para níveis de ausência de limitação por N, indicando a influência de outro(s) fator(es) controlador(es). Em relação à sazonalidade, não foi observada mudança clara da limitação nutricional. Na maior parte das vezes, os atributos apontaram limitação 1^{ria} por P. Todavia, no outono, houve maior tendência de co-limitação e, no inverno, indício de outros fatores controladores além de nutrientes.

Em síntese, a avaliação conjunta das respostas encontradas pelos diferentes atributos do perifíton permite afirmar que o P se configurou como o nutriente limitante ao longo do ano no Lago das Ninféias, atuando como nutriente limitante único, limitante 1^{rio} ou, ainda, estando co-limitado pelo N. Nenhuma variável-resposta identificou o nitrogênio como o nutriente limitante ou como limitante 1^{rio} ao perifíton nas diferentes épocas do ano. A hipótese 1 foi, portanto, confirmada.

Atributos indicadores da limitação de nutrientes - Em relação aos atributos do perifíton utilizados para avaliar a limitação de nutrientes, exceto à massa orgânica, os demais (clorofila-a, densidade de algas e composição química) foram bons indicadores e forneceram respostas complementares. Em particular, a composição química da comunidade (%Pp, %Np, razão N:P) foi decisiva para a definição da limitação. Os presentes resultados corroboram as faixas que mais comumente vêm sendo utilizadas para o perifíton, ou seja, razão molar menor do que 10, para condição N-limitante, maior do que 20 para P-limitante e entre 10-20, para boa repartição de recursos. Ainda, a razão N:P do perifíton foi mais preditiva das condições de limitação nutricional do que a razão N:P da água, particularmente em condições de enriquecimento. Confirma-se, assim, a hipótese 2 deste estudo.

Estrutura da comunidade de algas perifíticas – Os índices biológicos aplicados ao perifíton, tais como riqueza, dominância, uniformidade e diversidade de Shannon não foram bons discriminadores das condições experimentais, sofrendo maior influência da escala temporal. Em nível de grandes grupos taxonômicos, Chlorophyceae foi a classe mais bem representada em número de táxons, bem como em abundância na quase totalidade das condições experimentais e épocas do ano. Apesar da tendência de aumento das Cryptophyceae mediante adição combinada de N e P, a alteração de classes não foi sempre consistente com o tipo de enriquecimento, não podendo, assim, ser considerada um atributo eficiente para prever as condições experimentais de aportes de nutrientes no Lago das Ninféias.

Em nível taxonômico mais fino, ou seja, de espécies, a resposta da comunidade foi marcadamente diferenciada.

A similaridade da composição da comunidade foi primordialmente condicionada pelo tipo de tratamento, havendo a formação de três grupos de espécies representativas do controle; do tratamento com adição de P isolada ou combinada; e do tratamento com adição isolada de N. Em seguida, principalmente em condição sem adição de fósforo (C, N⁺), pesou a escala sazonal e, por último, os dias sucessionais. A análise de espécies indicadoras de dupla entrada indicou que a classificação divisória hierárquica das espécies de algas foi dirigida pela disponibilidade de P. Dentre as espécies relacionadas às condições sem enriquecimento por P destacaram-se uma desmídia (*Cosmarium margaritatum*) e uma diatomácea (*Frustulia rhomboides* var. *saxonica*), mas também outras espécies de *Cosmarium* (*C. exiguum*, *C. contractum*) que se associaram a estas condições, dependendo porém do tratamento (C, N⁺) e da época do ano. Em contraposição, a ocorrência de quatro espécies de Chlorococcales (*Tetralanthos lagerheimii*, *Scenedesmus acuminatus*, *S. quadricauda*, *Tetraëdron caudatum*) foi indicadora das condições de enriquecimento isolado ou combinado de fósforo.

Em relação à estrutura quantitativa da comunidade, dez espécies descritoras da comunidade associaram-se às condições de enriquecimento. Oito delas foram mais abundantes na condição de maior disponibilidade de P (P⁺, NP⁺): três Chlorococcales (*Monoraphidium circinale*, *M. griffithii* e

Scenedesmus ecornis), duas Cryptophyceae (*Cryptomonas curvata* e *C. marssonii*), uma diatomácea (*Nitzschia palea*) e representantes de Oedogoniophyceae (*Oedogonium* sp.1) e Chrysophyceae (*Chromulina verrucosa*), enquanto que duas espécies de desmídias (*Cosmarium margaritatum* e *Staurastrum quadrangulare*) associaram-se às condições de menor disponibilidade de P (controle e N⁺).

Dois guildas principais foram caracterizadas a partir do enriquecimento artificial ao longo do ano. A guilda P, associada à adição de P, foi constituída por quatro a cinco espécies (*Chlamydomonas epibiotica*, *Chromulina elegans*, *Nitzschia palea*, *Pseudanabaena catenata* e, muito provavelmente, *Cryptomonas erosa*). As duas primeiras também estiveram mais associadas ao período da primavera, enquanto que *N. palea* e *P. catenata* a diferentes épocas do ano. A guilda N, associada à menor disponibilidade de P e à maior de N, foi representada por quatro espécies (*Cosmarium margaritatum*, *Gomphonema parvulum*, *Leptolyngbya perelegans* e *Staurastrum quadrangulare*), sendo que as desmídias também apresentaram grande associação com os períodos mais quentes, ou seja, primavera e verão. Para a caracterização das guildas, observou-se que, nem sempre, as principais espécies descritoras da comunidade (mais abundantes) foram consideradas descritoras ambientais (correlacionadas com as condições de enriquecimento) e vice-versa. Como exemplo deste fato estão duas espécies dominantes de *Chlamydomonas* (*C. sordida*, *C. planctogloea*), as quais participaram de forma expressiva na estrutura da comunidade, em todas as épocas do ano e em praticamente todos os tratamentos, indicando serem euritróficas, ou seja, tolerantes a amplo espectro de condições tróficas.

A partir das considerações acima, conclui-se que o principal eixo de variação qualitativa e quantitativa de espécies da comunidade perifítica do Lago das Ninféias foram as condições de enriquecimento, sendo o fósforo o principal direcionador das modificações estruturais. Em seguida, pesou a época do ano, com a separação dos períodos do ano mais quentes (primavera/verão) e mais frio e seco (inverno). O período sucessional abrangido neste estudo não pesou na variabilidade encontrada. Confirma-se, portanto, a terceira hipótese, a qual afirma que o enriquecimento será o principal eixo de modificação da estrutura específica da comunidade de algas perifíticas ao longo do ano no Lago das Ninféias.

Os resultados permitem concluir que o Lago das Ninféias, por ser um ambiente raso, com predomínio da biota litorânea, pode apresentar profundas mudanças de suas associações algais nativas mediante aportes de fósforo e, ao que tudo indica, com maior impacto sobre as desmídias.

Finalmente, reforça-se o uso do perifíton como sensor da eutrofização, contribuindo para propostas de prevenção e recuperação de ecossistemas lacustres rasos tropicais/subtropicais.

Fermino, F.S.

Avaliação sazonal dos efeitos do enriquecimento por N e P sobre o perifíton em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo). 2006. 121p.

Tese (doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro - Biologia Vegetal, 2006.

Palavras-chaves: algas, enriquecimento, estrutura de comunidade, fósforo, indicador biológico, limitação por nutriente, perifíton.