

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES DE
ALGAS VERMELHAS CONTINENTAIS AO
EMPOBRECIMENTO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO
INORGÂNICOS**

ANNA ISABEL NASSAR BAUTISTA

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

Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
2008

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES DE
ALGAS VERMELHAS CONTINENTAIS AO
EMPOBRECIMENTO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO
INORGÂNICOS**

ANNA ISABEL NASSAR BAUTISTA

Orientador: Prof. Dr. ORLANDO NECCHI JÚNIOR

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

Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
2008

Às minhas queridas avós, Izabel Nassar e
Izabel Bautista, que continuam a olhar por
mim, onde quer que estejam.
Saudade imensa!

Aos pais:

“Vocês um dia sonharam comigo e me amaram antes que eu existisse.

Vocês se alegraram com a minha chegada ao mundo como alguém que recebe um lindo presente, renunciando, muitas vezes, aos seus sonhos para que os meus se realizassem. Vocês, com seus gestos de bondade e prontidão para perdoar, são os exemplos de fé e esperança que me dão força e coragem para vencer na vida. Por isso, dedico-lhes esta conquista com a minha profunda admiração e respeito”.

“O mundo é produto da vontade. Então, o homem será, antes de mais nada, o resultado do seu próprio progresso”.
(Sartre)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu infinito amor e bondade dedicados em todos os momentos de minha vida.

Ao Prof. Dr. Orlando Necchi Júnior, pela orientação, confiança e dedicação desde a época de Estágio Básico, chegando a quase seis anos de trabalho conjunto.

Ao pessoal do Laboratório de Ficologia da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto, em especial ao Jeferson, Thiago Kusakariba e Marcos Bernardino, pelo ensino e amparo em todas as horas.

À técnica Maria Helena Carabolante, pelas muitas horas, dias, meses e anos a mim dedicados com tanto amor, paciência e disponibilidade.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro (processo nº 05/03511-0), que permitiu o desenvolvimento deste estudo, bem como meu aprimoramento profissional.

Ao Laboratório de Ecologia do Instituto de Botânica de São Paulo, em especial à Ms. Fernanda Ferrari, à Dra. Carla Ferragut e à Dra. Denise C. Bicudo, pelo acolhimento e atenção no período em que estive ao vosso lado.

Ao IBILCE, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, responsável pela minha formação acadêmica e por franquear-me o uso irrestrito das dependências institucionais, bem como vários de seus serviços.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Biologia Vegetal, da Universidade Estadual Paulista, Campus de Rio Claro, na pessoa do seu atual coordenador, Prof. Dr. Júlio Lombardi, e da Sra. Heloísa Aparecida S. Nicoletti, supervisora e oficial administrativo da Secretaria de Pós-Graduação do Instituto de Biociências, por toda a atenção dispensada durante o transcorrer deste mestrado.

À minha amada família, em especial, meu pai (Ariovaldo), minha mãe (Leila Maria) e meu irmão (Rodrigo), pelo imenso amor, credibilidade, confiança e paciência e por constituírem a base de meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu namorado, Douglas N. Petrocino, por ser tão presente em minha vida, dividindo preocupações, sucessos, alegrias e tristezas.

Às minhas grandes Amigas Fernanda Egydio, Fernanda Savatin, Francieli, Marcela, Mariane, Natália Ferreira, Patrícia e Poliana, e a tantos outros amigos, que distantes ou não, fazem parte da minha vida, incentivando-me e apoiando-me em todos os momentos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram não somente para a realização deste trabalho, mas também para a formação da pessoa que sou hoje.

O meu muito obrigado!

ÍNDICE

	Página
Resumo	1
Abstract	2
1. Introdução	3
2. Material e Métodos	8
3. Resultados	16
3.1. Fotossíntese líquida pela técnica de oxigênio	16
3.2. Fotossíntese por fluorescência da clorofila	16
3.2.1. Parâmetros fotossintéticos	16
3.2.2. Curvas de Fotossíntese-Irradiância (FI)	18
3.3. Crescimento	20
3.4. Conteúdo de pigmentos	21
3.5. Composição química da biomassa (nitrogênio e fósforo)	23
4. Discussão	53
5. Conclusão geral	61
6. Literatura citada	64

RESUMO

Estudos sobre efeitos da manipulação de nutrientes inorgânicos (especialmente nitrogênio e fósforo) em macroalgas continentais são escassos, especialmente com espécies de regiões tropicais. Foram analisadas as respostas fisiológicas (crescimento, fotossíntese e conteúdo de pigmentos) ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos (nas formas de nitrato e fosfato, respectivamente) em condições de cultura de duas populações de *Compsopogon coeruleus* (denominadas isolados 79 e 58) e em duas populações de *Batrachospermum delicatulum* (isolados 43 e 111), provenientes de ambientes com distintos níveis de saporidade e trofia. O objetivo central foi avaliar as respostas das espécies (diminuição ou aumento na resposta fisiológica) conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânicos. Três diluições na concentração original de nitrogênio e fósforo do Meio Básico de Bold foram empregadas: Bold (Controle), -10xN (0,21mM), -25xN(0,09mM), -50xN(0,04mM), -10xP(0,11mM), -25xP(0,04mM) e -50xP(0,02mM). Nos tratamentos com nitrogênio, o isolado 79 de *C. coeruleus* respondeu com diminuição mais acentuada da performance geral em relação ao isolado 58, isto é, menores valores de rendimento quântico efetivo (RQE) e das concentrações das ficobilinas em todas as diluições de nitrogênio. A degradação de ficobilinas é uma resposta típica e amplamente descrita de Rhodophyta sob escassez de nitrogênio. O isolado 43 de *B. delicatulum* reduziu a síntese de clorofila com o decréscimo de nitrogênio no meio, enquanto que no isolado 111 o conteúdo de ficobilinas aumentou, sugerindo que estas populações possuem estratégias distintas de respostas da concentração de pigmentos em relação ao nitrogênio. Para os experimentos com fósforo, o isolado 58 respondeu com uma diminuição mais acentuada da performance geral em comparação ao isolado 79: menores valores de fotossíntese máxima ($F_{\text{máx}}$) e eficiência fotossintética (α), além de menor concentração das ficobilinas em todas as diluições de fósforo. Ambas populações de *B. delicatulum* responderam com aumento característico de sua performance somente no tratamento com fósforo, indicando que sua distribuição na Natureza pode estar mais ligada à distribuição de fósforo do que à de nitrogênio, o que representa um aprimoramento importante para seu uso futuro como bioindicadora em ecossistemas aquáticos continentais tropicais. *C. coeruleus* apresentou melhor performance em maiores concentrações de nutrientes, o que corrobora registros anteriores de bom indicador de ambientes enriquecidos. No entanto, as duas populações mostraram-se distintas no modo que utilizam esse recurso sugerindo, portanto, uma provável diferença fenotípica entre elas.

Palavras-chave: fisiologia, fotossíntese, nutrientes, pigmentos, Rhodophyta.

Abreviações: α - eficiência fotossintética; $F_{\text{máx}}$ - fotossíntese máxima; I_k – parâmetro de saturação; β - parâmetro de fotoinibição; RQE – rendimento quântico efetivo; FI – fotossíntese-irradiância; ETR – taxa de transportes de elétrons.

ABSTRACT

Studies on the effects of inorganic nutrients manipulation (specially nitrogen and phosphorus) in freshwater macroalgae are scarce. Physiological responses (growth, photosynthesis and pigment contents) to nitrogen and phosphorus impoverishment (nitrate and phosphate, respectively) were analyzed under culture conditions in two populations of *Compsopogon coeruleus* (designated isolates 79 and 58), and of *Batrachospermum delicatulum* (isolates 43 and 111), coming from environments with distinct levels of saprobity and trophy. The essential aim was to evaluate the species' responses (decrease or increase in physiological performance) to decrease in inorganic nitrogen and phosphorus concentrations. Three dilutions in original concentration of nitrogen and phosphorus of Bold Basic Medium were tested: Bold (Control), -10xN (0,21mM), -25xN(0,09mM), -50xN(0,04mM), -10xP(0,11mM), -25xP(0,04mM) e - 50xP(0,02mM). For the nitrogen treatments, the isolate 79 of *C. coeruleus* responded with a more pronounced decrease in general performance in comparison to isolate 58, that is, lower values of effective quantum yield (EQY) and of phycobiliprotein concentrations in all nitrogen dilutions. Phycobiliprotein degradation is a typical and widely reported response of red algae under nitrogen scarcity. Isolate 43 of *B. delicatulum* reduced the chlorophyll synthesis according to nitrogen decrease in the medium, whereas in isolate 111 the phycobiliprotein content increased, suggesting that these populations have distinct strategies of pigment concentration responses to nitrogen impoverishment. For the phosphorus experiments, the isolate 58 responded with a more pronounced decrease in general performance in comparison to isolate 79: lower values of maximum photosynthetic rate ($P_{\text{máx}}$) and photosynthetic efficiency (α), besides lower phycobiliprotein concentrations in all phosphorus dilutions. Both populations of *B. delicatulum* responded with characteristic increases of performances only to phosphorus treatments, indicating that their distribution in Nature seems to be more associated to phosphorus than nitrogen concentrations, which might be a significant improving in their future use as bioindicator in tropical freshwater ecosystems. *C. coeruleus* showed a better performance at higher nutrient concentrations, confirming previous records as a good bioindicator of enriched environments. Nevertheless, the two populations presented different in the mode that they use this resource, thus suggesting a possible phenotypic difference between them.

Key-words: physiology, photosynthesis, nutrients, pigments, Rhodophyta.

Abbreviations: α - photosynthetic efficiency; P_{max} -maximum photosynthetic rate; I_k - saturation parameter; β - photoinhibition parameter; EQY – Effective Quantum Yield; PI – photosynthesis-irradiance; ETR – electron transport rate.

1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos têm sido expostos, no mundo moderno, a diferentes tipos de distúrbios (como poluição) os quais levam a várias mudanças funcionais e estruturais das comunidades (BRANCO; PEREIRA, 2002). Segundo PAL *et al.* (1992), o despejo de substâncias orgânicas no ambiente, resultantes de atividades domésticas, agrícolas e industriais, caracteriza a poluição orgânica. A entrada destas substâncias pode inicialmente provocar a eutrofização, que contribui para um grande desenvolvimento algáceo e este, por sua vez, pode causar transtornos dos mais variados tipos como entupimento de canos, odor e sabor desagradáveis na água, problemas de saúde através da liberação de substâncias nocivas ao homem, além da depreciação visual do corpo d'água. De acordo com DE VRIES *et al.* (1985), as descargas de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, nos canais de água da maioria das áreas usadas para agricultura, provocam, inclusive, o crescimento intenso de macrófitas e algas epifíticas nestes locais.

Nutrientes inorgânicos, principalmente nas formas de nitrato e fosfato, são os dois mais importantes nutrientes que afetam a dinâmica de população dos ecossistemas dulciaquícolas (CARPENTER *et al.*, 1998).

Estudos sobre a limitação de nitrogênio e fósforo para macroalgas continentais são escassos. Em ambientes marinhos, o nitrogênio é freqüentemente considerado o principal nutriente limitante (CODISPOTI, 1989), enquanto que em águas continentais, fósforo é considerado o menos abundante e mais comum nutriente limitante (WETZEL, 1983). É provável que a limitação de nutriente varie, ainda, espacialmente e temporalmente (FALKOWSKI *et al.*, 1998).

A limitação de nutriente ocorre quando o suprimento do nutriente limitante é reduzido, mas não eliminado. Um decréscimo no fornecimento do nutriente pode iniciar uma cascata de eventos, incluindo (i) redução do conteúdo elementar de nutriente na célula, levando à (ii) diminuição de captura de luz e da fixação de dióxido de carbono, seguido por uma (iii) diminuição da síntese proteica e da redução do potencial de crescimento, levando às (iv) reduções nas quotas das proteínas e pigmentos fotossintéticos, e finalmente (v) uma nova taxa de crescimento estável (GEIDER *et al.*, 1998).

A síntese protéica pode ser regulada pelo fornecimento de nitrogênio, via disponibilidade de aminoácido, ou pelo fornecimento de fósforo, via controle de transcrição de ATP e GTP (ROBERTS, 1997), ou por limitação de energia (GEIDER *et al.*, 1998). Dessa forma, uma limitação na disponibilidade desses nutrientes pode levar a uma redução do processo fotoquímico e, conseqüentemente, alterações na eficiência fotossintética, na taxa de transporte de elétrons e no rendimento quântico da alga.

Dentre os pigmentos fotossintetizantes nitrogenados, a ficoeritrina é a mais amplamente degradada em condições de limitação de nitrogênio, sendo por isso considerada como a principal componente de reserva de nitrogênio na divisão Rhodophyta (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; DAWES; KOCK, 1990). A ficocianina parece não possuir esse papel, uma vez que a sua concentração é pouco alterada como resposta à limitação desse nutriente (VERGARA; NIELL, 1993).

A compreensão do estado da qualidade ecológica de ecossistemas aquáticos e as mudanças produzidas pela ocupação humana são os primeiros passos em direção ao estabelecimento de um eficiente sistema de manejo de água, o qual é essencial para a preservação do ecossistema (TURNER *et al.*, 2003; MURRELL; LORES, 2004). Nesse contexto, os estudos da disponibilidade de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo, em relação aos organismos fotossintetizantes aquáticos, em especial macroalgas continentais, tornam-se imprescindíveis para a formulação de um eficiente sistema de biomonitoramento.

Alguns métodos têm sido usados para monitorar a qualidade de águas continentais incluindo aqueles que empregam algas, briófitas, plantas superiores, macroinvertebrados e peixes (WHITTON; KELLY, 1995). Os indicadores biológicos são melhores que variáveis químicas e físicas isoladas, porque observações biológicas medem efeitos (STEIN; DENISON, 1967), enquanto aquelas medem condições, sendo insuficientes para avaliar o impacto cumulativo do despejo na biosfera (PARIKH *et al.*, 2006). Um importante argumento em favor do biomonitoramento é que organismos têm uma resposta integrada ao seu ambiente e, portanto, registram melhor as flutuações na qualidade da água, as quais podem ser perdidas em análises químicas intermitentes (COX, 1991).

Respostas obtidas a partir do monitoramento biológico podem fornecer informações sobre quando e onde os estudos das fontes potenciais de poluição devem ser mais intensificados (LOWE; PAN, 1996). No entanto, sistemas de bioindicadores de poluição baseados em animais são limitados, dado que a sua maioria pode se movimentar e mudar-se de local (FJERDINGSTAD, 1971). O mesmo ocorre com fitoplâncton que comumente é deslocado pela correnteza. O uso de macroalgas de ambientes lóticos tem sido largamente utilizado em países da Europa como bioindicadores no monitoramento de rios (WHITTON *et al.*, 1996, PRYGIEL *et al.*, 1999), mas ainda pouco no Brasil (NECCHI *et al.*, 1994; BRANCO; PEREIRA, 2002).

Macroalgas têm sido utilizadas como indicadores da qualidade da água em numerosos estudos, pois não somente possuem uma relevância biológica intrínseca para a avaliação da qualidade da água, mas também têm resolução temporal consideravelmente maior do que somente análises de amostras de água (HORROCKS *et al.*, 1995; FONG *et al.*, 1998; DENNISON; ABAL, 1999). As macroalgas oferecem algumas vantagens em relação a outros organismos pelas seguintes características (McCORMICK; CAIRNS, 1994; NECCHI *et al.*, 1994): são observáveis a olho nu e algumas vezes identificáveis no local; constituem um grupo ecologicamente importante em ecossistemas aquáticos; são sensíveis a mudanças no ambiente; e finalmente apresentam respostas relativamente rápidas às mudanças ambientais. Além disso, análises utilizando-se algas são ferramentas valiosas para monitorar a eutrofização de ambientes aquáticos, podendo ser empregadas na identificação de nutrientes limitantes ao crescimento algáceo e/ou para quantificar a resposta biológica às mudanças nas concentrações destes nutrientes (MILLER *et al.*, 1974; MALONEY; MILLER, 1975; BIGGS, 1989; McCORMICK; CAIRNS, 1994; NECCHI *et al.*, 1994; KELLY; HITTON, 1998; BRANCO; PEREIRA, 2002).

Distúrbios (i.e. eventos que causam uma mudança catastrófica de biomassa) e oferta de recursos (i.e. a disponibilidade de nutrientes e/ou luz para o crescimento) são consideradas variáveis fundamentais para o controle de grupos de plantas em ambientes terrestres (GRIME, 1979), o que tem levado ao desenvolvimento de uma ampla teoria de estratégias de histórico de vida e competição nas plantas (BIGGS *et al.*, 1998). A base para isto tem sido o reconhecimento de dois principais grupos de plantas, pioneiras e clímax (CLEMENTS, 1916), o que reflete diferentes modelos de desenvolvimento da

comunidade ao longo de um gradiente de tempo desde o último grande distúrbio. O modelo teórico para explicar tal quadro baseia-se nas estratégias de seleção r/k de MACARTHUR; WILSON (1967) que sugeriram que diferentes características são favorecidas ao longo de um contínuo de pressões associadas a diferentes níveis de poluição.

As estratégias de seleção r/k são talvez muito amplas se forem levadas em conta as possíveis respostas de combinações diferentes de distúrbio e oferta de recursos. Assim, GRIME (1977, 1979) sugeriu que k pode ser dividido em dois grupos, o que resultou no reconhecimento de três principais estrategistas ('C', 'S' e 'R'). Estrategistas C caracterizam-se por possuírem características que possibilitem a dominância em habitats estáveis enriquecidos, o que inclui a habilidade para formar uma estrutura elevada que excede os táxons que colonizam as camadas basais. Assim, competem mais efetivamente por nutrientes e luz, além de adaptações fisiológicas para utilizar altas concentrações de nutrientes inorgânicos, dentre outros. Neste grupo estão incluídas espécies de macroalgas como *Cladophora glomerata*, *Rhizoclonium* sp. e *Compsopogon coeruleus*, entre outras (BIGGS *et al.*, 1998). Os estrategistas S possuem características que possibilitam a dominância em habitats estáveis, não enriquecidos, tais como alta estatura, capacidade de fixação de nitrogênio e/ou habilidade de utilizar moléculas orgânicas como fonte de nutriente (i.e. heterotrofia), dentre outros. Este grupo inclui as macroalgas *Audouinella hermannii*, *Batrachospermum* spp. e *Calothrix* spp. (BIGGS *et al.*, 1998). Estrategistas R incluem aqueles que são dominantes em habitats perturbados (independentemente da oferta de recursos), caracterizando-se por altas taxas de produção de propágulos (esporos e/ou células viáveis), crescimento rápido e em altas taxas e alta resistência aos distúrbios (BIGGS *et al.*, 1998).

Considerando-se a grande carência de estudos auto-ecológicos com espécies de macroalgas associados à poluição orgânica em ecossistemas lóticos tropicais, e no Brasil em particular, este estudo destaca-se pelos seguintes aspectos relevantes: gerar informações para o melhor entendimento das respostas de algumas espécies potencialmente importantes em estudos de biomonitoramento; estas informações geradas, poderão, em última análise, servir de base para selecionar espécies apropriadas para o biomonitoramento de ambientes lóticos, e juntamente com outras espécies de

macroalgas ou de grupos animais ou vegetais, comporem um sistema de bioindicadores para regiões tropicais.

Duas hipóteses puderam ser testadas: 1) comparando-se as duas espécies, espera-se que *C. coeruleus*, característica de ambientes eutróficos, responda ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos com uma diminuição geral da performance; resposta inversa é esperada para *B. delicatulum*, por ser uma espécie típica de ambientes oligotróficos; 2) comparando-se cada população da mesma espécie, proveniente de ambientes com distintos níveis de trofia e saprobia (oligotrófico/oligossapróbico, eutrófico/oligossapróbico, eutrófico/mesossapróbico), espera-se que cada uma responda aos padrões gerais da hipótese anterior, mas em graus distintos, ou seja, as populações de ambientes oligotróficos-eutróficos/oligossapróbicos responderão com diminuição menos acentuada da performance geral para *C. coeruleus* e aumento mais pronunciado para *B. delicatulum*; situação inversa seria esperada para as populações do ambiente eutrófico/mesossapróbico.

O objetivo geral foi analisar as respostas fisiológicas (crescimento, fotossíntese e concentração de pigmentos) ao empobrecimento de nutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo) de duas rodófitas com estratégias ecológicas distintas (*B. delicatulum* – estrategista S e *C. coeruleus* – estrategista C) provenientes de ambientes com distintos níveis de saprobidade e trofia. Os seguintes objetivos específicos foram: 1) comparar as respostas fisiológicas das duas espécies, considerando suas distintas estratégias ecológicas; 2) comparar as respostas fisiológicas das populações de cada espécie provenientes de ambientes com distintos níveis de saprobidade e trofia; 3) avaliar o grau das respostas da espécie ou população conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio e/ou fósforo inorgânicos; 4) determinar os atributos favoráveis ou contrários das duas espécies para compor um sistema de bioindicadores para ecossistemas aquáticos continentais tropicais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas e isoladas em cultura duas populações de *Batrachospermum delicatulum* (Skuja) Necchi et Entwisle, e duas de *Compsopogon coeruleus* (Balbis) Montagne, de três pontos de amostragem com diferentes níveis tróficos/sapróbicos (Tabela 1). Estão disponíveis no banco de cultura do Laboratório de Ficologia, Departamento de Zoologia e Botânica da UNESP, Campus de São José do Rio Preto (Tabela 2).

Os experimentos fisiológicos (crescimento, fotossíntese e concentração de pigmentos) de diferentes espécies/populações de *Compsopogon coeruleus* e *Batrachospermum delicatulum* foram modelados de maneira a reduzir os efeitos de qualquer variável ambiental, exceto as concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânicos no meio de cultura, procurando comparar as diferenças fisiológicas das duas espécies e as diferenças da mesma espécie proveniente de ambientes com distintos níveis de trofia e saprobia.

Três diluições na concentração original de nitrogênio e fósforo do Meio Básico de Bold (WATANABE, 2005) (Tabela 3) foram empregadas para as duas populações de *Compsopogon coeruleus* e para as duas de *B. Delicatulum*: Bold (Controle), -10xN (0,21mM), -25xN(0,09mM), -50xN(0,04mM), -10xP(0,11mM), -25xP(0,04mM) e -50xP(0,02mM). A terminologia utilizada para indicar as diferentes concentrações foi, respectivamente: Controle, -10N, -25N, -50N, -10P, -25P, -50P. A forma de nitrogênio inorgânico diluído do meio de cultura em diferentes concentrações é o NaNO_3 , enquanto que o fósforo apresenta-se sob as formas de K_2HPO_4 e KH_2PO_4 . Não foi testada concentração acima daquela do Meio Básico de Bold, pois situa-se próxima ou acima da encontrada nos pontos de amostragem eutróficos. Oito réplicas correspondentes a indivíduos distintos de cada uma das linhagens foram utilizadas para cada um dos sete tratamentos, totalizando 56 frascos (tubos de cultura) com 30mL de meio. A massa fresca inicial foi padronizada ($5,0 \pm 0,5\text{mg}$) assim como o tempo do experimento (28 dias) de modo a evitar a forte limitação de nutrientes nas condições de maior diluição. Este período foi avaliado em testes preliminares, controlando-se o tempo do experimento (7, 14, 21 e 28 dias) e considerado o mais apropriado para avaliar as distintas respostas fisiológicas das duas espécies.

Das oito réplicas utilizadas por tratamento, três foram congeladas imediatamente após a pesagem para posterior análise da composição química da biomassa algácea (nitrogênio e fósforo).

Os experimentos foram conduzidos a uma temperatura constante ($20 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$) numa incubadora Revco RI 12-555 com duas lâmpadas fluorescentes (Osram 15 W) com irradiância de $65 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ambas (temperatura e irradiância) foram consideradas favoráveis para o crescimento e concentração de pigmentos das duas espécies em trabalho anterior (ZUCCHI; NECCHI, 2001).

Para avaliar o efeito das diferentes concentrações de nitrato e fosfato sobre o crescimento das plantas, segmentos das mesmas foram colocados para crescer a partir do peso fresco inicial. A taxa de crescimento relativo foi calculada pela fórmula (KAIN, 1987): $R (\% \text{dia}^{-1}) = 100 (\ln Pf - \ln Pi) t^{-1}$, onde Pi = peso fresco inicial, Pf = peso fresco final, t = tempo (dias). Para obtenção do peso fresco, foi feita rápida secagem do excesso de água com papel absorvente e pesagem em balança analítica (resolução de $\pm 0,1 \text{ mg}$).

A avaliação dos parâmetros fotossintéticos foi feita por duas técnicas: oxigênio dissolvido e fluorescência “in vivo” da clorofila.

As taxas de fotossíntese líquida das populações das duas espécies foram determinadas através de incubações em laboratório por meio da técnica de oxigênio dissolvido com frascos claros e escuros (LITTLER; ARNOLD, 1985; THOMAS, 1988) utilizando Meio Básico de Bold. As concentrações de oxigênio dissolvido (OD) no início e final das incubações foram medidas com uso do oxímetro Yellow Springs, mod 5000, provido de sonda com auto-agitação. Foram utilizados cinco frascos claros para cada tratamento. As concentrações de OD iniciais e finais foram medidas separadamente em cada frasco. Os cálculos foram feitos com aplicação das seguintes fórmulas (LITTLER; ARNOLD, 1985):

Fotossíntese líquida (FL) = $((FC - FCI) / T) / P$, onde:

FC = concentração de OD nos frascos claros após a incubação (mg L^{-1}) x volume do frasco em litros (neste caso 0,110L);

FCI = concentração de OD nos frascos claros antes da incubação (mg L^{-1}) x volume do frasco em litros (neste caso, 0,110L);

T = tempo em horas (neste caso, 0,75h).

P = peso fresco da alga, em gramas.

As incubações foram realizadas em estufas incubadoras refrigeradas (“shakers”) Marconi, modelo MA 830/A, equipadas com plataforma de frascos com agitação orbital e controle eletrônico de temperatura, nas mesmas condições dos experimentos de crescimento: temperatura de $20 \pm 0,3^\circ\text{C}$ e irradiância de $65 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O peso fresco da alga foi aquele obtido ao final do experimento (28 dias). Este foi medido antes das incubações, através de rápida secagem do excesso de água com papel absorvente, para evitar discrepância de biomassa das algas entre as réplicas.

A avaliação da fotossíntese das populações, através de fluorescência da clorofila, foi feita com fluorômetro sub-aquático Walz, modelo Diving-PAM após a técnica do oxigênio dissolvido.

As medições dos parâmetros fotossintéticos pela técnica de fluorescência da clorofila foram feitas a partir das cinco réplicas de cada tratamento. Foram construídas curvas rápidas de luz (WHITE; CRITCHLEY, 1999) em nove níveis crescentes de irradiância (0, 2, 32, 60, 172, 217, 405, 495 e $689 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). O tempo de exposição em cada nível de luz foi de 15 s, cada um separado por um flash de saturação de 0,8s ($\sim 6.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

As plantas foram posicionadas diretamente sobre a extremidade do cabo de fibra óptica do fluorômetro, com uso do acessório “magnet sample holder”.

Os parâmetros fotossintéticos analisados estão especificados abaixo. Os cálculos e a terminologia seguem SCHREIBER *et al.* (1994) e VAN KOOTEN; SNELL (1990), respectivamente.

1) Rendimento quântico efetivo (“effective quantum yield”) – $\text{RQE} = \Delta F/F_m'$, onde:

$$\Delta F = F_m' - F_t$$

F_m' = fluorescência máxima de uma planta iluminada;

F_t = fluorescência transitória.

Este parâmetro indica a eficiência fotoquímica (eficiência de captura de energia) dos centros de reação abertos do fotossistema II de uma planta iluminada.

2) Taxa de transporte de elétrons (“electron transport rate”) – $\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{irradiância} \times \text{coeficiente de absorção}$ (segundo KROMKAMP *et al.*, 1998), onde:

$\Delta F/F_m'$, conforme especificado acima;

Irradiância em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$;

Coeficiente de absorção de luz da alga: 0,65 para *C. coeruleus* e 0,80 para *B. delicatulum*. Os valores deste coeficiente foram estimados cobrindo-se o sensor quântico com um plástico preto contendo um orifício circular de 0,5 cm de diâmetro. Mediu-se a irradiância sem a presença da alga (100%) e com a alga colocada sobre este orifício sob lâmpada fluorescente (Osram 15 W). Calculou-se-se média de 10 medições.

ETR representa a taxa de transporte de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I; apresenta tipicamente uma relação direta (linear) com a taxa de fixação de CO_2 ou de liberação de O_2 em condições saturantes de CO_2 e baixa concentração de O_2 .

Os valores de ETR foram computados no nível de luz coincidente com o pico na curva de luz ($\text{ETR}_{\text{máx}}$), que geralmente ocorreu em $172 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nestas espécies.

As curvas de Fotossíntese-Irradiância foram geradas com base na ETR e os respectivos parâmetros foram calculados pela equação de PLATT *et al.* (1980): eficiência fotossintética (αETR), taxa de fotossíntese máxima ($\text{Fmáx} = \text{ETR}_{\text{máx}}$), fotoinibição (βETR) e parâmetro de saturação (I_k). Os valores de αETR foram determinados por uma ajuste linear usando os três primeiros pontos da ETR versus a curva de irradiância (CONDE-ÁLVAREZ *et al.*, 2002).

Após as medições das taxas fotossintéticas e de crescimento, as amostras foram congeladas para a determinação do conteúdo de pigmentos (clorofila *a* e ficobiliproteínas). Ficobiliproteínas (ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina) foram extraídas após maceração em nitrogênio líquido em tampão fosfato a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 6,8) e quantificadas de acordo com a técnica espectrofotométrica de BEER; ESHEL (1985), com uso de espectrofotômetro Micronal B 342-II (1nm de resolução). Clorofila *a* foi extraída pela ressuspensão do precipitado resultante da extração de ficobiliproteínas em 90% de acetona alcalina, e a determinação seguiu a técnica espectrofotométrica (WETZEL; LIKENS, 1991). A extração de pigmentos e a leitura foram realizadas sob luz difusa para evitar degradação.

A composição química da biomassa (nitrogênio e fósforo) das espécies seguiu o método de ANDERSEN (1976) e POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS (2003) modificado para macroalga para fósforo, e para o nitrogênio o método de MicroKjeldahl descrito em UMBREIT *et al.* (1964) modificado para macroalga. Os dados foram normalizados

para massa seca livre de cinzas e expressos em termos de porcentagem de concentração da massa orgânica da alga, conforme BIGGS (1995).

Resultados anteriores (NECCHI; ZUCCHI, 2001; ZUCCHI; NECCHI, 2001; e dados não publicados) mostraram que todas as variáveis apresentam curvas de variação normal e atendem às premissas para aplicação de testes estatísticos paramétricos. Para testar a ocorrência de diferenças significativas nas taxas de fotossíntese, crescimento e conteúdo de pigmento os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA – unifatorial) e teste de comparação múltipla “a posteriori” de Tukey. O fator testado foi os diferentes tratamentos de nitrogênio e fósforo. Estes testes foram executados através do software MiniTab, versão 6. Para a confecção dos gráficos foi utilizado o software Microcal Origin, versão 5.0.

Tabela 1. Características da água dos pontos de amostragem onde foram coletadas as amostras das populações estudadas (16.ix.2004 a 07.x.2004).

<i>Localidades</i>	Cachoeira de São Roberto, <i>Compsopogon coeruleus</i> (Isolado nº 58)	Engenheiro Schmidt, Rio Preto, <i>Compsopogon coeruleus</i> (Isolado nº 79) <i>Batrachospermum delicatulum</i> (Isolado nº111)	Córrego Talhadinho, <i>Batrachospermum delicatulum</i> (Isolado nº43)
<i>Variáveis da água</i>			
Nitrogênio total ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	9.500	7.900	1.700
Amônio (NH_4^+) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	1.140	1.790	81
Nitrato (NO_3^-) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	5.800	-	700
Fósforo total ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	1.100	-	60
Ortofosfato (PO_4^{3-}) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	350	230	50
DQO (mg.L^{-1})	28,1	43,8	29,3
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	22,7	23,5	22,2
Oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})	3,64	1,5	4,52
(saturação %)	41,7	17,5	51,3
Condutividade (μScm^{-1})	56	62	47
Trofia/Saprobia (Sladeczek 1974, modificado por Mourthé 2000)	Eutrófico/ oligossapróbico	Eutrófico/ mesossapróbico	Oligotrófico/ oligossapróbico

Tabela 2. Localização, dados de coleta/isolamento e condições de manutenção em cultura das espécies de Rhodophyta continentais a serem utilizadas nos experimentos.

<i>Localização e datas de coleta (C) e isolamento (I)</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)</i>	<i>Espécie</i>
Brasil: Estado de São Paulo, Pontes Gestal, Cachoeira de São Roberto, Rio Preto, 20°11'S, 49°41'W– 27.vi.1997 (C), 1.vii.1997 (I)	20 ± 1	65 ± 10	<i>Compsopogon coeruleus</i> (Isolado nº 58)
Brasil: Estado de São Paulo, São José do Rio Preto, Engenheiro Schmidt, Rio Preto, 20°52'S, 49°19'W- 13.x.1998 (C), 14.x.1998 (I) – <i>C. coeruleus</i> 16.ix.2004 (C, I) – <i>B. delicatulum</i>	20 ± 1	65 ± 10	<i>Compsopogon coeruleus</i> (Isolado nº 79) <i>Batrachospermum delicatulum</i> (Isolado nº111)
Brasil: Estado de São Paulo, São José do Rio Preto, Córrego Talhadinho, 20°43'S, 49°13'W- 12.ix.1996 (C), 13.ix.1996 (I)	20 ± 1	65 ± 10	<i>Batrachospermum delicatulum</i> (Isolado nº 43)

Tabela 3. Composição do Meio Básico de Bold (segundo WATANABE, 2005).

Componentes	Solução estoque (g.L⁻¹ dH₂O)	Quantidade usada	Concentração final no meio (M)
Macronutrientes			
NaNO ₃	25,00	10mL	$2,94 \times 10^{-3}$
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,50	10mL	$1,70 \times 10^{-4}$
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,50	10mL	$3,04 \times 10^{-4}$
K ₂ HPO ₄	7,50	10mL	$4,31 \times 10^{-4}$
KH ₂ PO ₄	17,50	10mL	$1,29 \times 10^{-3}$
NaCl	2,50	10mL	$4,28 \times 10^{-4}$
Solução EDTA alcalina			
EDTA	50,00	1mL	$1,71 \times 10^{-4}$
KOH	31,00		$5,53 \times 10^{-4}$
Solução Ferro acidificada			
FeSO ₄ .7H ₂ O	4,98	1mL	$1,79 \times 10^{-5}$
H ₂ SO ₄			
Solução de Boro			
H ₃ BO ₃	11,42	1mL	$1,85 \times 10^{-4}$
Solução de metais			
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82	1mL	$3,07 \times 10^{-5}$
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,44		$7,28 \times 10^{-6}$
MoO ₃	0,71		$4,93 \times 10^{-6}$
CuSO ₄ . 5H ₂ O	1,57		$6,29 \times 10^{-6}$
Co(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0,49		$1,68 \times 10^{-6}$

3. RESULTADOS

3.1. Fotossíntese líquida pela técnica de oxigênio

Foi observado que a taxa fotossintética de *Compsopogon coeruleus* (isolado 79) mostrou uma tendência de aumento nos dois primeiros tratamentos (-10N, -25N), seguida de uma queda brusca na fotossíntese (-50N) com valores significativamente diferentes dos demais tratamentos ($F = 8,85$, $P < 0,05$) (Figura 1A). Os tratamentos com fósforo apresentaram tendência crescente com a diminuição na concentração, contudo os valores não diferiram significativamente ($F = 2,66$, $P > 0,05$) (Figura 2A). Em *C. coeruleus* (isolado 58), a resposta fotossintética tendeu ao aumento conforme a redução da concentração de nitrogênio inorgânico, porém, os valores não se mostraram significativamente diferentes ($F = 2,18$, $P > 0,05$) (Figura 1B). Resposta semelhante foi observada no experimento com fósforo, no entanto, diferenças significativas foram verificadas entre o Controle e os tratamentos ($F = 17,26$, $P < 0,001$) (Figura 2B).

Batrachospermum delicatulum (isolado 43) mostrou tendência crescente da fotossíntese líquida nos tratamentos -10N e -25N, seguida por queda da taxa fotossintética em -50N, com valores significativamente diferentes dos tratamentos ($F = 4,61$, $P < 0,05$), mas não do Controle (Figura 1C). As taxas de fotossíntese nos tratamentos com fósforo também foram maiores que o Controle, com exceção do tratamento -10P, com valores significativamente diferentes somente para -10P ($F = 9,73$, $P < 0,05$) (Figura 2C). Os valores de fotossíntese líquida para *B. delicatulum* (isolado 111), tanto para os experimentos com nitrogênio quanto para fósforo, não mostraram tendência de aumento/diminuição entre os tratamentos ($F = 2,39$, $P > 0,05$ para nitrogênio e $F = 2,36$, $P > 0,05$ para fósforo) (Figuras 1D e 2D).

3.2. Fotossíntese por fluorescência da clorofila

3.2.1. Parâmetros fotossintéticos

Os valores de ETR para *C. coeruleus* (79) e *C. coeruleus* (58) mostraram tendência de menor desempenho tanto para os tratamentos com nitrogênio (Figuras 3A-

B) quanto para fósforo (Figuras 4A-B), quando comparados com Controle, conforme decréscimo nas concentrações desses nutrientes. Valores significativos foram encontrados somente em -50N em relação aos demais tratamentos e Controle (para isolado 79, $F = 8,10$, $P < 0,05$; para isolado 58, $F = 9,45$, $P < 0,05$) (Figuras 3A-B). Todos os tratamentos com fósforo diferiram significativamente do Controle (para isolado 79, $F = 10,39$, $P < 0,05$; para isolado 58, $F = 5,78$, $P < 0,05$) (Figuras 4A-B).

Para *B. delicatulum* (43) houve uma tendência de diminuição dos valores de ETR conforme a redução da concentração de nitrogênio, sem diferença significativa entre os valores ($F = 3,41$, $P > 0,05$) (Figura 3C). Para o experimento com fósforo não se observou tendência nítida para os valores de ETR ($F = 0,88$, $P > 0,05$) (Figura 4C). Em *B. delicatulum* (111) não houve tendência de aumento/diminuição no tratamento com nitrogênio inorgânico ($F = 2,73$, $P > 0,05$) (Figura 3D). Para fósforo inorgânico, valor significativamente maior foi encontrado em -50P em relação aos demais tratamentos e Controle ($F = 16,77$, $P < 0,05$) (Figura 4D).

Em *C. coeruleus* (79) houve uma queda dos valores de RQE mediante a redução das concentrações de nitrogênio, porém diferenças significativas só foram encontrados em -50N em relação ao Controle e -10N ($F = 9,46$, $P < 0,05$) (Figura 5A). Para fósforo inorgânico, não foi observada tendência de aumento/diminuição entre os tratamentos ($F = 2,80$, $P > 0,05$) (Figura 6A). Os valores de RQE para *C. coeruleus* (58), tanto para os experimentos com nitrogênio quanto para fósforo, não mostraram tendência de aumento/diminuição entre os tratamentos ($F = 0,72$, $P > 0,05$ para nitrogênio e $F = 3,15$, $P > 0,05$ para fósforo) (Figuras 5B e 6B).

Em *B. delicatulum* (43), os valores de RQE também não mostraram tendência de aumento/diminuição em nenhum tratamento (Figuras 5C e 6C). No entanto, valores significativamente menores foram observados em -10N e -25N em relação ao Controle e -50N ($F = 15,61$, $P < 0,001$) (Figura 5C), enquanto que para os tratamentos com fósforo não houve diferenças significativas ($F = 2,38$, $P > 0,05$) (Figura 6C). Em *B. delicatulum* (111), os valores de RQE seguiram as mesmas tendências dos resultados de ETR: para nitrogênio inorgânico, não houve aumento/diminuição dos valores conforme redução na concentração desse nutriente ($F = 0,74$, $P > 0,05$) (Figura 5D), enquanto que para fósforo inorgânico, valor significativamente maior foi encontrado em -50P em relação aos demais tratamentos e Controle ($F = 13,92$, $P < 0,05$) (Figura 6D).

3.2.2. Curvas de Fotossíntese-Irradiância (FI)

Os valores de fotossíntese máxima ($F_{\text{máx}}$), nos tratamentos com nitrogênio, para as duas populações de *C. coeruleus* (79 e 58) mostraram uma tendência nítida de menor desempenho (Figuras 7A-B, 9A-B) quando comparados com Controle, conforme decréscimo nas concentrações desse nutriente. Valores significativos foram encontrados em -50N em relação aos demais tratamentos e Controle ($F = 8,07$, $P < 0,05$ para isolado 79; $F = 9,39$, $P < 0,05$ para isolado 58) (Figuras 9A-B). Nos tratamentos com fósforo, as duas populações de *C. coeruleus* (79 e 58) apresentaram maiores valores de $F_{\text{máx}}$ no Controle (Figuras 8A-B), porém, para o isolado 79 houve uma tendência de aumento dos valores $F_{\text{máx}}$ entre os tratamentos, com diferenças significativas entre -10P e -50P ($F = 6,81$, $P < 0,05$) (Figura 10A). Os valores de $F_{\text{máx}}$ foram significativamente menores em relação ao Controle para o isolado 58, com exceção de -50P ($F = 5,48$, $P < 0,05$) (Figura 10B).

Para *B. delicatulum* (43) não houve uma tendência nítida de diminuição/aumento dos valores de $F_{\text{máx}}$ conforme a redução da concentração de nitrogênio (Figura 7C e 9C), com diferenças significativas somente entre os tratamentos -10N e -25N ($F = 5,46$, $P < 0,05$) (Figura 9C). Para o experimento com fósforo observou-se uma tendência de aumento dos valores de $F_{\text{máx}}$ conforme diminuição na concentração de fósforo (Figuras 8C e 10C), com diferenças significativas entre Controle e -50P ($F = 3,95$, $P < 0,05$) (Figura 10C). Para a outra população de *B. delicatulum* (111) os valores de $F_{\text{máx}}$ não mostraram tendência de aumento/diminuição em nenhum tratamento (Figuras 7D, 8D, 9D e 10D). No entanto, enquanto os tratamentos com nitrogênio não mostraram diferenças significativas ($F = 2,26$, $P > 0,05$) (Figura 9D), para os tratamentos com fósforo foram observados valores significativamente menores em -10P e -25P em relação ao Controle e -50P ($F = 8,89$, $P < 0,001$) (Figura 10D).

A eficiência fotossintética (α) seguiu basicamente as mesmas tendências da fotossíntese máxima ($F_{\text{máx}}$) em ambos os tratamentos para as populações de *C. coeruleus* (7A-B, 11A-B, 12A-B).

Os valores de α para *C. coeruleus* (58 e 79) mostraram uma tendência nítida de menor desempenho conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio (Figuras 7-B, 11A-B). Valores significativos foram encontrados em -50N em relação aos demais

tratamentos e Controle ($F = 6,75$, $P < 0,05$ para isolado 79; $F = 7,75$, $P < 0,05$ para isolado 58) (Figuras 11A-B). Para os tratamentos com fósforo, *C. coeruleus* (58 e 79) apresentaram maiores valores de α no Controle em relação aos demais tratamentos (Figuras 8A e 8B). Em *C. coeruleus* (79) houve uma tendência de aumento dos valores α entre os tratamentos sem diferenças significativas. Essas diferenças só foram encontradas entre Controle e -10P ($F = 4,18$, $P < 0,05$) (Figura 11A). Situação semelhante foi observada para *C. coeruleus* (58): os valores de α dos tratamentos foram significativamente menores em relação ao Controle, mas diferentemente do isolado 79, não houve tendência de aumento entre os tratamentos ($F = 7,82$, $P < 0,05$) (Figura 11B).

Em *B. delicatulum* (43) houve uma queda nos valores de α em -25N e -50N (Figura 7C e 11C), com diferenças significativas de -25N em relação ao Controle e -10N ($F = 6,37$, $P < 0,05$) (Figura 9C). Para o experimento com fósforo, não houve uma nítida tendência de aumento desses valores, apesar dos valores de α terem sido maiores em -50P (Figura 8C), porém estes não foram significativamente diferentes em relação aos demais tratamentos ($F = 1,07$, $P > 0,05$) (Figura 12C). Os valores de α para *B. delicatulum* (111), tanto para os experimentos com nitrogênio quanto para fósforo, não mostraram tendência de aumento/diminuição entre os tratamentos ($F = 1,31$, $P > 0,05$ para nitrogênio e $F = 2,56$, $P > 0,05$ para fósforo), apesar de um ligeiro aumento deste parâmetro no tratamento -50P (Figuras 11D e 12D).

Os valores do parâmetro de fotoinibição (β) mostraram uma clara tendência de aumento com menores concentrações de nitrogênio e fósforo para todas as espécies/populações, exceto *B. delicatulum* (111) (Figuras 7A-D, 13A-D, 14A-D).

C. coeruleus (79) apresentou, para os tratamentos com nitrogênio, valores de β significativamente maiores de -25N e -50N quando comparado ao Controle e -10N ($F = 34,68$, $P < 0,001$) (Figura 13A), enquanto que para fósforo, todos os tratamentos apresentaram diferença significativa em relação ao Controle ($F = 48,80$, $P < 0,001$) (Figura 14A).

Valores significativamente maiores de β para *C. coeruleus* (58) foram encontrados em -50N em relação aos demais tratamentos e Controle ($F = 14,51$, $P < 0,001$) (Figura 13B). Para o tratamento com fósforo, foi encontrado basicamente o mesmo padrão: valores de β com diferença significativa entre -50P e Controle ($F = 10,31$, $P < 0,05$) (Figura 14B).

Em *B. delicatulum* (43) houve um aumento nos valores de β em -25N e -50N quando comparado a -10N e Controle ($F = 30,59$, $P < 0,001$) (Figura 13C). Para o experimento com fósforo, o aumento dos valores de β foi significativa entre Controle e os demais tratamentos ($F = 169,11$, $P < 0,001$) (Figura 14C). O isolado de *B. delicatulum* (111), diferentemente do 43 e das populações de *C. coeruleus*, não apresentou nenhuma tendência de aumento/diminuição entre os tratamentos de nitrogênio inorgânico ($F = 0,13$, $P > 0,05$) (Figura 13D). Quanto ao experimento com fósforo, *B. delicatulum* (111) mostrou uma tendência oposta às demais espécies/populações, com valores significativamente menores em -50P em relação ao Controle ($F = 5,36$, $P < 0,05$) (Figura 14D).

Para *C. coeruleus* (58 e 79) não houve tendência de aumento/diminuição do parâmetro de saturação (I_k) em nenhum dos tratamentos: para nitrogênio, $F = 1,80$, $P > 0,05$ para o isolado 79 e $F = 2,70$, $P > 0,05$ para o isolado 58 (Figuras 15A-B); para fósforo, $F = 2,00$, $P > 0,05$ para o isolado 79 e $F = 2,27$, $P > 0,05$ para o isolado 58 (Figuras 16A-B).

Em *B. delicatulum* (43) houve uma ligeira tendência ao aumento de I_k conforme diminuição das concentrações de nitrogênio e fósforo. Para os tratamentos de nitrogênio, valores significativamente maiores foram encontrados em -25N e -50N em relação ao -10N e Controle ($F = 9,18$, $P < 0,05$) (Figura 15C), enquanto que para os de fósforo os valores de I_k do Controle foram significativamente menores quando comparado aos demais tratamentos ($F = 8,20$, $P < 0,05$) (Figura 16C). Para o experimento com nitrogênio, *B. delicatulum* (111) não apresentou nenhuma tendência de aumento/diminuição dos valores de I_k ($F = 0,51$, $P > 0,05$) (Figura 15D), enquanto que para fósforo houve uma ligeira tendência de decréscimo dos valores de I_k conforme diminuição da concentração de fósforo inorgânico, no entanto, os valores não diferiram significativamente ($F = 2,09$, $P > 0,05$) (Figura 16D).

3.3. Crescimento

C. coeruleus (79) não mostrou tendência de aumento/diminuição da taxa relativa de crescimento em nenhum tratamento (Figuras 17A e 18A). Para o experimento com nitrogênio, não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($F = 0,08$, $P > 0,05$)

(Figura 17A), ao passo que para o experimento com fósforo, valor significativamente maior foi encontrado em -10P em relação ao Controle e -25P ($F = 4,91$, $P < 0,05$) (Figura 18A). Em *C. coeruleus* (58) também não houve tendência evidente de aumento/diminuição da taxa relativa de crescimento em ambos tratamentos. Para nitrogênio, foi observado um leve aumento na taxa de crescimento em -50N, porém não houve diferenças significativas em relação aos demais tratamentos e Controle ($F = 2,90$, $P > 0,05$) (Figura 17B). No experimento com fósforo, foram encontrados valores significativamente maiores em -10P e -25P em relação ao Controle e -50P ($F = 13,43$, $P < 0,001$) (Figura 18B).

Em *B. delicatulum* (43) foi verificada uma tendência de diminuição da taxa de crescimento entre os tratamentos com nitrogênio, porém não houve diferenças significativas devido aos altos desvios padrões ($F = 0,87$, $P > 0,05$) (Figura 17C). No experimento com fósforo, ocorreu uma pequena tendência de aumento da taxa de crescimento em relação à redução da concentração de fósforo entre os tratamentos deste nutriente, entretanto, sem diferenças significativas devido aos altos desvios padrões ($F = 1,14$, $P > 0,05$) (Figura 18C). *B. delicatulum* (111) apresentou resultados similares em ambos tratamentos com crescimentos menores entre os tratamentos em relação ao Controle, porém, sem diferenças significativas ($F = 0,66$, $P > 0,05$ para nitrogênio e $F = 2,04$, $P > 0,05$ para fósforo) (Figuras 17D e 18D).

3.4. Conteúdo de pigmentos

Para *C. coeruleus* (79) não foi observada uma tendência nítida de diminuição do conteúdo de clorofila *a* conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio, não havendo valores significativamente diferentes ($F = 0,60$, $P > 0,623$) (Figura 19A), apesar dos conteúdos de clorofila *a* entre os tratamentos de nitrogênio inorgânico terem sido menores que o Controle. Em contrapartida, para os tratamentos com fósforo, observou-se uma nítida tendência à diminuição de clorofila *a* conforme redução da concentração deste, com diferenças significativas entre -50P em relação ao Controle e -25P ($F = 10,45$, $P < 0,05$) (Figura 20A).

Em *C. coeruleus* (58) não houve uma tendência nítida de aumento/diminuição do conteúdo de clorofila *a* entre os tratamentos com nitrogênio ($F = 0,43$, $P > 0,05$) (Figura 19B). Para fósforo, apesar dos conteúdos de clorofila *a* entre os tratamentos

terem sido menores que o Controle, foi observada uma ligeira tendência de aumento do pigmento entre os tratamentos, no entanto, os valores não diferiram significativamente ($F = 1,48$, $P > 0,05$) (Figuras 20B).

Em *B. delicatulum* (43) houve diminuição do conteúdo de clorofila *a* entre os tratamentos com nitrogênio, embora nenhum tenha se mostrado diferente significativamente do Controle, com diferenças significativas apenas entre -10N e -50N ($F = 5,53$, $P < 0,05$) (Figura 19C). Para o tratamento com fósforo, observou-se tendência inversa: aumento do conteúdo de clorofila *a* conforme diminuição da concentração de fósforo, com valores significativamente diferentes entre os tratamentos e destes para com o Controle, exceto -25P ($F = 19,42$, $P < 0,001$) (Figura 20C). Em *B. delicatulum* (111) os conteúdos de clorofila *a* não mostraram tendência de aumento/diminuição em nenhum tratamento (Figuras 19D e 20D). No entanto, nos tratamentos com nitrogênio foram observados valores significativamente diferentes entre Controle e -10N e entre -25N e -50N ($F = 17,84$, $P < 0,05$) (Figura 19D), enquanto que os tratamentos de fósforo não mostraram diferenças significativas ($F = 0,25$, $P > 0,05$) (Figura 20D).

Todas as ficobilinas (ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina) em *C. coeruleus* (79) mostraram tendência à diminuição conforme decréscimo na concentração de nitrogênio, com valores significativamente menores, na maioria das vezes, entre os tratamentos em relação ao Controle ($F = 4,51$, $P < 0,05$ para ficocianina, $F = 3,97$, $P < 0,05$ para ficoeritrina e $F = 8,12$, $P < 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 21A, 23A e 25A). No experimento com fósforo, a mesma tendência foi observada para todas as ficobilinas: embora os conteúdos dos pigmentos tenham sido menores nos tratamentos -10P e -50P em relação ao Controle, não houve diferenças significativas. Além disso, para todas as ficobilinas, o conteúdo pigmentar foi maior em -25P, não apresentando também diferenças significativas quando comparado ao Controle, mas diferente significativamente em relação aos demais tratamentos ($F = 5,03$, $P < 0,05$ para ficocianina, $F = 4,54$, $P < 0,05$ para ficoeritrina e $F = 4,18$, $P < 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 22A, 24A e 26A).

O conteúdo de ficobilinas (ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina) em *C. coeruleus* (58) não mostrou nenhuma tendência de aumento/diminuição no experimento com nitrogênio, sem diferenças significativas entre os valores ($F = 0,50$, $P > 0,05$ para

ficocianina, $F = 0,57$, $P > 0,05$ para ficoeritrina e $F = 0,99$, $P > 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 21B, 23B e 25B). Contrapondo esse resultado, todas as ficobilinas, no tratamento com fósforo, mostraram diminuição das suas concentrações, conforme decréscimo na concentração deste nutriente, com valores significativamente diferentes entre Controle e os tratamentos ($F = 6,01$, $P < 0,05$ para ficocianina, $F = 6,95$, $P < 0,05$ para ficoeritrina e $F = 7,53$, $P < 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 22B, 24B e 26B).

O conteúdo de ficobilinas em *B. delicatulum* (43), em resposta à concentração de nitrogênio, também não mostrou nenhuma indicação clara de aumento/diminuição (Figuras 21C, 23C e 25C). Valores significativamente diferentes foram encontrados apenas para aloficocianina entre -25N e -50N ($F = 5,14$, $P < 0,05$) (Figura 25C); os resultados para os demais pigmentos foram: $F = 3,05$, $P > 0,05$ para ficocianina e $F = 0,37$, $P > 0,05$ para ficoeritrina. Também não se observou tendências ao aumento/diminuição para os conteúdos de ficocianina e ficoeritrina no experimento com fósforo. Valores mais baixos em -10P e -25P para ficocianina e ficoeritrina foram encontrados, mas não diferiram significativamente ($F = 2,68$, $P > 0,05$ e $F = 0,92$, $P > 0,05$, respectivamente) (Figuras 22C e 24C). O conteúdo de aloficocianina para -50P foi significativamente maior do que os demais tratamentos e Controle ($F = 10,34$, $P < 0,001$) (Figura 26C). Todas as ficobilinas (ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina) em *B. delicatulum* (111) mostraram tendência ao aumento conforme decréscimo na concentração de nitrogênio, porém não foram observados valores significativamente diferentes ($F = 2,78$, $P > 0,05$ para ficocianina, $F = 1,97$, $P > 0,05$ para ficoeritrina e $F = 1,98$, $P > 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 21D, 23D e 25D). No experimento com fósforo, não foi observada tendência de aumento/diminuição conforme decréscimo na concentração deste nutriente, sem diferenças significativas entre os valores ($F = 0,57$, $P > 0,05$ para ficocianina, $F = 0,42$, $P > 0,05$ para ficoeritrina e $F = 0,20$, $P > 0,05$ para aloficocianina) (Figuras 22D, 24D e 26D).

3.5. Composição química da biomassa (nitrogênio e fósforo)

Foi observada uma ligeira tendência de aumento da composição química de nitrogênio total na biomassa de *C. coeruleus* (79) conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio inorgânico, no entanto, não houve diferenças significativas

($F = 0,23$, $P > 0,05$) (Figura 27A). Para o experimento com fósforo, não houve tendência de aumento/diminuição conforme decréscimo na concentração deste nutriente e sem diferenças significativas entre os valores ($F = 0,63$, $P > 0,05$) (Figura 28A). Para o experimento com nitrogênio inorgânico, *C. coeruleus* (58) mostrou uma tendência mais nítida de aumento da composição química de nitrogênio total em sua biomassa entre os tratamentos, porém, também não houve diferenças significativas ($F = 2,13$, $P > 0,05$) (Figura 27B). Tendência inversa foi observada para o experimento com fósforo, cujos tratamentos apresentaram uma ligeira tendência à diminuição de nitrogênio total na biomassa algácea conforme decréscimo das concentrações de fósforo inorgânico e sem diferenças significativas ($F = 0,63$, $P > 0,05$) (Figura 28B).

Na biomassa de *B. delicatulum* (43) foi observada menor concentração de nitrogênio total entre os tratamentos de nitrogênio inorgânico em relação ao Controle, não apresentando uma tendência nítida de aumento/diminuição conforme decréscimo na concentração deste nutriente e sem diferenças significativas entre os valores ($F = 0,18$, $P > 0,05$) (Figura 27C). Para o experimento com fósforo, a biomassa do isolado 43 apresentou uma ligeira tendência de diminuição de nitrogênio total conforme decréscimo nas concentrações de fósforo inorgânico, porém, também não houve diferenças significativas ($F = 1,15$, $P > 0,05$) (Figura 28C).

A quantificação da composição química de fósforo total na biomassa algácea das populações de *C. coeruleus* esteve sempre abaixo do limite de detecção da técnica utilizada. Em decorrências desses resultados negativos, esta análise não foi realizada para as populações de *B. delicatulum* devido à escassez de biomassa.

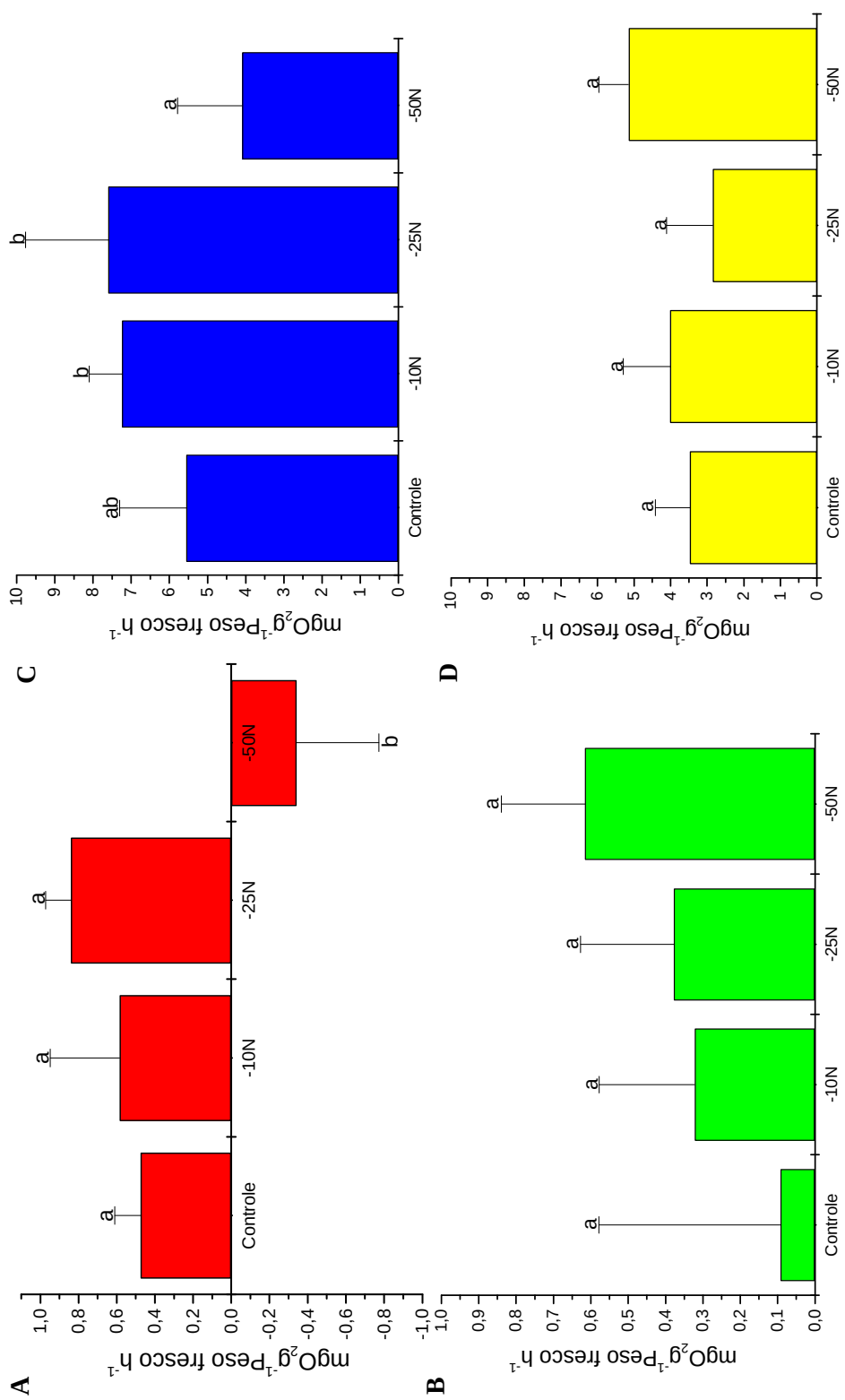


Figura 1: Performance fotossintética das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio através da técnica de oxigênio dissolvido. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

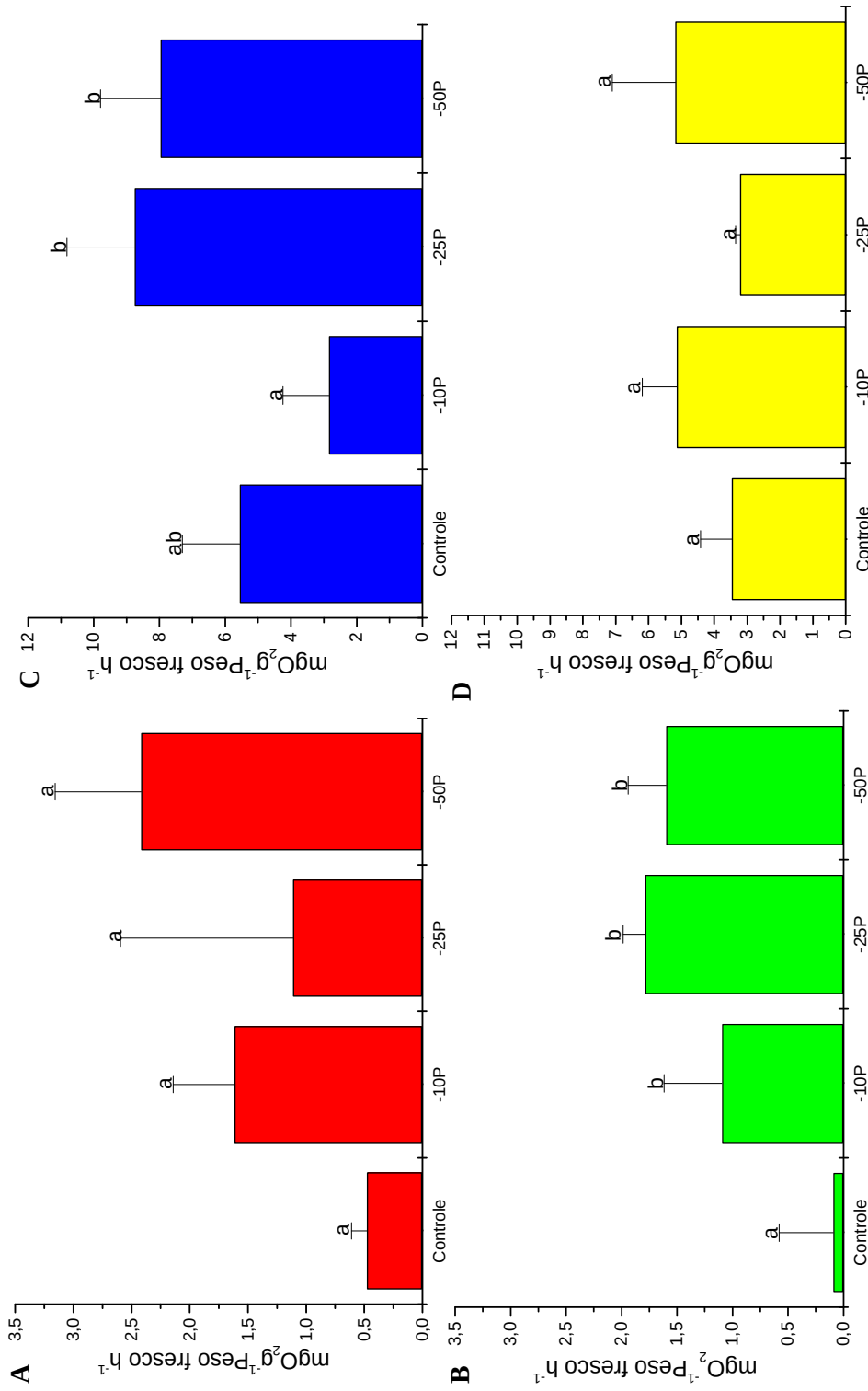


Figura 2: Performance fotossintética das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo através da técnica de oxigênio dissolvido. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C; N=5; D: N=3).

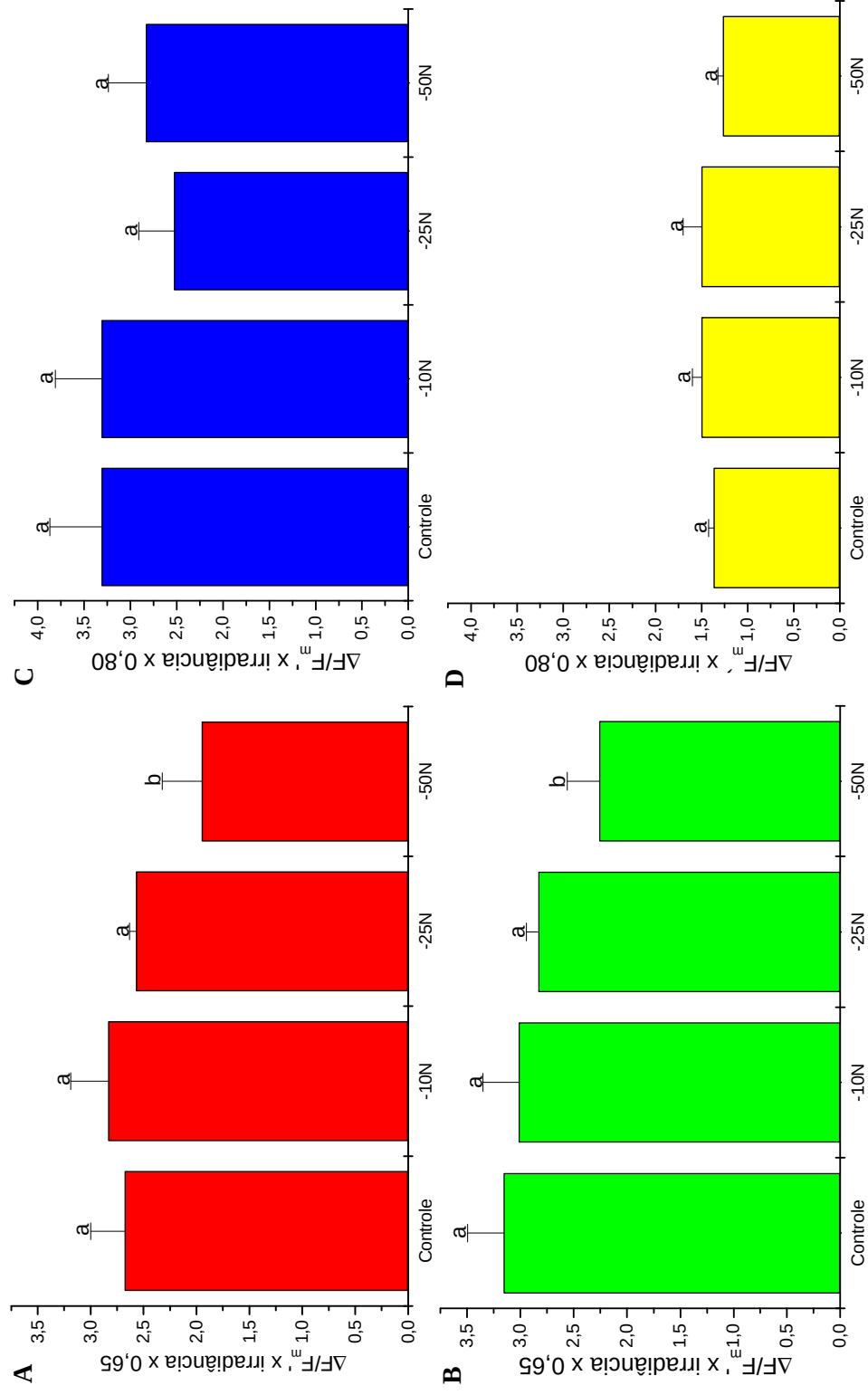


Figura 3: Taxa de transporte de elétrons (ETR) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

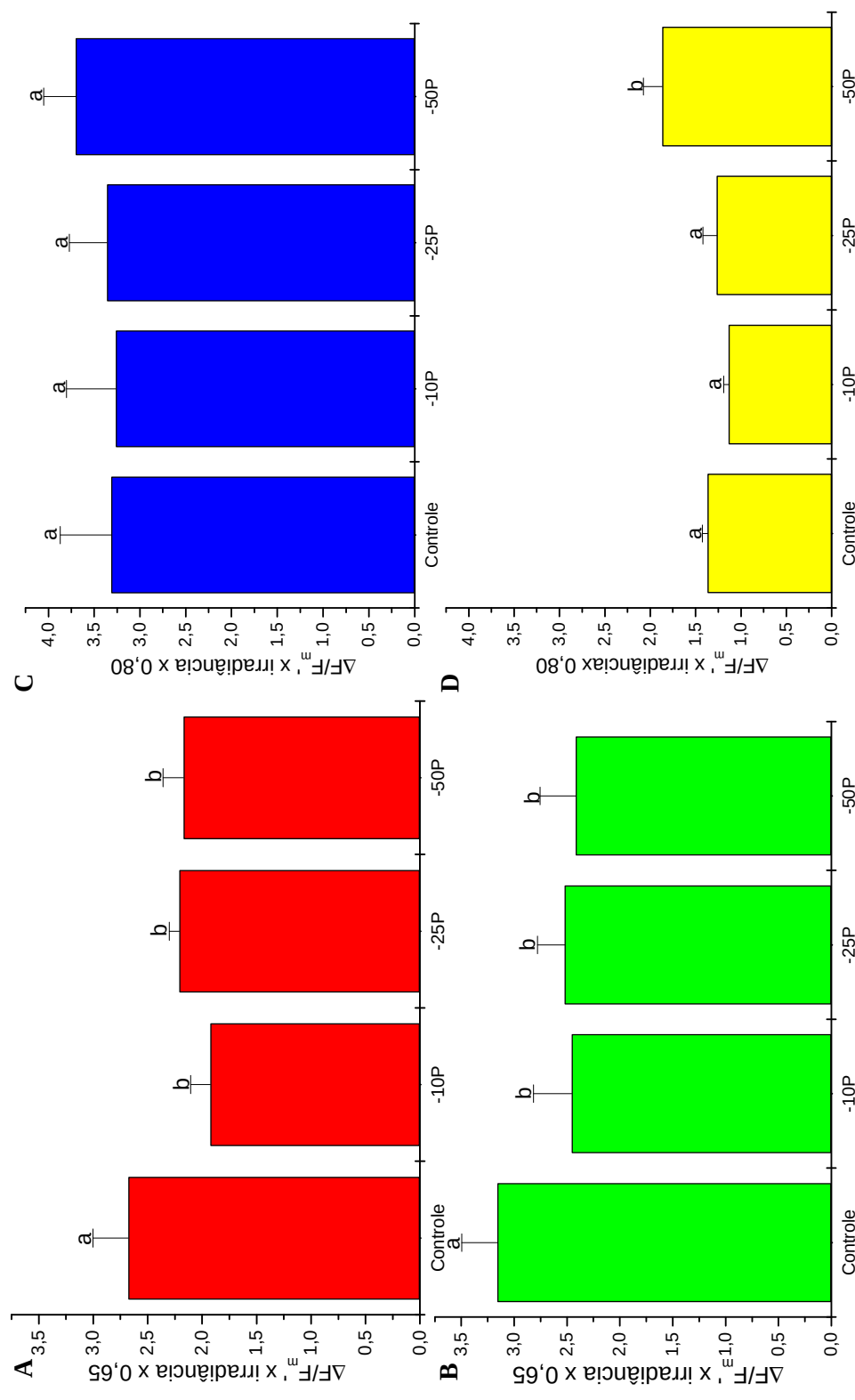


Figura 4: Taxa de transporte de elétrons (ETR) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (43); C: *B. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

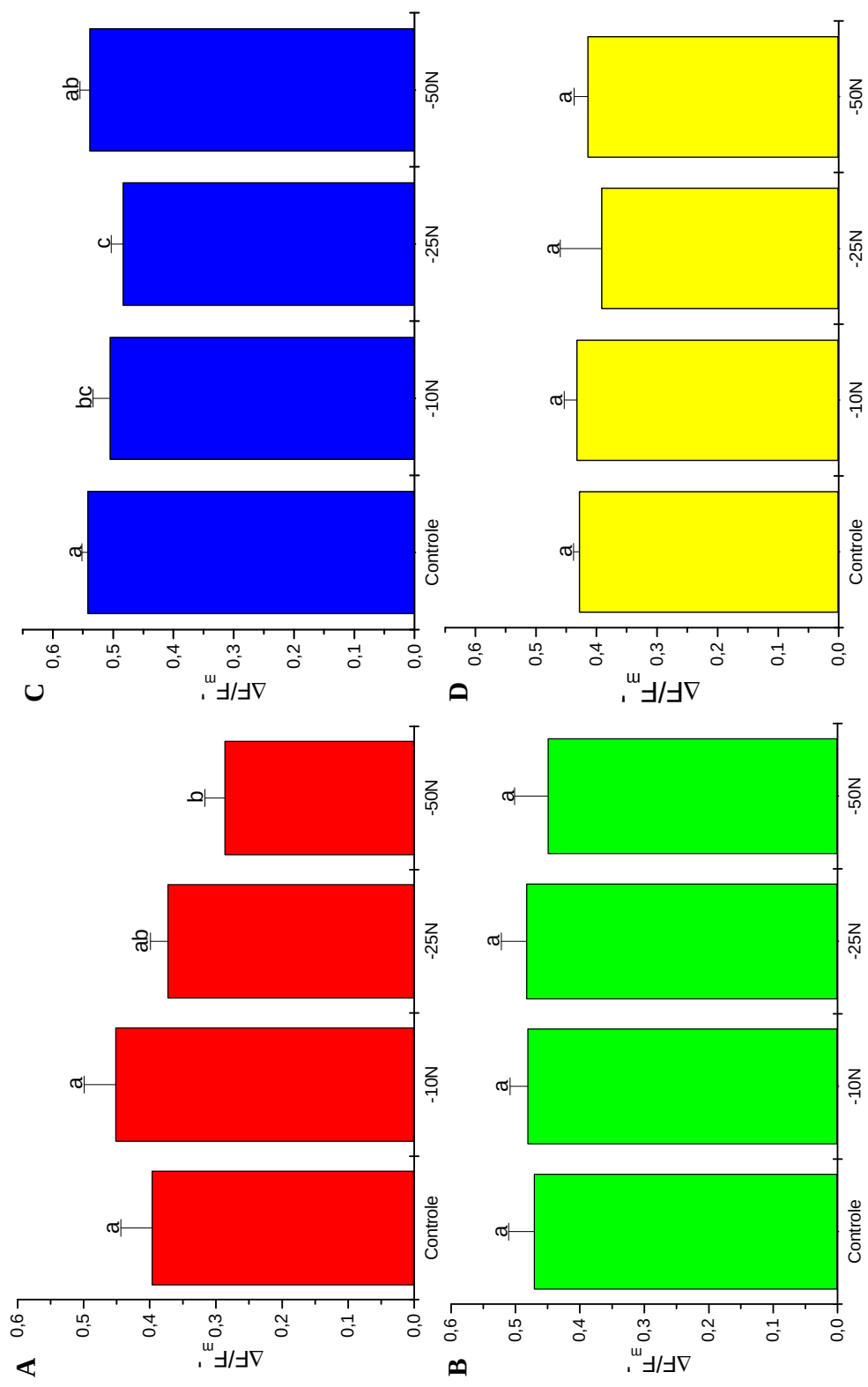


Figura 5: Rendimento quântico efetivo (RQE) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (111); C: *C. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (43). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

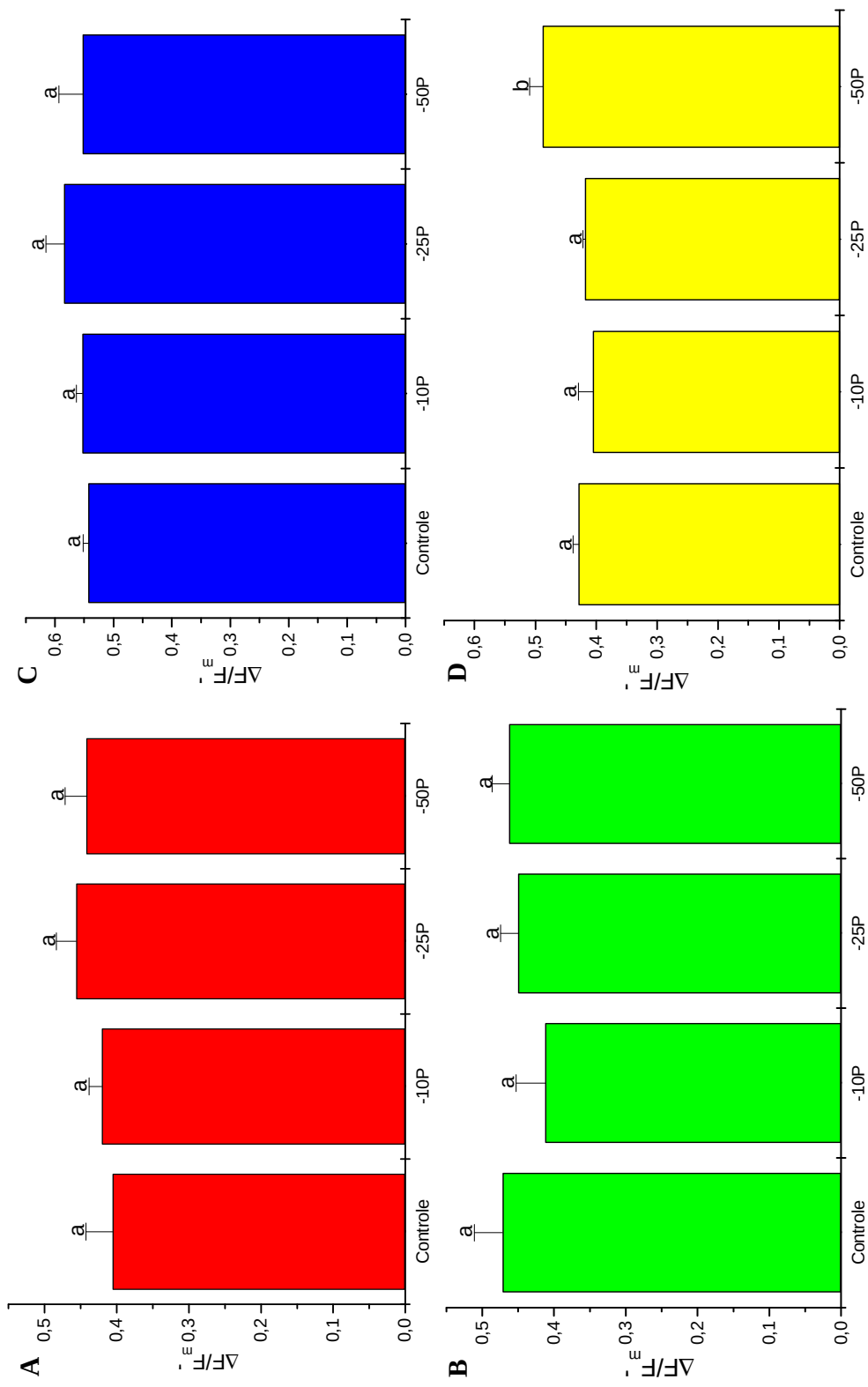


Figura 6: Rendimento quântico efetivo (RQE) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (43); C: *B. delicatulum* (58); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

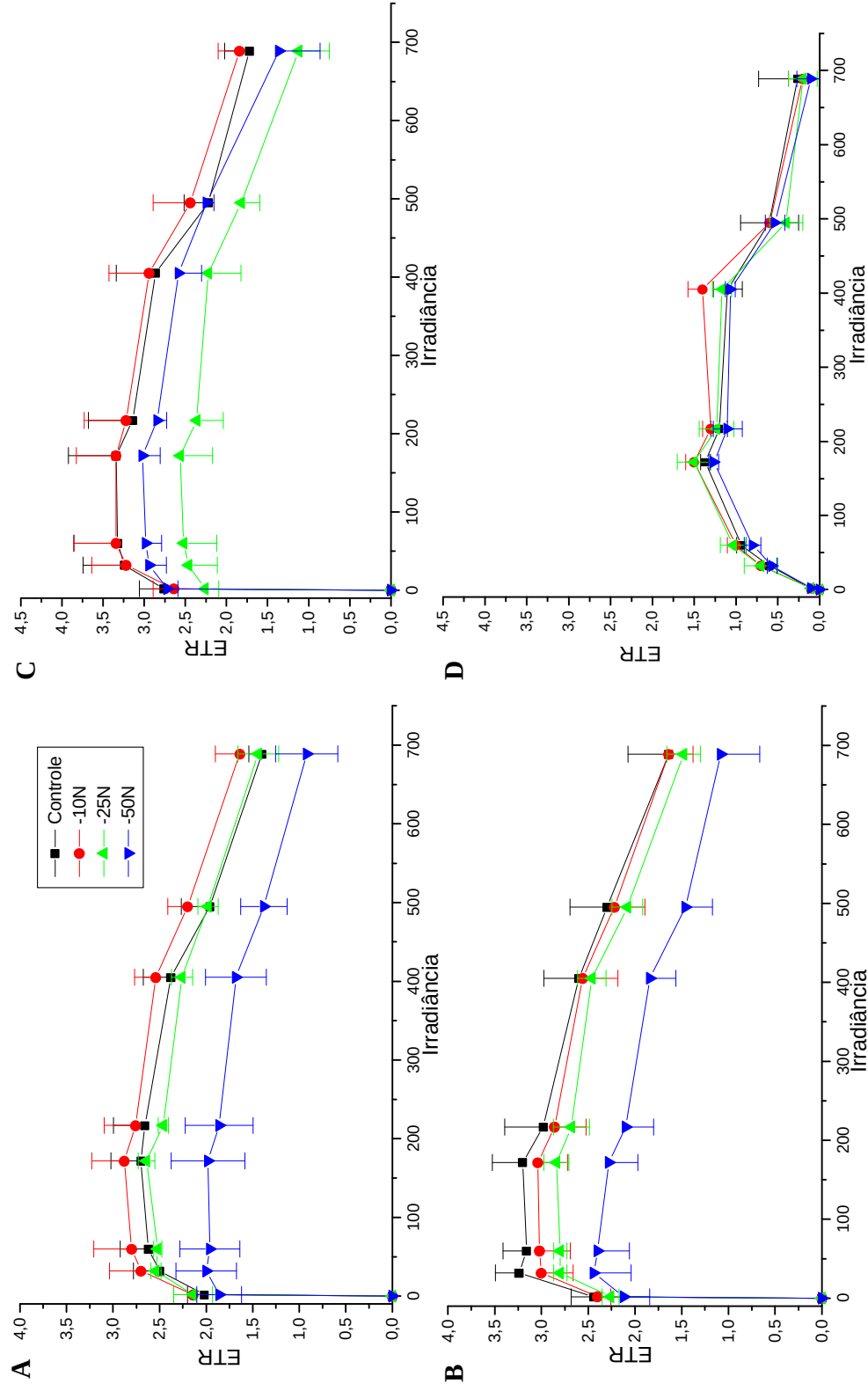


Figura 7: Curvas de Fotossíntese-Irradiância das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delictatum* (111); D: *B. delictatum* (43). Barras indicam $\pm$ DP (N=3).

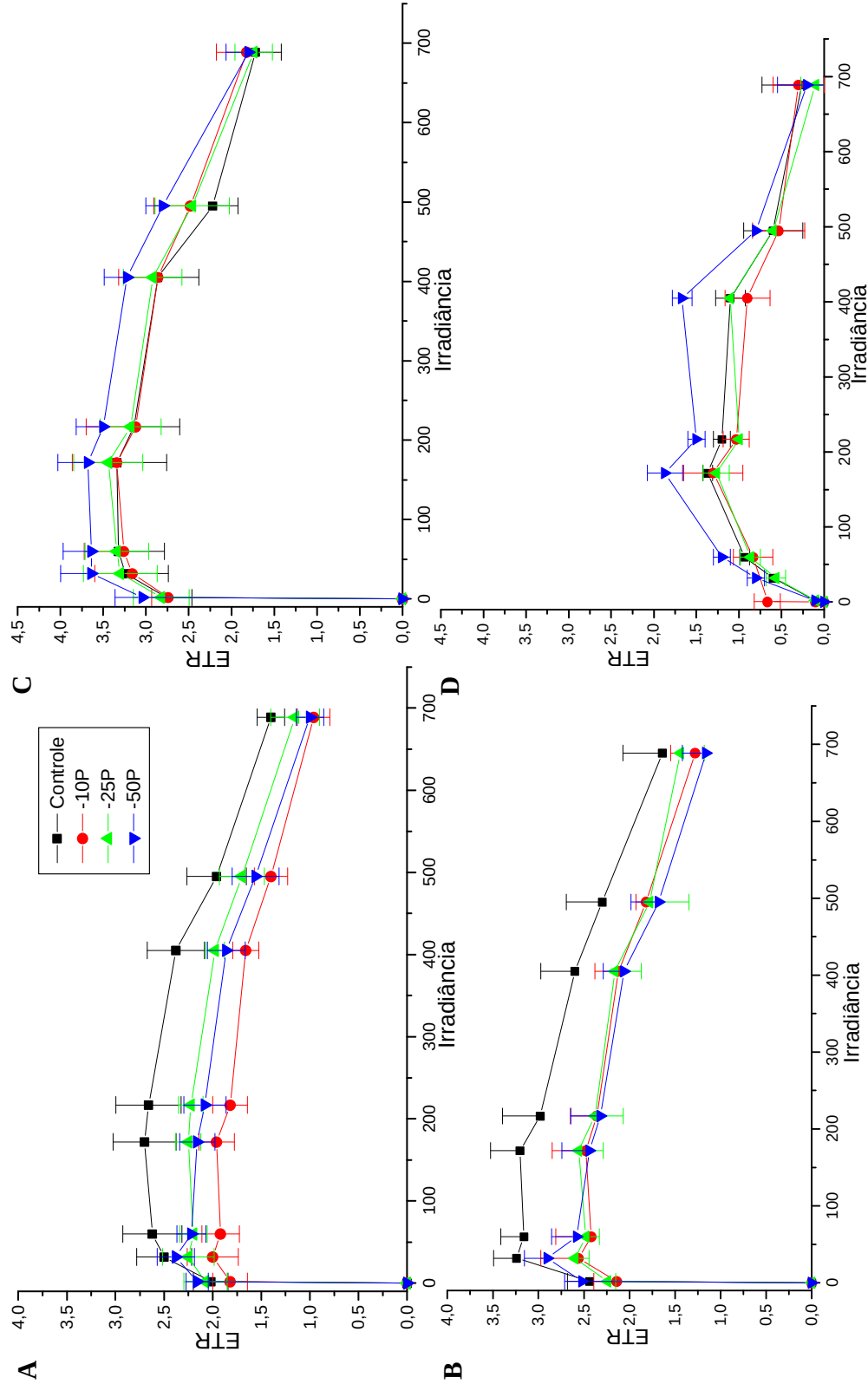


Figura 8: Curvas de Fotosíntese-Irradiância das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

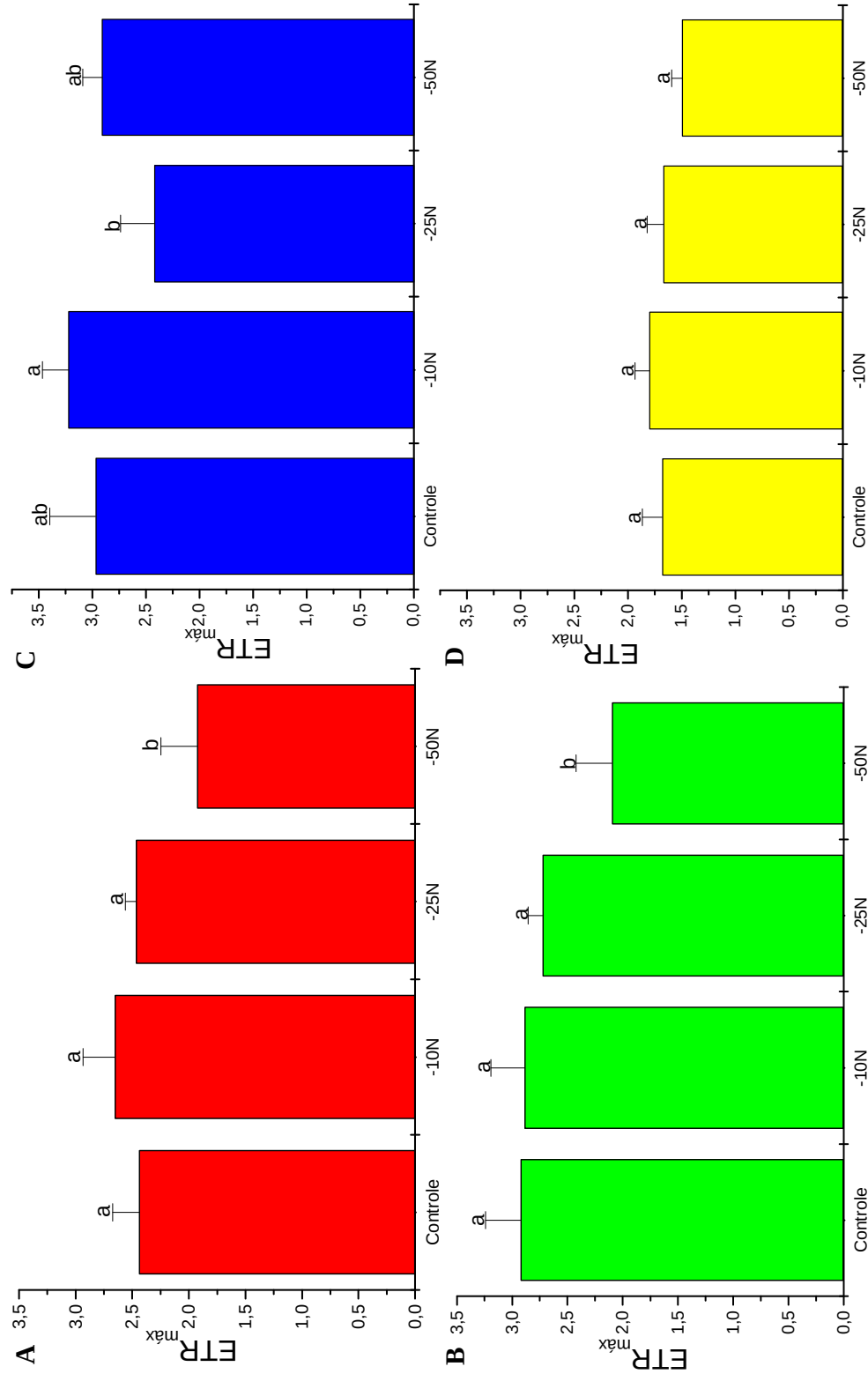


Figura 9: Fotosíntese máxima ($F_{\text{máx}}$) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (111); C: *B. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (43). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

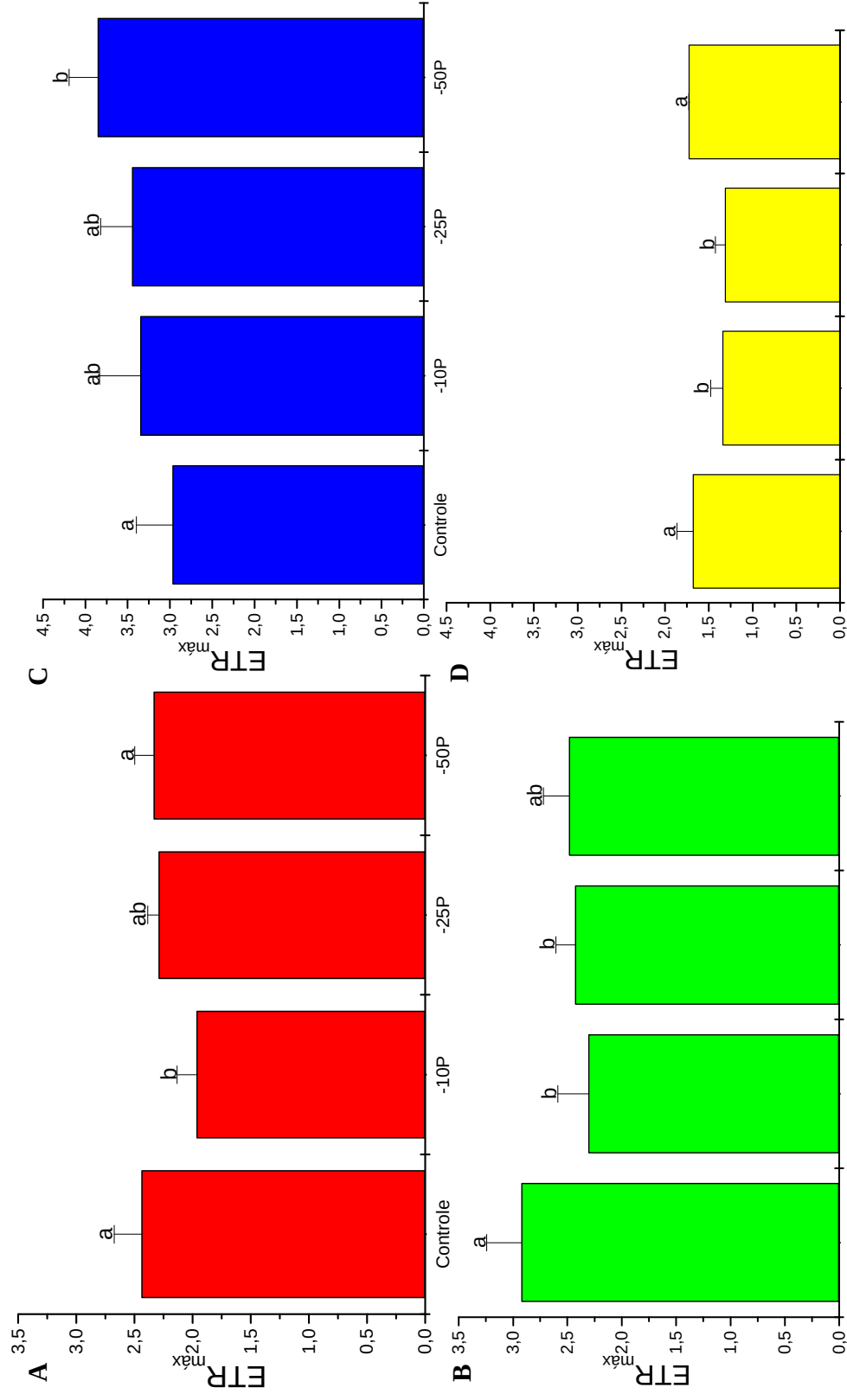


Figura 10: Fotossíntese máxima ($F_{m_{\max}}$) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (43); C: *B. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

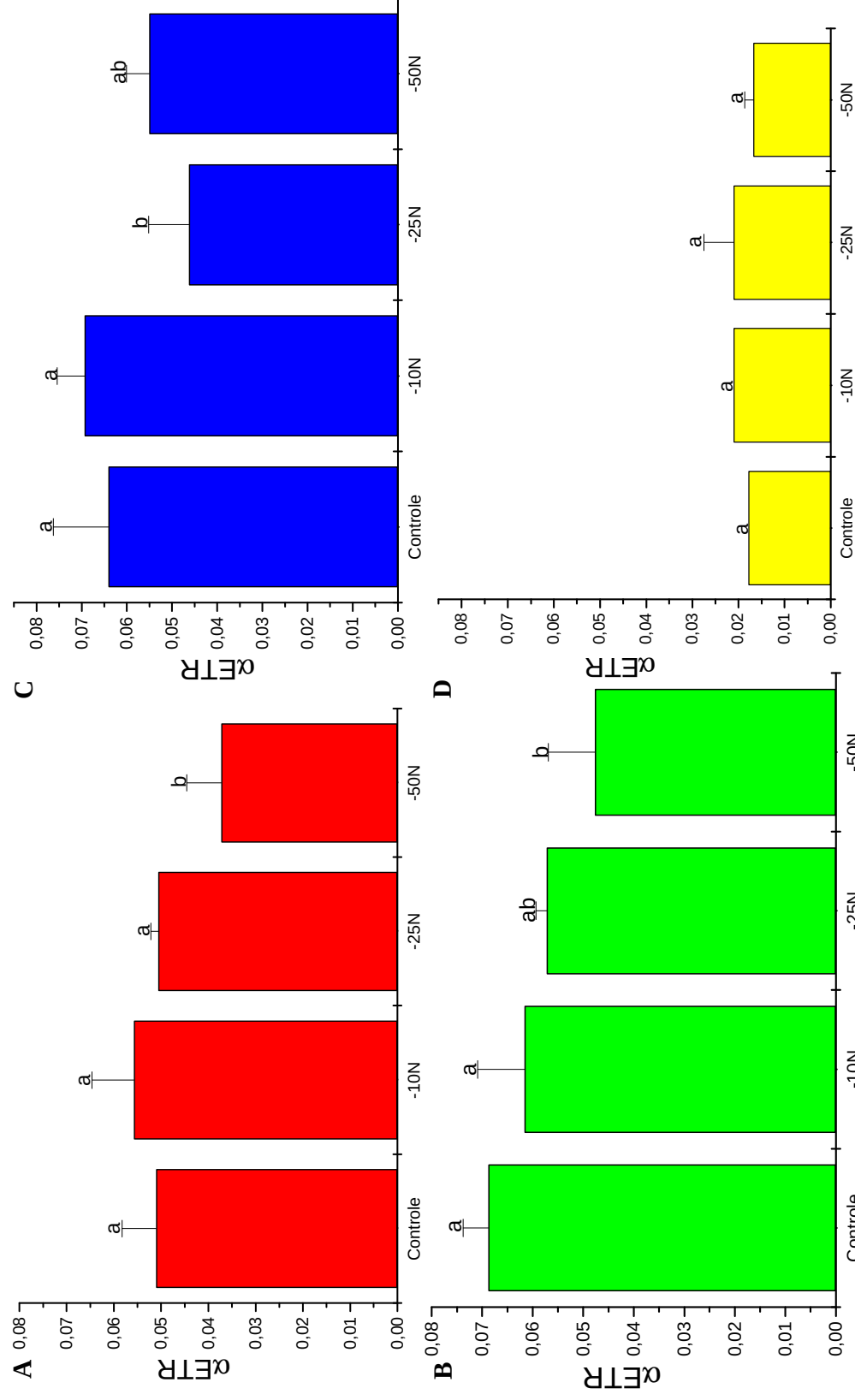


Figura 11: Eficiência fotossintética (Alfa, α) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm DP$ (A,B e C: N=5; D: N=3).

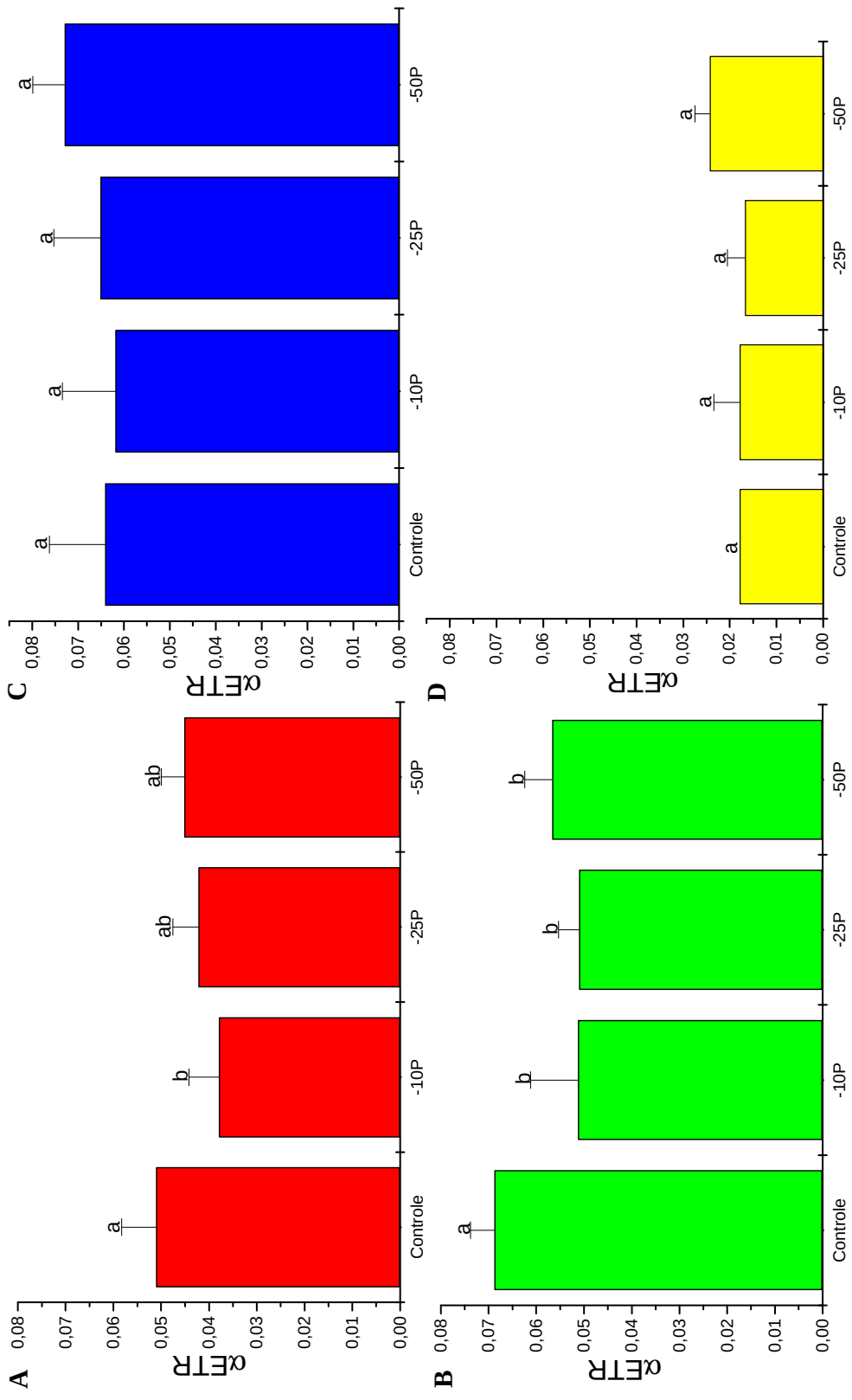


Figura 12: Eficiência fotossintética (Alfa, α) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (111); C: *C. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (43). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

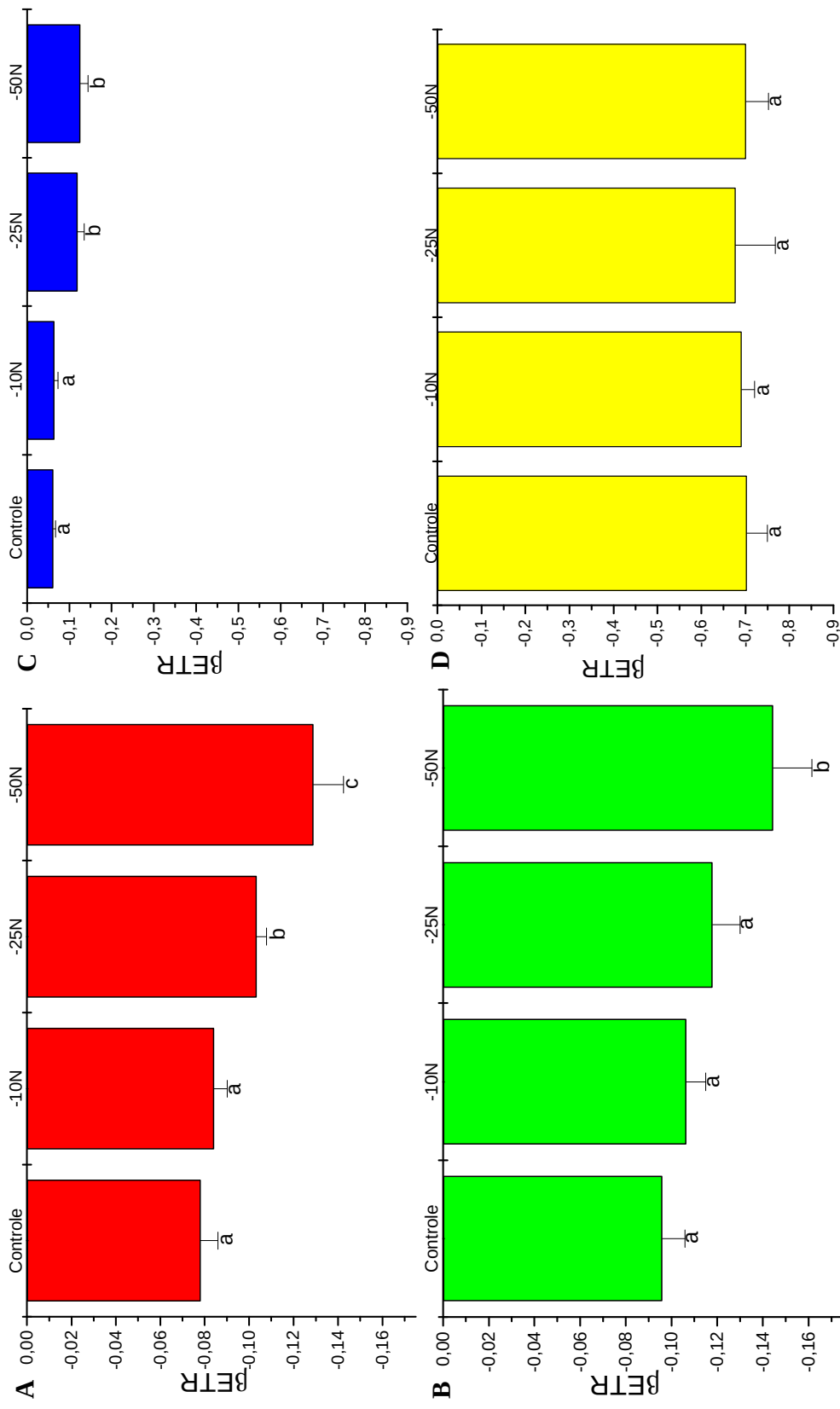


Figura 13: Parâmetro de fotoinibição (Beta, β) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

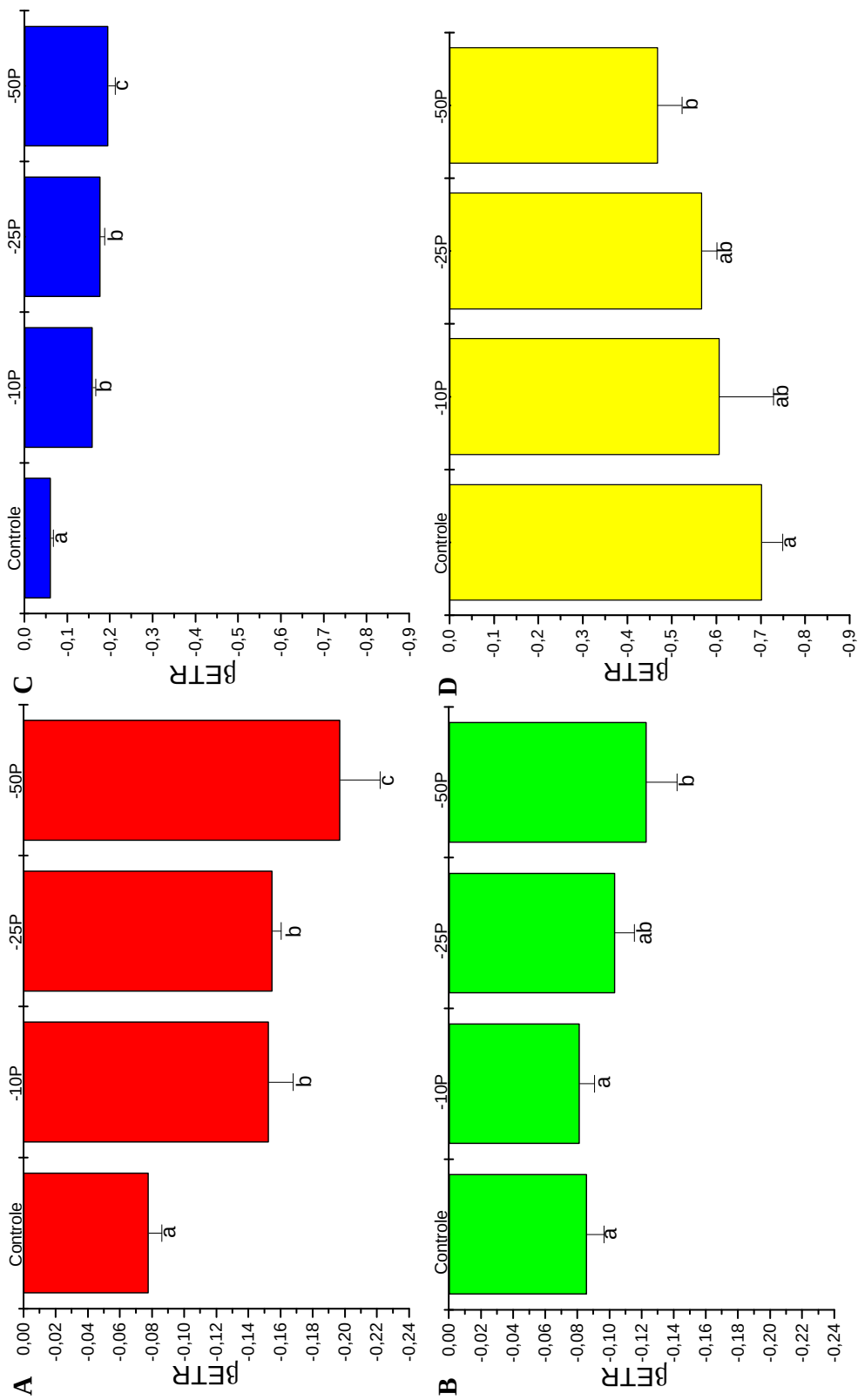


Figura 14: Parâmetro de fotoinibição (Beta, β) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

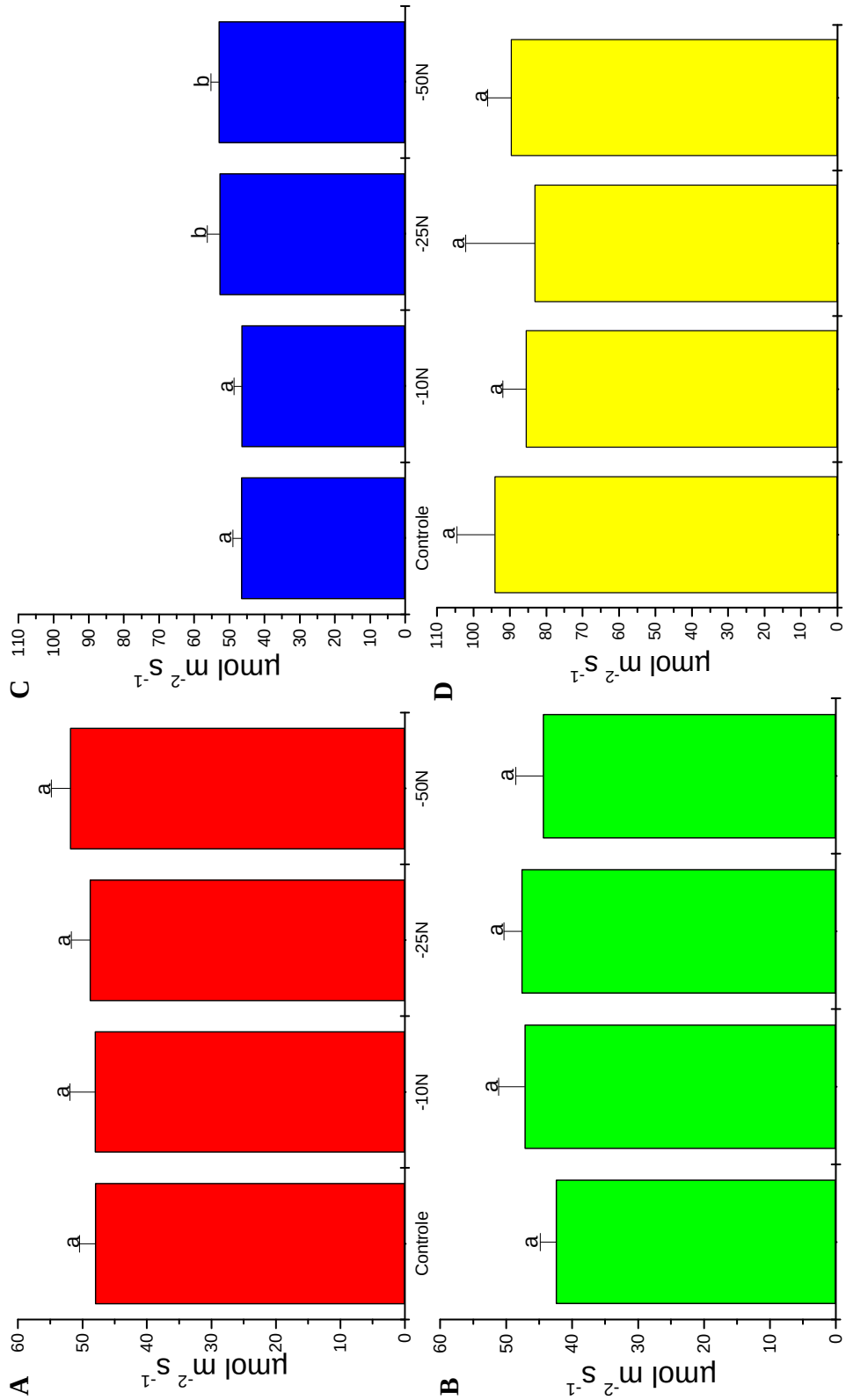


Figura 15: Parâmetro de saturação (I_k) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *B. delicatulum* (111); C: *B. coeruleus* (58); D: *C. coarctatus* (43). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

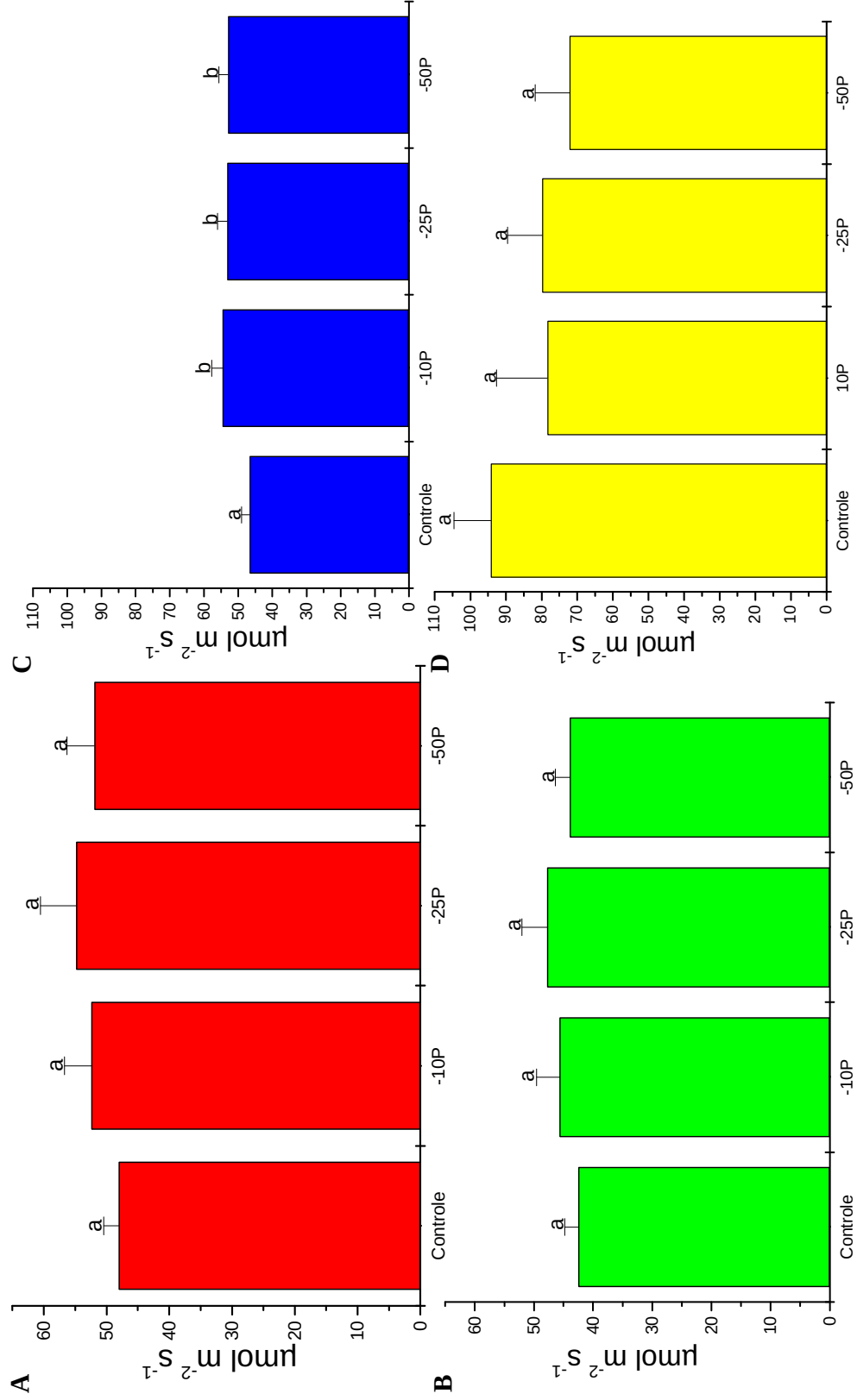


Figura 16: Parâmetro de saturação (I_k) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (58); B: *C. coeruleus* (79); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

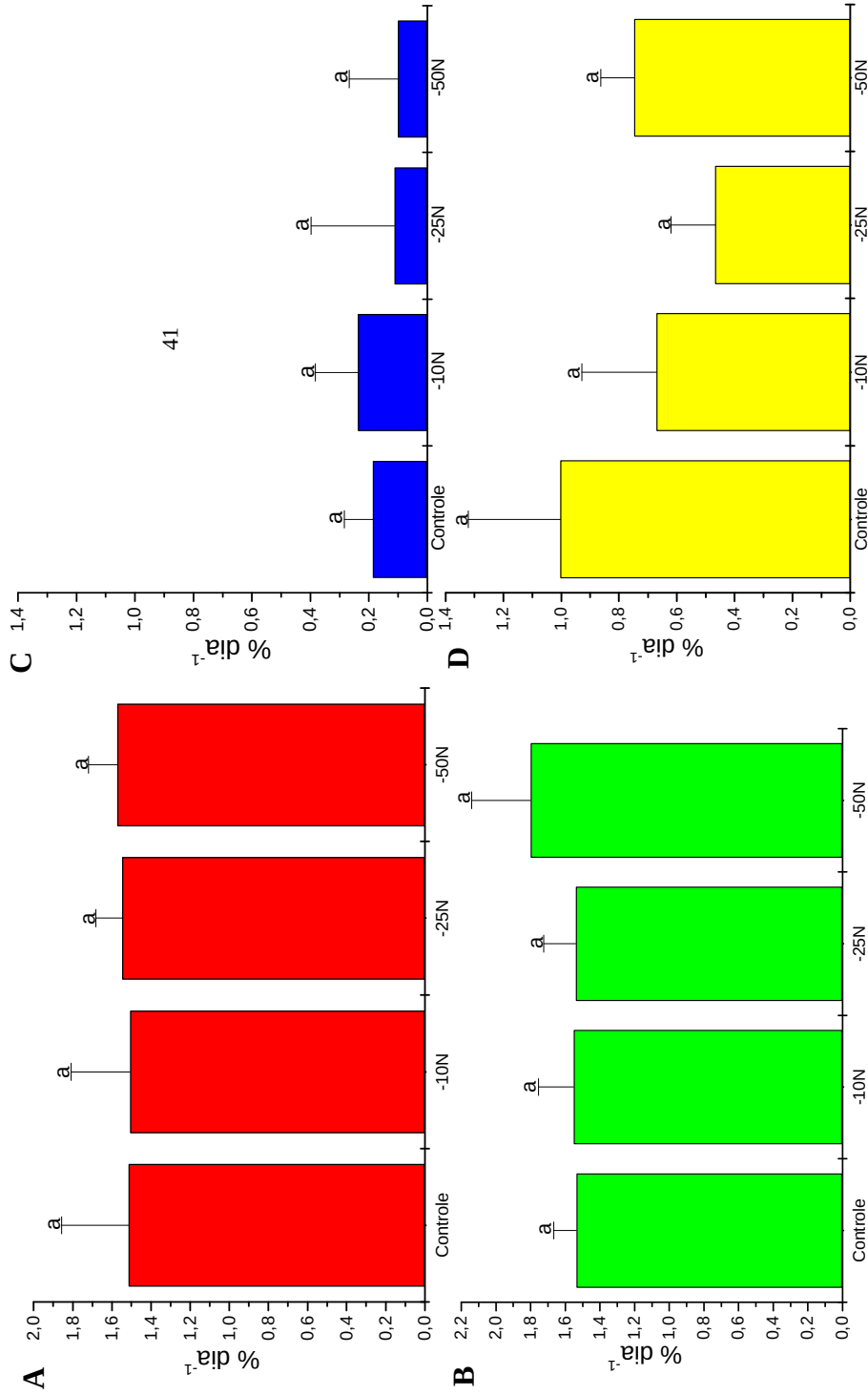


Figura 17: Taxa de crescimento relativo (% dia⁻¹) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey . A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

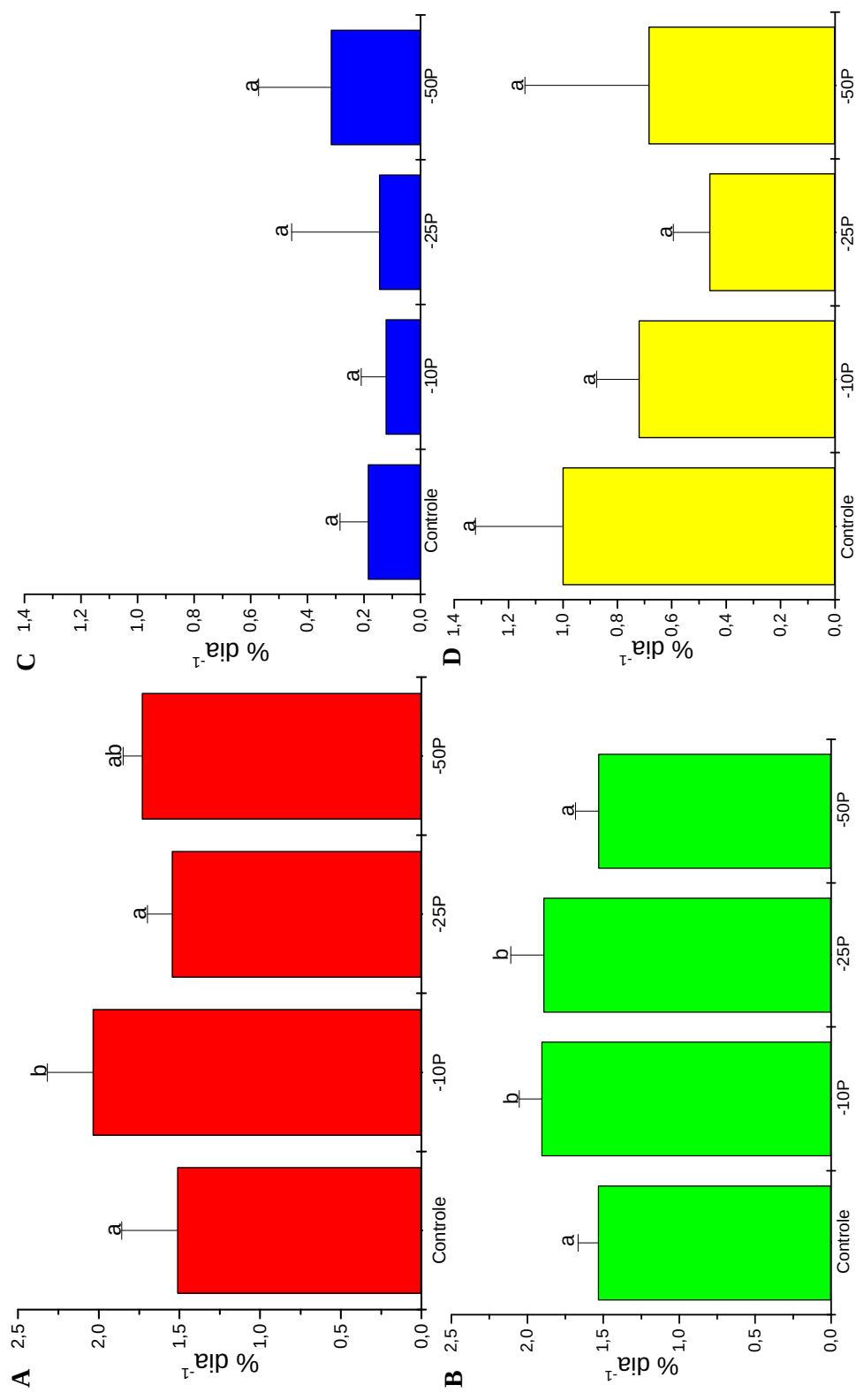


Figura 18: Taxa de crescimento relativo (% dia⁻¹) das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey . A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam ± DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

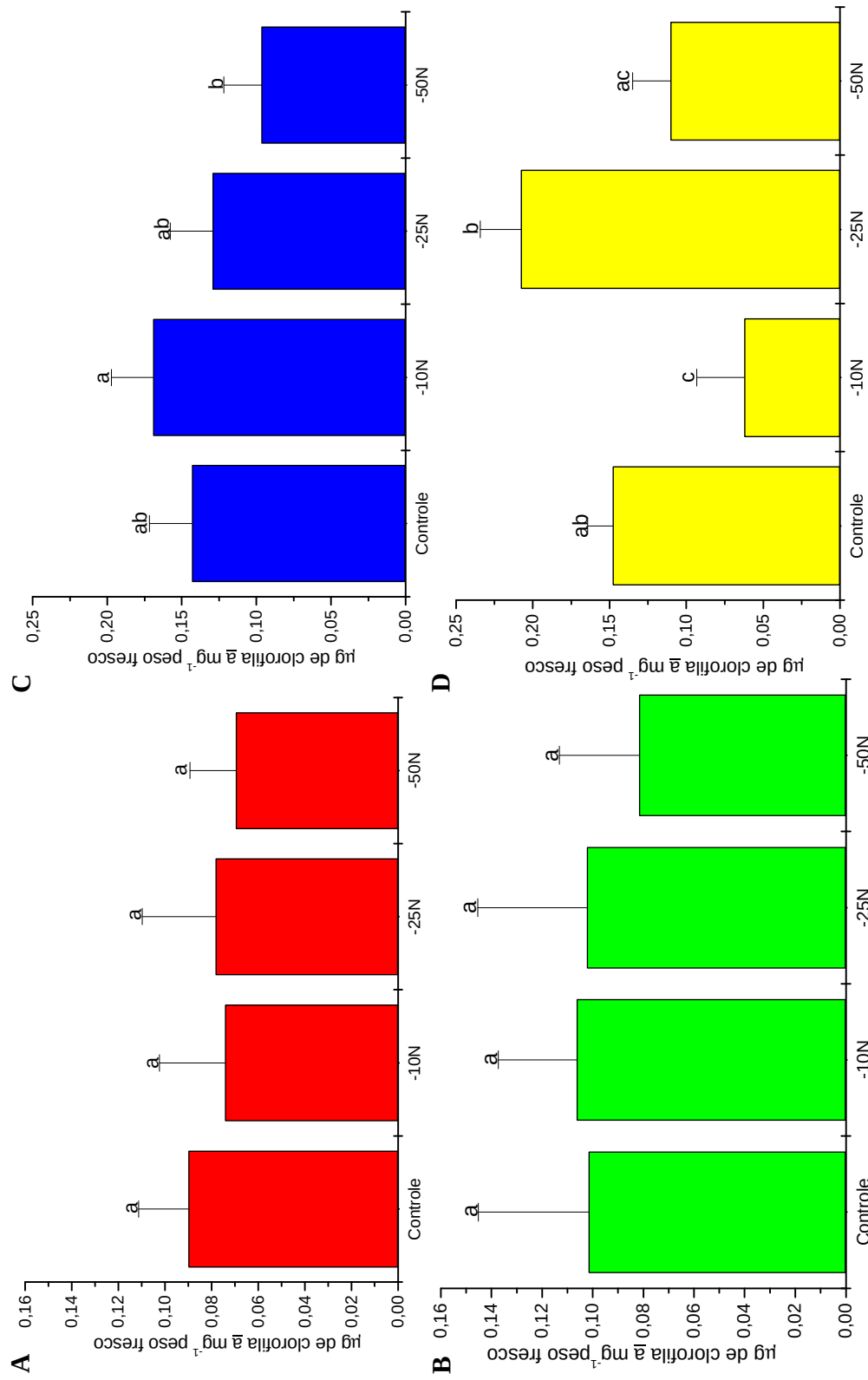


Figura 19: Conteúdo de clorofila a das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43) ; D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

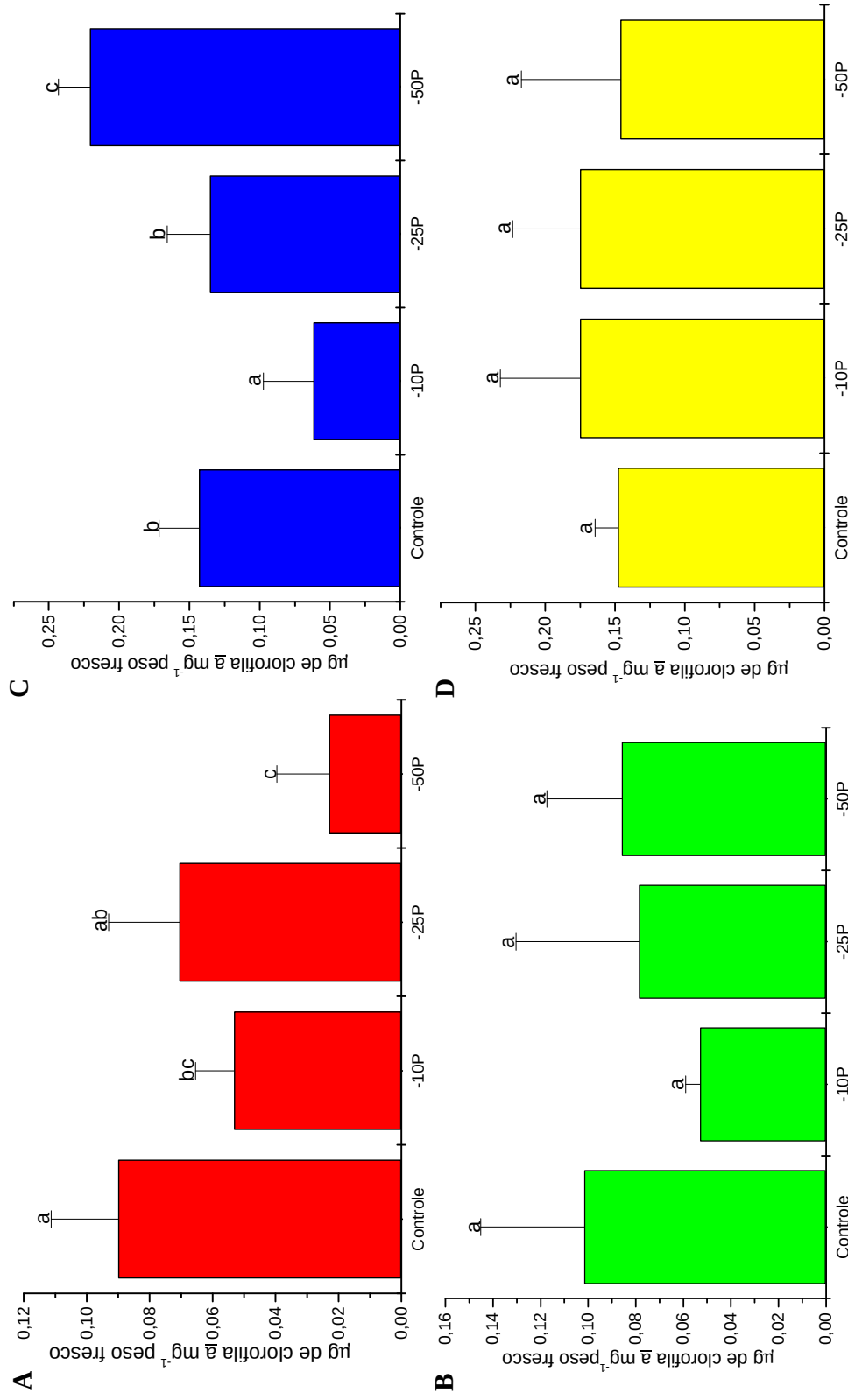


Figura 20: Conteúdo de clorofila a das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

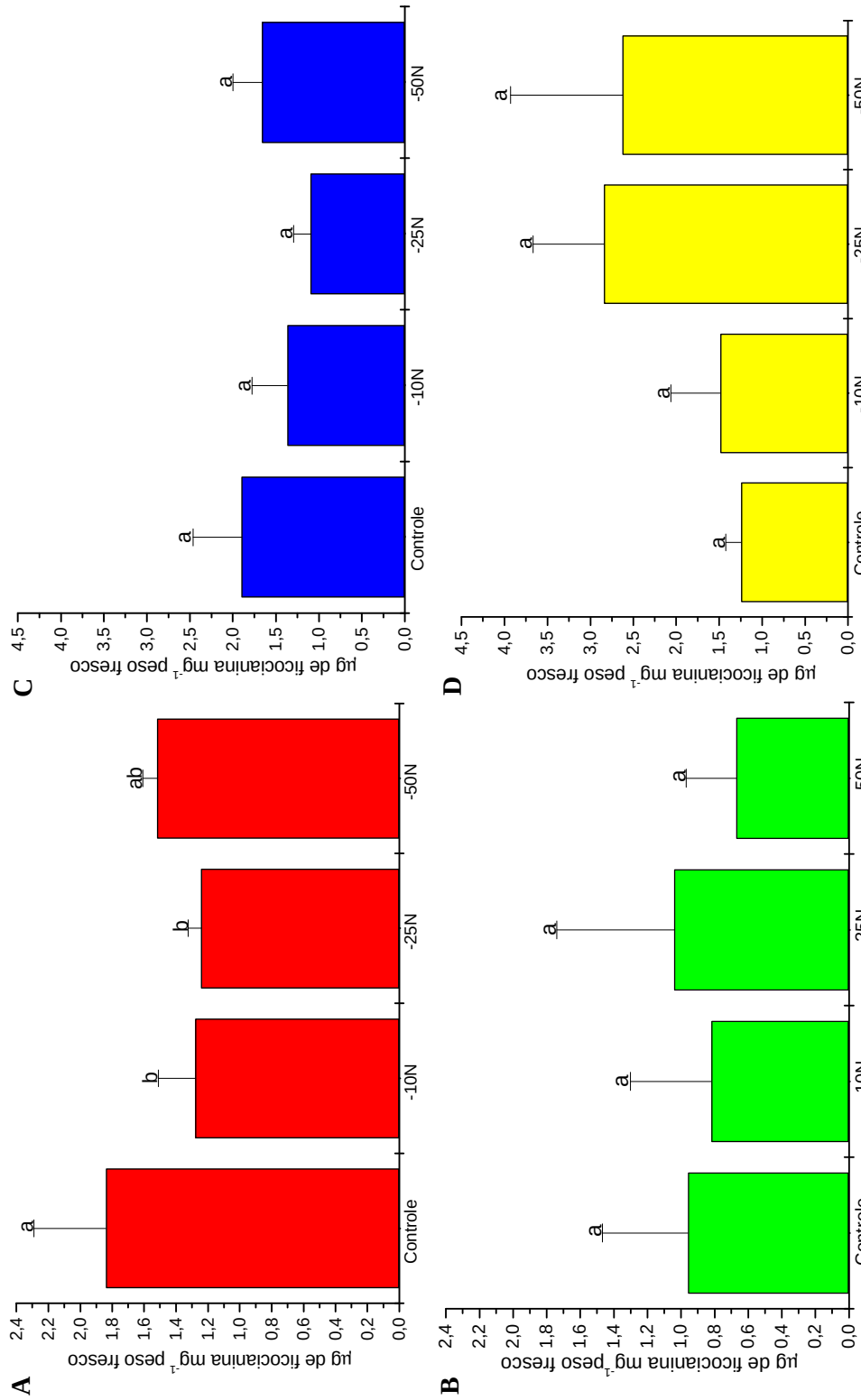


Figura 21: Conteúdo de flococianina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

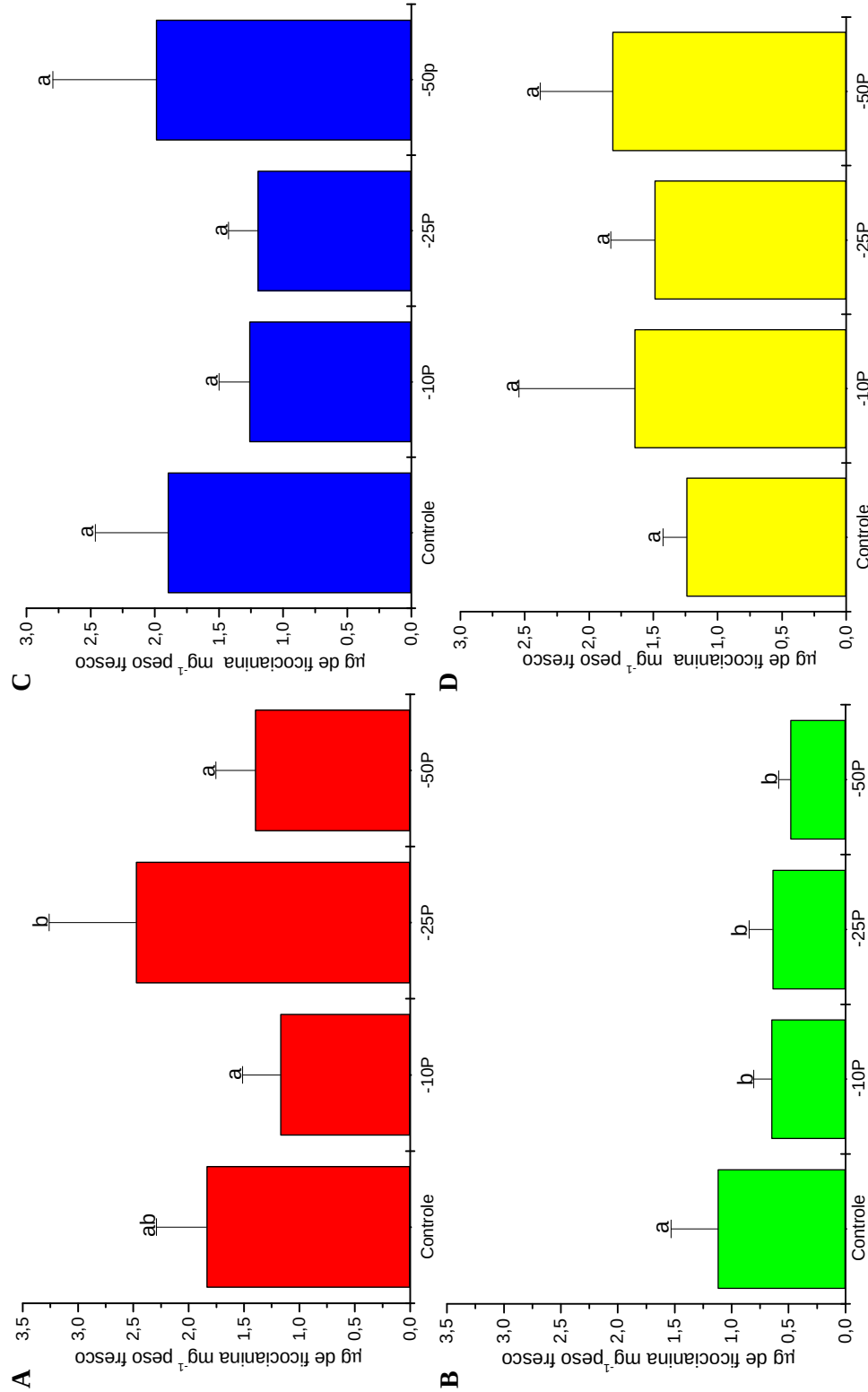


Figura 22: Conteúdo de ficocianina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

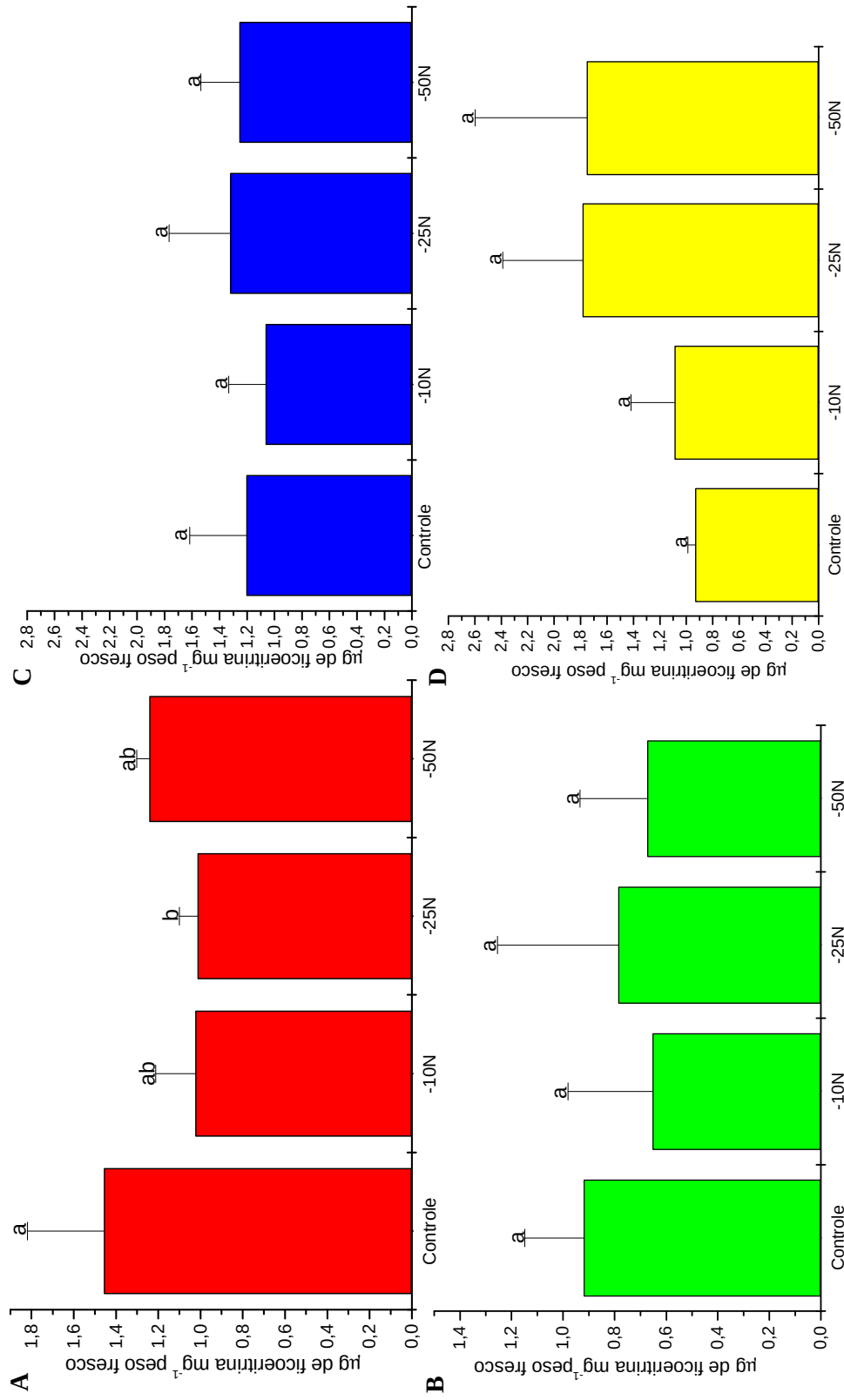


Figura 23: Conteúdo de ficolitina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

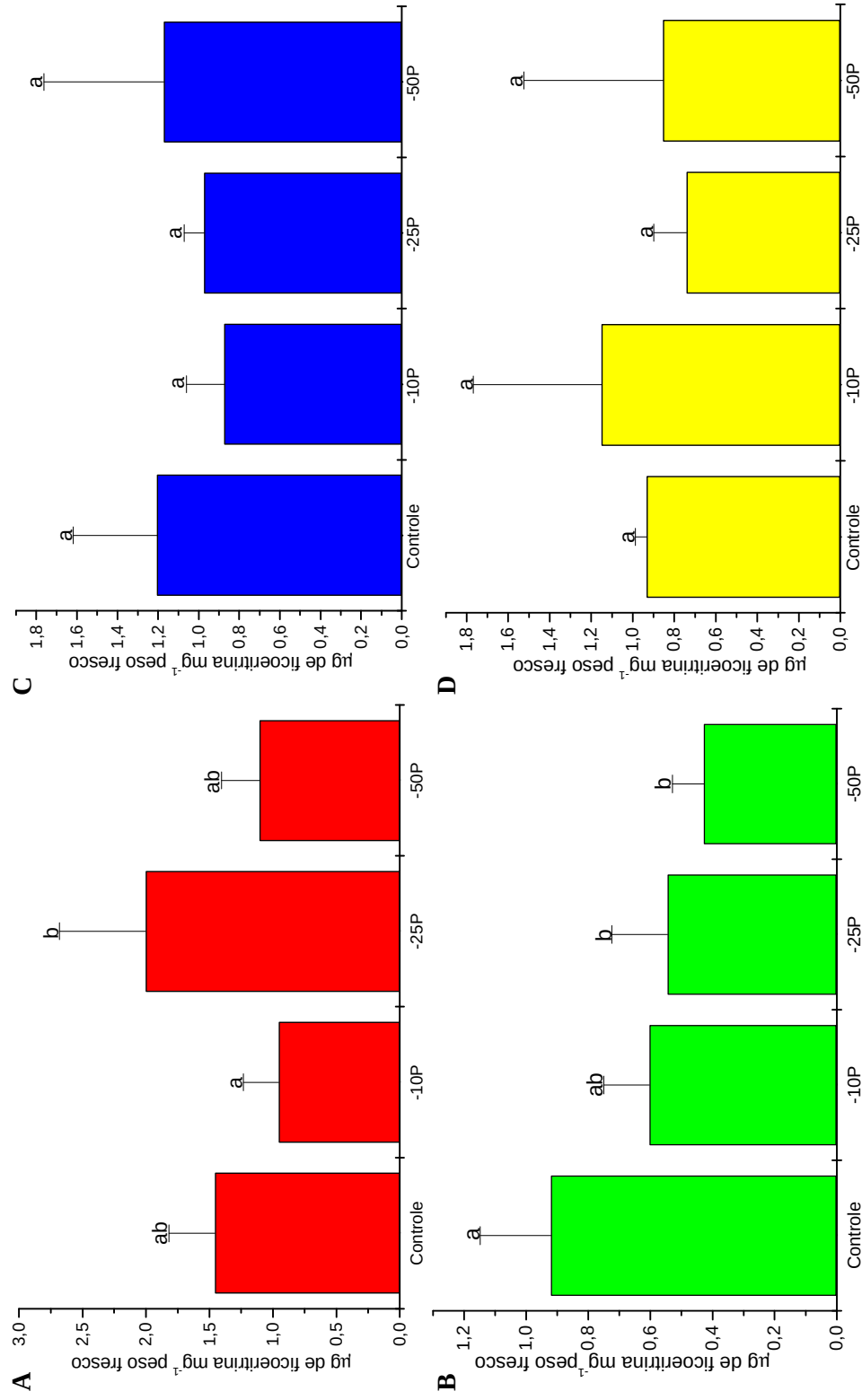


Figura 24: Conteúdo de ficocitrina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C; N=5; D; N=3).

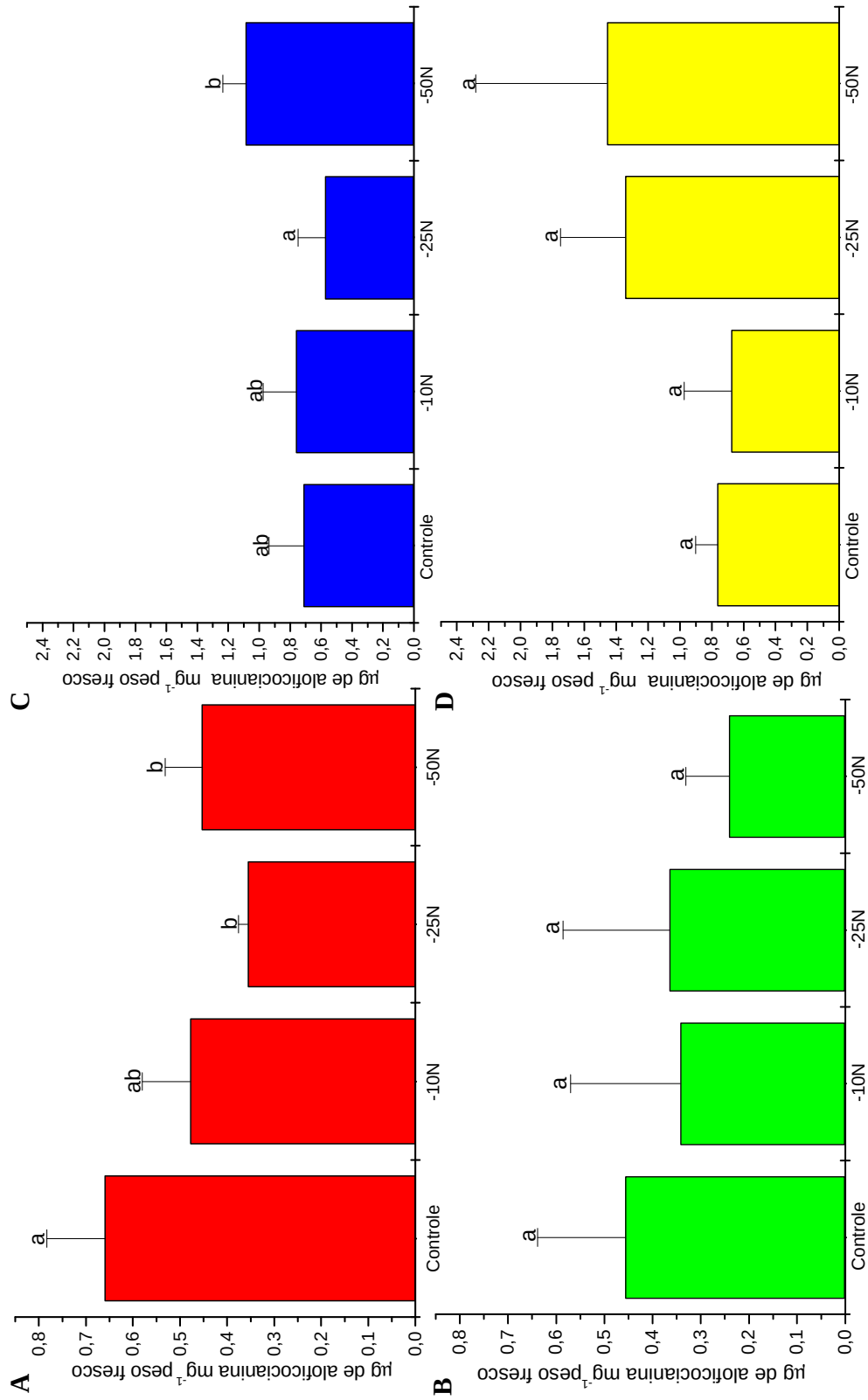


Figura 25: Conteúdo de alofocianina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C: N=5; D: N=3).

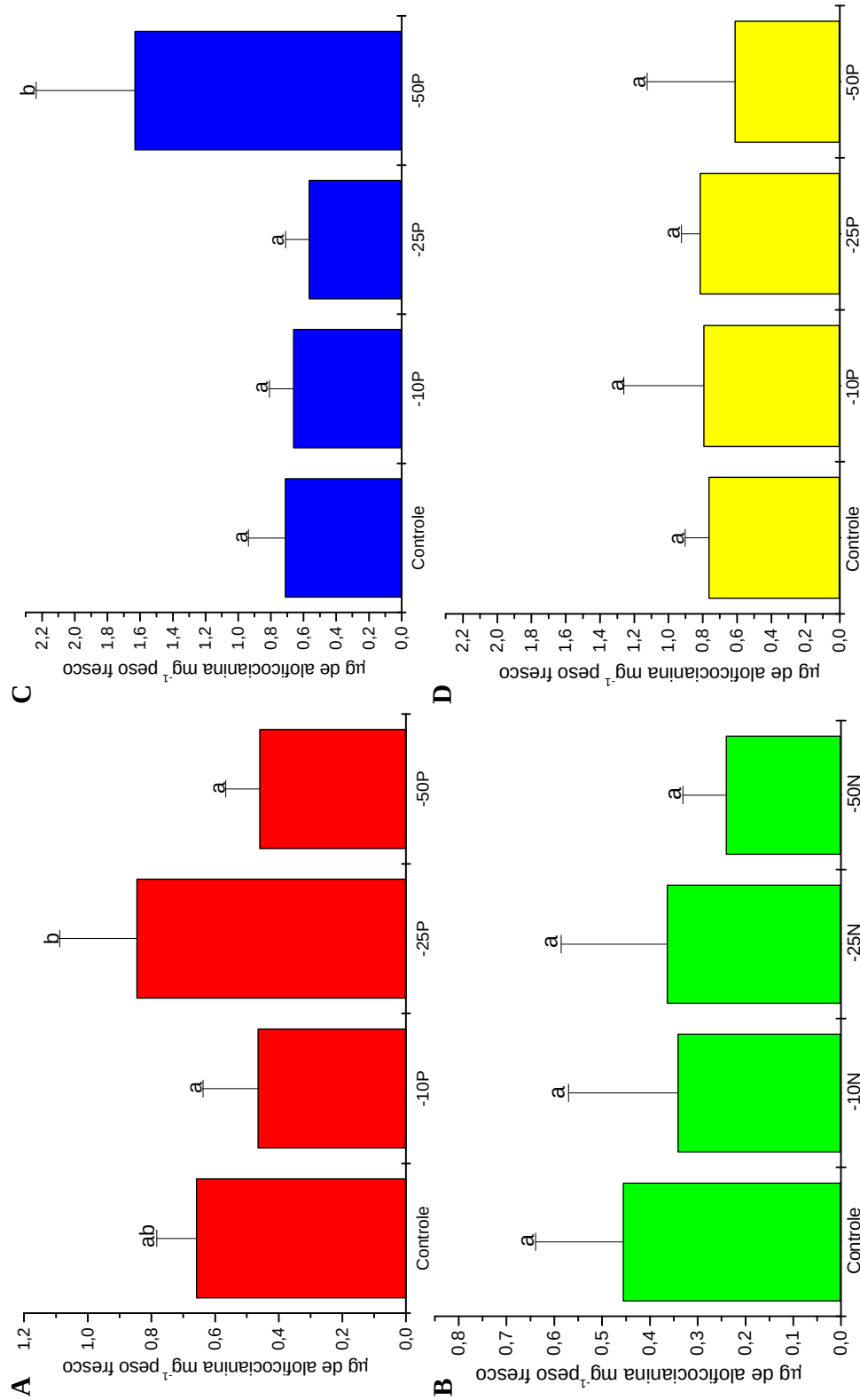


Figura 26: Conteúdo de alopecurina das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. delicatulum* (43); C: *B. coeruleus* (58); D: *B. delicatulum* (111). Barras indicam $\pm$ DP (A,B e C; N=5; D: N=3).

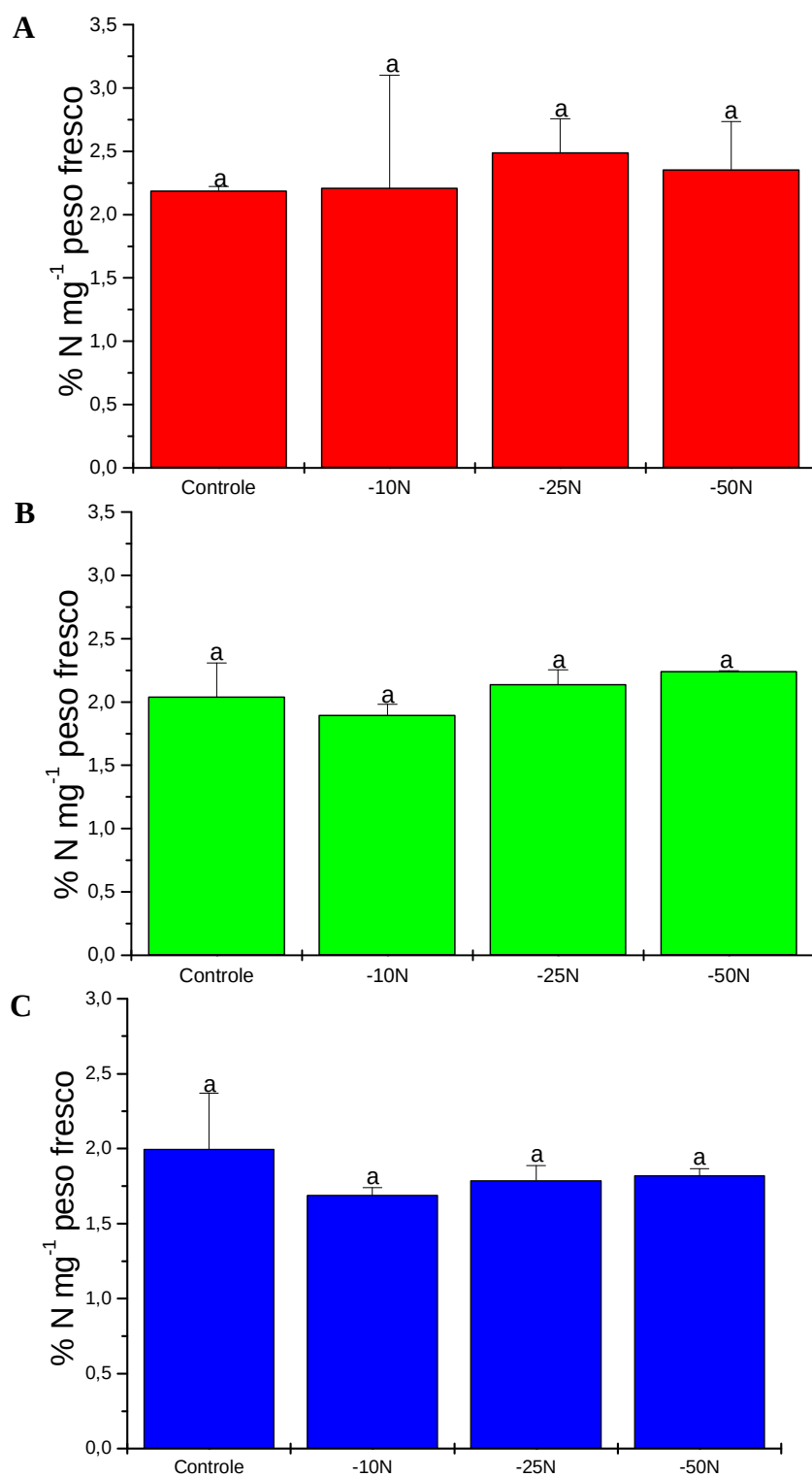


Figura 27: Composição de nitrogênio total na biomassa das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de nitrogênio. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43). Barras indicam

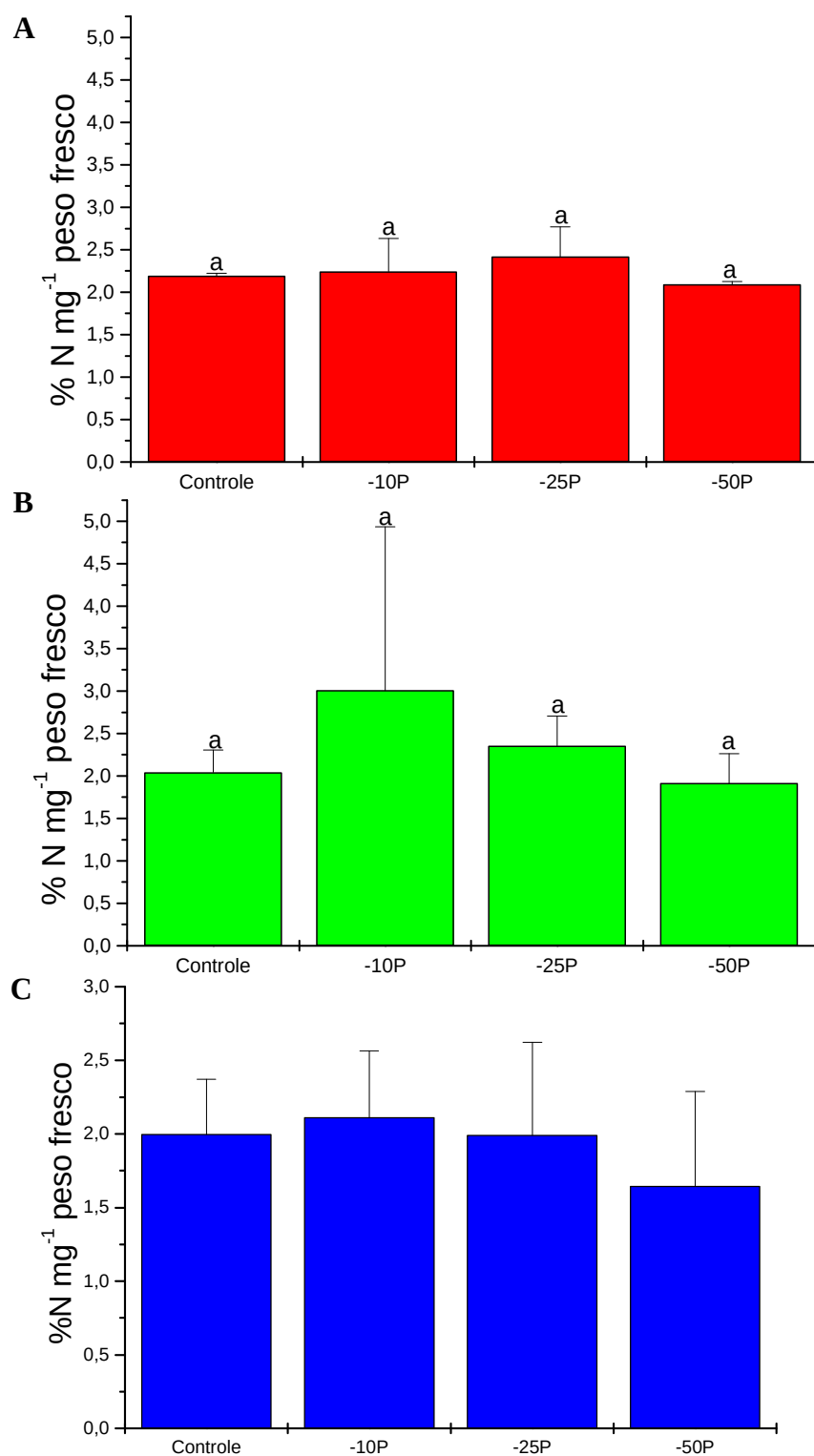


Figura 28: Composição de nitrogênio total na biomassa das espécies/populações testadas sob diferentes tratamentos de fósforo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey. A: *C. coeruleus* (79); B: *C. coeruleus* (58); C: *B. delicatulum* (43). Barras indicam

4. DISCUSSÃO

As respostas fisiológicas de uma das populações de *C. coeruleus* (isolado 79), ao empobrecimento de nitrogênio inorgânico, basicamente seguiram uma diminuição geral de suas performances conforme decréscimo na concentração deste nutriente. A taxa de transporte de elétrons (ETR), assim como o rendimento quântico efetivo (RQE), fotossíntese máxima ($F_{\text{máx}}$) e a eficiência fotossintética (α) desta espécie/população apresentaram valores significativamente menores na menor concentração, evidenciando assim uma redução na performance da alga quando da redução de nitrogênio inorgânico. GEIDER *et al.* (1998) relataram que um decréscimo no fornecimento do nutriente pode iniciar uma cascata de eventos, incluindo diminuição de captura de luz e da fixação de dióxido de carbono dentre outros eventos.

A degradação de pigmentos fotossintetizantes é uma resposta típica de algas que apresentam sintomas da escassez de nitrogênio e são amplamente descritos na literatura para Rhodophyta (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; VERGARA; NIELL, 1993; ANDRIA *et al.*, 1999). *C. coeruleus* (79) apresentou conteúdos significativamente menores de ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina nos tratamentos com diluição de nitrogênio inorgânico em relação ao Controle. De acordo com vários trabalhos (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; DAWES; KOCK, 1990), dentre os pigmentos fotossintetizantes nitrogenados, a ficoeritrina é a mais amplamente degradada sob limitação de nitrogênio, sendo por isso considerada como a principal componente de reserva de nitrogênio na divisão Rhodophyta. VERGARA; NIELL (1993) relataram que a ficocianina parece não possuir esse papel, uma vez que tem sido descrito que sua concentração é pouco alterada como resposta à limitação desse nutriente. No entanto, resultado contrário foi encontrado neste trabalho, pois não somente a ficoeritrina, mas também a ficocianina e a aloficocianina foram degradadas em condições de menores concentrações de nitrogênio. Esse fato pode ser atribuído às diferenças encontradas em Rhodophyta de águas marinhas e continentais: nas primeiras, há maiores concentrações de ficoeritrina quando comparadas às demais ficobilinas (COSTA, 2005; MARTÍNEZ; RICO, 2002), o que se reflete na coloração avermelhada. Em contraste, em algas vermelhas continentais, de coloração geralmente azul-esverdeada, o teor de ficoeritrina tende a ser inferior ao de ficocianina (BAUTISTA; NECCHI, 2007; ZUCCHI; NECCHI, 2001), sugerindo que

estas algas, na escassez de nitrogênio, podem utilizar não somente a ficoeritrina, mas também a ficocianina e a aloficocianina.

A degradação dessas ficobiliproteínas pode ser elucidada por meio do arranjo destas nos ficobilissomos (LEE, 1999). Nestes, as ficoeritrinas estão localizadas mais externamente, seguidas das ficocianinas, e, mais internamente, das aloficocianinas (LEE, 1999). Sendo assim, o primeiro pigmento a ser degradado é aquele localizado mais externamente no ficobilissomo (ficoeritrina), seguido pela ficocianina e a aloficocianina, indicando que os ficobilissomos podem ser importantes fontes de nitrogênio interno (VERGARA; NIELL, 1993). Há ainda registros na literatura que apontam a redução nas taxas de crescimento (DeBOER *et al.*, 1978; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; HWANG *et al.*, 1987) como sintoma da escassez de nitrogênio inorgânico, uma vez que mecanismos fisiológicos e bioquímicos, tais como fotossistemas, enzimas, a própria absorção de nitrogênio pela alga, podem afetar o crescimento e a capacidade fotossintética da alga (LAPOINTE; DUKE, 1984). Entretanto, nenhuma tendência de diminuição das taxas de crescimento conforme decréscimo da concentração de nitrogênio foi observada para *C. coeruleus* (79). FALKOWSKI; OWENS (1980) também relataram que a deficiência de nitrogênio causa, tipicamente, decréscimos nos pigmentos fotossintetizantes e na atividade/conteúdo de Rubisco (ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase) que correspondem aos marcados declínios de α .

A porcentagem média de nitrogênio total no tecido deste isolado foi ligeiramente maior entre os tratamentos com nitrogênio, o que indicaria que esta população teria mecanismos de armazenar nitrogênio em ambiente com deficiências deste nutriente.

As respostas fisiológicas desta população de *C. coeruleus*, ao empobrecimento de fósforo inorgânico, mostraram-se ligeiramente diferentes daquelas apresentadas para nitrogênio inorgânico. O rendimento quântico efetivo (RQE), a fotossíntese máxima ($F_{m\acute{a}x}$) e a eficiência fotossintética (α) basicamente não responderam à diminuição conforme decréscimo das concentrações de fósforo, enquanto que a taxa de transporte de elétrons (ETR) apresentou valores significativamente menores em todos os tratamentos quando comparados ao Controle. A disponibilidade de fosfato tem sido apontada como fator importante na regulação da atividade do ciclo de Calvin devido a um efeito direto do fosfato sobre a atividade específica da Rubisco (BROOKS, 1986;

ANWARRUZAMAN *et al.*, 1995) ou devido à interdependência das etapas clara e escura via ATP/ADP (SHARKEY, 1990). ROBERTS (1997) relatou que a síntese protéica pode ser regulada pelo fornecimento de fósforo, via controle de transcrição de ATP e GTP. Dessa forma, uma limitação na disponibilidade desse nutriente pode levar a uma redução do processo fotoquímico, e, conseqüentemente, alterações na taxa de transporte de elétrons, o que explica os menores valores de ETR encontrados nesta população de *C. coeruleus*.

Diferentemente dos resultados para os tratamentos com nitrogênio, não houve nenhuma tendência de aumento ou diminuição de ficoeritrina, ficocianina e/ou aloficocianina nos experimentos com fósforo, corroborando outros estudos (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; VERGARA; NIELL, 1993; ANDRIA *et al.*, 1999) de que a escassez de nitrogênio é a grande responsável pela degradação desses pigmentos.

Na outra população de *C. coeruleus* (isolado 58), as respostas fisiológicas ao empobrecimento de nitrogênio inorgânico, basicamente seguiram o mesmo padrão evidenciado na outra população de diminuição geral de suas performances conforme decréscimo na concentração deste nutriente. A taxa de transporte de elétrons (ETR), a fotossíntese máxima ($F_{máx}$) e a eficiência fotossintética (α) desta espécie/população também apresentaram valores significativamente menores no tratamento com menor concentração de nitrogênio. No entanto, o rendimento quântico efetivo (RQE), assim como todos os pigmentos fotossintetizantes não apresentaram nenhuma tendência de diminuição de seus valores conforme decréscimo nas concentrações de nitrogênio. Esses resultados sugerem que o isolado 58, apesar dos indícios de escassez deste nutriente por meio dos valores dos parâmetros fotossintéticos, não chega a apresentar a degradação de pigmentos fotossintetizantes que é uma resposta típica de algas que apresentam sintomas da escassez de nitrogênio e são amplamente descritos na literatura para Rhodophyta (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; VERGARA; NIELL, 1993; ANDRIA *et al.*, 1999).

Nos tratamentos com fósforo inorgânico, as respostas fisiológicas desta população de *C. coeruleus* também seguiram uma diminuição geral de suas performances conforme decréscimo na concentração deste nutriente. A taxa de transporte de elétrons (ETR), a eficiência fotossintética (α) e a fotossíntese máxima

($F_{\text{máx}}$) apresentaram valores significativamente menores em -50P, enquanto que os valores da eficiência fotossintética (α) foram significativamente menores em todos os tratamentos. Esse declínio de α indicaria um comprometimento da atividade de Rubisco, e, conseqüentemente, na regulação da atividade do ciclo de Calvin (BROOKS, 1986; ANWARRUZAMAN *et al.*, 1995). No entanto, os valores do rendimento quântico efetivo (RQE) não apresentaram nenhuma tendência à diminuição com decréscimo nas concentrações de fósforo. Além disso, a taxa de fotossíntese líquida entre os tratamentos mostrou-se significativamente maior entre os tratamentos em relação ao Controle. Esses resultados sugerem que as reações de carboxilação da fotossíntese (etapa escura) foram mais comprometidas que a etapa clara da fotossíntese (oxidação fotoquímica da água a oxigênio) uma vez que a fotossíntese líquida apresentou maiores valores conforme menor concentração de fósforo inorgânico.

Nos tratamentos com fósforo, todas as ficobilinas do isolado 58 apresentaram-se com valores significativamente menores em relação ao Controle, diferentemente do resultado apresentado para o isolado 79. Como explicado anteriormente, trabalhos relatam que a degradação de ficobilinas, em especial ficoeritrina, é devido à escassez de nitrogênio (LAPOINTE, 1981; BIRD *et al.*, 1982; LAPOINTE; DUKE, 1984; DAWES; KOCK, 1990). Essa afirmação foi corroborada pelos resultados de *C. coeruleus* (79), mas não pode ser aplicada para *C. coeruleus* (58). Um estudo bioquímico, tal como análise da ocorrência e atividade de fosfatase poderia auxiliar a elucidar as razões dessa diferença.

A porcentagem média de nitrogênio total na biomassa deste isolado também foi ligeiramente maior entre os tratamentos com nitrogênio, o que também indicaria que esta população teria mecanismos de armazenar nitrogênio em ambiente com deficiências deste nutriente, porém, diferentemente do isolado 79, esta população teve uma tendência de queda de nitrogênio total em seu tecido entre os tratamentos com diluição de fósforo inorgânico. Estes resultados indicam que o isolado 58 pode ter uma interdependência fósforo-nitrogênio muito maior que a outra população da mesma espécie, ou seja, uma vez que no meio há menor concentração de fósforo, esta população parece não conseguir armazenar quantidades suficientes de nitrogênio, o que pode ser evidenciado pelas menores concentrações de ficobilinas e nitrogênio total nos tratamentos com fósforo.

Os resultados para as duas populações de *C. coeruleus* indicam, portanto, que ambas responderam à disponibilidade de nitrogênio e fósforo de modos diferentes. Nos tratamentos com nitrogênio, o isolado 79 respondeu com uma diminuição mais acentuada da performance geral em relação ao isolado 58, o que corrobora a hipótese proposta no trabalho de que a população da mesma espécie, proveniente de ambientes com distintos níveis de trofia e saprobia, responderia, de maneiras distintas. Nesse caso, *C. coeruleus* (isolado 58), oriunda de ambiente eutrófico/oligossapróbico, respondeu com uma diminuição menos acentuada da performance geral em relação à *C. coeruleus* (isolado 79), oriunda de ambiente eutrófico/mesossapróbico.

Entretanto, para os experimentos com fósforo, o isolado 79 respondeu com uma diminuição menos acentuada da performance geral em comparação ao isolado 58. BORCHARDT (1996) relatou que fósforo e nitrogênio são os nutrientes mais comumente estudados, sendo eles os principais responsáveis pela limitação do crescimento. Além disso, destaca que o principal nutriente limitante em um ambiente parece variar geograficamente. FALKOWSKI *et al.* (1998) também comenta que a limitação de nutriente provavelmente varia espacial e temporalmente. Com isso, conclui-se que, como essas populações são geograficamente distintas, a história evolutiva de seus respectivos locais de origem levou a divergências em relação ao tipo de nutriente limitante, indicando uma clara diferença fenotípica e uma possível diferença genotípica entre elas. Pode-se supor, então, que as respostas fisiológicas destas populações ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos dependem mais do tipo de nutriente limitante presente no meio do que o grau de trofia e saprobia deste ambiente.

As respostas fisiológicas de uma das populações de *B. delicatulum* (isolado 43), ao empobrecimento de nitrogênio inorgânico, basicamente seguiram uma ligeira tendência de diminuição da performance conforme decréscimo na concentração deste nutriente. Isso pode ser evidenciado pela taxa de transporte de elétrons (ETR), fotossíntese máxima ($F_{máx}$) e a eficiência fotossintética (α) desta população, que geralmente apresentaram valores mais baixos nas duas menores concentrações testadas. Além disso, o ponto de saturação (I_k) foi significativamente maior nas duas maiores diluições de nitrogênio, indicando que mais luz foi requerida para saturar a fotossíntese, isto é, os fotossistemas foram menos eficientes, e os valores de fotoinibição (β)

mostraram-se significativamente maiores nos tratamentos com menores concentrações de nitrogênio. Essas evidências mostram, assim, uma ligeira redução na performance da alga com redução de nitrogênio inorgânico.

Em relação aos pigmentos fotossintetizantes, foi observada uma nítida tendência de decréscimo do conteúdo de clorofila conforme diminuição da concentração de nitrogênio, o que não aconteceu com os demais pigmentos. Esse resultado pode ser atribuído à diminuição da síntese de clorofila. Além disso, a porcentagem média de nitrogênio total na biomassa deste isolado, diferentemente dos resultados para *C. coeruleus*, foi ligeiramente menor entre os tratamentos com nitrogênio, o que pode indicar que esta população não teria mecanismos de armazenar nitrogênio em ambiente com deficiências deste nutriente e/ou estaria aclimatada em ambientes com essas características, apesar da ligeira diminuição da performance da alga quando da redução de nitrogênio inorgânico.

O decréscimo do conteúdo de clorofila e a menor porcentagem de nitrogênio total na biomassa encontrados no isolado 43 coadunam com GEIDER *et al.* (1998) que relataram que um decréscimo no fornecimento do nutriente pode iniciar uma cascata de eventos, incluindo redução do conteúdo de nutriente na célula, levando à diminuição de captura de luz e da fixação de dióxido de carbono, seguido por uma diminuição da síntese proteica e da redução do potencial de crescimento, levando às reduções nas quotas das proteínas e pigmentos fotossintéticos.

As respostas fisiológicas ao empobrecimento de fósforo inorgânico desta população de *B. delicatulum*, mostraram-se nitidamente diferentes daquelas apresentadas para nitrogênio inorgânico. O rendimento quântico efetivo (RQE), a taxa de transporte de elétrons (ETR), a fotossíntese máxima ($F_{máx}$) e a eficiência fotossintética (α) geralmente responderam com aumento dos seus valores conforme decréscimo das concentrações de fósforo. Além disso, o conteúdo de clorofila também foi maior entre os tratamentos.

As respostas fisiológicas ao empobrecimento de nitrogênio inorgânico para a outra população de *B. delicatulum* (isolado 111), mostraram tendências menos evidentes que as apresentadas para o isolado 43. A taxa de transporte de elétrons (ETR), fotossíntese máxima ($F_{máx}$) e a eficiência fotossintética (α) desta população não apresentaram qualquer tendência nítida de aumento/diminuição de seus valores em

relação aos tratamentos de nitrogênio inorgânico. Em contrapartida, todos os pigmentos fotossintetizantes, exceto clorofila, tiveram uma clara tendência de aumento dos seus conteúdos conforme diminuição da concentração de nitrogênio, apesar dos valores não diferirem significativamente. Esse resultado indica que mesmo com menor disponibilidade de nitrogênio no meio de cultura, esta população não somente não utilizou as ficobilinas como fonte de nitrogênio interna como também conseguiu produzir maiores conteúdos de pigmentos fotossintetizantes.

Nos tratamentos com fósforo inorgânico, as respostas fisiológicas do isolado 111 mostraram-se diferentes daquelas apresentadas para nitrogênio inorgânico. O rendimento quântico efetivo (RQE), a taxa de transporte de elétrons (ETR) e a eficiência fotossintética (α) responderam com um ligeiro aumento dos seus valores conforme decréscimo das concentrações de fósforo, enquanto que os valores de β foram significativamente mais baixos na menor concentração de fósforo inorgânico em relação ao Controle. Além disso, nenhum pigmento fotossintetizante seguiu uma tendência de aumento/diminuição conforme decréscimo na concentração deste nutriente.

Com isso, pode-se observar que as duas populações de *B. delicatulum* responderam de formas distintas às concentrações de nitrogênio, especialmente em relação aos pigmentos fotossintetizantes: no isolado 43 parece ter ocorrido redução na síntese de clorofila com o decréscimo de nitrogênio no meio, enquanto que no isolado 111 o conteúdo de ficobilinas aumentou conforme menor concentração de nitrogênio. Esses dados sugerem, portanto, que as duas populações possuem estratégias distintas de respostas da concentração de pigmentos em relação ao empobrecimento de nitrogênio.

Os resultados encontrados nos tratamentos com fósforo para *B. delicatulum* foram basicamente semelhantes nas duas populações e revelaram uma importante característica: esta espécie mostrou-se muito mais sensível às diferentes concentrações de fósforo do que às de nitrogênio, evidenciando assim, que o fato de ser relatada como típica de ambientes saudáveis (oligotróficos/oligossapróbicos) (NECCHI *et al.*, 1994; BRANCO; NECCHI, 2006) e, portanto, serem estrategistas S, pode estar mais relacionado à disponibilidade de fósforo do que à de nitrogênio. Ambas populações mostraram aumento de suas performances fisiológicas sob concentrações decrescentes de fósforo, o que geralmente não ocorreu em relação ao nitrogênio. Além disso, o isolado 43, oriundo de ambiente oligotrófico/oligossapróbico, quando comparado ao

isolado 111, proveniente de ambiente eutrófico/ mesossapróbico, não respondeu com aumento geral da performance ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo como seria esperado com base na hipótese proposta.

Considerando as duas espécies, *C. coeruleus* e *B. delicatulum*, pôde-se observar que ambas apresentaram respostas fisiológicas distintas ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo: *C. coeruleus* apresentou uma diminuição geral da performance, enquanto que *B. delicatulum* apresentou um aumento geral de sua performance no tratamento com fósforo inorgânico, e geralmente não mostrou tendência nítida para nitrogênio. Esses resultados corroboraram a hipótese proposta que *C. coeruleus*, característica de ambientes eutróficos, responderia ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos com uma diminuição mais acentuada da performance em relação à *B. delicatulum*, típica de ambientes oligotróficos. Além disso, esses dados confirmam trabalhos que relatam *C. coeruleus* como espécie geralmente encontrada em ambientes moderadamente poluídos (mesossapróbicos) (ABOAL, 1989; NECCHI *et al.*, 1994; PERES, 2002), ao passo que *Batrachospermum spp.* (BIGGS *et al.*, 1998; SKINNER; TOWNSEND, 2005) e particularmente, *B. delicatulum* (NECCHI *et al.*, 1994; BRANCO & NECCHI, 1996) são comumente relatada como características de ambientes tipicamente não poluídos (oligotróficos/oligossapróbicos).

Algas vermelhas continentais ocorrem tipicamente em águas saudáveis (oligotróficas/oligossapróbicas) e são raras ou ausentes em riachos e rios que apresentam poluição orgânica, com muito sedimento ou quantidades elevadas de nutrientes (SHEATH, 1984). Neste trabalho *B. delicatulum* respondeu com aumento característico de sua performance somente no tratamento com fósforo. Um estudo mais aprofundado de limitação desse nutriente seria bastante recomendável, uma vez que esses resultados indicam que sua distribuição na Natureza pode estar mais ligada à distribuição de fósforo do que à de nitrogênio, o que representaria um aprimoramento importante para seu uso futuro como espécie bioindicadora de ecossistemas aquáticos continentais tropicais. *C. coeruleus* apresentou melhor performance em maiores concentrações de nutrientes, o que corrobora que este táxon é um bom indicador de ambientes enriquecidos (eutróficos/mesossapróbicos). No entanto, as duas populações mostraram-se distintas no modo como utilizam esse recurso e sugerindo, portanto, uma provável diferença fenotípica entre elas.

5. CONCLUSÃO GERAL

Os principais resultados do estudo sob condições de cultura das respostas fisiológicas ao empobrecimento de nutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo) de duas rodófitas, *C. coeruleus* e *B. delicatulum*, com estratégias ecológicas distintas e provenientes de ambientes com distintos níveis de saprobidade e trofia podem ser resumidos conforme segue:

1 - Os resultados para as duas populações de *C. coeruleus* (isolados 79 e 58) indicaram que ambas responderam à disponibilidade de nitrogênio e fósforo de modos diferentes: nos experimentos com nitrogênio, o isolado 79 respondeu com uma diminuição mais acentuada da performance geral em relação ao isolado 58, corroborando a hipótese proposta no trabalho de que a população da mesma espécie, proveniente de ambientes com distintos níveis de trofia e saprobia, responderia, de maneiras distintas. Nesse caso, *C. coeruleus* (isolado 58), oriunda de ambiente eutrófico/oligossapróbico, respondeu com uma diminuição menos acentuada da performance geral em relação à *C. coeruleus* (isolado 79), oriunda de ambiente eutrófico/mesosapróbico. Para os experimentos com fósforo, o isolado 79 respondeu com uma diminuição menos acentuada da performance geral em comparação ao isolado 58. Com isso, entendeu-se que, como essas populações são geograficamente distintas, a história evolutiva de seus respectivos locais de origem levou a divergências em relação ao tipo de nutriente limitante, indicando uma clara diferença fenotípica e uma possível diferença genotípica entre elas. Pode-se supor, então, que as respostas fisiológicas destas populações ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos dependem mais do tipo de nutriente limitante presente no meio do que o grau de trofia e saprobia deste ambiente.

2 - As duas populações de *B. delicatulum* (isolados 43 e 111) mostraram aumento de suas performances fisiológicas sob concentrações decrescentes de fósforo, o que geralmente não ocorreu em relação ao nitrogênio. Além disso, o isolado 43, oriundo de ambiente oligotrófico/oligossapróbico, quando comparado ao isolado 111, proveniente de ambiente eutrófico/ mesosapróbico, não respondeu com aumento geral da performance ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo como seria esperado com base na hipótese proposta. As duas populações responderam de formas distintas às

concentrações de nitrogênio, especialmente em relação aos pigmentos fotossintetizantes: no isolado 43 parece ter ocorrido redução na síntese de clorofila com o decréscimo de nitrogênio no meio, enquanto que no isolado 111 o conteúdo de ficobilinas aumentou conforme menor concentração de nitrogênio. Esses dados sugerem, portanto, que as duas populações possuem estratégias distintas de respostas da concentração de pigmentos em relação ao empobrecimento de nitrogênio. Para os experimentos com fósforo, os isolados de *B. delicatulum* revelaram uma importante característica: esta espécie mostrou-se muito mais sensível às diferentes concentrações de fósforo do que às de nitrogênio, evidenciando assim, que o fato de ser relatada como típica de ambientes saudáveis (oligotróficos/oligossapróbicos) parece estar mais relacionado à disponibilidade de fósforo do que à de nitrogênio.

3 - Considerando as duas espécies, *C. coeruleus* e *B. delicatulum*, pôde-se observar que ambas apresentaram respostas fisiológicas distintas ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo: *C. coeruleus* apresentou uma diminuição geral da performance, enquanto que *B. delicatulum* apresentou um aumento geral de sua performance no tratamento com fósforo inorgânico, e geralmente não mostrou tendência nítida para nitrogênio. Esses resultados corroboraram a hipótese proposta que *C. coeruleus*, característica de ambientes eutróficos, responderia ao empobrecimento de nitrogênio e fósforo inorgânicos com uma diminuição mais acentuada da performance em relação à *B. delicatulum*, típica de ambientes oligotróficos. Além disso, esses dados confirmam trabalhos que relatam *C. coeruleus* como espécie geralmente encontrada em ambientes moderadamente poluídos (eutróficos/mesossapróbicos), ao passo que *B. delicatulum* é comumente relatada como característica de ambientes tipicamente não poluídos (oligotróficos/oligossapróbicos).

4 - Neste trabalho *B. delicatulum* respondeu com aumento característico de sua performance somente no tratamento com fósforo. Um estudo mais aprofundado de limitação desse nutriente seria bastante recomendável, uma vez que esses resultados indicam que sua distribuição na Natureza pode estar mais ligada à distribuição de fósforo do que à de nitrogênio, o que representaria um aprimoramento importante para seu uso futuro como espécie bioindicadora de ecossistemas aquáticos continentais tropicais.

5 - *C. coeruleus* apresentou melhor performance em maiores concentrações de nutrientes, o que corrobora que este táxon é um bom indicador de ambientes enriquecidos (eutróficos/mesossapróbicos).

6. LITERATURA CITADA

ABOAL, M. 1989. Epilithic algal communities from River Segura Basin, Southeastern Spain. Arch. Hydrobiol. 116: 113-124.

ANDERSEN, J.M. 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. Water Res. 10: 170-178.

ANDRIA, J.R., VERGARA, J.J.; LLORENS, L.P. 1999. Biochemical responses and photosynthetic performance of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta) from Cádiz, Spain, cultured under different inorganic carbon and nitrogen levels. Eur. J. Phycol. 34: 497-504.

ANWARUZZAMAN, SAWADA, S., USUDA, H.; YOKOTA, A. 1995. Regulation of ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase activation by inorganic phosphate through stimulating the binding of the activator CO₂ to the activation sites. Plant Cell Physiol. 36: 425-433.

BAUTISTA, A.I.N.; NECCHI, O. Jr. 2007. Photoacclimation in three species of freshwater red algae. Braz. J. Plant Physiol. 19: 23-34.

BEER, S.; ESHEL, A. 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 36: 785-792.

BIGGS, B.J.F. 1989. Biomonitoring of organic pollution using periphyton, South Branch, Canterbury, New Zealand. N. Z. J. Mar. Freshwat. Res. 23: 263-274.

BIGGS, B.J.F. 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. Fresh. Biol. 33: 419-448.

BIGGS, B.J.F., STEVENSON, R.J.; LOWE, R.L. 1998. A habitat matrix conceptual model for stream periphyton. *Arch. Hydrobiol.* 143: 21-56.

BIRD, K.T., HABIG, C.; DeBUSK, T. 1982. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 18: 344-348.

BORCHARDT, M.A. 1996. Nutrients. In: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L.; LOWE, R.L. *Algal Ecology (Freshwater Benthic Ecosystems)*. Academic Press, p. 183-227.

BRANCO, L.H.Z.; NECCHI, O.JR. 1996. Survey of stream macroalgae of eastern Atlantic Rainforest of São Paulo State, southeastern Brazil. *Arch. Hydrobiol.* 141: 75-91.

BRANCO, L.H.Z.; PEREIRA, J.L. 2002. Evaluation of seasonal dynamics and bioindication potential of macroalgal communities in a polluted tropical stream. *Arch. Hydrobiol.* 155: 147-161.

BROOKS, A. 1986. Effects of phosphorus nutrition on ribulose-1,5-biphosphate carboxylase activation, photosynthetic quantum yield and amounts of Calvin-cycle metabolites in spinach leaves. *Aust. J. Plant. Physiol.* 13 :221-237.

CARPENTER, S.R., CARACO, N.F., CORRELL, D.L., HOWARTH, R.W.; SHARPLEY, A.N.; SMITH, V.H. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* 8: 559-568.

CLEMENTS, F.E. 1916. *Plant Succession*. Carnegie Institute Washington Publ., Washington.

CODISPOTI, L.A. 1989. Phosphorus vs. nitrogen limitation of new and export production. In: W.H. Berger, V.S. Smetacek, G. Wefer, (Eds.) *Productivity of the Ocean: Present and Past*, Wiley, New York, p. 377-394.

CONDE-ÁLVAREZ, R.M., PÉRES-RODRÍGUEZ, E., ALTAMIRANO, M., NIETO, J.M., ABDALA, R., FIGUEROA, F.L.; FLORES-MOYA, A. 2002. Photosynthetic performance and pigment content in the aquatic liverwort *Riella helicophylla* under natural solar irradiance and solar irradiance without ultraviolet light. *Aquatic. Bot.* 73: 47-61.

COSTA, V.L., 2005. Diversidade intraespecífica em gametófitos de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): efeitos fisiológicos da concentração de nitrato no meio de cultura. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São, Paulo, SP. 100 p.

COX, E.J. 1991. What is the basis for using diatoms as monitors of rivers quality? In: Whitton, B.A., Rott, E. & Friedrich, G. (Eds.). *Use of algae for monitoring rivers*. Universität Innsbruck, Innsbruck, p. 33-40.

DAWES, C.J.; KOCK, E.U. 1990. Physiological responses of the red algae *Gracilaria verrucosa* and *G. tikvahiae* before and after nutrient enrichment. *Bull. Mar. Sci.* 46: 335-344.

DeBOER, J.A., GUIGLI, H.J., ISRAEL, T.L.; D'ELIAL, C.F. 1978. Nutritional studies of two red algae in growth rate as a function of nitrogen source and concentration. *J. Phycol.* 14: 261-266

DENNISON, W.C.; ABAL, E.G. 1999. Moreton Bay Study, a Scientific Basis for the Healthy Waterways Campaign. The South East Queensland Regional Water Quality Management Strategy Team, Brisbane. 243 p.

DE VRIES, P.J.R.; DE SMET, S.J.M.; HEIDE, J. Van der. 1985. Effects of phosphorus and nitrogen enrichment on the field of some strains *Stigeoclonium* Kütz. (Chlorophyceae). *Freshwat. Biol. Oxford.* 15: 95-103.

FALKOWSKI, P.G.; OWENS, T.G. 1980. Light-shade adaptation: two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.* 66: 592-595.

FALKOWSKI, P.G., BARBER, R.T.; SMETACEK, V. 1998. Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary productivity. *Science*. 281: 200-206.

FJERDINGSTAD, E. 1971. Microbial criteria of environment qualities. *Ann. Rev. Microbiol.* 25: 563-582.

FONG, P, BOYER, K.E.; ZEDLER, J.B. 1998. Developing an indicator of nutrient enrichment in coastal estuaries and lagoons using tissue nitrogen content of the opportunistic alga. *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 231: 63-79.

GEIDER, R.J., MACINTYRE, H.L., GRAZIANO, L.M.; McKAY, R.M.L. 1998. Responses of photosynthetic apparatus of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to nitrogen and phosphorus limitation. *Eur. J. Phycol.* 33: 315-332.

GRIME, J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *Amer. Natural.* 111: 1169-1194.

GRIME, J.P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. – John Wiley and Sons, New York.

HORROCKS, J.L., STEWART, G.R.; DENNISON, W.C. 1995. Tissue nutrient content of *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) and water quality along an estuarine gradient. *Mar. Freshwater Res.* 46: 975-983.

HWANG, S.P.L., WILLIAMS, S.L.; BRINKHUIS. 1987. Changes in internal dissolved nitrogen pools as related to nitrate uptake and assimilation in *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Rhodophyta).

KAIN, J..M. 1987. Seasonal growth and photoinhibition in *Plocamium cartilagineum* (Rhodophyta) off the Isle of Man. *Phycologia* 32: 401-409.

KELLY, M.G.; WHITTON, B.A. 1998. Biological monitoring of eutrophication in rivers. *Hydrobiologia*. 38: 55–67.

KROMKAMP, J., BARRANGUET, C.; PEENE, J. 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 162: 45-55.

LAPOINTE, B.E. 1981. The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 17: 90-95.

LAPOINTE, B.E.; DUKE, C.S. 1984. Biochemical strategies of growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) in relation to light intensity and nitrogen availability. *J. Phycol.* 20: 488-495.

LEE, R.E. 1999. Basic characteristics of the algae. In: *Phycology*. 3rd. Cambridge University Press, p. 3-64

LITTLER, M.M.; ARNOLD, K.E. 1985. Electrodes and chemicals. In: LITTLER, M.M. & LITTLER, D.S. *Handbook of Phycological Methods; Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 349-375.

LOWE, R.L.; PAN, Y. 1996. Benthic Algal Communities as Biological Monitors. In: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L.; LOWE, R.L. *Algal Ecology (Freshwater Benthic Ecosystems)*. Academic Press, p. 705-739.

MACARTHUR, R.H.; WILSON, E.O. 1967. *Theory of island biogeography*, Princeton University, Princeton.

MALONEY, T.E.; MILLER, W.E. 1975. Algal assays: development and application of water quality parameters. In: American Society for Testing and Materials, ASTM STP 573. [S.l.], p. 344-355.

MARTÍNEZ, B.; RICO, J.M. 2002. Seasonal variation of P content and major N pools in *Palmaria palmata* (Rhodophyta). J. Phycol. 38: 1082-1089.

MCCORMICK, P.; CAIRNS, J.Jr. 1994. Algae as indicators of environmental change. J. Appl. Phycol. 6: 509-526.

MILLER, W.E., MALONEY, T.E.; GREEN, J.C. 1974. Algal productivity in 49 lakewaters as determined by algal assays. Water Res. 8: 667-679.

MOURTHÉ Jr., C.A. 2000. Modificações estruturais na comunidade de diatomáceas em um gradiente de poluição hídrica: trecho superior do Rio das Velhas (Região Metropolitana de Belo Horizonte, MG). Dissertação de Mestrado, Univ. Fed. Minas Gerais, Belo Horizonte. 85 p.

MURRELL, M.C.; LORES, E.M. 2004. Phytoplankton and zooplankton seasonal dynamics in subtropical estuary: Importance of cyanobacteria. J. Plank. Res. 26: 371-382.

NECCHI, O.Jr, BRANCO, L.H.Z.; DIP, M.R. .1994. Uso de macroalgas para avaliação da poluição orgânica no Rio Preto, noroeste do estado de São Paulo. Ann. Acad. Bras. Cienc. 66: 359-371.

NECCHI, O. Jr.; ZUCCHI, M.R. 2001. Photosynthetic performance of freshwater Rhodophyta in response to temperature, irradiance, pH and diurnal rhythm. Phycolog. Res. 49: 305-318.

PAL, R., CHATTERJEE, P.; DAS, T.M. 1992. Algological evaluation of organic pollution in Ivel of Hugli estuary, West Bengal, India. Phykos. 31: 69-75.

PARIKH, A., SHAH V.; MADAMWAR, D. 2006. Cyanobacterial flora from polluted industrial effluents. *Env. Mon. Ass.* 116: 91-102

PERES, A.C. 2002. Uso de macroalgas e variáveis físicas, químicas e biológicas para a avaliação da qualidade da água do Rio Monjolinho, São Carlos, Estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 131 p.

PLATT, T., GALLEGOS, C.L.; HARRISON, W.G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* 38: 687-701.

POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. 2003. Macrófitas aquáticas e perifíton. Aspectos ecológicos e metodológicos. Ed. Rima, São Carlos, 124 p.

PRYGIEL, J., WHITTON, B.A.; BUKOWSKA, J. 1999. Use of algae for monitoring rivers, III. Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai.

ROBERTS, 1997. Control of supply line. *Science.* 278: 2073-2074.

SCHREIBER, U., BILGER W.; NEUBAUER, C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. In: SCHULZE, E.D., CALDWELL, M.M. (Eds.), *Ecophysiology of photosynthesis*, vol. 100. Springer-Verlag, Berlim, p. 49-70.

SHARKEY, T.D. 1990. Feedback limitation of photosynthesis and the physiological role of ribulose biphosphate carboxylase carbamylation. *Bot. Mag. Tokyo Special Tissue.* 2: 87-105.

SHEATH, R.G. 1984. The biology of freshwater algae. *Prog. Phycol. Res.* 3: 89-157.

SKINNER, S.; TOWNSEND, S.A. 2005. Macro-algae in the streams of the Darwin Region, and the Daly River catchment. Northern Territory Government: Department of Infrastructure, Planning and Environment. Sydney, Australia, 45p.

SLADECEK, V. 1974. System of quality from the biological point of view. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergevn. Limnol. 7: 1-218

STEIN, J.R.; DENISON, J.G. .1967. Limitations of indicator organisms. In Olsen, T.A. & Burgess, F.J. (Eds.). Pollution and marine ecology. Interscience, p. 232-345.

THOMAS, M.L.H. 1988. Photosynthesis and respiration of aquatic macroflora using the light and dark bottle oxygen method and dissolved oxygen method and dissolved oxygen analyzer. In: Lobban, C.S., Chapman, D.J. & Kremer, B.P. (Eds.). Experimental Phycology. Cambridge University Press, Cambridge, p. 64-77.

TURNER, R.E., RABALAIS, N.N., JUSTIC, D.; DORTCH, Q. 2003. Future aquatic, nutrient limitations. Mar. Poll. Bull. 46: 1032-1034.

UMBREIT, W.W., BURRIS, R.H.; STAUFFER, J.F. 1964. Manometric methods applicable to the study of tissue metabolism. Burgess publishing Company, p. 208-209.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J.J.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Photosynth. Res. 25: 147-150.

VERGARA J.J.; NIELL, X. 1993. Effects of nitrate availability and irradiance on internal nitrogen constituents in *Corallina elongata* (Rhodophyta). J. Phycol. 29: 285-293.

WATANABE, M.M. 2005. Freshwater culture media. In: Andersen, R.A. (Ed.). Algal culture techniques. Elsevier Academic Press, Amsterdam, p. 13-20.

WETZEL, R.G. 1983. Limnology, 2nd ed. Philadelphia: Saunders College.

WETZEL, R.G.; LIKENS, G. E. 1991. Limnological analyses. Springer-Verlag, New York.

WHITE, A.J.; CRITCHLEY, C. 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. Photosynth. Res. 59: 63-72.

WHITTON, B.A.; KELLY, M.G. 1995. Use of algae and other plants for monitoring rivers. Austr. J. Ecol. 20: 45-56.

WHITTON, B.A., ROTT, E.; FRIEDERICH, G. 1996. Use of algae for monitoring rivers II. Innsbruck, Austria.

ZUCCHI, M.R.; NECCHI, O.Jr. 2001. Effects of temperature, irradiance and photoperiod on growth and pigment content in some freshwater red algae in culture. – Phycolog. Res. 49: 103-114.