

**RESPOSTAS DO PERIFÍTON AOS PULSOS DE
ENRIQUECIMENTO EM NÍVEIS CRESCENTES DE
FÓSFORO E NITROGÊNIO EM REPRESA TROPICAL
MESOTRÓFICA (LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)**

ILKA SCHINCARIOL VERCELLINO

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

Rio Claro
Estado de São Paulo - Brasil
2007

**RESPOSTAS DO PERIFÍTON AOS PULSOS DE
ENRIQUECIMENTO EM NÍVEIS CRESCENTES DE
FÓSFORO E NITROGÊNIO EM REPRESA TROPICAL
MESOTRÓFICA (LAGO DAS NINFÉIAS, SÃO PAULO)**

ILKA SCHINCARIOL VERCELLINO

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

Coorientador: Prof. Dr. IRINEU BIANCHINI-JÚNIOR

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

Rio Claro
Estado de São Paulo - Brasil
2007

Vercellino, I.S.

Respostas do perifiton aos pulsos de enriquecimento em níveis crescentes de fósforo e nitrogênio em represa tropical mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo). 2007. 106 p.

Tese (doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro - Biologia Vegetal, 2007.

Palavras-chave: algas, balanço de massa, bioindicação, enriquecimento, estrutura de comunidade, fósforo, perifiton.



*Sejamos simples e calmos,
Como os regatos e as árvores,
E Deus amar-nos-á fazendo de nós
Belos como as árvores e os regatos,
E dar-nos-á verdor na sua primavera,
E um rio aonde ir ter quando acabemos...*

- Alberto Caeiro -

*Dedico este trabalho aos meus queridos pais,
José e Maria Luisa.
A vocês devo meu eterno agradecimento!
Aos meus sobrinhos Lucas e Giovanni,
pessoas que me fazem acreditar que este
poderá ser um mundo melhor.*

Agradecimentos

Foram muitas as pessoas envolvidas na realização deste trabalho. Muitos abdicaram do seu tempo para fazer parte de uma grande equipe que trabalhou arduamente sem perder o profissionalismo, a seriedade e o senso de responsabilidade. Muito obrigada a cada um de vocês! Especialmente devo meus agradecimentos:

À Dr^a Denise de Campos Bicudo, Pesquisador Científico da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente/São Paulo, por todos os ensinamentos nestes 10 anos de trabalho (desde o estágio de aperfeiçoamento), pela irrestrita confiança, pela sua imensa dedicação como Mestre e pela sua grande habilidade em sempre buscar soluções práticas para “grandes problemas” profissionais e pessoais. Serei sempre grata por você ter sido a grande *diretriz* da minha vida científica, mostrando-me o certo e o errado através dos seus princípios de ética, de excelência profissional e, sobretudo, de doação ao próximo.

Ao Dr. Irineu Bianchini-Júnior, Professor Titular do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, pelo auxílio no delineamento experimental, pela orientação nos cálculos para o balanço de massa e pela disponibilidade de me atender sempre que necessário.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo, Pesquisador Científico da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente/São Paulo, pelo uso irrestrito de sua biblioteca particular e, especialmente, por ser um grande Mestre que não mede esforços para transmitir aos alunos todo o conhecimento adquirido nos anos dedicados à pesquisa ficológica.

Aos pesquisadores da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente/São Paulo, pelo apoio e convivência agradável no decorrer do desenvolvimento do trabalho.

À Dr^a Carla Ferragut, Pesquisador Científico do Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente/São Paulo, pela eficiente coordenação do Laboratório de Ecologia Aquática no decorrer das intermináveis coletas, pelas valiosas sugestões apresentadas, pelo auxílio na realização das análises univariadas e pela amizade ao longo destes anos de convívio.

Ao MS Clóvis Ferreira do Carmo, Pesquisador Científico do Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, pela sua grande amizade desde a minha chegada a São Paulo, pelos cálculos das cargas anuais de fósforo nos reservatórios do PEFI e pelo auxílio na instalação dos experimentos em campo.

À doutoranda Tatiane de Jesus Araújo, por ter me ajudado na elaboração e confecção das unidades experimentais, pelo auxílio na escolha dos melhores procedimentos para as análises de laboratório e pela ajuda fundamental no desenvolvimento da fase piloto deste projeto. Especialmente, pela amizade tão fiel e tão presente nestes últimos anos!

À querida amiga doutoranda Luisiana Carneiro pelo grande auxílio na raspagem do perifíton de todas as coletas, na preparação das lâminas e identificação das diatomáceas.

Às Amariles, Dorinha, Marli e Val, Técnicas de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Seção de Ecologia, SMA/São Paulo, pelo auxílio nas análises em laboratório no período das coletas, pela limpeza e manutenção da vidraria no decorrer das análises, mas principalmente pelo carinho com que sempre me trataram fazendo com que eu me sentisse em casa.

À equipe do Laboratório de Ecologia Aquática da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica, na ocasião do trabalho experimental: Alessandra, Amariles, Ariane, Bárbara, Bia, Carla, Dorinha, Francis, Kika, Lu Crossetti, Luisiana, Marli, Sandra, Tati e Val que permitiram que eu fizesse as coletas despreocupadamente, enquanto realizaram as análises físicas e químicas da água. À Carolina Gasch, da Seção de Micologia, pelo auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos antigos e atuais estagiários da Seção de Ecologia do Instituto de Botânica: Adriana, Alexandre, Andréa Araújo, Angélica, Ariane, Bárbara, Beth, Bia, Christiane, Cristina, Danielle, Fernanda, Jennifer, Jéssica, Juliana, Kaline, Kelly, Kika, Lílian, Lu Barbosa, Lu Crossetti, Lu Fontana, Lu Godinho, Lu Morandi, Luisiana, Mari, Marina, Maurício, Murilo, Paty, Robson, Sandra, Sidney, Sil Faustino, Sil Sant'Anna e Tati por compartilharem comigo o mesmo “nicho ecológico”. Ao Yukio, pelo auxílio na contagem das plantas e por sempre resolver meus problemas computacionais.

Às estudantes de graduação que me auxiliaram e com as quais muito aprendi: Angela Maria da Silva, Danielle Escudeiro de Oliveira, Juliana Gobbi S. da Silva, Letícia Hiromi Ozaki, Luciane Fontana da Silva e Marina dos Reis Massagardi.

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

À Direção do Instituto de Botânica na pessoa do Dr. Luiz Mauro Barbosa, Diretor Geral da Instituição, por permitir a utilização das instalações do Instituto durante o período de

desenvolvimento deste trabalho. À coordenação do Laboratório de Ecologia Aquática pelo fornecimento da excelente infra-estrutura, material necessário ao desenvolvimento da pesquisa e apoio técnico.

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro representado pela concessão da bolsa e pela taxa de bancada (processo nº 142113/03-4), que permitiu o desenvolvimento deste estudo, bem como meu aprimoramento profissional.

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

Aos meus queridos amigos que não são parte deste “microcosmo”, mas sempre estiveram muito presentes na minha caminhada: Carla Taneguti, Célia Beu, Eduardo Gomes (*in memoriam*), Fabiana Medeiros, Fábio Licatti, Georgea Carla, Géssica Gralhóz, Gisele Amaral, Luciana Sartori e Marcelo de Castro.

Aos meus pais, que me educaram através do exemplo e a quem devo tudo que sou hoje. Muito obrigada pela presença constante, por todo amor, carinho e pelo apoio incondicional dado à minha escolha profissional. Amo demais vocês!

À minha querida família composta por Dri, Karen, Karin, Mário, Hélena, Deborah Ronaldo, Maria, Lucas e Giovanni. Vocês são a luz da minha vida!

Ao Jardim Botânico de São Paulo, sede da realização deste trabalho, onde tive o grande prazer de trabalhar de 1997 a 2007. Agradeço-o simplesmente por ser tão belo e trazer diariamente a natureza tão junto a mim, revigorando meu corpo e meu espírito.

A Deus que sempre guiou meus caminhos permitindo que eu me deparasse com pessoas tão especiais que muito contribuíram para o meu crescimento profissional e espiritual.

*Temos dois olhos.
Com um contemplamos as coisas do tempo,
efêmeras, que desaparecem.
Com o outro contemplamos as coisas da alma,
eternas, que permanecem.*

- Angelus Silesius -

ÍNDICE

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. HIPÓTESES E OBJETIVOS	9
3. ÁREA DE ESTUDO	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Fase Piloto	13
4.2. Delineamento Experimental	15
4.3. Variáveis Climatológicas	19
4.4. Variáveis Limnológicas Abióticas	19
4.5. Variáveis Biológicas da Comunidade Perifítica	20
4.6. Composição Química dos Compartimentos Biológicos	23
4.6.1. Nitrogênio Total	23
4.6.2. Fósforo Total	23
4.7. Balanço de Massa	24
4.8. Tratamento Numérico dos Dados	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Variação das Condições Climáticas durante o Período Experimental	26
5.2. Caracterização Abiótica do Experimento.....	28
5.3. Mudanças de Biomassa das Comunidades nas Condições Pré e Pós-enriquecimento.....	40
5.4. Efeito Cumulativo dos Pulsos de Enriquecimento sobre a Biomassa e Composição Química das Comunidades	47
5.4.1 Mudanças na Biomassa	47
5.4.2 Composição Química das Comunidades Biológicas	50
5.5. Balanço de Massa para o Fósforo	53
5.5.1 Balanço de Massa considerando as Condições Pré e Pós-enriquecimento	53
5.5.2. Balanço de Massa ao Final do Período Experimental	54
5.6. Efeito Cumulativo dos Pulsos de Enriquecimento sobre a Estrutura da Comunidade de Algas Perifíticas	56
5.6.1. Densidade Total de Algas.....	56

5.6.2. Composição da comunidade perifítica	57
5.6.2.1. Representatividade de classes algais	57
5.6.2.2. Espécies perifíticas descritoras da comunidade	61
5.6.2.3. Sucessão das espécies de algas perifíticas	63
5.6.2.4. Análise conjunta das espécies de algas	65
5.6.2.5. Índices biológicos	68
5.6.3. Análise Integrada das Características Limnológicas Abióticas e Bióticas	70
6. DISCUSSÃO	75
7. CONCLUSÕES	88
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICES	101

RESUMO

O estudo visou a (a) caracterizar as principais alterações estruturais da comunidade de algas perifíticas em condições de enriquecimento por pulsos de nitrogênio e fósforo (b) identificar a formação de guildas de espécies indicadoras; (c) avaliar a contribuição do perifíton em relação a outros compartimentos biológicos na retenção do fósforo. O experimento foi realizado em represa rasa tropical a partir de mesocosmos com controle de fluxo de água, onde foram colocadas lâminas de vidro para o perifíton, 78 L de água da represa e 100 indivíduos de *Ricciocarpus natans*. O delineamento constou de controle e três tratamentos ($n = 3$), com níveis crescentes de nutrientes (RN/P molar = 44): T₁ - 100 µgP L⁻¹ e 2000 µgN L⁻¹; T₂ - 200 µgP L⁻¹ e 4000 µgN L⁻¹; T₃ - 400 µgP L⁻¹ e 8000 µgN L⁻¹. Dezesete amostragens semanais foram realizadas durante 64 dias, sendo uma antes da adição dos sais (pré-enriquecimento) e outra 24h após adição (pós-enriquecimento). A ACP separou as observações do controle e do pré-enriquecimento daquelas do pós-enriquecimento. Pela OECD, os tratamentos foram classificados em mesotrófico (C), eutrófico (T₁, T₂) e hipereutrófico (T₃). O incremento de biomassa perifítica foi primordialmente direcionado pelas cargas crescentes de nutrientes e menos pelos pulsos de enriquecimento. O efeito cumulativo dos pulsos sobre a biomassa fitoplantônica foi bem menor, sendo apenas evidente no T₃ para as macrófitas. A composição química da biota não respondeu ao aumento das cargas de nutrientes e as comunidades autotróficas permaneceram P-limitadas. Em relação ao balanço de massa, o seston foi o principal seqüestrador de P, seguido pelo complexo macrófitas-perifíton e pelo perifíton. Entretanto, parte substancial de P ficou retida, muito provavelmente, no sedimento e sua microflora associada. Foram caracterizadas três guildas indicadoras das condições ambientais. A guilda 1, de mesotrofia (C), foi principalmente representada por 3 espécies de desmídias; a guilda 2, de eutrofia (T₂), por 4 espécies de diatomáceas, com destaque para duas, e a guilda 3, de hipereutrofia (T₃), por seis espécies principais, representantes de três classes de algas. Os resultados reforçam a utilização do perifíton na detecção de sinais precoces de eutrofização e indicam o papel potencial desta comunidade na dinâmica do P em sistemas lacustres tropicais.

Palavras-chave: algas, balanço de massa, bioindicação, enriquecimento, estrutura de comunidade, fósforo, perifíton.

ABSTRACT

The study aimed at (a) characterizing the main periphytic algae community structural modifications under nitrogen and phosphorus pulses enrichment conditions; (b) identifying the formation of indicating species guilds; and (c) evaluating the periphyton contribution towards phosphorus retention facing other biological compartments in the system. Experiment was carried out in a tropical shallow reservoir using water flux controlled mesocosms where microscope glass slides were placed for periphyton attachment, 78 L reservoir water and 100 *Ricciocarpus natans* individuals. Experiment design included one control and three treatments ($n = 3$) with different nutrient concentrations (molar N/P ratio = 44): T₁ - 100 $\mu\text{gP L}^{-1}$ and 2,000 $\mu\text{gN L}^{-1}$; T₂ - 200 $\mu\text{gP L}^{-1}$ and 4,000 $\mu\text{gN L}^{-1}$; T₃ - 400 $\mu\text{gP L}^{-1}$ and 8,000 $\mu\text{gN L}^{-1}$. Seventeen weekly samplings were performed during 64 consecutive days, one of them carried out before the enrichment (pre-enrichment) and the other one 24 hr after P addition (post-enrichment). Principal Component Analysis separated observations of the control and pre-enrichment from those of the post-enrichment. According to OECD, treatments were classified as mesotrophic (C), eutrophic (T₁, T₂) and hypereutrophic (T₃). Periphytic biomass increase was mostly directed by the increasing nutrient loads, and less by the enrichment pulses. Cumulative effect of pulses on the phytoplankton biomass was much lesser and evident only at T₃ treatment for the macrophytes. Chemical decomposition of the biota did not respond to the increase in nutrient loads, and the autotrophic communities remained P-limited. Regarding to the mass balance, seston was the main P sequestrator, followed by the complex macrophytes-periphyton and the periphyton. Substantial part of P remained, however, trapped much probably in the sediments and its associated microflora. Three guilds indicative of environmental conditions were identified. Guild 1, of mesotrophy (C), was represented mainly by three desmid species; guild 2, of eutrophy (T₂), by four diatom species, with special emphasis to two of them; and guild 3, of hypereutrophy (T₃), mainly by six species representative of three algal classes. Present results reinforce the use of periphyton in the earlier identification of eutrophication and the potential role of the periphytic community in the phosphorus dynamics in tropical lacustrine systems.

Key words: algae, bioindication, community structure, enrichment, mass balance, periphyton, phosphorus.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a humanidade vem se defrontando com uma série de problemas globais – ambientais, financeiros, econômicos, sociais e de mercado. Neste quadro, as preocupações com o ambiente, em geral, e com a água, em particular, adquirem especial importância, pois as demandas estão se tornando cada vez maiores, sob o impacto do crescimento acelerado da população e do maior uso da água, impostos pelos padrões de conforto e bem-estar da vida moderna. Entretanto, a qualidade das águas da Terra vem sendo degradada de maneira alarmante, afetando diretamente as comunidades aquáticas. Esse processo pode ser irreversível, sobretudo, nas áreas mais densamente povoadas dos países emergentes, como o Brasil (REBOUÇAS *et al.* 1999).

Um efeito bem documentado, que reflete a ação antrópica sobre os ecossistemas aquáticos, é a *eutrofização*. Este é um termo multifacetado que está, em geral, associado ao aumento da produtividade, à simplificação estrutural dos componentes bióticos e à redução da habilidade metabólica dos organismos em se adaptar às alterações impostas pelo meio (WETZEL 1993). Em ambientes eutrofizados, há mudanças na trofia dos sistemas que promovem alterações em nível biológico: na produtividade primária e na composição específica da comunidade biológica, nas cadeias alimentares e nos fluxos energéticos; em nível econômico: problemas na produção pesqueira; em nível social: torna áreas de recreação

e lazer impróprias para o uso; em nível de saúde: torna as águas dos mananciais inadequadas ao consumo humano (HARPER 1992).

Nas regiões tropicais e subtropicais, o controle da contaminação dos corpos de água é menor, sendo assim, os nutrientes são utilizados pelas algas e plantas aquáticas de forma permanente e são favorecidas pelas condições propícias de temperaturas mais elevadas ao longo de todo o ano (ROLDAN 1992). Em geral, o aumento da produtividade se dá em função do aumento da concentração de nutrientes, particularmente fósforo e nitrogênio, que são os principais desencadeadores do processo de eutrofização nos sistemas aquáticos (HARPER 1992).

Os atributos das comunidades biológicas mais utilizados em estudos ecológicos, tais como abundância, riqueza, equitatividade, dominância e diversidade de espécies, são sensivelmente afetados pelas ações antrópicas (PINTO COELHO *et al.* 1999). Particularmente, a diversidade de espécies e os fatores responsáveis pela sua manutenção ou declínio são questões-chave em ecologia, sendo que seu decréscimo pelo efeito antropogênico tornou-se um tópico de maior preocupação científica. Experimentos recentes salientaram a importância desta questão, já que demonstraram a ligação entre diversidade e o funcionamento do ecossistema (HILLEBRAND & SOMMER 2000). Segundo PRIMACK & RODRIGUES (2001), a preocupação crescente com a manutenção da biodiversidade também decorre da maior conscientização de seu valor não somente como um bem econômico, mas também natural com implicações para a qualidade de vida do próprio homem.

ODUM (1971) afirma que comunidades em ambientes desfavoráveis ou poluídos apresentam redução de diversidade. Entretanto, dados para comunidades aquáticas de água doce são controversos, havendo casos em que há aumento da diversidade em condições de enriquecimento (MARCUS 1980, PRINGLE 1990, VERCELLINO 2001, FERRAGUT 2004) e diminuição deste mesmo atributo em função do aumento do suprimento de nutrientes na água (MILLER *et al.* 1992 em HILLEBRAND & SOMMER 2000).

Vários trabalhos ressaltam as respostas do fitoplâncton frente à eutrofização artificial. Entretanto, a comunidade perifítica tem sido bastante negligenciada apesar de seu interesse em estudos de qualidade d'água, particularmente nas regiões tropicais/subtropicais do globo. Segundo WETZEL (1983), perifíton é uma “complexa comunidade de microbiota constituída por algas, bactérias, fungos, animais e detritos orgânicos e inorgânicos, que se encontra associada a substratos submersos orgânicos ou inorgânicos, vivos ou mortos”.

A comunidade perifítica está bem representada em ecossistemas rasos e nas regiões de interface terra/água, considerando que nestes ambientes há, usualmente, vários tipos de superfícies para o seu desenvolvimento, tais como macrófitas aquáticas e sedimentos. A partir dos trabalhos realizados nos últimos 12 anos (WETZEL 1990, 1996), comprovou-se a dominância de tais tipos de sistemas em nível mundial, particularmente nos trópicos/subtrópicos. Com isso, despertou-se o interesse pelo papel do perifíton no metabolismo dos ecossistemas aquáticos, principalmente por consistir na fonte principal ou dominante de síntese de matéria orgânica, particularmente nos sistemas lênticos (WETZEL 1990, 1996).

Várias razões têm levado à crescente utilização do perifíton em estudos ambientais. Por exemplo: (a) seu papel como modulador químico, convertendo muitas formas inorgânicas em orgânicas nos ecossistemas aquáticos (STEVENSON 1996); (b) modo de vida sésil, juntamente com seu curto ciclo de vida, que fazem com que o perifíton responda rapidamente às alterações ocorridas na água, tornando-o ideal no monitoramento da qualidade da água (STEWART *et al.* 1985, LOWE & PAN 1996, STEVENSON 1996); (c) em relação a outros grupos de organismos aquáticos, a comunidade de algas perifíticas é usualmente rica em espécies, constituindo um sistema rico de informação para o monitoramento ambiental (LOWE & PAN 1996); (d) integra a qualidade da coluna d'água, assim como do substrato ao qual está associado. Desta forma, pode integrar tanto a qualidade da água como a do sedimento, local onde se acumula a maioria das substâncias que deteriora a qualidade do meio (LOWE & PAN 1996, PLANAS 1998) e (e) é adequado para testes de hipóteses gerais relacionadas à colonização, sucessão, diversidade e estabilidade de comunidades, justamente por apresentar tempo curto de geração e por constituir uma comunidade espacialmente compactada, com limites bem definidos, podendo ser considerada como “ecossistema modelo” (STEVENSON 1996).

Estudos experimentais com a comunidade perifítica vêm sendo conduzidos a fim de se avaliar os efeitos do enriquecimento sobre a diversidade de espécies e/ou caracterização de espécies algais frente a perturbações (CARRICK *et al.* 1988, HILLEBRAND & SOMMER 2000), as interações fitoplâncton/perifíton (HAVENS *et al.* 1996), a predição sobre os efeitos da eutrofização sobre a produtividade e qualidade da água (MANNY *et al.*, 1994), a simulação de interações tróficas e a dinâmica de nutrientes (ISTVÁNOVICS *et al.* 1986), avaliação de nutrientes limitantes no meio (FAIRCHILD & LOWE 1984; FRANCOEUR *et al.* 1999; HUSZAR *et al.* 2005), entre outros.

Considerando que o fósforo (P) é freqüentemente o fator-chave desencadeador do processo da eutrofização, muitos trabalhos experimentais sobre o perifiton têm focado atenção para a dinâmica deste elemento nos sistemas aquáticos e para seu efeito sobre a biodiversidade. Tais trabalhos vêm se intensificando a partir de 1990 e, nas regiões tropicais/subtropicais do globo, principalmente a partir de 1996.

O complexo macrófita/perifiton pode reduzir, até substancialmente, o aporte de nutrientes inorgânicos limitantes para a região pelágica dos sistemas aquáticos. A capacidade do perifiton na remoção de nutrientes da água já foi reportada por alguns autores (VYMAZAL 1989, VYMAZAL E RICHARDSON 1992, HAVENS *et al.* 1999a, HAVENS *et al.* 1999b). O fósforo, em especial, tende a ser intensamente conservado dentro do complexo macrófita/perifiton/sedimento (WETZEL 1990). BURCKHOLDER & WETZEL (1990) demonstraram que certas espécies de algas perifíticas (mais associadas à superfície do hospedeiro) podem obter até 60% de P via macrófita, sendo que a menor taxa de absorção é encontrada nas espécies situadas mais externamente na matriz perifítica. O P disponível na água da região litoral é, por sua vez, ativamente assimilado pelo perifiton mais frouxamente associado às macrófitas aquáticas. Dentro da matriz perifítica, este elemento tende a ser intensamente reciclado entre seus componentes autotróficos e heterotróficos, de forma a ser predominantemente assimilado pelo perifiton, pouco ou nada indo para água aberta (WETZEL 1990, 1993).

CRONK & MITSCH (1994) avaliaram a produtividade perifítica frente a diferentes regimes hidrológicos e cargas de nutrientes utilizando “wetlands” artificiais (construídos). Verificaram que as assembléias perifíticas podem servir como indicativo da disponibilidade de nutrientes na coluna d’água, já que a comunidade respondeu tanto à concentração como à carga de nutrientes nesses “wetlands”. Também mediante abordagem experimental, HAVENS *et al.* (1999a) estimaram que o perifiton acumulou de 40-70% do fósforo adicionado à coluna d’água em um período de 28 dias, a partir de mesocosmos introduzidos em áreas alagadas. Em trabalho comparativo entre comunidades perifíticas e fitoplanctônicas, HAVENS *et al.* (2001) verificaram que a maior parte do fósforo absorvido na região litoral do sistema foi removido pela comunidade perifítica. Essas informações reforçam os modelos de SAND-JENSEN & BORUM (1991), GOLDSBOROUGH & ROBINSON (1996) e MCCORMICK *et al.* (1998), que predizem que as algas aderidas dominam em termos de biomassa e conteúdo de fósforo em sistemas relativamente rasos e com alta irradiância.

Informações recentes sobre as áreas alagadas na Flórida têm reforçado a hipótese do papel primordial do perifíton na remoção de fósforo, contribuindo, assim, para a manutenção das baixas concentrações deste elemento na água, no solo e nas macrófitas (MCCORMICK *et al.* 2001, HAVENS *et al.* 2004). E, conseqüentemente, da importância desta comunidade para o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos, mediante assimilação do excesso de fósforo lançado nos sistemas por ações antrópicas. Além deste aspecto, MCCORMICK & STEVENSON (1998) obtiveram resultados muito promissores no sentido de estabelecer um limiar de fósforo a partir do qual o equilíbrio do sistema é alterado, mediante a caracterização de assembléias perifíticas oligotróficas, de transição e eutróficas. Tais autores ressaltaram que o perifíton fornece uma indicação sensível do enriquecimento por P, podendo ser utilizado para detectar sinais precoces de eutrofização antes que outras mudanças ecológicas sejam notadas. Sendo assim, o uso da comunidade perifítica em estudos de avaliação de impacto antrópico e para proposição de medidas de restauração de ecossistemas impactados é altamente promissor.

No Brasil e nas regiões tropicais como um todo, a escassez de informações sobre o uso do perifíton na avaliação da disponibilidade de nutrientes e da qualidade ecológica dos sistemas aquáticos ainda é grande (HUSZAR *et al.* 2005). Em âmbito nacional existem apenas oito trabalhos experimentais de manipulação de nutrientes com a comunidade perifítica (SUZUKI 1991, CERRAO *et al.*, 1991, ENGLE E MELACK 1993, MENDES & BARBOSA 2002, FERRAGUT 1999, 2004, BARCELOS 2003, FERMINO 2006). Os três primeiros foram realizados em mesocosmos, a partir do enriquecimento combinado com nitrogênio e fósforo. MENDES & BARBOSA (2002) utilizaram substratos difusores de nutrientes em sistema lótico, no Estado de Minas Gerais. Os demais trabalhos foram realizados na área do presente estudo (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - PEFI), sendo que FERRAGUT (2004) e FERMINO (2006) avaliaram os efeitos da adição isolada e combinada de N e P, bem como caracterizaram a estrutura da comunidade em nível específico e BARCELOS (2003) realizou experimento de oligotrofização em represa eutrófica. Vale mencionar, ainda, a contribuição de VERCELLINO & BICUDO (2006), que caracterizaram a estrutura da comunidade perifítica em represa oligotrófica nos períodos de seca e chuva, ou seja, em um sistema de referência para o PEFI, bem como VERCELLINO (2001), que avaliou comparativamente a comunidade perifítica de sistemas com extremos de trofia.

O presente trabalho está vinculado a um projeto maior e de longa duração (Tipologia, monitoramento e recuperação de represas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, PEFI, São Paulo), em desenvolvimento na Seção de Ecologia, Instituto de Botânica, desde 1997. Como objetivo geral, este trabalho pretende aprofundar o entendimento dos

efeitos do enriquecimento sobre a comunidade perifítica, porém de forma inédita para as regiões tropicais no que se refere à simulação de cargas intermitentes de nutrientes, à caracterização de guildas indicadoras de diferentes estados tróficos e ao destino do fósforo nos compartimentos biológicos da região litorânea de sistema raso tropical.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

Hipóteses:

- A comunidade perifítica influencia a ciclagem de fósforo no Lago das Ninféias, sendo, dentre os compartimentos biológicos avaliados, a maior responsável pela retenção deste elemento químico.
- A comunidade de algas perifíticas fornece respostas sensíveis ao nível de enriquecimento do meio.

A partir das hipóteses acima, os objetivos propostos são:

- Caracterizar as principais alterações estruturais da comunidade de algas perifíticas em condições de enriquecimento por pulsos de nitrogênio e fósforo (níveis crescentes) em represa rasa tropical;
- Identificar a formação de guildas de espécies de algas perifíticas indicadoras das condições de enriquecimento;
- Avaliar a contribuição do perifíton em relação a outros compartimentos biológicos na retenção de fósforo nas condições experimentais;
- Impulsionar os estudos experimentais no país, particularmente sobre a utilização do perifíton como monitor biológico da eutrofização.

3. ÁREA DE ESTUDO

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

O PEFI é considerado uma das maiores áreas verdes metropolitana da América Latina e configura-se como uma área de grande importância ambiental e social, destacando seu papel como rota migratória de aves aquáticas, repositório de biodiversidade, fator moderador do microclima local, fator mantenedor do lençol freático, laboratório natural para o desenvolvimento de pesquisas básicas e aplicadas e de programas de educação ambiental em diversos níveis e área de lazer para a comunidade do entorno (BARBOSA *et al.* 2002).

Com base em séries climatológicas de temperatura do ar e de precipitação de 67 anos (1933-1999), os valores médios são: 1368 mm para precipitação anual, 15 °C para

temperatura do mês mais frio (julho), 21,4-21,6 °C para temperatura do mês mais quente (janeiro-fevereiro) (SANTOS & FUNARI 2002).

Conforme CONTI & FURLAN (2003), o clima do PEFI pode ser considerado tropical de altitude, considerando três critérios: (a) altitude por volta de 800 m a partir do Trópico de Capricórnio; (b) amplitude térmica (diferenças entre as médias mensais máximas e mínimas anuais) não ultrapassando 6-8 °C; (c) média mensal de precipitação em dois meses do ano não ultrapassando 60 mm.

No PEFI localizam-se pelo menos 24 nascentes que formam a cabeceira do Riacho do Ipiranga e que abastecem nove lagos artificiais. O Riacho do Ipiranga deságua no Rio Tamanduateí que, por sua vez, é afluente do Rio Tietê, fazendo parte da grande Bacia Hidrográfica do Alto rio Tietê (FERNANDES *et al.* 2002; PEREIRA *et al.* 2002).

Nas últimas três décadas, a interferência antrópica têm sido considerada a principal fonte de impacto sobre os ecossistemas aquáticos do PEFI, através do lançamento de esgoto humano, de excrementos e de água de lavagem de animais do zoológico (CARMO *et al.* 2002).

Para o desenvolvimento do presente estudo foi escolhido o Lago das Ninféias que está situado no Jardim Botânico de São Paulo e foi construído para fins paisagísticos em 1930 (Figuras 2, 3). Apresenta área de 5.433 m², profundidades máxima e média de 3,6 m e 1,3 m, tempo médio de residência de 7,2 dias e abundante vegetação aquática submersa e flutuante (BICUDO, C. *et al.* 2002). O sistema foi classificado como mesotrófico com IET médio = 46 de acordo com o índice de estado trófico ponderado (TOLEDO *et al.* 1983) calculado a partir de valores mensais para os anos de 1997 a 2000 (BICUDO, D. *et al.* 2002). A carga média mensal de fósforo lançada via entradas pontuais (valor mensal de 1997-2001) é de 5,7 gP m⁻² ano⁻¹ (CARMO *et al.* 2002).



Figura 1. Localização do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) na região metropolitana de São Paulo (fonte: google earth).

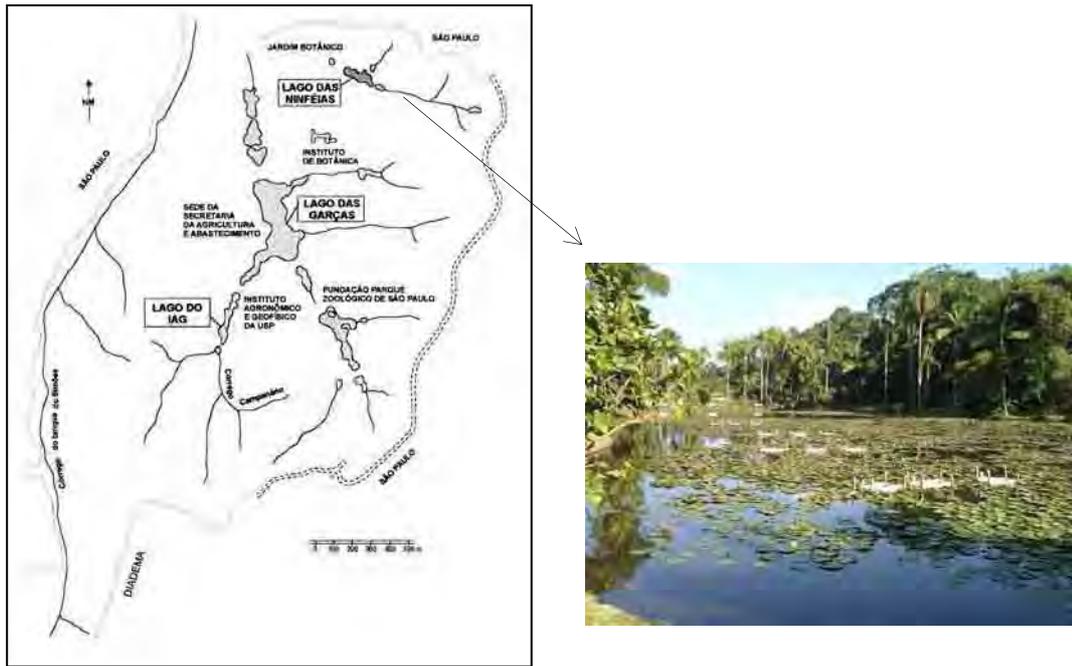


Figura 2. Localização do Lago das Ninféias no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo. Detalhe: Vista geral do Lago das Ninféias com as unidades experimentais instaladas.

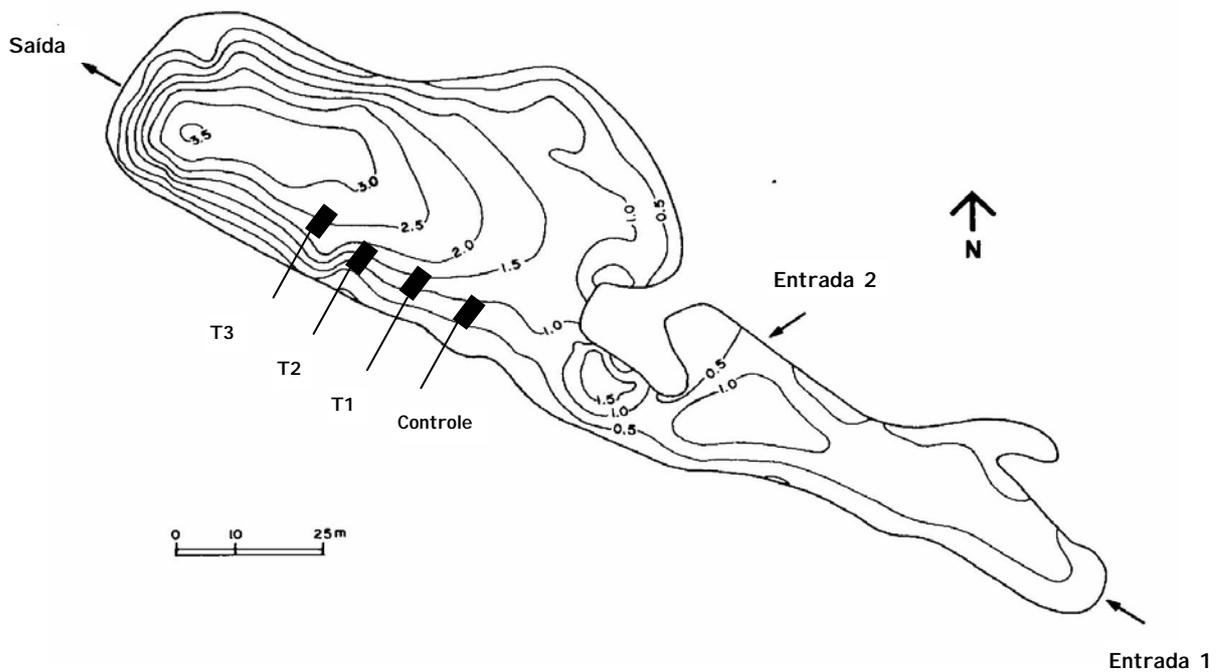


Figura 3. Mapa batimétrico do Lago das Ninféias (PEFI, São Paulo) com a indicação das entradas e saída e local de instalação dos experimentos (controle e tratamentos 1, 2 e 3). Modificado de BICUDO, C. *et al.* (2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Fase Piloto

O delineamento experimental foi definido após uma fase piloto, que visou a: (a) avaliar a necessidade de adição de nitrogênio simultaneamente à do fósforo ao longo do período experimental, (b) analisar o tempo de decaimento de nitrogênio e fósforo nos mesocosmos, (c) avaliar a adequação do tempo proposto de fechamento dos mesocosmos após a etapa de enriquecimento; e (d) analisar se o nível mínimo de enriquecimento proposto ($100 \mu\text{gP L}^{-1}$) seria suficiente para obtenção de resposta pelo perifíton.

Foram delineados dois tratamentos, cada qual com duas repetições (T_1 : adição isolada de fósforo e T_2 : adição combinada de nitrogênio e fósforo). Após a adição dos sais ($100 \mu\text{gP L}^{-1}$ e $1000 \mu\text{gN L}^{-1}$), foram realizadas 12 coletas intensivas em cada tratamento por um período de 49 horas, com periodicidade de 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 25, 30, 34 e 49 horas.

A adição isolada de P (T_1) levou ao esgotamento do nitrato na água, que, por sua vez, se tornou o fator limitante (Figura 4). Por consequência, o decaimento mais rápido do P adicionado ocorreu onde houve adição conjunta de N e P. Não foi verificado incremento de biomassa fotossintética no tratamento com adição isolada de fósforo (P^+), enquanto que se verificou um aumento nos teores de clorofila-a do fitoplâncton (2,4 vezes) e do perifíton (1,7 vezes) em resposta à adição conjunta de N e P (NP^+) (Figura 5).

Concluiu-se que a adição de N seria imprescindível para que se pudesse avaliar o efeito da adição do P sobre as comunidades algais, ou seja, em condições de ausência de limitação por N.

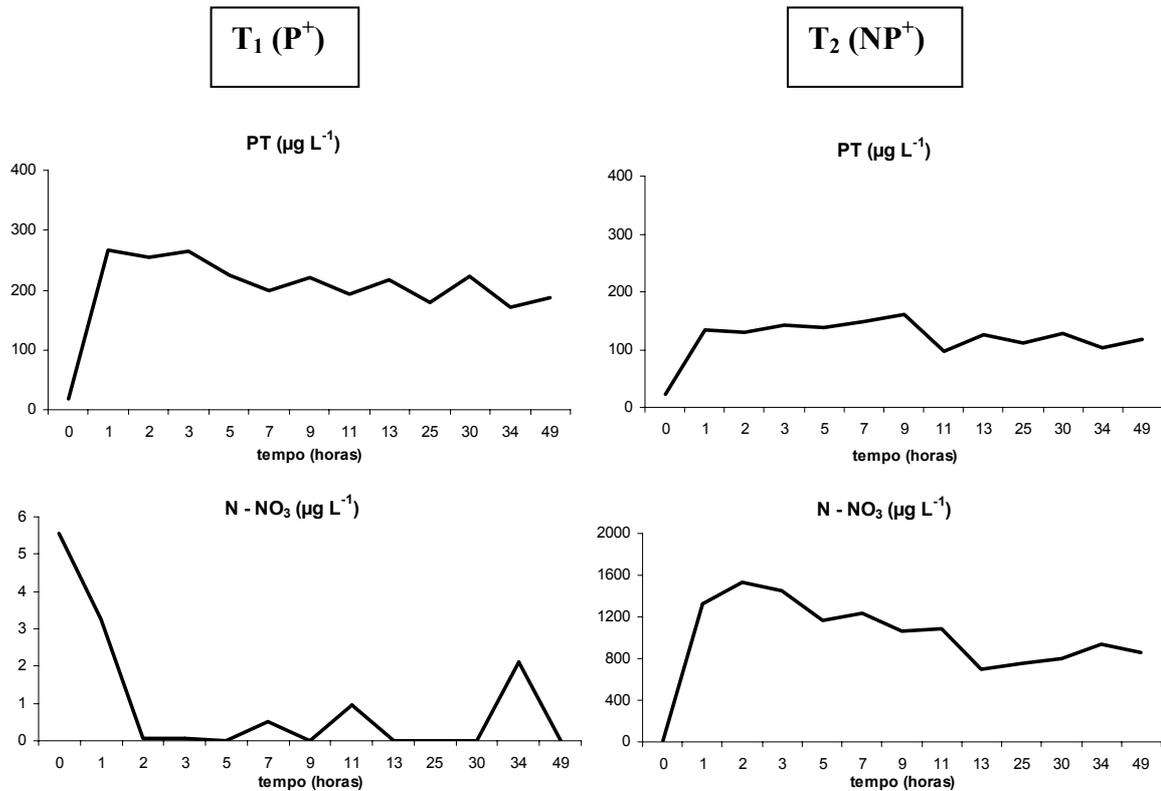


Figura 4. Decaimento do fósforo (Fósforo Total) e do nitrogênio na forma de nitrato (N-NO₃) no tratamento com adição isolada de fósforo (T₁) e conjunta com o nitrogênio (T₂) ao longo das 49 horas de estudo ($n = 2$).

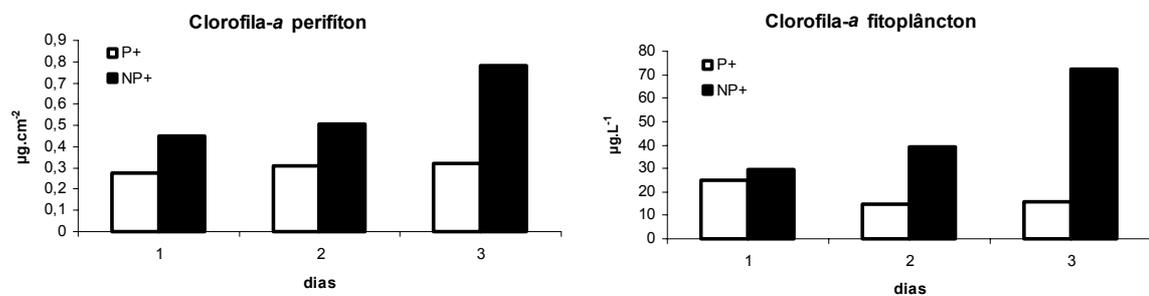


Figura 5. Concentrações médias de clorofila-*a* do perifiton ($\mu\text{g cm}^{-2}$) e do fitoplâncton ($\mu\text{g L}^{-1}$) nos tratamentos com adição isolada de P (P⁺) e adição combinada de N e P (NP⁺).

4.2. Delineamento Experimental

O delineamento do experimento foi reformulado com base nos resultados da fase piloto, de forma a serem definidos: o tempo de fechamento dos mesocosmos (24 horas), a concentração mínima do fósforo a ser adicionada ($100 \mu\text{gP L}^{-1}$) e a necessidade da adição conjunta de nitrogênio com o fósforo para avaliação do efeito da adição de fósforo, em condições de boa disponibilidade de nitrogênio.

Tipo de mesocosmos (Figuras 6-7) - o enriquecimento artificial foi realizado “*in situ*” mediante uso de mesocosmos. Os mesmos são estruturas retangulares ($63 \times 37 \times 34 \text{ cm}$), com capacidade para 78 litros de água, confeccionados em material plástico resistente. Cada unidade experimental apresentou um sistema de seis orifícios (cerca de 50 mm de diâmetro cada), que permaneceram abertos ou fechados por rolhas de borracha, dependendo do momento experimental (Figura 8). Este sistema possibilitou o fluxo de água para a renovação dos nutrientes quando necessário. O experimento foi realizado na região litoral da represa em local com cerca de 1-1,5 m de profundidade e os tratamentos com dosagens crescentes de nutrientes foram posicionados a favor do fluxo da água para evitar contaminação (Figura 3).

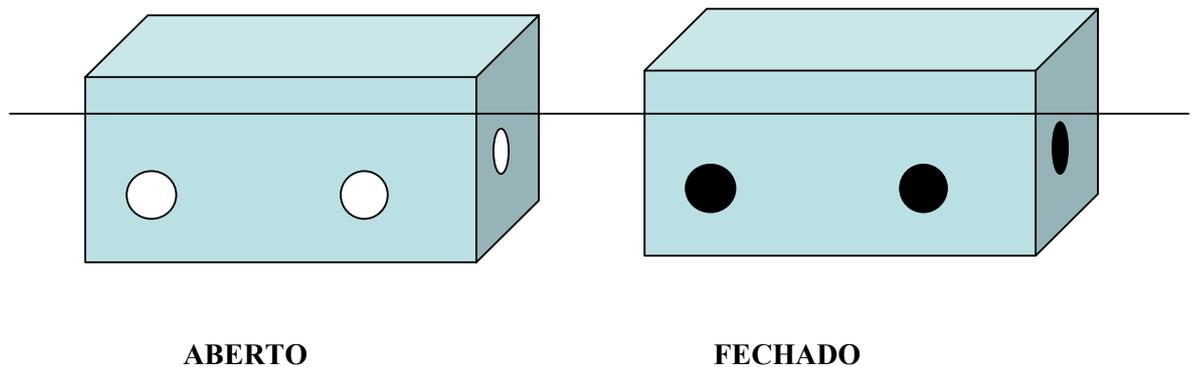


Figura 6. Esquema do mesocosmo aberto, permitindo a circulação da água, e fechado com rolhas.



Figura 7. Um tratamento experimental instalado no Lago da Ninfêias ($n = 3$) e detalhe de uma unidade experimental.

Enriquecimento – A adição de nutrientes visou avaliar o efeito do enriquecimento por pulsos em concentrações crescentes de fósforo e nitrogênio (3 níveis), mantendo sempre uma razão de boa disponibilidade de nitrogênio (Razão N/P = 44). O delineamento constou de controle (sem adição de nutrientes) e de três tratamentos que receberam cargas distintas de nitrogênio e fósforo (T_1 - 100 $\mu\text{gP L}^{-1}$ e 2000 $\mu\text{gN L}^{-1}$; T_2 - 200 $\mu\text{gP L}^{-1}$ e 4000 $\mu\text{gN L}^{-1}$; T_3 - 400 $\mu\text{gP L}^{-1}$ e 8000 $\mu\text{gN L}^{-1}$), cada qual com três repetições ($n = 3$), totalizando 12 unidades amostrais. Os enriquecimentos foram feitos com diferentes massas de fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4 PA Merck) e nitrato de sódio (KNO_3 PA Merck). Os sais de nitrogênio e fósforo foram dissolvidos em aproximadamente 1 litro de água do ambiente e a solução resultante foi posteriormente dispersa de maneira uniforme dentro de cada mesocosmo. Como as adições foram realizadas com base na massa do sal, o volume de cada mesocosmo foi aferido previamente aos enriquecimentos. A determinação das cargas foi definida, considerando o intervalo de variação das cargas médias anuais verificadas nas represas do PEFI, que estão compreendidas entre 5,7 e 65,5 $\text{g P m}^{-2} \text{ ano}^{-1}$ (reservatórios mesotrófico e eutrófico, conforme cinco anos de dados mensais do projeto “Tipologia, monitoramento e recuperação dos corpos d’água da Reserva Biológica do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo”). Os trabalhos de FERRAGUT (1999), MCCORMICK & STEVENSON (1998) e MCCORMICK *et al.* (2001) também serviram de base para a determinação dos níveis de enriquecimento.

Programa de amostragem (Figura 8, Tabela 1): Previamente à adição de nutrientes foram realizadas medidas das condições físicas e químicas da água e dos componentes biológicos contidos nas unidades experimentais. Logo após a tomada das amostras, os mesocosmos foram fechados para que se realizasse o enriquecimento. As unidades experimentais permaneceram fechadas por aproximadamente 24 horas. Decorrido este período, novas medidas das condições abióticas e biológicas foram tomadas. Em seguida, o sistema foi aberto, permitindo o fluxo de água, ou seja, a renovação do meio. As unidades experimentais relativas ao controle foram manipuladas da mesma forma, exceto à adição de nitrogênio e fósforo.

A amostragem foi realizada durante os meses de janeiro, fevereiro e março (21/01 a 24/3/2004), com coletas periódicas semanais, totalizando 17 coletas, sendo divididas em duas etapas: **(I)** etapa pré-enriquecimento e **(II)** etapa pós-enriquecimento. Em ambas foram analisadas variáveis abióticas da água e variáveis biológicas das comunidades perifítica, planctônica e de macrófitas aquáticas. Entre as etapas I e II foi mantido um intervalo regular de 24 horas.

Tabela 1. Seqüência, datas de coleta, enriquecimentos e tempo de colonização do substrato ao longo do período experimental.

Data de coleta	PRÉ-enriquecimento	ENRIQUECIMENTO	PÓS-enriquecimento	Tempo de Colonização (dias)
27/1/2004				7
3/2/2004				14
		X		
4/2/2004				15
10/2/2004				21
		X		
11/2/2004				22
17/2/2004				28
		X		
18/2/2004				29
24/2/2004				35
		X		
25/2/2004				36
2/3/2004				42
		X		
3/3/2004				43
9/3/2004				49
		X		
10/3/2004				50
16/3/2004				56
		X		
17/3/2004				57
23/3/2004				63
		X		
24/3/2004				64

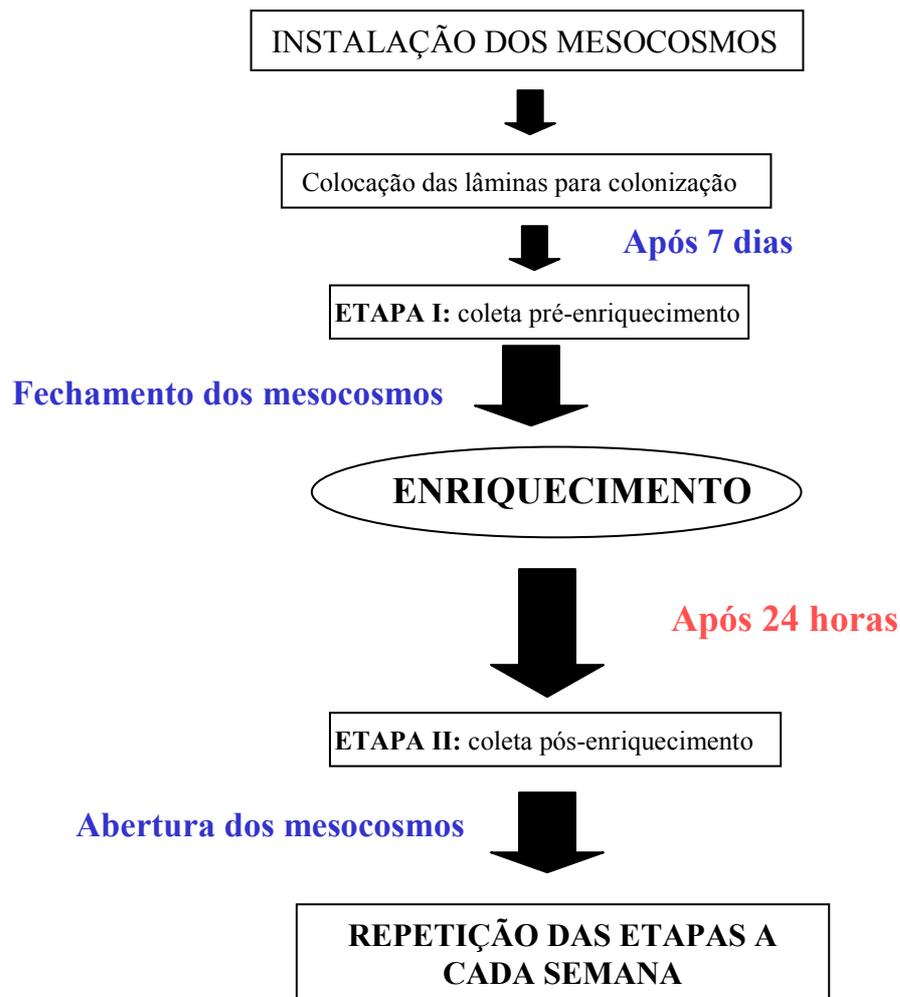


Figura 8. Seqüência experimental e programa de amostragem.

Tipo de substrato - optou-se pela utilização de lâminas de vidro como substrato artificial para o desenvolvimento do perifiton. Este material foi escolhido por ser quase totalmente inerte do ponto de vista químico, de custo reduzido, de fácil manuseio no tempo e no espaço, por apresentar área de colonização definida e constante, bem como para fins comparativos com outros trabalhos desenvolvidos e em andamento no PEFI. Além disso, por permitir a visualização direta do material ao microscópio, importante para exame de estruturas de fixação. Segundo PLANAS (1998), o uso de substrato artificial diminui a variabilidade entre as unidades amostrais, sendo especialmente recomendado em estudos de biomonitoramento.

Macrófitas aquáticas: as macrófitas selecionadas pertencem ao grupo das briófitas, gênero monoespecífico *Ricciocarpus natans*. A escolha foi feita em função da disponibilidade desses vegetais no ambiente de estudo e do tamanho diminuto das plantas para minimizar o sombreamento do substrato artificial. O experimento foi iniciado com uma população de 100

plantas em cada mesocosmo, as quais foram monitoradas (quantificadas) ao longo do período experimental.

4.3. Variáveis Climatológicas

Os dados climatológicos foram fornecidos pelo Observatório do Instituto de Ciências Atmosféricas e de Astronomia da Universidade de São Paulo, situado a cerca de 700 m do local de estudo. Foram obtidas informações diárias sobre temperatura do ar, precipitação pluviométrica, velocidade do vento e radiação solar.

4.4. Variáveis Limnológicas Abióticas

As amostras foram tomadas na sub-superfície da água (aproximadamente 20 cm abaixo da lâmina d'água) e as variáveis determinadas com seus respectivos métodos encontram-se abaixo:

- **temperatura da água, condutividade elétrica** ($\mu\text{S cm}^{-1}$) e **pH**: utilizando sonda multiparâmetro Ysi, modelo 610;
- **radiação subaquática**: quantameter LI-COR, modelo LI-250 ($\mu\text{mol S}^{-1} \text{m}^{-2}$);
- **oxigênio dissolvido** (mg L^{-1}): método Winkler (modificado pela azida), descrito em GOLTERMAN *et al.* (1978);
- **alcalinidade, pH e formas de carbono**: a alcalinidade foi determinada por titulação potenciométrica, com microbureta digital Hirschmann e ácido forte, sendo o ponto de viragem a pH 4,34, medido em pHmetro Jenway, segundo a técnica descrita por GOLTERMAN & CLYMO (1969); as diferentes formas de carbono inorgânico foram obtidas a partir dos dados de pH e alcalinidade, segundo MACKERETH *et al.* (1978);
- **nutrientes dissolvidos e totais**: todos os nutrientes foram determinados no dia de coleta, com exceção ao nitrogênio e fósforo total, que foram mantidos em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para posterior análise. Para a determinação dos nutrientes dissolvidos, as amostras foram imediatamente filtradas em bomba a vácuo sob baixa pressão ($< 0,5\text{ atm}$), utilizando filtros Whatman GF/F (porosidade 0,6 a $0,7\text{ }\mu\text{m}$), conforme WETZEL & LIKENS (1991). Todas as determinações foram realizadas por métodos espectrofotométricos e suas concentrações foram calculadas a partir de valores de absorbância lidos em espectrofotômetro Micronal, modelo B380. Os nutrientes analisados e seus respectivos métodos estão listados a seguir:
 - **Amônio** ($\mu\text{g N-NH}_4\text{ L}^{-1}$), segundo SOLORZANO (1969);

- **Nitrito** ($\mu\text{g N-NO}_2 \text{ L}^{-1}$), segundo MACKERET *et al.* (1978);
- **Nitrato** ($\mu\text{g N-NO}_3 \text{ L}^{-1}$), segundo MACKERET *et al.* (1978);
- **Nitrogênio total** ($\mu\text{g NT L}^{-1}$), segundo VALDERRAMA (1981);
- **Ortofosfato** ($\mu\text{g P-PO}_4 \text{ L}^{-1}$), segundo STRICKLAND & PARSONS (1960);
- **Fósforo total dissolvido** ($\mu\text{g PTD L}^{-1}$), segundo STRICKLAND & PARSONS (1960);
- **Fósforo total** ($\mu\text{g PT L}^{-1}$), segundo VALDERRAMA (1981);
- **Ortossilicato** ($\text{mg Si-Si H}_4\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$), segundo GOLTERMAN *et al.* (1978).

4.5. Variáveis Biológicas da Comunidade Perifítica

No dia da coleta, o material perifítico foi removido do substrato artificial com auxílio de lâminas de barbear e jatos de água destilada para as seguintes análises:

- **análise taxonômica** - as amostras foram fixadas em formalina 3-4%. A oxidação e preparo das lâminas permanentes para a análise das diatomáceas seguiram HASLE & FRYXELL (1970), utilizando Hyrax como meio de inclusão. As análises foram feitas ao microscópio binocular de marca Zeiss Oberkochen, munido de câmara clara e ocular de medição. O sistema de classificação adotado para classes e ordens foi o de van der HOEK *et al.* 1997. Para identificação das algas em nível específico foi utilizada literatura especializada conforme o grupo de algas, tais como: ALBUQUERQUE & MENEZES (1997), BICUDO (2004); BICUDO *et al.* (2003); BICUDO (1989, 1990a, 1996); GEITLER (1932); KOMÁREK & ANAGNOSTIDIS (1999); KOMÁREK & FOTT 1983; KRAMER & LANGE-BERTALOT (1986); SANT'ANNA *et al.* (1989), XAVIER (1988, 1989a, 1989b, 1994), FERRAGUT *et al.* (2005).

- **análise quantitativa das algas** - o perifíton removido de seu substrato foi imediatamente fixado e preservado em lugol acético 0,5% (LUND *et al.* 1958) em volume conhecido e mantido no escuro a temperatura ambiente, até o momento da análise. A densidade foi determinada pelo método de Utermöhl, a partir de microscópio invertido Zeiss Oberkochen, em aumento de 400 vezes (LUND *et al.* 1958). O limite da contagem foi estabelecido por dois procedimentos: quantificação de 100 indivíduos da espécie mais comum e curva de rarefação de espécies (BICUDO 1990b). A equação para o cálculo da densidade seguiu ROS (1979), adaptada para a área do substrato, como segue:

$$N = \frac{n \cdot 1000 \cdot 10^6 \cdot V(\text{mL})}{v_c \cdot S} \cdot f \quad v_c = h \cdot \text{Ac} \cdot N_c$$

$v_c \cdot S$

Onde:

N = densidade (número de indivíduos por cm²)

n = número total de indivíduos contados

V = volume total da amostra contendo o perifíton removido do substrato (mL)

v_c = volume dos campos contados (mL)

Ac = área do campo de contagem (μm²)

h = altura da câmara de sedimentação (mm)

Nc = número de campos contados

S = Superfície raspada do substrato (cm²)

10⁶ e **10** = fatores de correção para as unidades

f = fator de diluição da amostra, quando necessário

• **biomassa da comunidade algal** – a extração da clorofila-a, corrigida para feopigmentos, foi feita em etanol 90% aquecido por 5 minutos, não-macerado (SARTORY & GROBBELAAR 1984). Os cálculos foram feitos de acordo com WETZEL & LIKENS (1991), sendo as equações adaptadas para a comunidade perifítica (área do substrato) e as respectivas constantes corrigidas para o solvente orgânico utilizado na extração. A determinação de massa seca, massa seca livre de cinzas e cinzas seguiu SCHWARZBOLD *et al.* (1990) e FERRAGUT (1999).

$$\text{Clorofila-a } (\mu\text{g cm}^{-2}) = \frac{E_{\text{clor}} \cdot 10^3 \cdot V \text{ (ml)}}{83,4 \cdot S \text{ (cm}^2)}$$

$$\text{Feofitina } (\mu\text{g cm}^{-2}) = \frac{E_{\text{feof}} \cdot 10^3 \cdot V \text{ (ml)}}{56 \cdot S \text{ (cm}^2)}$$

Onde:

$$E_{\text{clor}} = 2,38 \cdot (U' - A')$$

$$E_{\text{feof}} = U' - E_{\text{clor}}$$

$$U' = U_{665} - U_{750}$$

$A' = A_{665} - A_{750}$

U' = absorvância a 665 nm do extrato não acidificado corrigida da leitura a 750 nm

A' = absorvância a 665 nm do extrato acidificado corrigida da leitura a 750 nm

V = Volume do solvente em ml

$83,4$ = coeficiente de absorção específico da clorofila-a em etanol 96%

56 = coeficiente de absorção específico da feofitina (adotado o determinado em acetona 90%)

S = Área do substrato em cm^2 .

• **índices biológicos (nível específico)** – foram calculados índices de diversidade de Shannon-Wiener (SHANNON & WEAVER 1963), equitatividade (LLOYD & GHELARDI 1964), dominância (Simpson 1949) e riqueza (ODUM 1983).

⇒ **Índice de Equitabilidade (E)** $E = H' / \log_2 S$

Onde:

H' = índice de diversidade (bits.ind^{-1})

S = número total de táxons contados na amostra

⇒ **Índice de Dominância de Simpson (D)** $D = \sum (p_i)^2$

Onde:

$p_i = n_i/N$

n_i = abundância relativa de cada táxon na unidade amostral

N = número total de indivíduos na amostra

⇒ **Índice de Diversidade de Shannon-Wiener (H')** $H' = - \sum p_i \cdot \log_2 p_i$

Onde:

H' = índice de diversidade (bits.ind^{-1})

$p_i = n_i/N$

n_i = abundância relativa de cada táxon na unidade amostral

N = número total de indivíduos na amostra

- **espécies abundantes e dominantes**, conforme LOBO & LEIGHTON (1986), que consideram espécies dominantes aquelas cujas densidades são maiores do que 50% da densidade total da comunidade e espécies abundantes aquelas cujas densidades superam a densidade média das populações de cada amostra.

- **associação de espécies bioindicadoras** - foi avaliada com base nas análises qualitativas e quantitativas das algas perifíticas, com uso de literatura especializada como, SLÁDECKOVÁ (1994), VAN DAM *et al.* (1994), LOWE & PAN (1996), VERCELLINO (2001), FERRAGUT (2004), FERMINO (2006) entre outros.

4.6. Composição Química dos Compartimentos Biológicos

O conteúdo de fósforo e nitrogênio foi determinado nos diferentes compartimentos biológicos contidos nos mesocosmos: perifíton, macrófitas aquáticas e seston (toda matéria orgânica particulada em suspensão na água incluindo frações vivas e mortas). A definição dos procedimentos analíticos adotados foi feita após uma fase preliminar de testes metodológicos com os diferentes compartimentos incluídos no estudo. Os dados foram normalizados para massa seca (macrófitas) e massa seca livre de cinzas (seston e perifíton) e então expressos em porcentagem de concentração da massa orgânica perifítica, conforme BIGGS (1995).

4.6.1. Nitrogênio Total

A determinação do nitrogênio total seguiu o nitrogênio microKjeldahl, que se baseia na digestão com ácido sulfúrico seguida pela determinação do amônio, conforme UMBREIT *et al.* (1964). Nas macrófitas e no seston alguns procedimentos foram realizados previamente à digestão com ácido sulfúrico. Para o seston concentrou-se um volume conhecido de amostra em tubos de ensaio a baixas temperaturas (aproximadamente 40° C), utilizando estufa com circulação de ar. Nas macrófitas uma fração da massa seca das plantas foi pesada e introduzida em tubos de ensaio. Para a comunidade perifítica não foi necessário qualquer procedimento anterior à análise.

4.6.2. Fósforo Total

A determinação do fósforo total das comunidades foi realizada mediante digestão com ácido clorídrico seguida pela determinação do fósforo solúvel reativo, conforme ANDERSEN (1976), modificado para o perifíton (PÔMPEO & MOSCHINI-CARLOS 2003). Para a

determinação do fósforo do seston foi necessário realizar a concentração do material em estufa para posterior determinação do elemento químico. Para as macrófitas e para o perifíton seguiu-se a metodologia citada, sem modificações.

4.7. Balanço de Massa

Tendo em vista quantificar a acumulação de fósforo pelos componentes da comunidade selecionados (perifíton, seston e comunidade de macrófitas aquáticas), procedeu-se ao balanço de massa para duas condições distintas:

(a) semanalmente ao longo do período experimental, considerando as diferenças obtidas entre a situação de pré-enriquecimento e pós-enriquecimento (período de 24 horas) para o perifíton, seston e comunidade de macrófitas aquáticas;

(b) no último dia do experimento (64 dias de colonização do perifíton), após 8 dosagens semanais de ortofosfato que simularam os pulsos de enriquecimento.

A primeira etapa para efetuar o balanço de massa foi a extrapolação das concentrações de fósforo total da água, do perifíton, do seston e das macrófitas para massa (mg) em cada unidade amostral, nas condições de pré e pós-enriquecimento. A massa de fósforo associada ao perifíton foi calculada, para cada amostra, a partir da multiplicação dos percentuais de P pela área das lâminas colonizadas presentes em cada unidade experimental. Para o seston, multiplicou-se a %P de cada amostra pelo volume do mesocosmo em litros. Para as macrófitas, a %P foi multiplicada pela massa seca total das plantas contidas em cada mesocosmo. Finalmente, para o valor do PT da água (em massa de P), somou-se, para cada amostra, a massa de sal adicionada à massa na condição de pré-enriquecimento. Desta soma, descontou-se o valor do PT em massa no pós-enriquecimento. O valor resultante foi considerado como o valor total de fósforo retido pelas comunidades contidas nos mesocosmos, que foi considerado nominalmente de 100%.

Em uma segunda etapa, a partir do valor de 100%, estimou-se a retenção de P em cada compartimento biológico com base no fósforo das comunidades, bem como o que sobrou em outro compartimento não incluído na análise, muito provavelmente no sedimento acumulado nos mesocosmos ao longo dos 64 dias de experimento.

4.8. Tratamento Numérico dos Dados

Os resultados foram inicialmente avaliados com o uso da estatística descritiva, analisando a amplitude de variação dos dados e sua dispersão em torno da média.

Aplicou-se a técnica de análise de variância, ANOVA one-way (SOKAL *et al.* 1995) para comparação de médias das variáveis nos tratamentos nas condições de pré e pós-enriquecimento. Tendo-se cumprido com as premissas de homogeneidade entre variâncias, as análises foram realizadas sem a transformação dos dados. Para comparação de médias e determinação da diferença mínima significativa entre os tratamentos foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. Para tais análises empregou-se o programa estatístico MINITAB (versão 14,1).

Para avaliação conjunta dos dados, aplicou-se análise multivariada. Análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada, separadamente, para análise dos dados abióticos e, também, dos dados biológicos da comunidade (espécies de algas perifíticas). Na construção da matriz biológica foram consideradas as espécies com representação igual ou superior a 0,5% da abundância total, considerando todo período experimental para cada unidade amostral. Em ambas análises foram utilizadas matrizes de covariância, com transformação dos dados pela amplitude de variação dos dados (*ranging*: $[(x-x_{\min}) / (X_{\max}-x_{\min})]$) e pelo $[\log(x+1)]$, respectivamente, para a matriz de dados abióticos e biológicos. Para a análise integrada de ambas as matrizes empregou-se análise de Correspondência Canônica (ACC). Esta é uma técnica direta de gradiente que representa simultaneamente as unidades amostrais, as variáveis ambientais e as espécies em um espaço bidimensional (HALL & SMOL 1992). O **Teste Monte Carlo** (99 permutações; $p < 0,05$) informa a probabilidade dos autovalores dos eixos terem ou não sido distribuídos ao acaso. O **coeficiente canônico** permite avaliar o peso de cada variável ambiental na ordenação das unidades amostrais nos eixos. As correlações “*intra-set*”, por sua vez, refletem a correlação entre as variáveis ambientais e a ordenação nos eixos, mantendo-se, contudo, a relação de dependência espécie-ambiente (TER-BRAAK, 1986). Ainda, o coeficiente de correlação de Pearson e Kendall (**r**) resulta da relação entre os valores da ordenação (posição das unidades amostrais nos eixos) e variáveis individuais (bióticas e abióticas) utilizadas na construção da ordenação (MCCUNE & MEFFORD 1999).

A transformação dos dados (para ACP e ACC) foi realizada a partir do programa FITOPAC (SHEPHERD 1996), e as análises, propriamente ditas, pelo programa PC-ORD, versão 3,0 para Windows (MCCUNE & MEFFORD 1999).

5. RESULTADOS

5.1. Variação das Condições Climáticas durante o Período Experimental

Os dados climáticos diários apresentados referem-se ao período de 64 dias consecutivos de realização do experimento, ou seja, de 21/01 a 24/03/2004 (Tabela 2, Figura 9).

Os valores médios, mínimos e máximos de temperatura do ar para o período foram, respectivamente, de 21 °C, 17,2 °C e 24,7 °C, ou seja, com variação de até 7,5 °C. Os valores mais baixos ocorreram, principalmente, ao final do período experimental. A radiação solar apresentou flutuações ao longo do experimento, seguindo as tendências de temperatura do ar. O valor médio foi de 13,2 MJ cm⁻². A precipitação acumulada média diária foi baixa (8,9 mm dia⁻¹). Entretanto as oscilações foram elevadas (CV = 166%), com valores elevados registrados, principalmente, no 46^o, 33^o e 13^o dias do experimento.

Tabela 2. Valores mínimo, máximo, médio e coeficiente de variação (CV) das variáveis climáticas ($n = 64$) na área do PEFI, durante o período experimental (21/01/04 a 24/03/04).

Valores	Temperatura do ar (°C)	Radiação solar (MJ cm ⁻²)	Precipitação diária acumulada (mm)
Mínimo	17,2	4,5	0,0
Máximo	24,7	21,7	68,3
Média	20,8	13,2	8,9
CV (%)	8,9	36,0	165,8

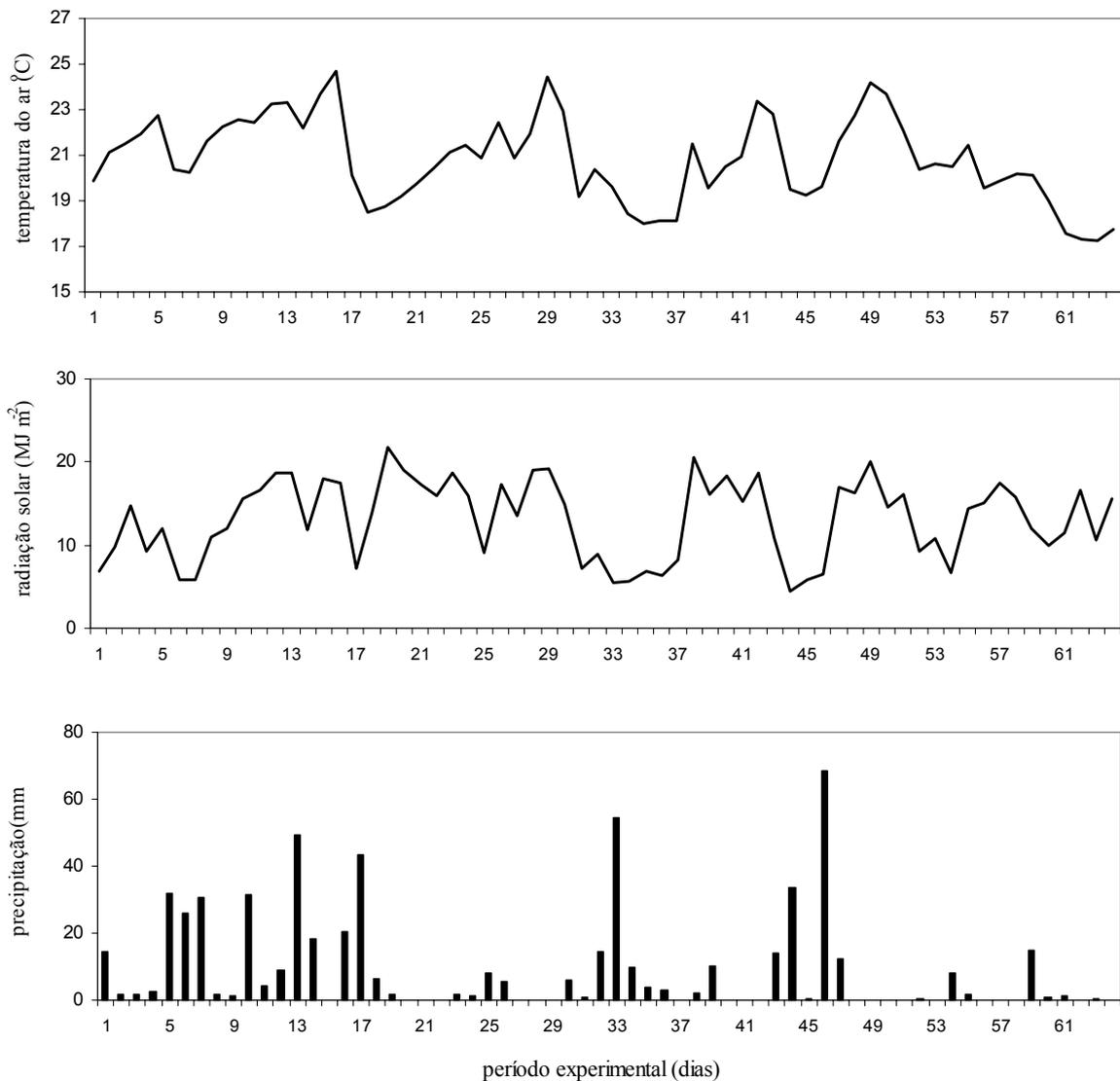


Figura 9. Variação diária da temperatura média do ar (°C), radiação solar (MJ cm⁻²) e precipitação diária acumulada (mm) ao longo dos 64 dias de experimento.

5.2. Caracterização Abiótica do Experimento

Valores mínimos, máximos, médios e erro padrão das características limnológicas abióticas nos tratamentos (C, T₁, T₂ e T₃, $n = 3$) nas condições de pré e pós-enriquecimento estão apresentados nas tabelas 3 e 4, respectivamente. Em média, variáveis como temperatura, pH, alcalinidade, íons bicarbonato, amônio e ortossilicato apresentaram pouca variação entre as condições de pré e pós-enriquecimento e entre os diferentes tratamentos. Todas as formas de nitrogênio, à exceção do nitrogênio amoniacal, apresentaram valores mais elevados nas condições de pós-enriquecimento. Entre os tratamentos, os menores valores foram encontrados na condição controle, havendo uma tendência crescente de aumento do tratamento 1 ao 3. As formas de fósforo (PT, PDT e PO₄) apresentaram mesma tendência de resposta das formas nitrogenadas, ou seja, valores mais elevados no pós-enriquecimento, com os maiores teores no T₃. Nas figuras 10-17 estão apresentados os dados das variáveis limnológicas abióticas ao longo de todo o período experimental, nas condições de pré e pós-enriquecimento.

No pós-enriquecimento, diferenças significativas ocorreram entre os tratamentos, principalmente, mediante adição de nutrientes. Diferenças significativas foram verificadas entre os tratamentos nas condições de pós-enriquecimento para toda a série fósforo (PT, PDT e PO₄) e para todas as formas de nitrogênio, à exceção do amônio. Valores de pH, condutividade, oxigênio dissolvido, alcalinidade, íons bicarbonato, nitrato, nitrito, nitrogênio total, ortofosfato, fósforo total dissolvido e fósforo total também foram estatisticamente distintos entre tratamentos (ver anexo).

As principais tendências de variação das características abióticas podem ser visualizadas pela análise de componentes principais (ACP) (Figura 18, Tabela 5). Esta análise resumiu 63,7% da variabilidade conjunta dos dados em seus dois primeiros componentes. O primeiro eixo representou o enriquecimento artificial, de forma que separou as unidades amostrais referentes ao controle e pré-enriquecimento, à direita do eixo, e as relativas ao pós-enriquecimento, à esquerda do eixo 1. As variáveis mais associadas ao enriquecimento foram os teores mais elevados de NO₃ ($r = -0,93$), condutividade ($r = -0,92$), NT ($r = -0,91$), PDT ($r = -0,84$), OD ($r = -0,81$) e PO₄ ($r = -0,80$). Posicionadas à direita do eixo 1 estão as unidades amostrais relativas ao pré-enriquecimento e controle que se associaram de forma inversa às variáveis anteriormente citadas. No eixo 2, associadas aos maiores valores de pH ($r = -0,82$) e Si ($r = -0,79$) estão as unidades amostrais relativas ao pré-enriquecimento e aquelas relacionadas ao pós-enriquecimento nos períodos intermediários-finais da sucessão.

Tabela 3. Valores mínimo, máximo e, entre parênteses, média e erro padrão das variáveis abióticas dos tratamentos nas condições de pré-enriquecimento ($n = 9$).

Variáveis	C	T ₁	T ₂	T ₃
Temperatura (°C)	19,9-22,3 (21,2 ± 0,26)	19,9-22,4 (19,9 ± 0,27)	19,9-24,6 (21,7 ± 0,48)	20,0-22,8 (21,4 ± 0,31)
pH	5,01-7,04 (6,1 ± 0,22)	5,37-6,56 (6,02 ± 0,14)	5,59-6,54 (6,09 ± 0,11)	5,52-6,51 (6,09 ± 0,11)
Condutividade (µS cm ⁻¹)	47,6-54,2 (51,2 ± 0,75)	46,9-54,7 (50,9 ± 0,84)	46,6-54,6 (51,2 ± 0,89)	48,9-55,1 (51,6 ± 0,80)
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	1,64-3,85 (2,71 ± 0,27)	1,92-5,21 (3,06 ± 0,38)	1,15-6,71 (3,48 ± 0,60)	1,32-6,16 (3,68 ± 0,52)
Alcalinidade (mEq L ⁻¹)	0,16-0,29 (0,25 ± 0,01)	0,17-0,29 (0,25 ± 0,01)	0,17-0,30 (0,26 ± 0,01)	0,19-0,31 (0,27 ± 0,01)
CO ₂ livre (mg L ⁻¹)	2,95-156,71 (44,13 ± 16,9)	7,74-91,77 (33,96 ± 9,94)	7,96-79,81 (26,67 ± 7,56)	8,89-93,03 (33,11 ± 11,27)
HCO ₃ (mg L ⁻¹)	9,75-17,88 (15,36 ± 0,87)	10,10-17,66 (15,40 ± 0,82)	10,65-18,50 (15,78 ± 0,90)	11,38-18,64 (16,18 ± 0,81)
PT (µg L ⁻¹)	14,74-46,72 (24,28 ± 3,32)	18,24-53,77 (31,61 ± 3,66)	20,70-57,38 (37,94 ± 3,93)	22,21-64,75 (38,99 ± 4,35)
PDT (µg L ⁻¹)	11,00-11,69 (11,15 ± 0,09)	11,00-11,54 (11,15 ± 0,06)	11,00-11,89 (11,16 ± 0,10)	11,00-11,99 (11,20 ± 0,12)
P-PO ₄ (µg L ⁻¹)	2,00-4,38 (2,43 ± 0,27)	2,00-4,07 (2,36 ± 0,25)	2,00-6,07 (2,72 ± 0,48)	2,00-6,07 (2,63 ± 0,46)
NT (µg L ⁻¹)	367,33-1196,3 (543,71 ± 87,90)	62,92-625,39 (326,98 ± 56,55)	180,50-1050,41 (507,88 ± 85,33)	315,40-1113,97 (510,78 ± 83,43)
N-NO ₂ (µ L ⁻¹)	3,02-17,43 (7,34 ± 1,53)	1,82-16,02 (7,15 ± 1,51)	1,46-13,66 (6,72 ± 1,36)	1,26-13,23 (6,22 ± 1,32)
N-NO ₃ (µg L ⁻¹)	0-1154,27 (192,80 ± 124,54)	0-966,03 (173,77 ± 103,51)	0-765,99 (137,92 ± 83,55)	0-489,24 (88,84 ± 54,71)
N-NH ₄ (µg L ⁻¹)	10,58-21,90 (15,57 ± 1,45)	6,68-19,56 (13,03 ± 1,53)	9,02-21,12 (14,65 ± 1,53)	3,85-19,26 (11,46 ± 1,64)
Si-SiH ₄ O ₄ (mg L ⁻¹)	3,00-3,75 (3,17 ± 0,10)	3,00-3,73 (3,17 ± 0,10)	3,00-3,76 (3,18 ± 0,11)	3,00-3,76 (3,18 ± 0,10)
NT : PT (razão molar)	30,2-138,3 (55,6 ± 11,5)	5,5-35,5 (24,3 ± 4,1)	12-63,6 (33,8 ± 5,3)	17,4-50,6 (30,6 ± 4,1)
Radiação sub-aquática	44,5-309,7 (93,3 ± 27,6)	23,5-501,0 (129,4 ± 50,7)	65,6-764,6 (223,9 ± 74,6)	62,9-998,6 (316,2 ± 98,0)

Tabela 4. Valores mínimo, máximo e, entre parênteses, média e erro padrão das variáveis ambientais dos tratamentos nas condições de pós-enriquecimento ($n = 8$).

Variáveis	C	T ₁	T ₂	T ₃
Temperatura (°C)	19,5-28,7 (22,6 ± 1,00)	19,8-28,6 (22,8 ± 0,98)	20,4-29,1 (23,1 ± 0,99)	20,1-29,5 (23,4 ± 1,05)
pH	5,78-6,78 (6,32 ± 0,15)	5,63-6,84 (6,29 ± 0,15)	5,90-7,33 (6,57 ± 0,14)	5,81-7,63 (6,68 ± 0,17)
Condutividade (µS cm ⁻¹)	47,8-56,4 (52,5 ± 1,27)	64,5-78,7 (71,7 ± 1,81)	83,1-99,2 (91,7 ± 2,10)	122,4-152,7 (134,2 ± 3,39)
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	5,59-7,70 (6,78 ± 0,27)	6,27-11,00 (8,63 ± 0,75)	6,63-12,86 (9,21 ± 0,95)	5,97-13,88 (9,53 ± 0,99)
Alcalinidade (mEq L ⁻¹)	0,18-0,28 (0,25 ± 0,01)	0,19-0,32 (0,26 ± 0,01)	0,20-0,33 (0,27 ± 0,01)	0,21-0,34 (0,29 ± 0,01)
CO ₂ livre (mg L ⁻¹)	4,62-42,53 (18,36 ± 5,55)	4,13-76,74 (20,73 ± 8,6)	4,05-44,98 (12,27 ± 4,78)	0,86-53,62 (11,33 ± 6,08)
HCO ₃ (mg L ⁻¹)	11,01-17,22 (15,16 ± 0,90)	11,32-19,38 (15,92 ± 1,05)	11,92-19,92 (16,46 ± 1,07)	12,87-20,78 (17,38 ± 1,08)
PT (µg L ⁻¹)	17,98-30,47 (23,02 ± 1,57)	37,21-118,41 (72,04 ± 9,36)	65,84-132 (93,2 ± 7,64)	94,64-224,59 (156,53 ± 15,99)
PDT (µg L ⁻¹)	11,00-14,04 (11,50 ± 0,37)	11,10-21,33 (16,91 ± 1,34)	19,68-38,58 (29,90 ± 2,89)	38,53-119,79 (70,70 ± 9,78)
P-PO ₄ (µg L ⁻¹)	2,00-2,00 (2,00 ± 0)	2,00-8,44 (4,63 ± 0,79)	6,44-28,57 (16,08 ± 2,47)	26,21-115,84 (59,09 ± 10,44)
NT (µg L ⁻¹)	382,47-1439,02 (589,98 ± 123,70)	1404,17-3738,00 (2655,09 ± 253,64)	1933,49-4706,50 (3246,80 ± 340,48)	7007,49-9810,40 (8100,78 ± 376,84)
N-NO ₂ (µ L ⁻¹)	1,97-16,38 (5,94 ± 1,60)	13,85-28,67 (21,29 ± 1,77)	17,44-38,45 (29,47 ± 3,48)	35,04-67,68 (45,09 ± 4,88)
N-NO ₃ (µg L ⁻¹)	0-1207,97 (196,33 ± 146,95)	551,35-3493,70 (2158,23 ± 363,83)	900,33-6659,04 (4435,00 ± 685,22)	2285,32-11660,88 (8458,65 ± 1104,55)
N-NH ₄ (µg L ⁻¹)	9,21-44,19 (19,23 ± 4,11)	6,29-39,85 (14,73 ± 3,96)	4,24-22,39 (11,30 ± 1,87)	3,36-30,24 (11,95 ± 3,02)
Si-SiH ₄ O ₄ (mg L ⁻¹)	3,00-3,32 (3,04 ± 0,04)	3,00-3,29 (3,04 ± 0,03)	3,00-3,19 (3,02 ± 0,02)	3,00-3,21 (3,03 ± 0,03)
NT : PT (razão molar)	36,3-132,3 (58,9 ± 11,6)	40,5-177,6 (93,2 ± 15,0)	47,3-132,6 (85,0 ± 10,9)	81,1-166,9 (123,4 ± 10,2)
Radiação sub-aquática	51,3-1343,1 (515,8 ± 145,5)	88,3-936,1 (555,3 ± 94,7)	157,1-800,2 (521,0 ± 87,1)	112,3-929,7 (642,4 ± 104,6)

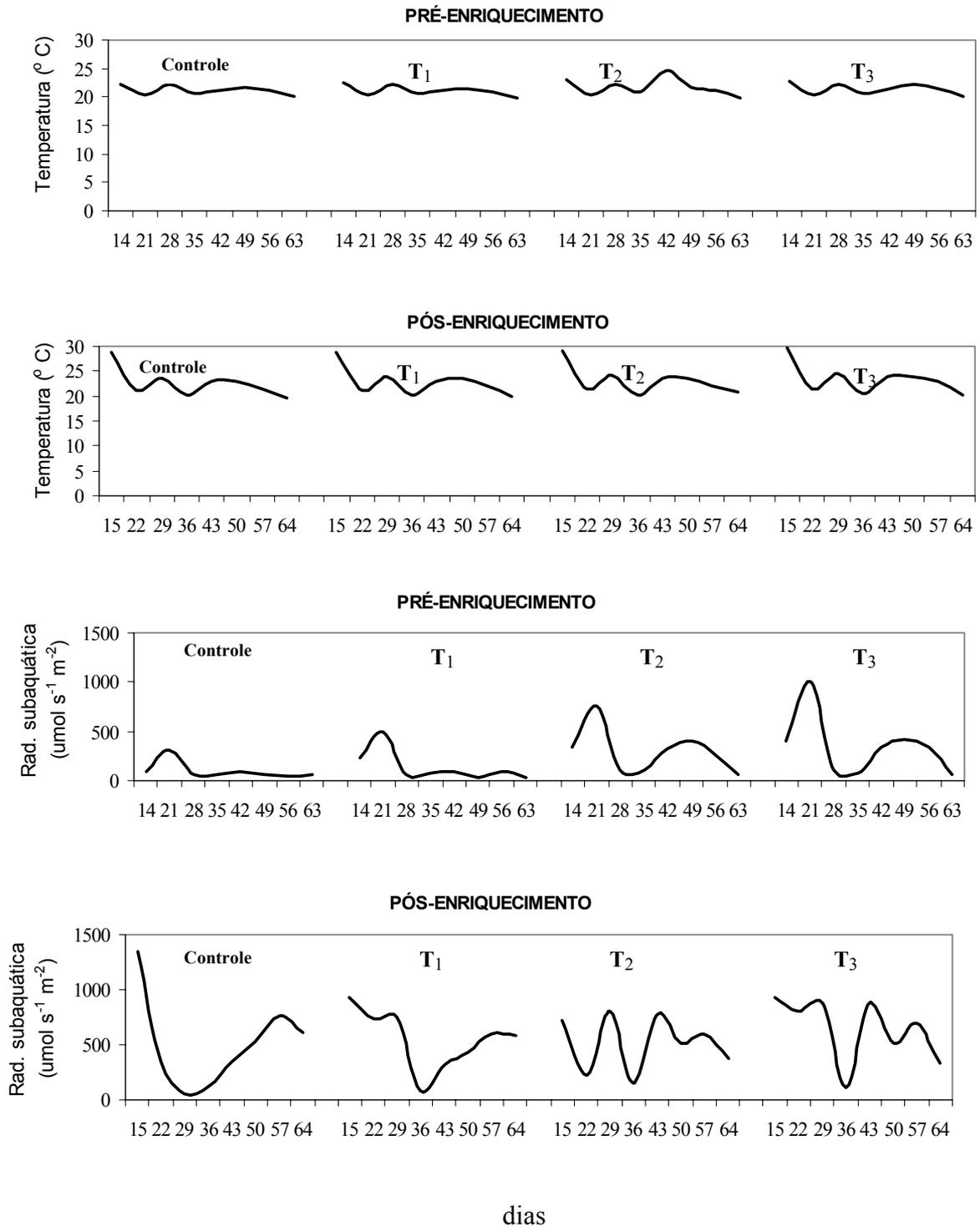


Figura 10. Valores médios ($n = 3$) da temperatura da água e da radiação subaquática nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

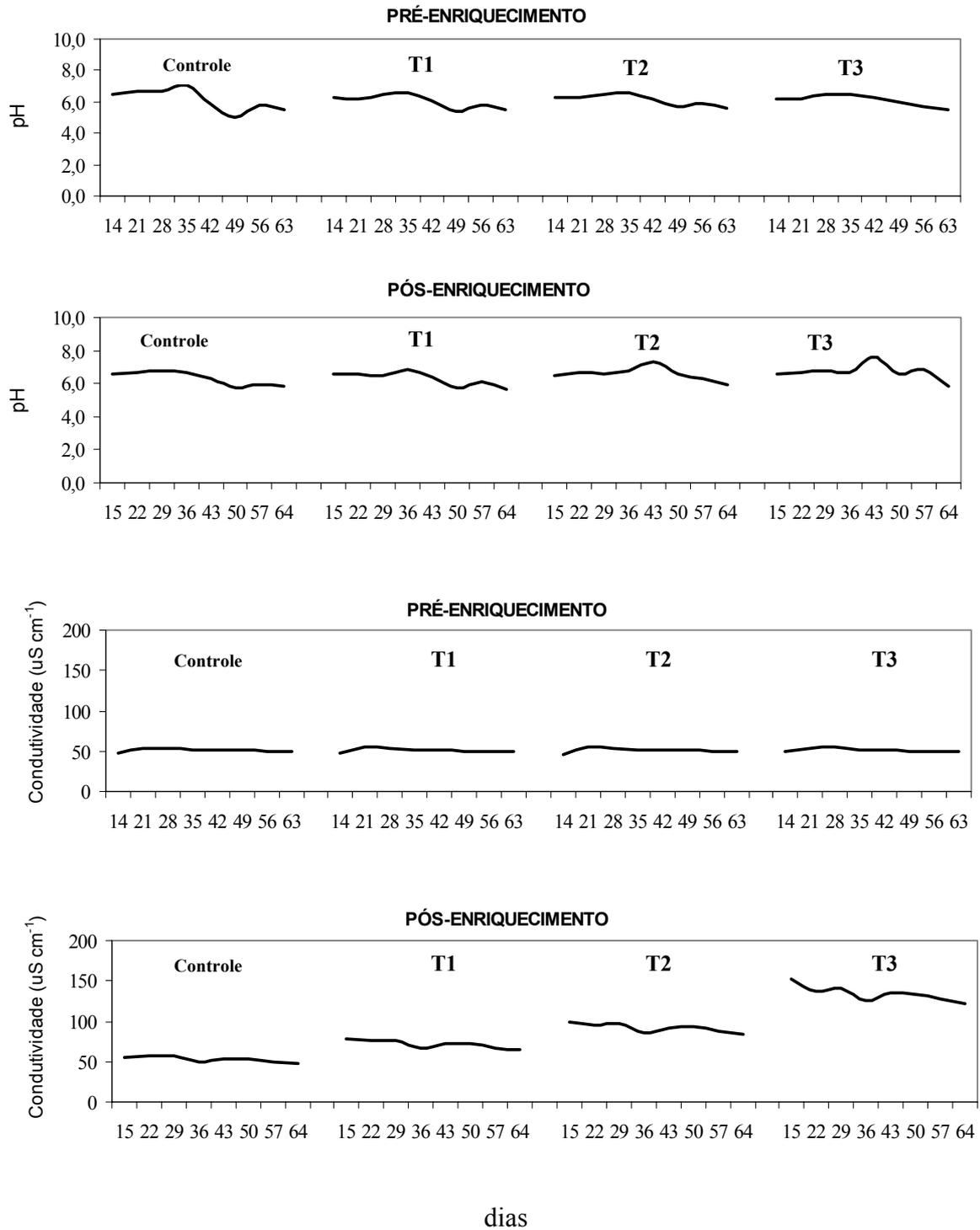


Figura 11. Valores médios ($n = 3$) do pH e da condutividade da água nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

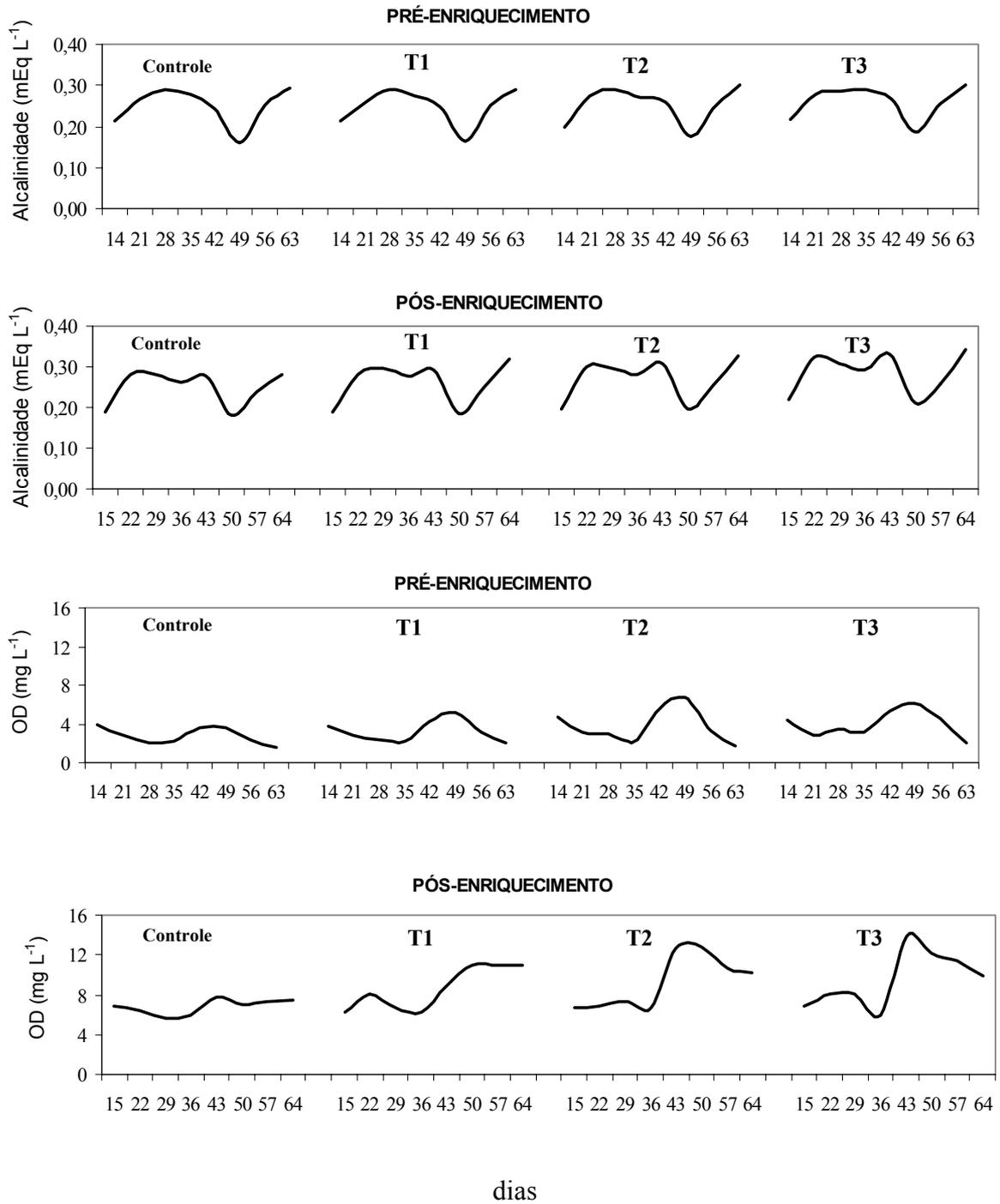


Figura 12. Valores médios ($n = 3$) de alcalinidade e oxigênio dissolvido (OD) nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

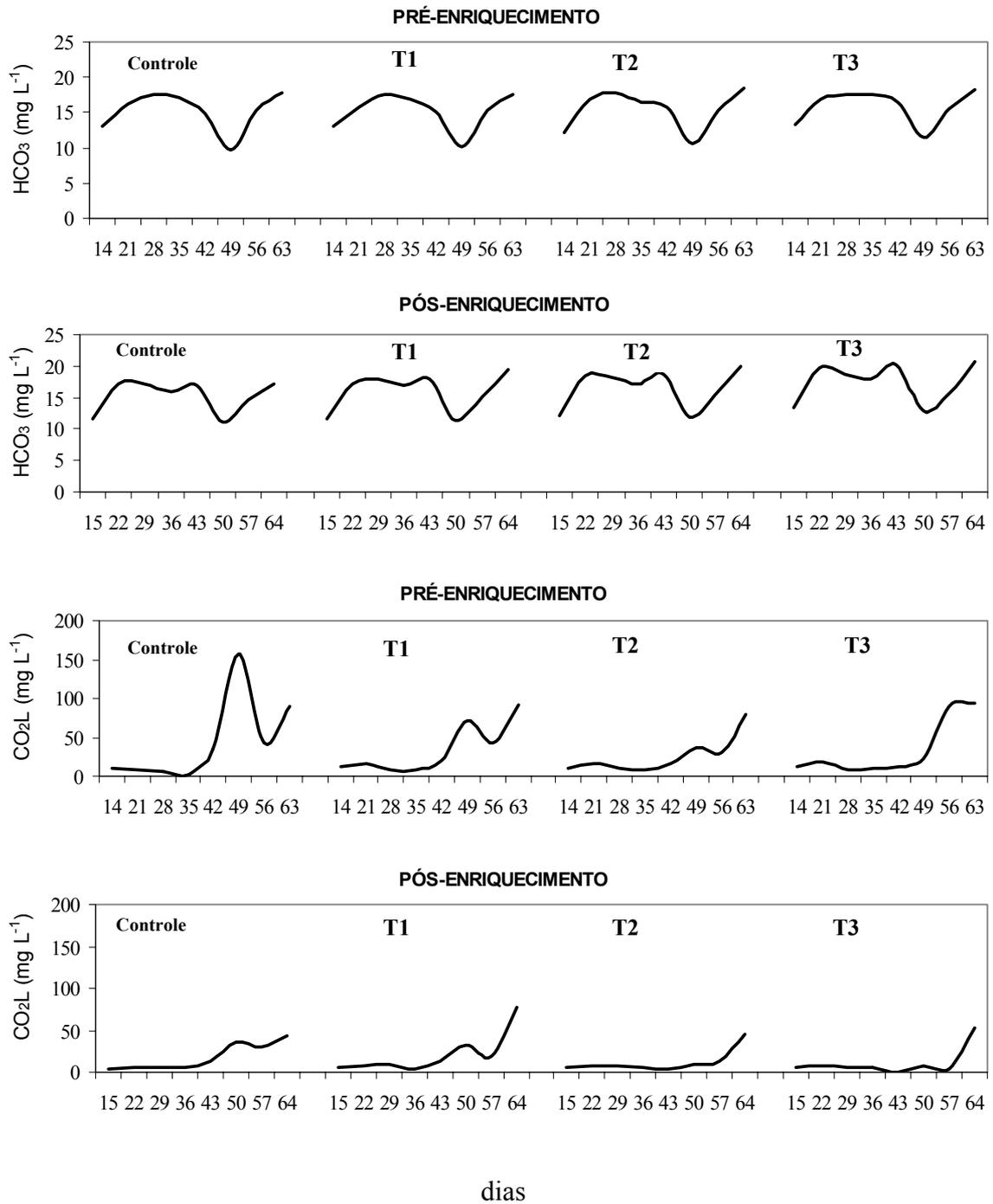


Figura 13. Valores médios ($n = 3$) de íons bicarbonato (HCO_3^-) e gás carbônico livre (CO_2L) nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T_1), tratamento 2 (T_2) e tratamento 3 (T_3).

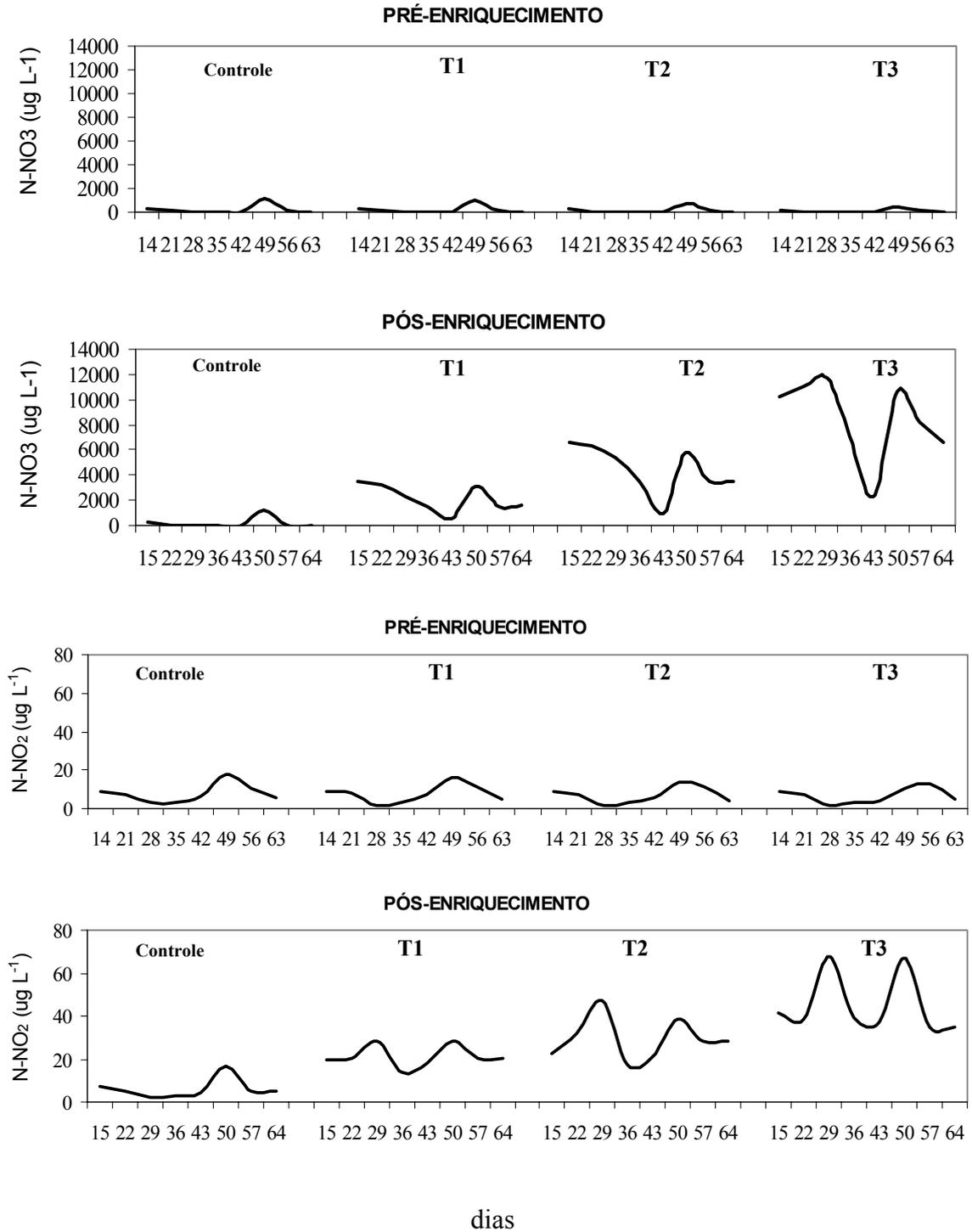


Figura 14. Valores médios ($n = 3$) de nitrato (N-NO₃) e nitrito (N-NO₂) nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

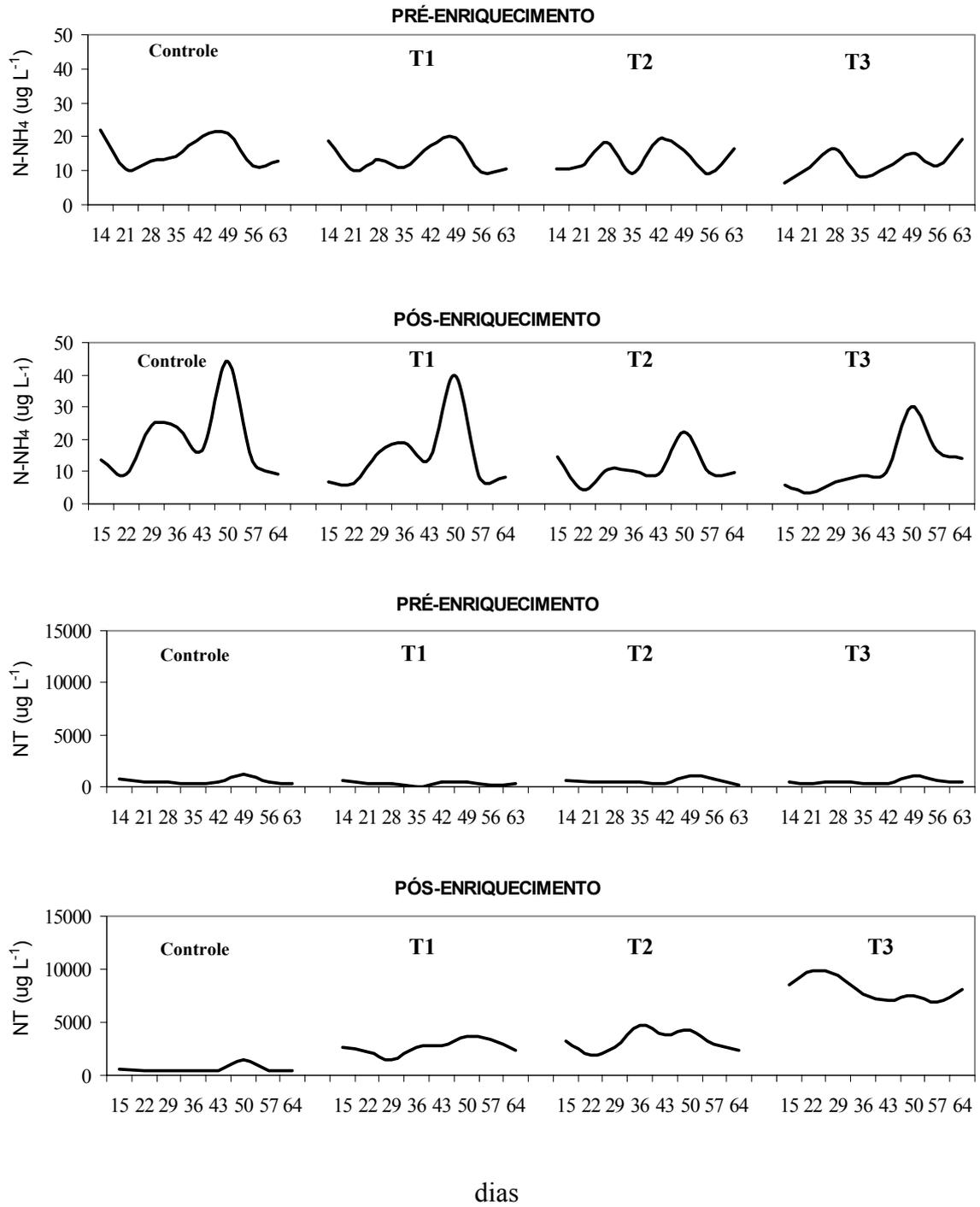


Figura 15. Valores médios ($n = 3$) de amônio (N-NH₄) e nitrogênio total (NT) nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

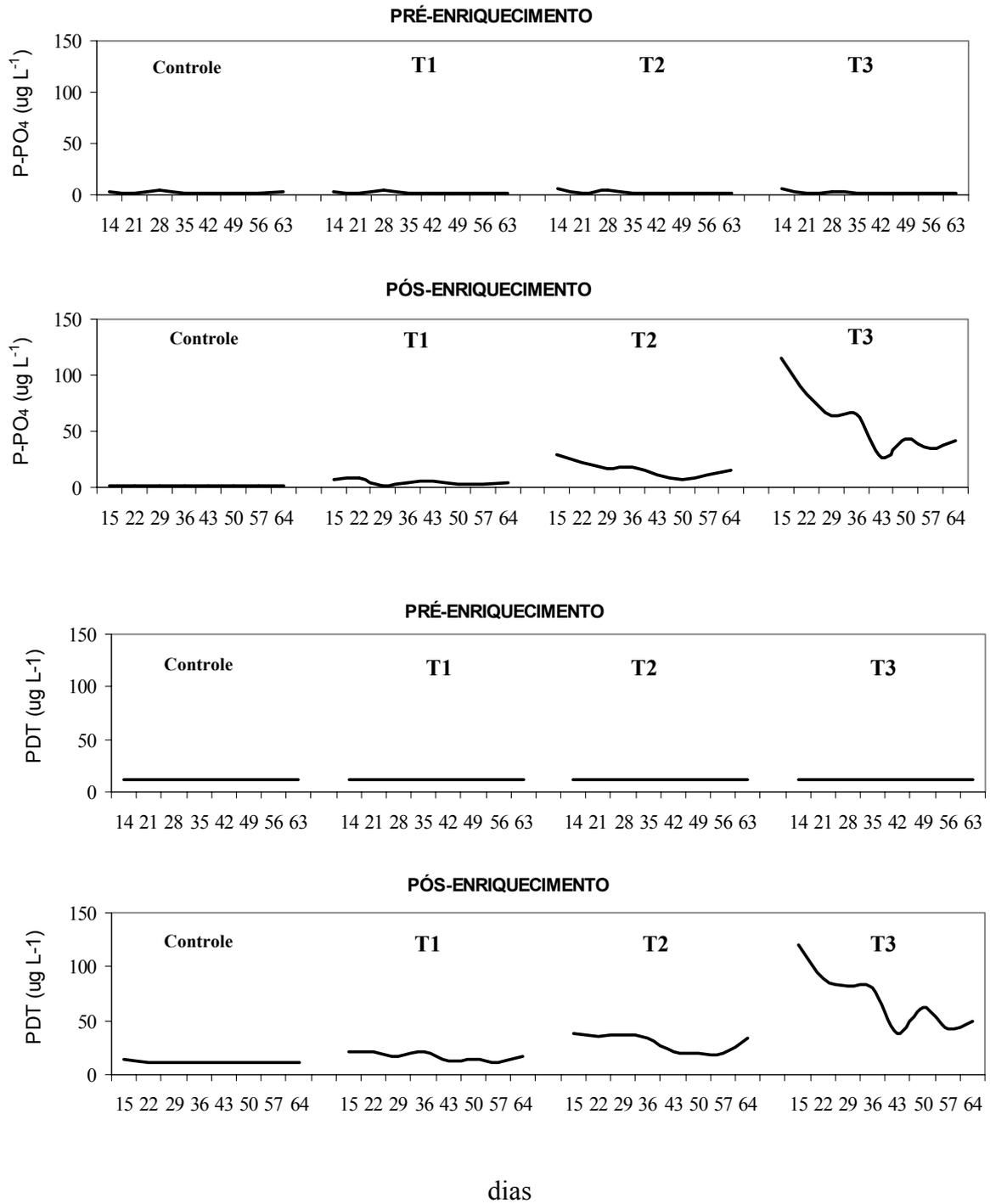


Figura 16. Valores médios ($n = 3$) de ortofosfato (P-PO₄) e fósforo total dissolvido (PDT) nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

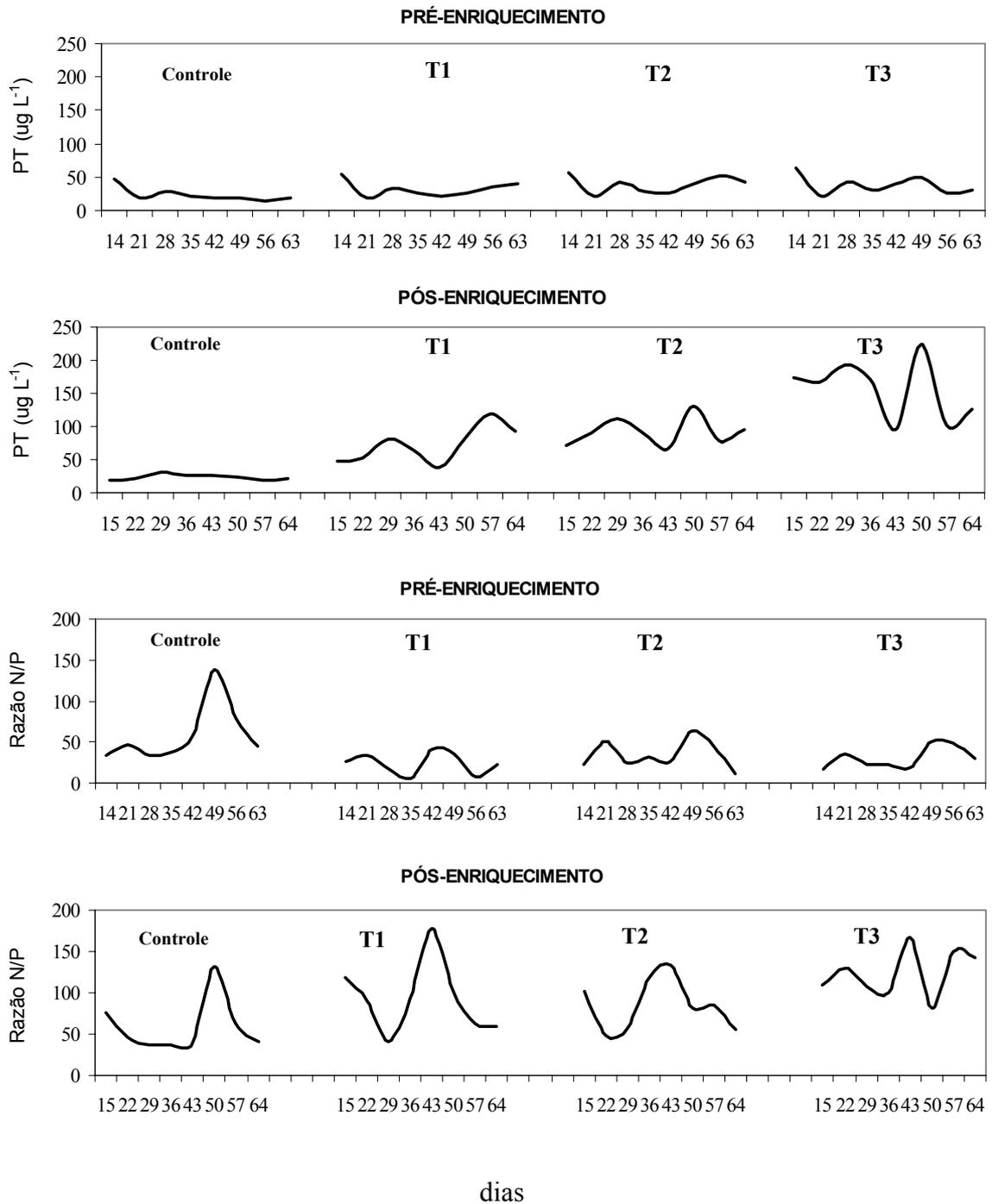


Figura 17. Valores médios ($n = 3$) de fósforo total (PT) e da razão molar N/P nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo dos dias de sucessão. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

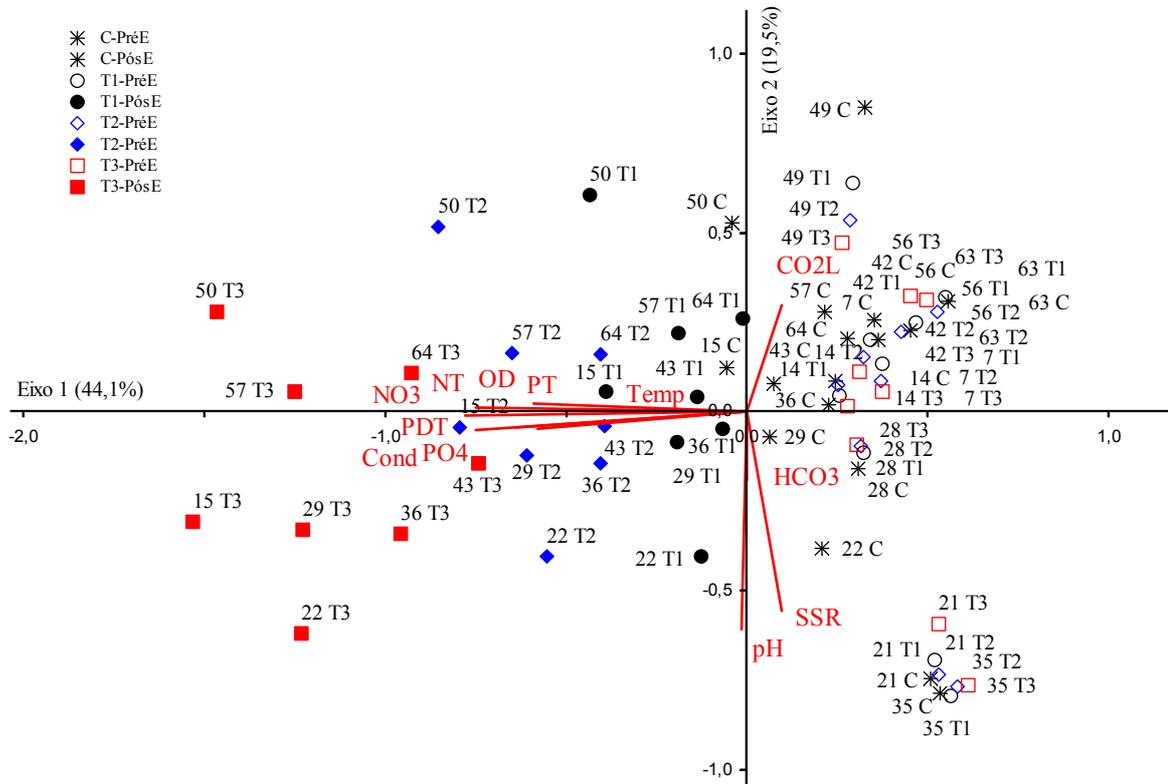


Figura 18. Biplot da ACP, com ordenação das unidades amostrais (mesocosmos, $n = 3$) do controle (C), tratamento 1 (T_1), tratamento 2 (T_2) e tratamento 3 (T_3) em condições de pré-enriquecimento (PréE) e pós-enriquecimento (PósE) ao longo do período experimental. Os números indicam os dias de sucessão. Abreviações dos vetores: Temp: temperatura, pH: potencial hidrogeniônico, Cond: condutividade, OD: Oxigênio dissolvido, CO_2L : CO_2 livre, HCO_3 : íons bicarbonato, NH_4 : amônio, NO_3 : nitrato, NT: nitrogênio total, PO_4 : ortofosfato, PDT: fósforo total dissolvido, PT: fósforo total, SSR: sílica solúvel reativa.

Tabela 5. Correlação das variáveis abióticas com os componentes principais 1 e 2.

Variáveis	Componentes Principais	
	1	2
Temperatura	- 0,462	0,069
pH	- 0,139	- 0,824
Condutividade	- 0,915	- 0,244
OD	- 0,810	0,161
CO_2 livre	0,330	0,576
HCO_3	- 0,023	- 0,467
NH_4	- 0,193	0,396
NO_3	- 0,932	- 0,107
NT	- 0,913	0,126
PO_4	- 0,803	- 0,234
PDT	- 0,842	- 0,227
PT	- 0,754	0,062
Si (SSR - ortossilicato)	0,329	- 0,787
Varição Explicada (%)	44,1	19,5

5.3. Mudanças de Biomassa das Comunidades nas Condições de Pré e Pós-enriquecimento

A seguir serão apresentadas as respostas das comunidades em termos de acumulação de biomassa após intervalo regular de 24 horas da ação de enriquecimento (efeito dos pulsos de enriquecimento).

PERIFÍTON

Para a comunidade perifítica foram avaliadas as variações das concentrações de clorofila-a (Figura 19) e de massa seca livre de cinzas (MSLC) (Figura 20).

Em relação à primeira variável (Figura 19), observou-se, pelo controle (C), mesma tendência de aumento de clorofila-a nas condições de pré e pós-fechamento dos mesocosmos, indicando o efeito isolado do processo sucessional na ausência de enriquecimento. No tratamento 1 (T_1), também houve pouca diferença entre pré e pós-enriquecimento, porém os níveis acumulados de clorofila-a ao longo do tempo foram mais elevados do que no controle, denotando o efeito cumulativo do enriquecimento, assim como nos demais tratamentos. No tratamento 2 (T_2), houve resposta positiva da biomassa aos pulsos de enriquecimento em praticamente todas as coletas a partir do 29^o dia. No tratamento 3 (T_3), apenas foi observado efeito do pulso de enriquecimento entre os 35-36^o, 42-43^o dias de sucessão.

De modo geral, o incremento de clorofila-a do perifíton respondeu aos pulsos de enriquecimento (24 horas) principalmente no T_2 , bem como de forma clara ao efeito dos pulsos com aportes mais elevados de nutrientes.

Para a MSLC do perifíton (Figura 20) também se observou tendência de aumento de biomassa no controle ao longo do período, ou seja, um efeito semelhante da sucessão independentemente dos mesocosmos estarem abertos ou fechados. No T_1 , praticamente não se observou diferença entre a condição pré e pós-enriquecimento. Já, nos T_2 e T_3 , foram verificados os efeitos dos pulsos de enriquecimento, ou seja, valores mais elevados no pós-enriquecimento nos 50^o e 57^o (T_2) e nos 57^o e 64^o dias (T_3). Assim, de modo geral, as mudanças de massa orgânica do perifíton em resposta aos pulsos de enriquecimento (24 horas) tornaram-se mais evidentes nos T_2 e T_3 .

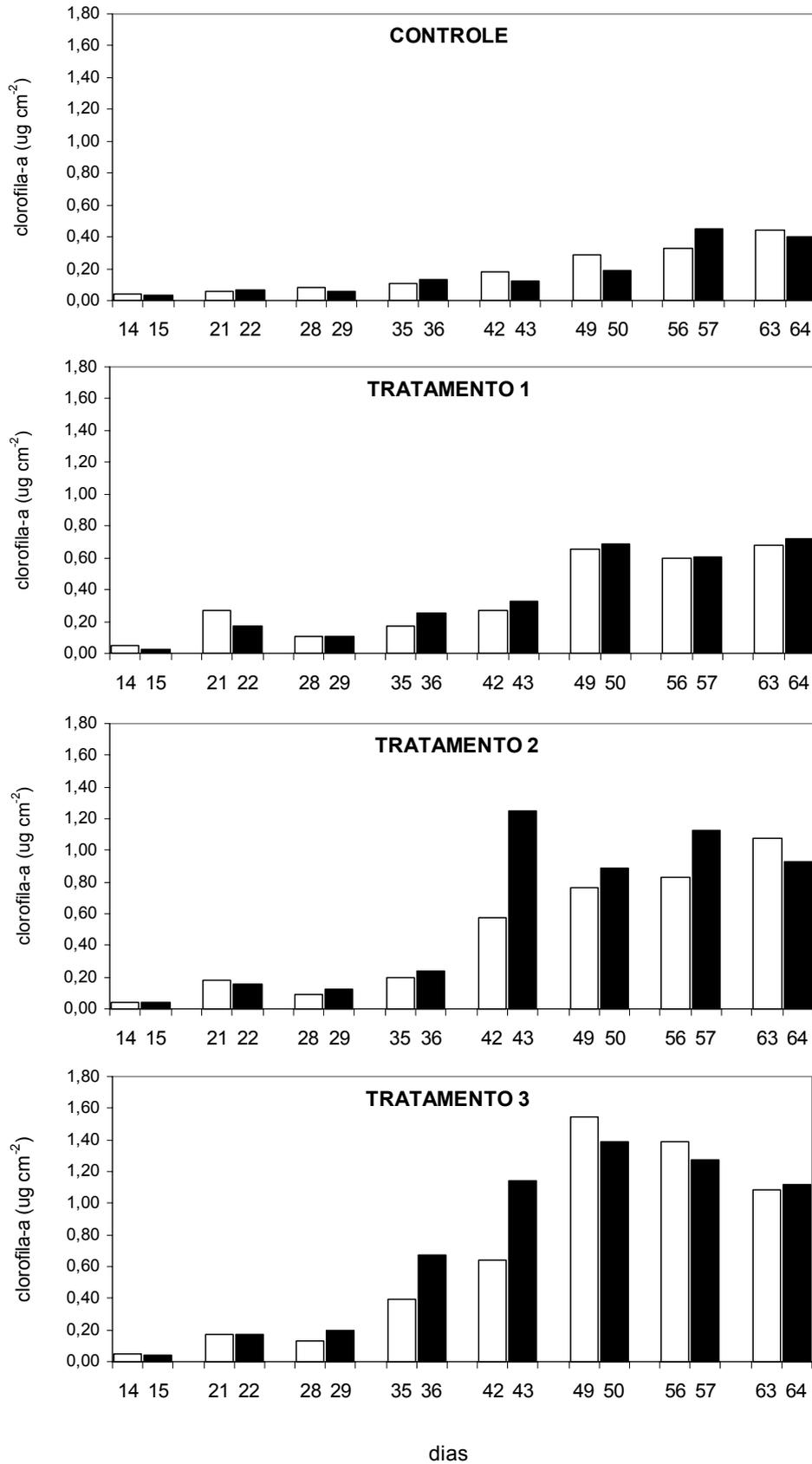


Figura 19. Valores médios de clorofila-a do perifiton ($\mu\text{g cm}^{-2}$, $n = 3$) nas condições de pré (barra vazia) e pós-enriquecimento (barra cheia) nos diferentes tratamentos.

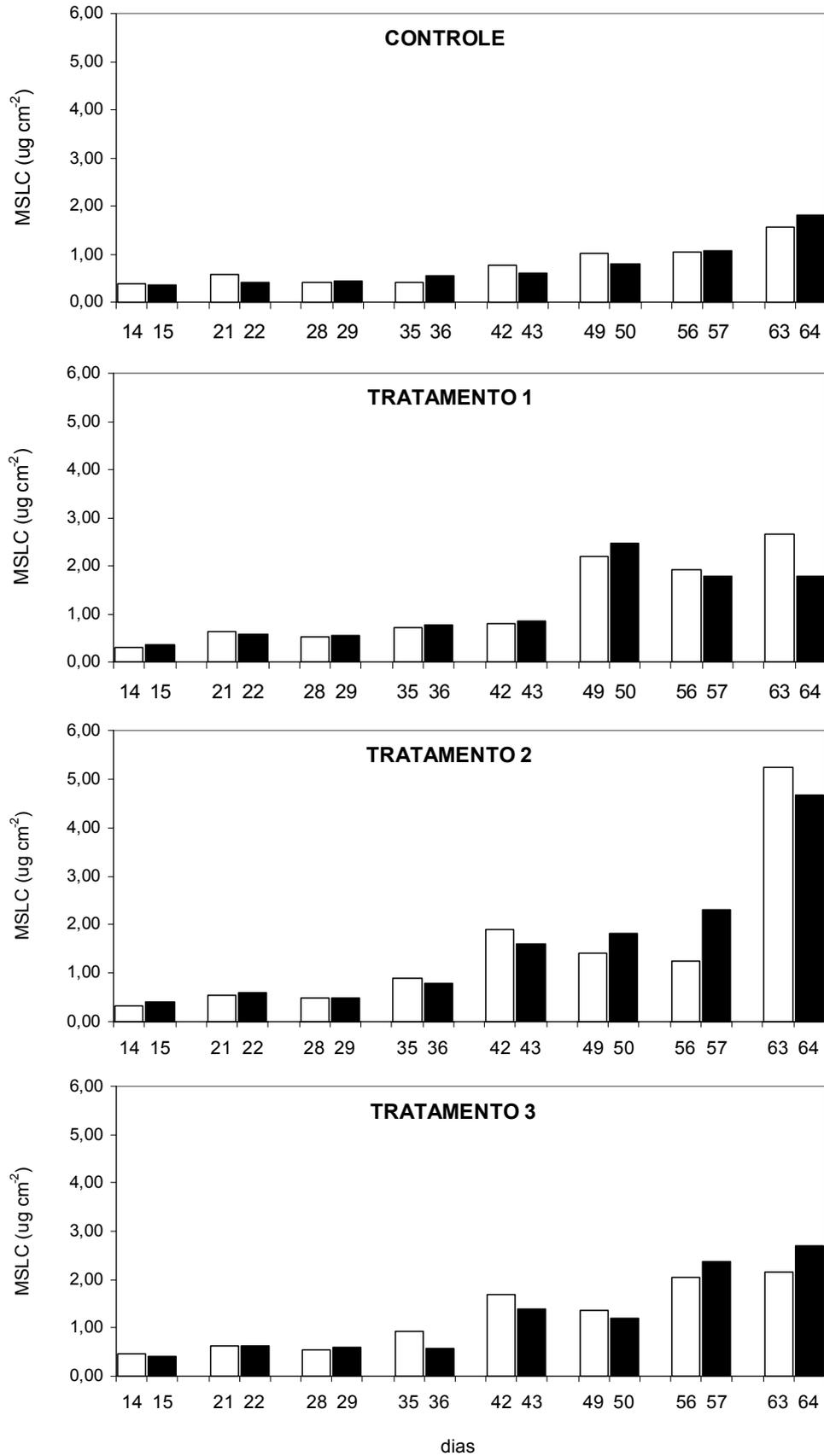


Figura 20. Valores médios de massa seca livre de cinzas do perifiton ($\mu\text{g cm}^{-2}$, $n = 3$) nas condições de pré (barra vazia) e pós-enriquecimento (barra cheia) nos diferentes tratamentos.

SESTON

Pelo controle (sem enriquecimento), observou-se suave tendência de aumento de clorofila-a fitoplanctônica com o enclausuramento da comunidade (24 horas) (Figura 21). Entretanto, as diferenças marcadas de incremento de biomassa em todos os tratamentos enriquecidos denotaram a nítida resposta do fitoplâncton aos pulsos de enriquecimento, principalmente a partir do 35^o dia. No T₃, o efeito do pulso ocorreu no intervalo compreendido entre o 36^o e 50^o dias.

As tendências para as mudanças de MSLC do seston não foram claras (Figura 22). Apenas no T₁ evidenciou-se o efeito do pulso de enriquecimento e de sua acumulação a partir do 49^o dia.

Em suma, o incremento de clorofila-a do fitoplâncton respondeu de forma marcada aos pulsos de enriquecimento (24 horas) a partir do 35^o dia, principalmente nos T₁ e T₂, bem como aos aportes mais elevados de nutrientes, exceto ao T₃. Já, a MSLC do seston praticamente não apresentou resposta à manipulação de nutrientes.

COMPLEXO MACRÓFITAS AQUÁTICAS - PERIFÍTON

Os teores de biomassa do complexo macrófitas aquáticas-perifíton (Figura 23) não sofreram alterações nas condições de pré e pós-enriquecimento nos diferentes tratamentos. Ainda, apenas no T₃ observou-se efeito das cargas maiores de nutrientes, principalmente a partir do 42^o dia.

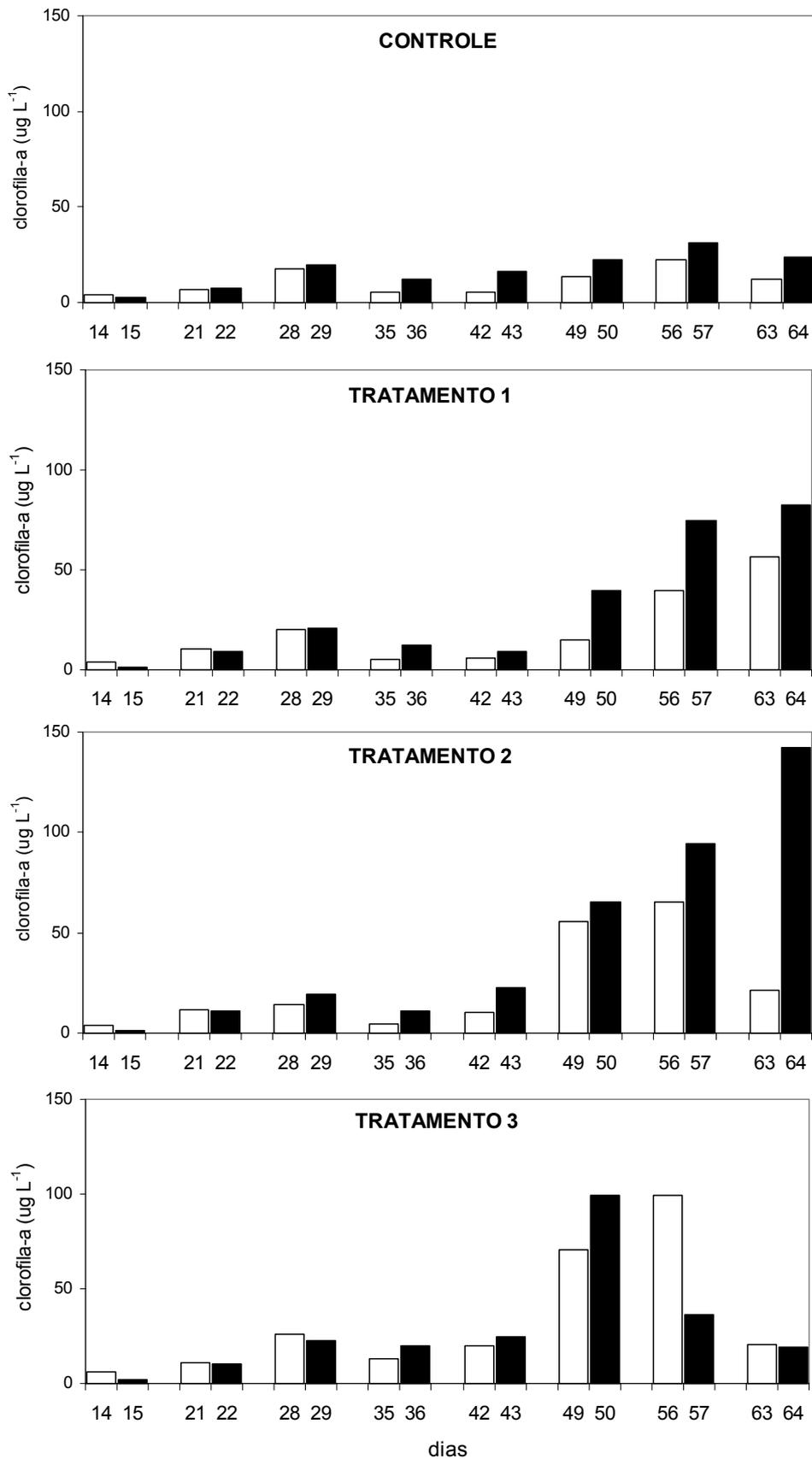


Figura 21. Valores médios de clorofila-a do fitoplâncton ($\mu\text{g L}^{-1}$, $n = 3$) nas condições de pré e pós-enriquecimento (barra cheia) nos diferentes tratamentos.

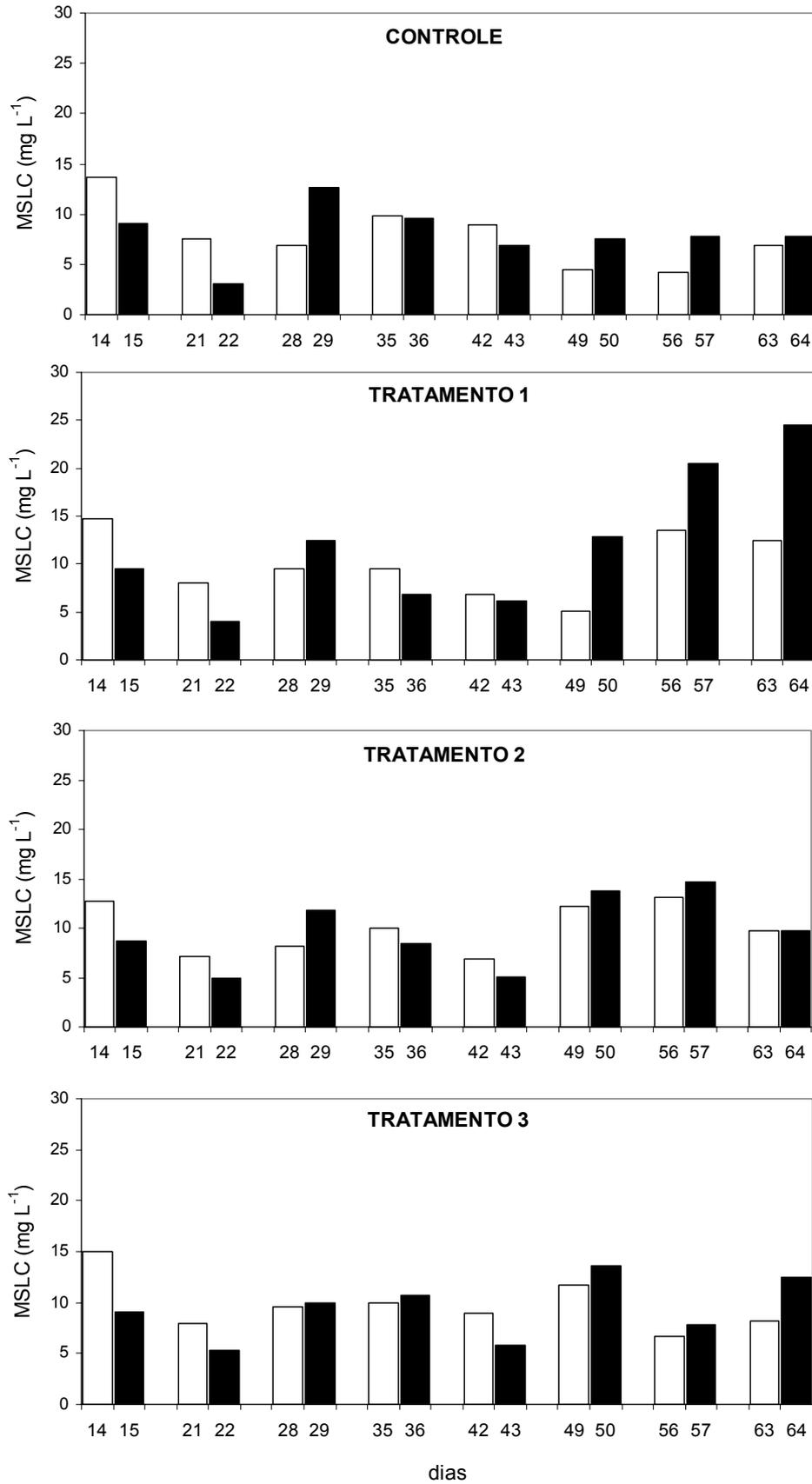


Figura 22. Valores médios de massa seca livre de cinzas do seston (mg L^{-1} , $n = 3$) nas condições de pré pré (barra vazia) e pós-enriquecimento (barra cheia) nos diferentes tratamentos.

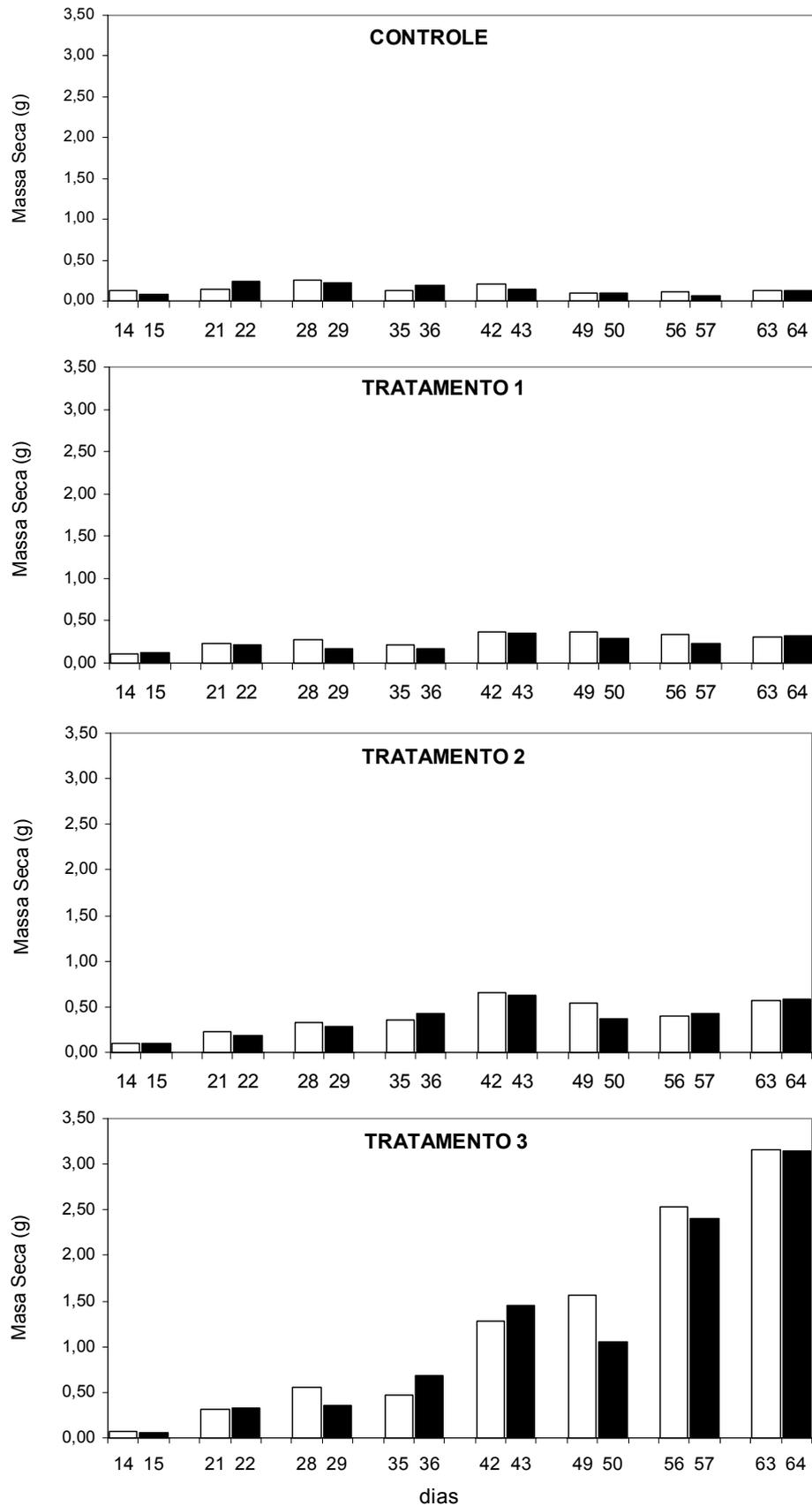


Figura 23. Valores médios de massa seca do complexo macrófitas aquáticas-perifiton (em g, $n = 3$) nas condições de pré (barra vazia) e pós-enriquecimento (barra cheia) nos diferentes tratamentos.

5.4. Efeito Cumulativo dos Pulsos de Enriquecimento sobre a Biomassa e Composição Química das Comunidades

Ao longo do período experimental (64 dias), um total de 8 dosagens semanais de P e N foram adicionadas aos mesocosmos. A seguir estão apresentados dados na condição de pós-enriquecimento, visando evidenciar o efeito cumulativo das adições de nutrientes em pulso sobre as comunidades em diferentes níveis de enriquecimento.

5.4.1. Mudanças na Biomassa

CLOROFILA-A DO PERIFÍTON

De modo geral, a clorofila-a do perifíton apresentou aumento crescente do Controle (C) ao T₃ (Figura 24). Considerando o período experimental, a biomassa apresentou aumento gradual ao longo da sucessão em todos os tratamentos (Figura 25), com incremento nitidamente mais pronunciado nos tratamentos com maiores cargas de nutrientes (T₂ e T₃). No 43^o dia, os incrementos de biomassa foram os mais elevados, sendo 10,5 (T₂) e 9,6 (T₃) vezes maiores do que no controle (Tabela 6). Em termos absolutos, os valores máximos foram atingidos no 43^o dia (T₂), 50^o dia (T₁ e T₃) e no 57^o dia (C). Considerando a média ($n = 8$) para o período experimental, os valores foram 2 (T₁), 3,3 (T₂) e 4,4 (T₃) vezes superiores ao controle. Diferenças significativas foram verificadas apenas entre C e T₃ ($F = 6,26$; $p = 0,001$).

Em síntese, a biomassa de algas perifíticas respondeu de forma positiva e proporcionalmente crescente ao aumento da carga dos pulsos de enriquecimento, bem como forneceu resposta cumulativa aos pulsos em cada tratamento.

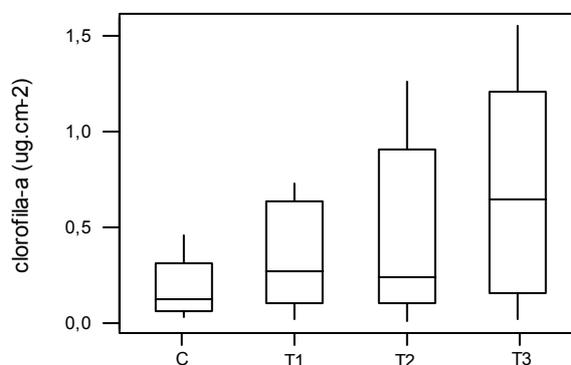


Figura 24. Gráficos de caixas esquemáticas (mediana, quartis, $n = 16$) da concentração de clorofila-a do perifíton ao longo da sucessão em diferentes tratamentos (Controle - C, tratamento 1 - T₁, tratamento 2 - T₂ e tratamento 3 - T₃).

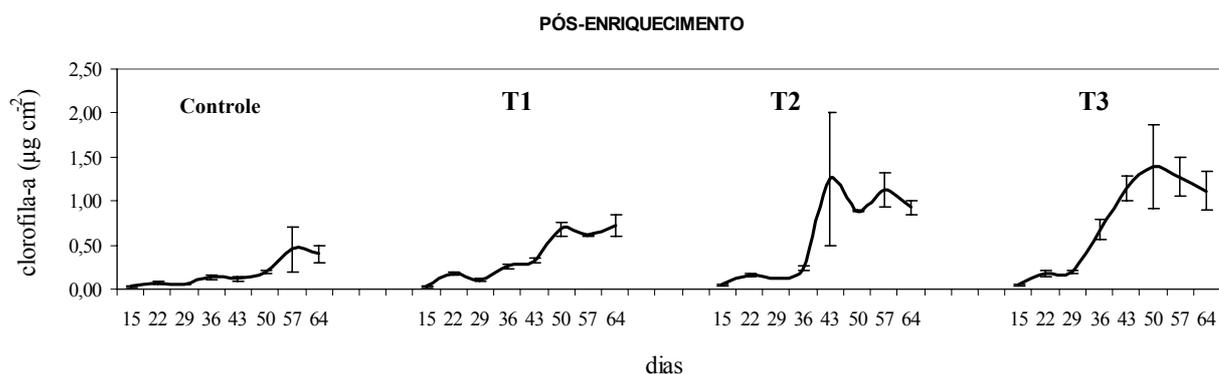


Figura 25. Valores médios e erro padrão ($n = 3$) das concentrações de clorofila-a do perifiton ao longo do período experimental. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

Tabela 6. Razão da clorofila-a do perifiton nos diferentes tratamentos (T₁, T₂ e T₃) em relação ao controle (C), ao longo do período experimental.

Razão	15d	22d	29d	36d	43d	50d	57d	64d
T ₁ /C	0,8	2,5	1,8	1,9	2,7	3,6	1,3	1,8
T ₂ /C	1,4	2,2	2,2	1,8	10,5	4,7	2,5	2,3
T ₃ /C	1,4	2,5	3,4	5,0	9,6	7,3	2,8	2,8

CLOROFILA-A DO FITOPLÂNCTON

A biomassa fotossintética da comunidade fitoplanctônica aumentou ao longo do período experimental nos tratamentos enriquecidos, atingindo maiores valores no T₂ (Figura 26). Quando comparados ao controle, os valores foram em média ($n = 8$), 1,8 (T₁), 2,7 (T₂) e 1,7 (T₃) vezes mais elevados. No T₃, o efeito cumulativo não foi tão evidente como nos tratamentos anteriores, em função da drástica diminuição de biomassa a partir do 57^o dia.

Comparando-se os valores de clorofila-a dos tratamentos 1 e 2 em relação ao controle (Tabela 7), os maiores incrementos foram, respectivamente, 3,4 e 6 vezes mais elevados no último dia do experimento. Para o T₃, o maior aumento de biomassa ocorreu anteriormente (50^o dia).

MASSA SECA LIVRE DE CINZAS DO SESTON

Em média ($n = 8$), os teores de MSLC nos diferentes tratamentos em relação ao controle não diferiram estatisticamente, sendo de 1,2 a 1,5 vez mais elevados (Figura 27).

Para todas as condições experimentais, ocorreu um pico no 29º dia de acompanhamento do experimento, coincidente com um pico de biomassa fotossintética.

PÓS-ENRIQUECIMENTO

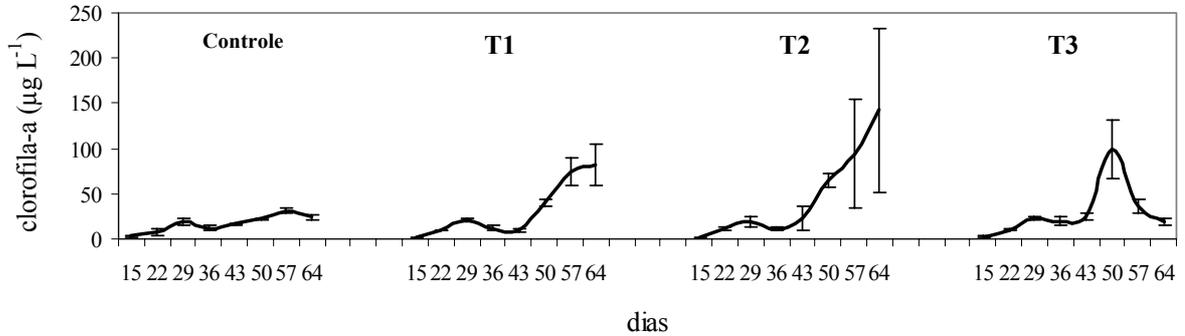


Figura 26. Valores médios e erro padrão ($n = 3$) das concentrações de clorofila-a do fitoplâncton nas condições de pós-enriquecimento ao longo do período experimental. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

Tabela 7. Razão da clorofila-a do fitoplâncton nos diferentes tratamentos (T₁, T₂ e T₃) em relação ao controle (C), ao longo do período experimental.

Razão	15d	22d	29d	36d	43d	50d	57d	64d
T ₁ /C	0,5	1,3	1,0	1,0	0,6	1,8	2,4	3,4
T ₂ /C	0,3	1,5	1,0	0,9	1,4	2,9	3,0	6,0
T ₃ /C	0,7	1,4	1,2	1,6	1,5	4,4	1,2	0,8

PÓS-ENRIQUECIMENTO

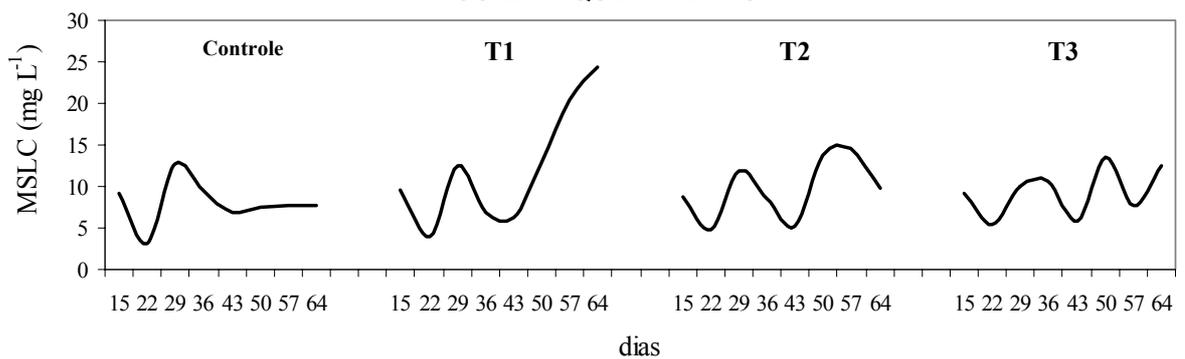


Figura 27. Valores médios ($n = 3$) da massa seca livre de cinzas do seston (MSLC; mg L^{-1}) ao longo do período experimental. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

MASSA SECA DO COMPLEXO MACRÓFITAS AQUÁTICAS-PERIFÍTON

A massa seca das macrófitas aquáticas, incluindo perifíton, sofreu aumento acentuado apenas em condições de cargas mais elevadas de nutrientes (T₃) (Figura 28). Em média ($n =$

8), os incrementos de biomassa em relação ao controle foram de 2 (T₁), 3 (T₂) a até 8 vezes (T₃), sendo estatisticamente diferentes ($F = 15,73$; $p = 0,000$) apenas nas condições de cargas mais elevadas de nutrientes (T₃).

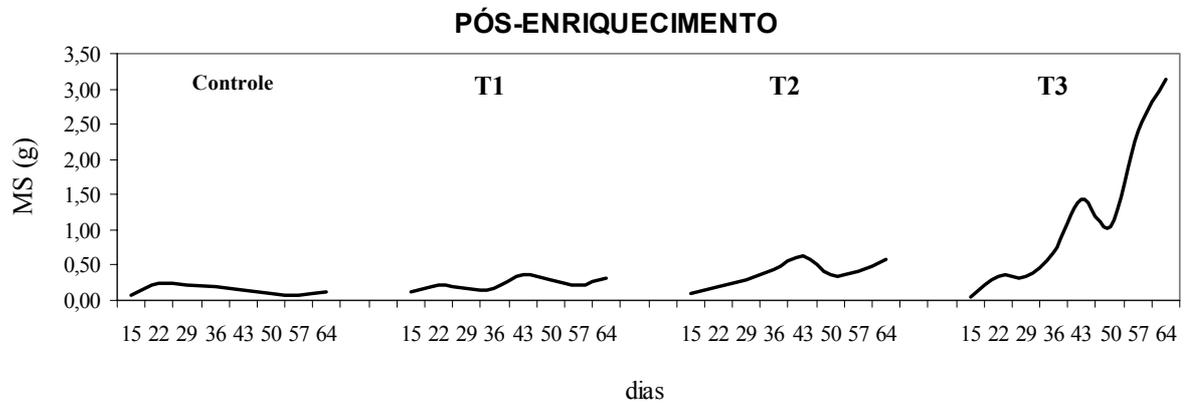


Figura 28. Valores médios ($n = 3$) de massa seca do complexo macrófitas aquáticas-perifiton (MS) ao longo do período experimental. Controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

5.4.2. Composição Química das Comunidades Biológicas

PERIFÍTON

Pela figura 29 é possível visualizar as variações do conteúdo de nitrogênio e fósforo total do perifiton ao longo do período experimental, nas condições de pós-enriquecimento.

O nitrogênio total apresentou valores percentuais médios ($n = 8$) muito similares entre os diferentes tratamentos ($C = 10,4\%$, $T_1 = 9,0\%$, $T_2 = 9,1\%$ e $T_3 = 10,8\%$), não sendo estatisticamente distintos. Considerando os dias amostrados, em 62% das coletas realizadas as porcentagens de nitrogênio do perifiton foram de 1,2 a 1,5 vez superior no T₃ em relação ao controle. Durante todo período experimental os teores de nitrogênio do perifiton foram superiores a 5% por unidade de massa orgânica seca, ou seja, acima do limiar de limitação por tal nutriente, conforme (BIGGS 1995).

Tal como o nitrogênio, o valor médio ($n = 8$) do fósforo total do perifiton não apresentou diferenças significativas entre controle e os tratamentos enriquecidos ($C = 0,03\%$, $T_1 = 0,03\%$, $T_2 = 0,03\%$ e $T_3 = 0,03\%$) (Figura 29).

Durante todo o período experimental, independentemente do nível de enriquecimento, o percentual de fósforo total do perifiton manteve-se abaixo do limiar de limitação por tal elemento químico ($< 0,5\%$), conforme BIGGS (1995).

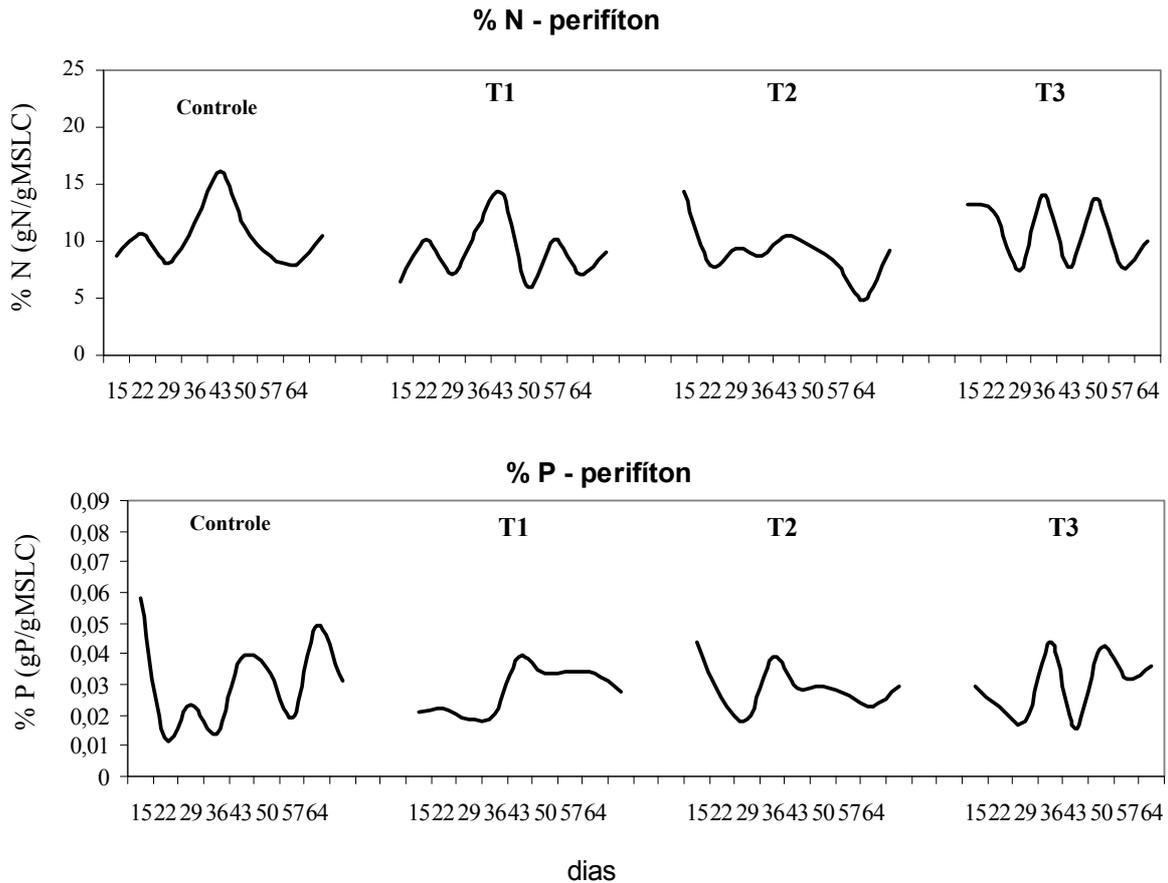


Figura 29. Valores médios da porcentagem de nitrogênio (%N) e fósforo (%P) total do perifiton ($n = 3$) por unidade de massa orgânica seca ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos (C: controle, T₁: tratamento 1, T₂: tratamento 2, T₃: tratamento 3).

SESTON

A porcentagem de nitrogênio total do seston (Figura 30) foi, em média ($n = 8$), superior nos tratamentos com adição de N e P quando comparada ao controle. Os valores médios variaram de 7,6% (C), 8,0% (T₁), 10,8% (T₃) a 11,6% (T₂). Nos tratamentos 2 e 3 a % N foi cerca de 2 vezes maior do que a verificada no controle em todos os dias de amostragem. Para o T₂ as médias da %N diferiram significativamente daquelas verificadas no C e no T₁ ($p < 0,05$).

Ao longo do período experimental, independentemente do nível de enriquecimento, o percentual de fósforo total do seston manteve-se abaixo do limiar de limitação por tal elemento químico ($< 0,5\%$). Valores médios indicaram ($n = 8$) diferenças significativas entre o C e os diferentes tratamentos (Figura 30).

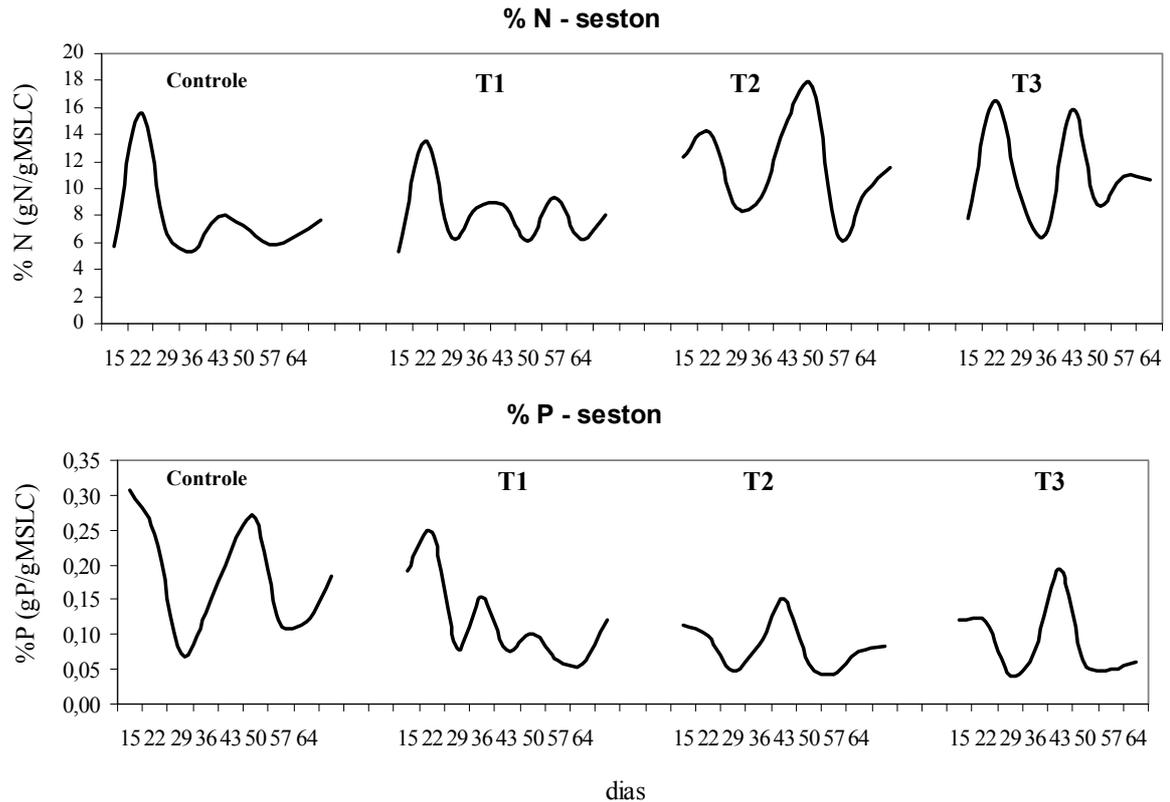


Figura 30. Valores médios da porcentagem de nitrogênio (%N) e fósforo (%P) total do seston ($n = 3$) por unidade de massa orgânica seca ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos (C: controle, T₁: tratamento 1, T₂: tratamento 2, T₃: tratamento 3).

COMPLEXO MACRÓFITAS AQUÁTICAS - PERIFÍTON

As porcentagens médias ($n = 8$) do nitrogênio total do complexo macrófitas aquáticas-perifíton não mostraram variação entre tratamentos (C = 2,24%, T₁ = 2,83%, T₂ = 2,95%, T₃ = 2,52) (Figura 31). Nos tratamentos onde foram adicionados N e P, as porcentagens de N foram mais elevadas em 100% das amostragens, quando comparados ao controle. As maiores diferenças foram encontradas no T₂, quando a %N chegou a ser três vezes mais elevada que na condição controle (29^o dia de experimento), entretanto não foram verificadas diferenças significativas.

Os valores do fósforo total das macrófitas aquáticas foram em média ($n = 8$) muito similares entre tratamentos (C = 0,010%, T₁ = 0,006%, T₂ = 0,006%, T₃ = 0,007) (Figura 31).

Em suma, ambos teores mantiveram-se abaixo do limiar de limitação dos nutrientes considerados (%N < 5% e %P < 0,5% por unidade de massa seca), conforme Biggs (1995).

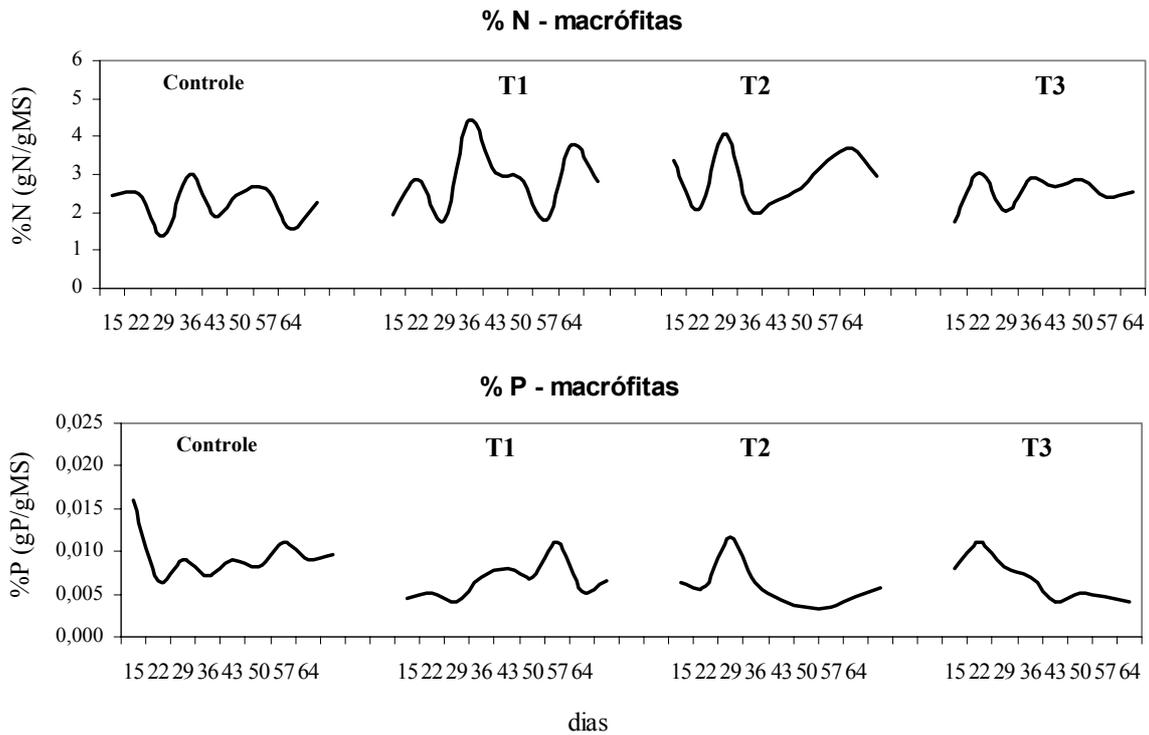


Figura 31. Valores médios da porcentagem de nitrogênio (%N) e fósforo (%P) total por unidade de massa seca das macrófitas aquáticas ($n = 3$) ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos (C: controle, T₁: tratamento1, T₂: tratamento2, T₃: tratamento3).

5.5. Balanço de Massa para o Fósforo

O balanço de massa para o fósforo foi realizado em duas condições distintas: (a) ao longo de todo o experimento, considerando as diferenças obtidas entre a situação pré e pós-enriquecimento (período de 24 horas) para o perifiton, seston e comunidade de macrófitas aquáticas e (b) no último dia do experimento (64 dias de sucessão do perifiton), após 8 dosagens semanais de ortofosfato que simularam os pulsos de enriquecimento.

5.5.1. Balanço de Massa considerando as Condições Pré e Pós-enriquecimento

Na tabela 8 estão apresentadas as massas médias ($n = 8$) de fósforo nos mesocosmos ($n = 3$) para os oito pulsos de enriquecimento. A massa na água do mesocosmo (PT) no pré-enriquecimento (PT), somada à massa adicionada (PO_4), foi considerada como a massa inicial disponível. A diferença entre a massa disponível e a massa na água do mesocosmo (PT) no pós-enriquecimento, ou seja, a que sobrou após 24 horas do pulso de enriquecimento, foi considerada como a massa retida (100%). Em todos os tratamentos observou-se baixa retenção nos compartimentos analisados, com valores menores do que 7% (Tabela 8).

Comparando a mesma comunidade entre os tratamentos, percebe-se que o perifíton apresentou maior porcentagem de retenção de fósforo no T₂, o seston, no T₁ e o complexo macrófitas-perifíton, no T₃, ou seja, as comunidades responderam de forma diferente aos mesmos níveis de enriquecimento. Comparando, agora, as comunidades no mesmo tratamento, o perifíton foi responsável pela maior retenção de fósforo no T₂ (0,17%) e T₃ (0,06%), o seston no T₁ (7,0%). Em nenhum tratamento a retenção no complexo macrófitas-perifíton foi superior às demais comunidades (Tabela 8).

Tabela 8. Média ($n = 8$) da massa de fósforo ($\mu\text{g P}$) no pré-enriquecimento, massa adicionada (sal), massa no pós-enriquecimento (após 24h) e porcentagem de fósforo retido nos compartimentos, nos diferentes tratamentos (T₁ = tratamento 1, T₂ = tratamento 2 e T₃ = tratamento 3).

	Massa Pré-enriq. (μg)	Massa Adicionada (μg)	Massa Pós-enriq. (μg)	Total Retido (μg)	Perifíton (%)	Seston (%)	Macrófitas (%)	Outro compartimento (%)
T ₁	2290	7300	5259	4180	0,021	6,967	0,002	93,01
T ₂	2822	14600	6739	10561	0,172	0,000	0,024	99,80
T ₃	2823	29200	11123	20109	0,063	0,004	0,058	99,88

5.5.2. Balanço de Massa ao Final do Período Experimental

Na figura 32 estão apresentadas às médias de massa orgânica, por tratamento ($n = 3$), das macrófitas, do perifíton e seston no último dia do experimento (64^o dia). Uma abordagem comparativa entre os tratamentos e as comunidades biológicas permitiu verificar que houve incremento de biomassa do C ao T₃ para as macrófitas (Figura 32a) e para o perifíton (Figura 32b). No seston (Figura 32c), foi verificado um aumento do C ao T₁, porém nos tratamentos 2 e 3 os valores encontrados foram, em média, inferiores aos do T₁. Comparando a massa (mg) produzida em cada compartimento (Figura 32d), os maiores valores foram usualmente atingidos pelo seston (T₁, T₂), exceção ao T₃, no qual a massa do complexo macrófitas-perifíton foi maior. O perifíton pouco contribuiu em relação aos demais. Assim, a quantidade de P estocada na massa (mg) das comunidades (Tabela 9) indicou o seston como o principal seqüestrador deste elemento químico, seguido pelo complexo macrófitas-perifíton e, finalmente, pelo perifíton.

Calculou-se a massa média ($n = 16$) de fósforo (PT na água) com base nas condições de pré e pós-enriquecimento ao longo de todo o período experimental como uma medida da disponibilidade de P para os compartimentos. Esta massa foi considerada 100% e, a partir dela, estimou-se a porcentagem retida em cada compartimento. Dentre as comunidades, o seston foi o maior seqüestrador de P em todos os tratamentos, seguido pelas macrófitas e, bem

depois, pelo perifiton. Entretanto, outro compartimento não incluído neste estudo (sedimento) apresentou as maiores porcentagens de retenção (78-97%) (Tabela 10).

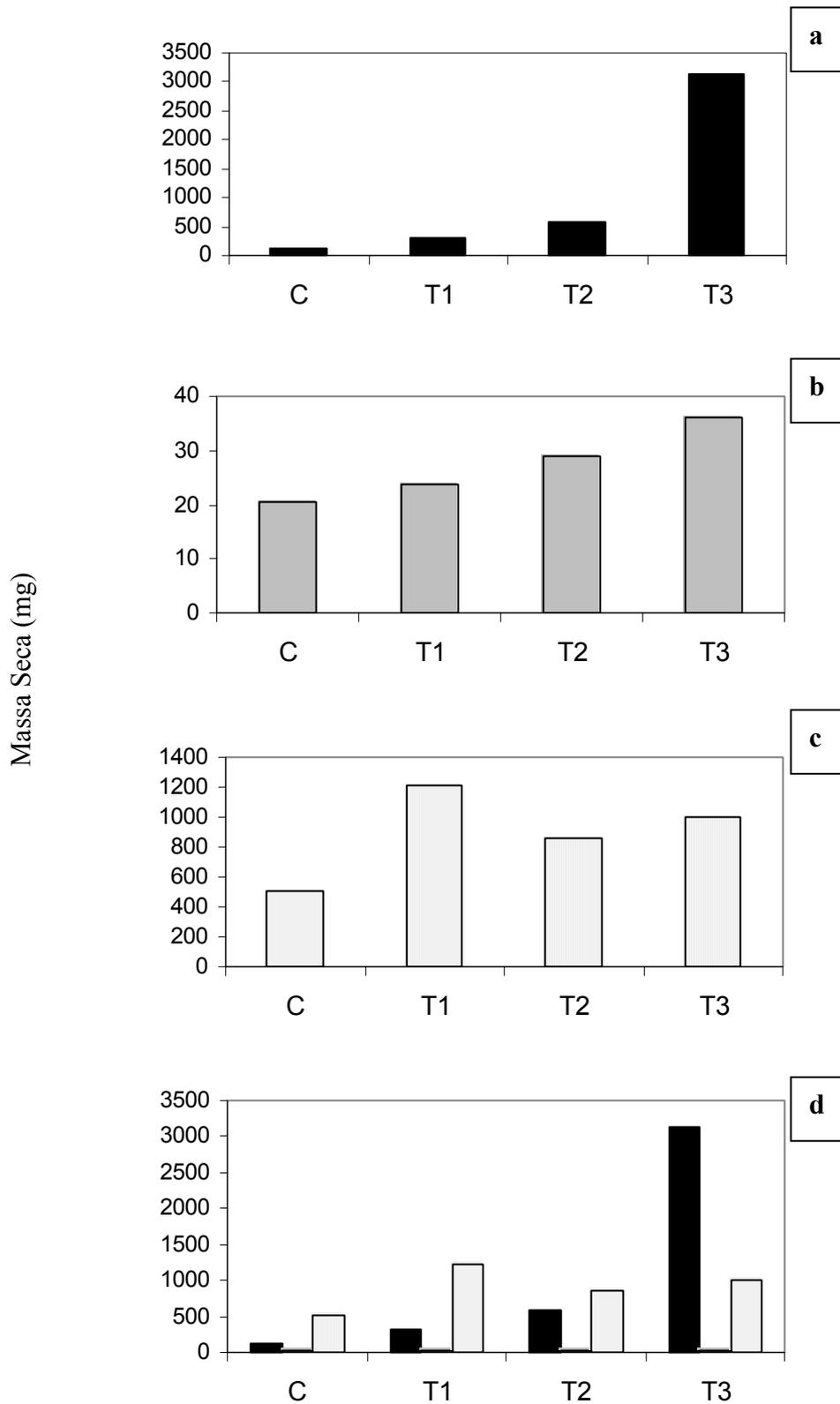


Figura 32. Valores médios ($n = 3$) da massa orgânica das macrófitas aquáticas (a), do perifiton (b), do seston (c), bem como de todas as comunidades (d) no último dia de experimento nos diferentes tratamentos.

Tabela 9. Valores médios ($n = 3$) da massa de P (mg) estocada no último dia de experimento, nos compartimentos biológicos submetidos a diferentes condições experimentais (T₁, T₂ e T₃).

	Perifiton (mg)	Seston (mg)	Macrófitas (mg)
T₁	0,0049	1,5506	0,0169
T₂	0,0126	0,6260	0,0265
T₃	0,0112	0,5271	0,1094

Tabela 10. Valores médios ($n = 16$) de massa de fósforo (PT na água, nas condições de pré e pós-adição de nutrientes ao longo do experimento) e de porcentagem de retenção de P em diferentes compartimentos no último dia do experimento.

	Média P (mg)	Perifiton (%)	Seston (%)	Macrófitas (%)	Outro Compartimento (%)
T₁	7,1	0,07	21,74	0,24	77,95
T₂	11,5	0,11	5,44	0,23	94,22
T₃	20,6	0,05	2,56	0,53	96,86

5.6. Efeito Cumulativo dos Pulsos de Enriquecimento sobre a Estrutura da Comunidade de Algas Perifíticas

5.6.1. Densidade Total de Algas

Observou-se tendência de aumento da densidade total de algas ao longo do processo de sucessão em todos os tratamentos (Figura 33). Este aumento tornou-se proporcionalmente mais evidente nos tratamentos com adições mais elevadas de nutrientes (T₂ e T₃). Comparados ao controle, as densidades foram em média ($n = 8$) 1,8 (T₁), 2,3 (T₂) e 3,3 (T₃) vezes superiores. O maior pico de densidade foi verificado no T₃, no 29º dia. Independentemente do tratamento, as menores densidades foram encontradas no 15º dia, ou seja, 24 horas após o primeiro enriquecimento.

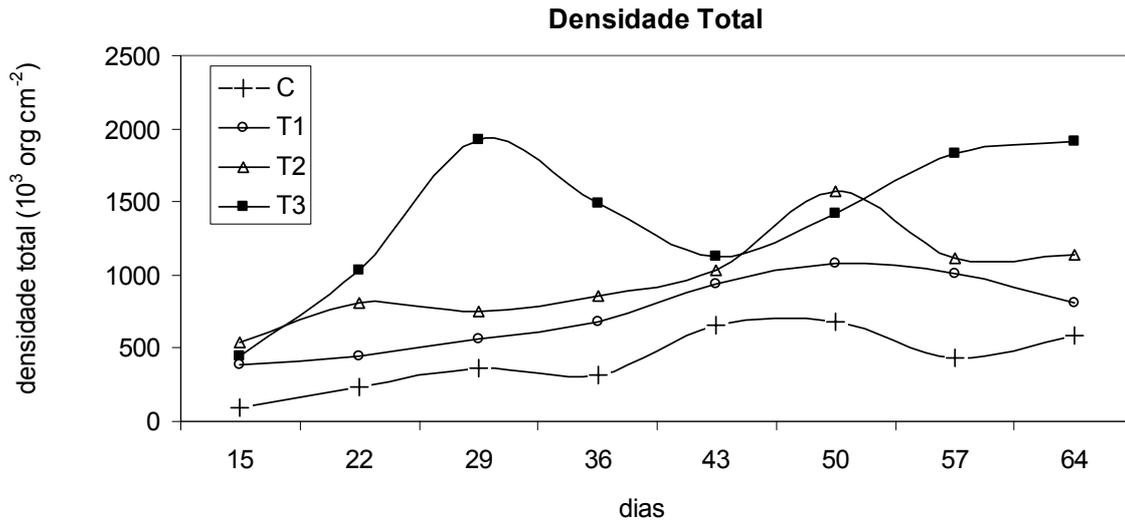


Figura 33. Densidade total média de algas perifíticas ($n = 2$, 10^3 org. cm^{-2}) ao longo da sucessão. Legenda: C - controle, T₁ - tratamento 1, T₂ - tratamento 2 e T₃ - tratamento 3 (T₃).

5.6.2. Composição da comunidade perifítica

5.6.2.1. Representatividade de classes algais

Foram identificados 190 táxons de algas perifíticas, distribuídos em 11 classes taxonômicas. A representatividade das classes ao longo do período experimental variou, principalmente, em função dos diferentes tratamentos e do processo sucessional (Tabela 11). As classes mais bem representadas no controle foram, em ordem decrescente: cianofíceas (42%), crisofíceas (38%) e clorofíceas e zignemafíceas (6%). Nos demais tratamentos as duas classes mais representativas também foram as crisofíceas e cianofíceas. As terceiras classes mais bem representadas foram as diatomáceas (8%) no T₁ e T₂ e as clorofíceas (9%), no T₃.

A principal mudança na representatividade de classes algais em resposta ao enriquecimento foi a substituição da classe mais bem representada no controle (cianofíceas - 42%), pelas crisofíceas em todos os tratamentos com adição de N e P (T₁: 40%, T₂: 41% e T₃: 44%). Secundariamente, houve uma diminuição na contribuição das zignemafíceas, que no controle chegaram a representar 9% da densidade total de classes (57º dia de experimento) e, com a adição de nutrientes, decresceram chegando a 1% no T₃ (Tabela 11).

Considerando os valores absolutos para a sucessão, ocorreu aumento da densidade de cianofíceas, clorofíceas e crisofíceas do controle para os tratamentos mais enriquecidos, bem como tendência de diminuição das zignemafíceas e criptofíceas. Ainda, as oedogonofíceas aumentaram em representatividade apenas nos tratamentos enriquecidos (Figura 34).

Dentre as mudanças ocorridas ao longo da sucessão destacam-se os aumentos em contribuição relativa das diatomáceas (Bacillariophyceae) a partir do 36º dia de colonização, principalmente nos T₁ e T₂, bem como o aumento das xantofíceas a partir do 43º dia, prosseguindo até o final do experimento nos T₂ e T₃ (Figura 35).

Tabela 11. Abundância das classes de algas perifíticas (%) para cada tratamento ($n = 2$). C = controle, T₁ = Tratamento 1, T₂ = Tratamento 2 e T₃ = Tratamento 3.

Classes	C	T₁	T₂	T₃
Bacillariophyceae	4	8	8	4
Chlorophyceae	6	6	7	9
Cryptophyceae	1	1	0	0
Chrysophyceae	38	40	41	44
Cyanophyceae	42	39	37	38
Dinophyceae	0	0	0	0
Euglenophyceae	3	2	1	1
Oedogoniophyceae	0	0	0	0
Prasinophyceae	0	0	0	0
Xanthophyceae	0	1	3	2
Zygnemaphyceae	6	4	2	1

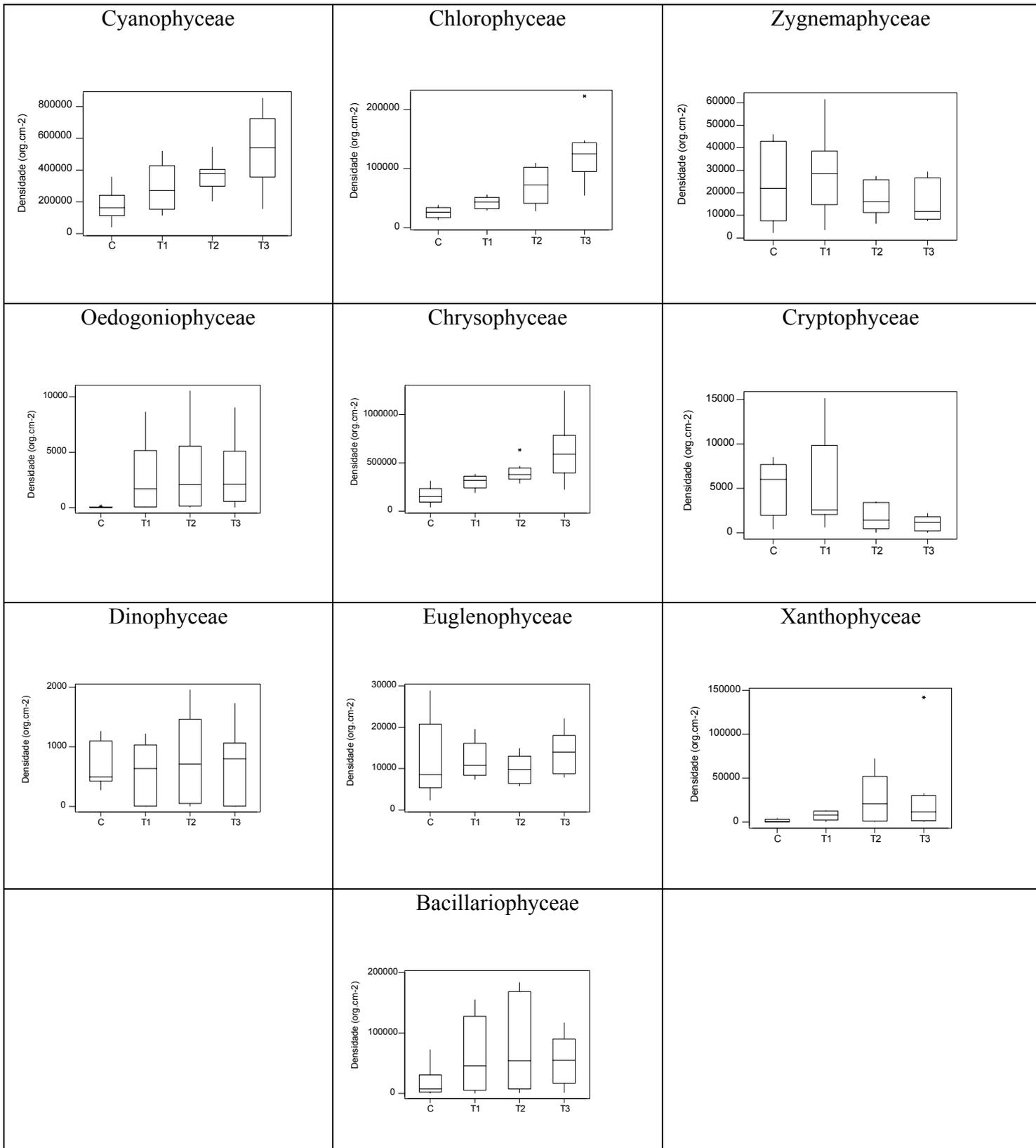


Figura 34. Gráficos de caixas esquemáticas (mediana, quartis, $n = 8$) de 10 classes de algas perifíticas encontradas durante a sucessão em substrato artificial no Lago das Ninfeias em diferentes tratamentos: controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).

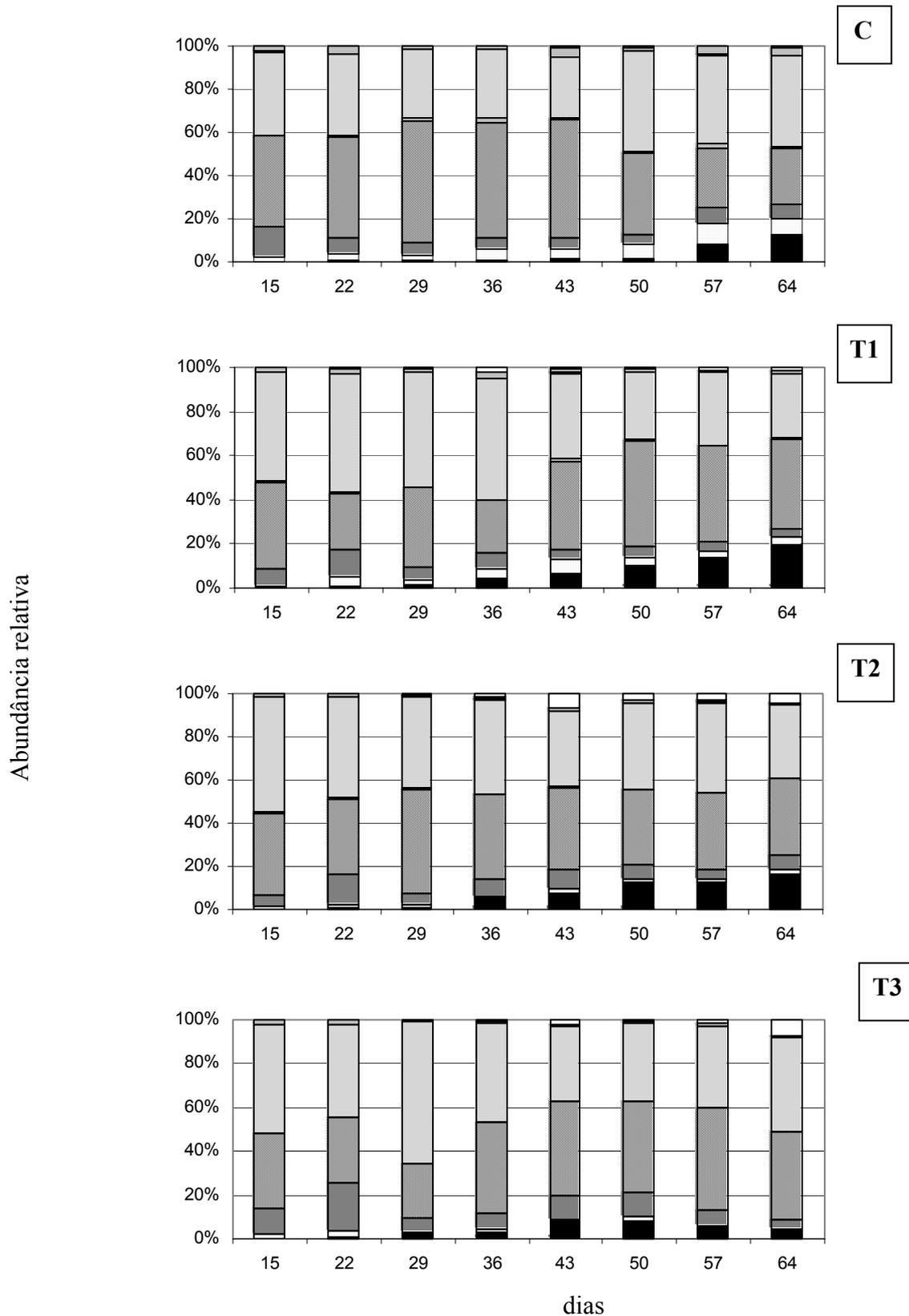


Figura 35. Abundância relativa das classes de algas periféricas ao longo da sucessão nos tratamentos controle (C), tratamento 1 (T₁), tratamento 2 (T₂) e tratamento 3 (T₃).
 Classes: □ Xanthophyceae, ▨ Euglenophyceae, ▩ Prasinophyceae, ▤ Dinophyceae, ▥ Chrysophyceae, □ Cryptophyceae, ▧ Cyanophyceae, ▦ Chlorophyceae, ▨ Zygnemaphyceae, ■ Bacillariophyceae e ▩ Oedogoniophyceae.

5.6.2.2. Espécies perifíticas descritoras da comunidade

Na figura 36 estão representadas as 10 espécies de algas perifíticas que apresentaram densidades médias mais elevadas para todo o período experimental, em cada tratamento ($n = 8$).

Duas espécies destacaram-se em todos os tratamentos por serem as mais abundantes: uma cianofícea - *Synechocystis aquatilis* Sauvageau e uma crisofícea - *Chromulina elegans* Doflein. A primeira apresentou as densidades médias mais elevadas em todos os tratamentos à exceção do T₃, onde foi suplantada pela segunda espécie mais importante, *Chromulina elegans*. Estas duas espécies conjuntamente perfizeram 78% da densidade da comunidade no C e no T₁, 81% no T₂ e 82% no T₃.

Chromulina sp. foi a terceira espécie mais bem representada em todos os tratamentos, contribuindo com 10% (C), 8% (T₁) e 7% (T₂ e T₃) da densidade total. Para cada um dos tratamentos, outras sete espécies tiveram importância, ainda que reduzida, na estruturação da comunidade. No C e no T₃ a contribuição destas espécies não ultrapassou 11% da densidade total da comunidade e nos demais tratamentos a contribuição foi de 13% (T₁) e 12% (T₂).

Algumas espécies apareceram entre as 10 mais abundantes em apenas um tratamento, como no C: *Mougeotia* sp., *Staurastrum tetracerum* Ralfs (Kützing) Ralfs ex Ralfs, *Trachelomonas* sp. e *Teilingia granulata* (Roy & Bisset) Bourrelly, no T₂: *Chlamydomonas sagittula* Skuja e no T₃: *Nitzschia palea* Kützing (W. Smith), cada qual contribuindo com apenas 1% da densidade total. No T₁ apareceu *Cosmarium majae* Strøm com contribuição de 2%. As demais espécies estiveram entre as mais abundantes em mais de um tratamento e apresentaram os seguintes percentuais de contribuição: *Brachysira vitrea* Kützing (C e T₁: 3%), *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot (C e T₁: 1%), *Choricystis minor* Skuja (C: 3%, T₂ e T₃: 2%), *Gomphonema gracile* Ehrenberg emend. van Heurck (T₁: 3%, T₂: 2%), *Leptolyngbya perelegans* (Lemmermann) Anagnostidis & Komárek (T₁ e T₃: 1%), *Characiopsis* sp2. (T₂: 2%, T₃: 1%), *Characiopsis* sp3. (T₂ e T₃: 1%), *Achnantidium microcephalum* Kützing (T₁: 1%, T₂: 3%, T₃: 2%) e *Chlamydomonas planctogloea* Skuja (T₁: 2%, T₂: 1%, T₃: 3%).

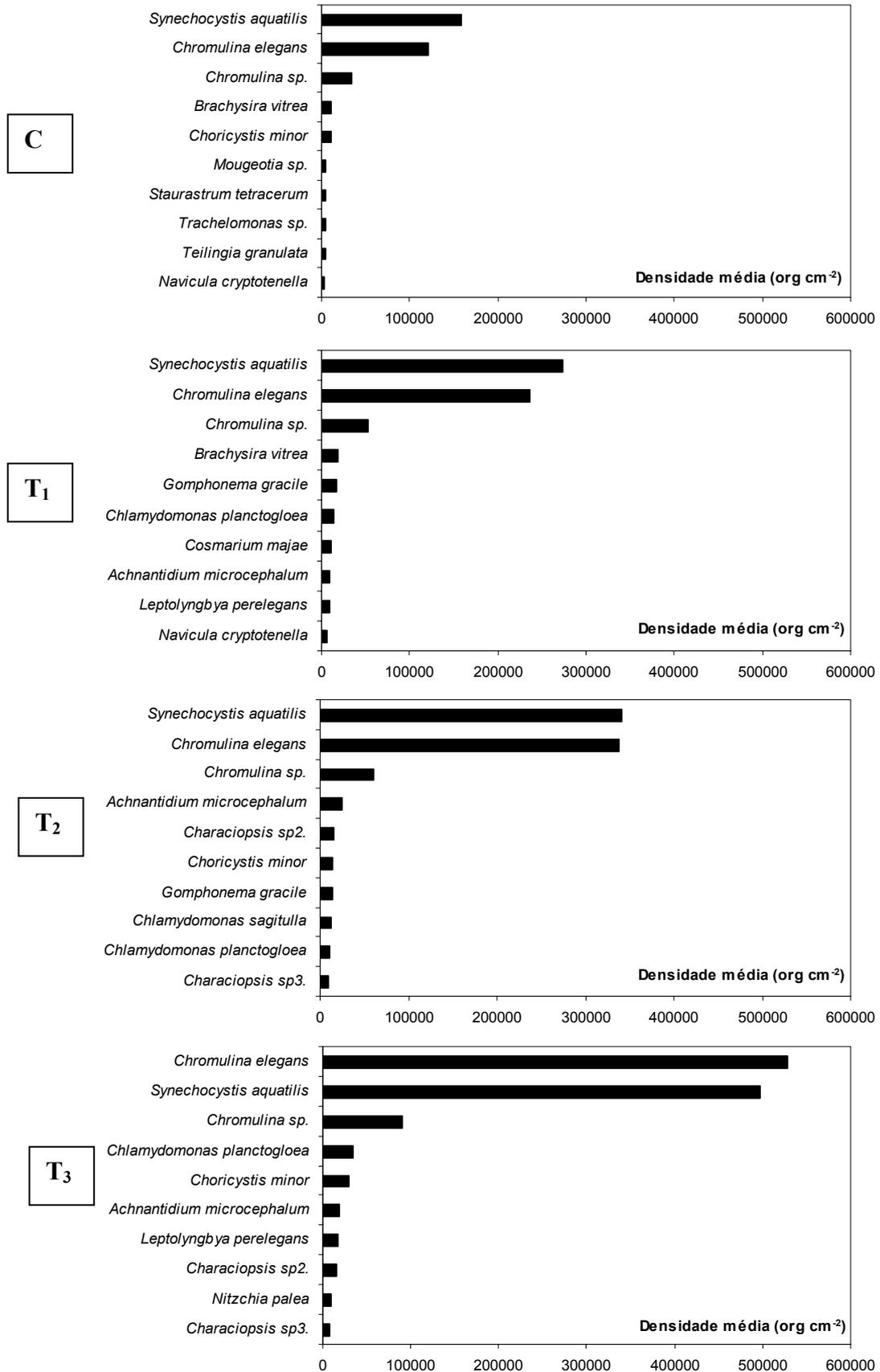


Figura 36. Densidade média ($n = 8$) para o período experimental das 10 espécies de algas perifíticas de maior abundância em cada tratamento (C = Controle, T₁ = tratamento 1, T₂ = tratamento 2 e T₃ = tratamento 3).

5.6.2.3. Sucessão das espécies de algas perifíticas

Para análise das mudanças sucessionais da comunidade de algas perifíticas frente ao enriquecimento foram consideradas as cinco espécies mais abundantes, ou seja, com contribuição superior a 0,5% da densidade total, ao longo de todo o processo sucessional e, separadamente, para cada tratamento (Figura 37).

Durante a sucessão e para todos os tratamentos *Synechocystis aquatilis* Sauvageau (Syneco), *Chromulina elegans* Doflein (Chromel) e *Chromulina* sp. (Chrom1) foram as espécies que mais contribuíram em abundância relativa. A primeira (Syneco) destacou-se como a mais abundante no C (26-52%) e no T₁ (26-47%), tendo sido suplantada por *Chromulina elegans* (Chromel) nos tratamentos com maiores cargas de nutrientes (T₂: 31-46% e T₃: 31-64%). A última espécie foi favorecida pelas condições experimentais principalmente do T₃, quando no 29^o dia de colonização participou da comunidade com contribuição superior a 60%.

Outras espécies, além das três mais abundantes, também contribuíram para o processo sucessional, porém de forma menos expressiva. No C, *Choricystis minor* (Chorisp) apresentou boa contribuição até o 43^o dia, quando outra espécie (*Brachysira vitrea* - Bravit) teve sua contribuição aumentada até o final do período experimental. No T₁, duas espécies de diatomáceas (*Brachysira vitrea* - Bravit e *Gomphonema gracile* - Ggrac) aumentaram em contribuição a partir do 36^o dia de sucessão. No T₂, *Characiopsis* sp₂ (Charsp2) e *Achnantidium microcephalum* (Acmicro) foram mais abundantes a partir do 29^o dia. Em T₃, *Choricystis minor* (Chorisp) e *Chlamydomonas planctogloea* (Chlplan) foram bem representadas no início do período experimental (15^o ao 29^o dia), reduzindo sua contribuição com o avanço da sucessão.

Em síntese, a adição de nutrientes favoreceu particularmente *Chromulina elegans*, que suplantou em abundância outra espécie muito bem representada durante todo o experimento, a cianofíceia *Synechocystis aquatilis*. Ainda, três espécies de diatomáceas (*Brachysira vitrea* – no C e T₁), *Gomphonema gracile* (T₁) e *Achnantidium microcephalum* (T₂) foram favorecidas com o avanço sucessional, à exceção do nível mais elevado de enriquecimento (T₃).

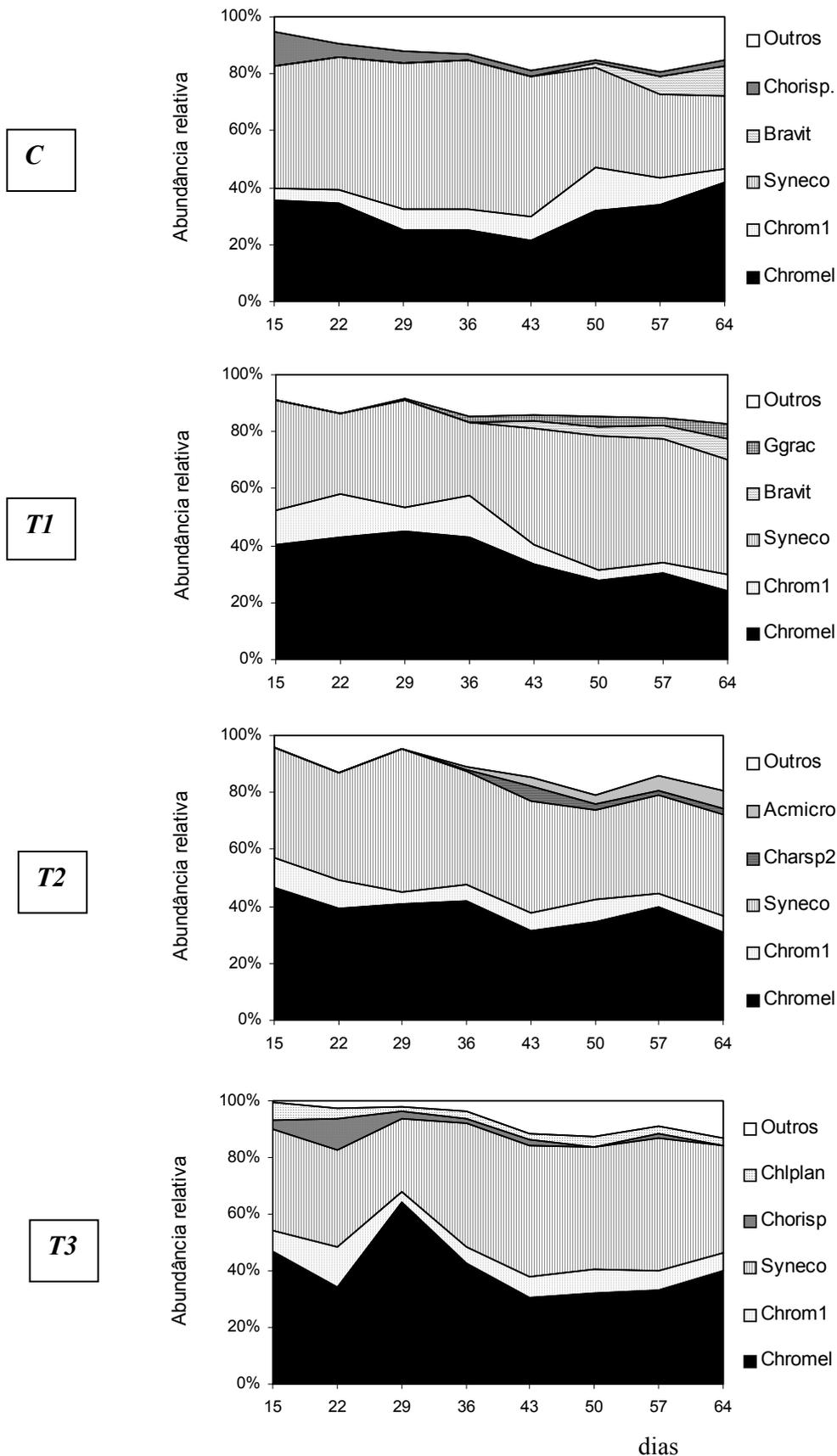


Figura 37. Abundância relativa dos cinco táxons de algas perifíticas mais representativos (densidades superiores a 0,5% da densidade total da comunidade) ao longo do período experimental, para cada tratamento (C = controle, T₁ = tratamento 1, T₂ = tratamento 2 e T₃ = tratamento 3). Abreviações: Acmicro: *Achnantidium microcephalum*, Bravit: *Brachysira vitrea*, Charsp2: *Characiopsis* sp₂., Chlplan: *Chlamydomonas planctogloea*, Chromel: *Chromulina elegans*, Chrom1: *Chromulina* sp., Choris: *Choricystis minor*, Ggrac: *Gomphonema gracile*, : *Synechocystis aquatilis*.

5.6.2.4. Análise conjunta das espécies de algas

A avaliação das principais tendências de variação da estrutura das comunidades algais nos diferentes tratamentos baseou-se nos táxons com contribuição superior a 0,5% da densidade total da comunidade (34 espécies), considerando todo o processo sucessional e, separadamente, cada tratamento. Conjuntamente, tais espécies contribuíram, em média para a sucessão ($n = 8$), com 94% da densidade total da comunidade.

A análise de componentes principais resumiu 54% da variabilidade total dos dados em seus dois primeiros eixos (Figura 38, Tabela 12). A principal separação ocorreu no eixo 1 (40,7%), no qual as unidades amostrais se separaram em função dos níveis de enriquecimentos. As unidades relativas ao C e ao T₁ posicionaram-se, em sua maioria, à direita do eixo 1 e estiveram associadas às densidades mais elevadas de *Synechocystis aquatilis* (Syneco, $r = 0,43$), *Staurastrum tetracerum* (Staurate, $r = 0,35$) e uma cianofícea filamentosa sp₂. (Cifil2, $r = 0,35$). Em contrapartida, as observações relativas aos T₂ e T₃ posicionaram-se à esquerda do eixo, estando associadas às menores densidades dos três táxons mencionados, bem como às maiores densidades de 33 táxons, com destaque para os 12 seguintes, cujas correlações com o eixo 1 foram iguais ou maiores do que 0,7: *Monoraphidium tortile* (West & West) Komárková-Legnerová (Monotor, $r = -0,93$), *Gomphonema subtile* Ehrenberg (Gsubt, $r = -0,90$), *Characiopsis* sp₂. (Charsp2: $r = -0,89$), *Achnanidium microcephalum* (Acmicro, $r = -0,85$), *Kirchneriella pinguis* Hindák (Kping, $r = -0,83$), *Characiopsis* sp₁. (Charsp1, $r = -0,83$), *Characiopsis* sp₃. (Charsp3, $r = -0,83$), *Nitzschia palea* (Nitzpal, $r = -0,81$), *Trachelomonas volvocina* Ehrenberg (Tracvol, $r = -0,80$), *Cryptomonas* sp₂. (r Crypto 2, $r = -0,76$), *Gomphonema gracile* (Ggrac, $r = -0,725$) e uma cianofícea filamentosa sp₆. (Cifil6, $r = -0,70$). No lado positivo do eixo 2, ocorreu a separação das observações relativas ao período mais avançado da sucessão (43-64º dias) no controle e, principalmente, do tratamento 1, associadas às maiores densidades de *Teilingia granulata* (Teiling, $r = 0,68$), *Brachysyra vitrea* (Bravit, $r = 0,57$), *Encyonema lunata* W. Smith (Enclun, $r = 0,56$), *Cosmarium majae* (Cosmama, $r = 0,53$) e *Synechocystis aquatilis* (Syneco, $r = 0,52$).

Em síntese, o componente 1 representou o enriquecimento, que em níveis mais elevados (T₂ e T₃) favoreceu o desenvolvimento de grande número de táxons, constituindo o principal eixo de estruturação da comunidade perifítica.

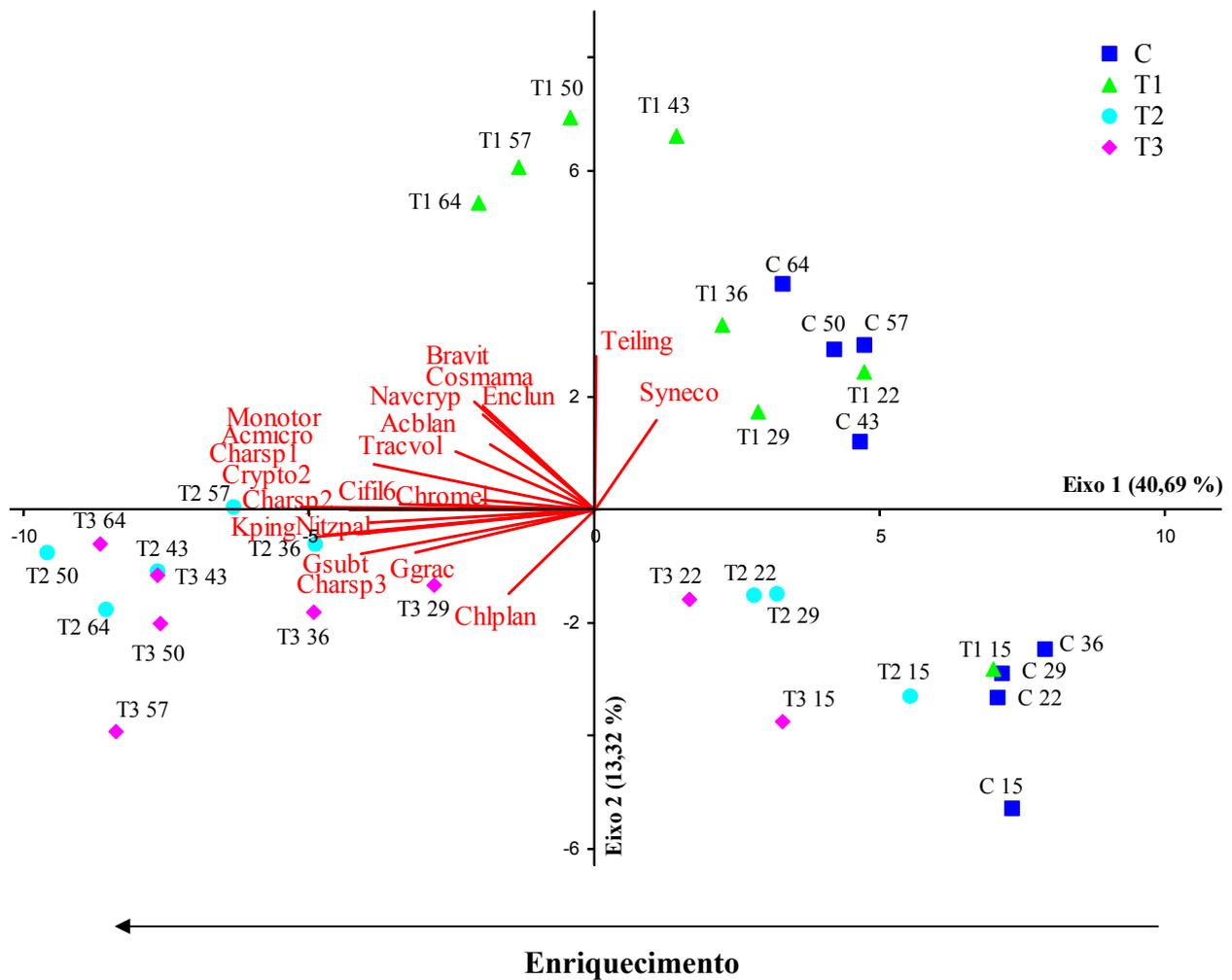


Figura 38. Biplot da ACP, com ordenação das unidades amostrais ($n = 2$) do controle (C), tratamento 1 (T_1), tratamento 2 (T_2) e tratamento 3 (T_3) ao longo do período experimental com base em 34 espécies de algas perifíticas (contribuição $\geq 0,5\%$ da densidade total da comunidade em cada tratamento). Os números indicam os dias da sucessão. Abreviação das espécies, conforme tabela 12. Nível de corte dos vetores = 0,4.

Tabela 12. Correlações das espécies de algas perifíticas com os componentes principais 1 e 2.

Variáveis (Espécies de Algas)	Abreviações	Componentes Principais	
		1	2
<i>Achnantidium blanqueanum</i>	Acblan	-0,639	0,417
<i>Achnantidium microcephalum</i>	Amicro	-0,846	0,029
<i>Brachysyra vitrea</i>	Bravit	-0,595	0,568
<i>Characiopsis</i> sp ₁	Charsp1	-0,832	0,086
<i>Characiopsis</i> sp ₂	Charsp2	-0,890	-0,277
<i>Characiopsis</i> sp ₃	Charsp3	-0,828	-0,365
<i>Chlamydomonas planctogloea</i>	Chlplan	-0,505	-0,499
<i>Chlamydomonas sagittula</i>	Chlasag	-0,410	0,324
<i>Choricystis minor</i>	Chorisp	-0,493	0,203
<i>Chromulina elegans</i>	Chromel	-0,577	0,171
<i>Chromulina</i> sp ₁	Chrom1	0,285	0,272
cianofícea filamentosa sp2	Cifil2	0,349	-0,151
cianofícea filamentosa sp6	Cifil6	-0,701	0,143
cianofícea filamentosa sp7	Cifil7	-0,531	0,001
<i>Cosmarium abbreviatum</i>	Cosmaab	0,229	0,225
<i>Cosmarium majae</i>	Cosmama	-0,575	0,531
<i>Cosmarium undulatum</i>	Cosmaun	0,273	0,202
<i>Cryptomonas</i> sp ₂	Crypto2	-0,757	0,138
<i>Encyonema lunata</i>	Enclun	-0,571	0,556
<i>Frustulia crassinervia</i> var. <i>crassinervia</i>	Frucras	-0,114	0,327
<i>Gomphonema gracile</i>	Ggrac	-0,725	-0,354
<i>Gomphonema subtile</i>	Gsubt	-0,904	-0,286
<i>Kirchneriella pinguis</i>	Kping	-0,832	-0,271
<i>Leptolyngbya perelegans</i>	Cifil3	-0,456	0,445
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	Monoarc	0,079	-0,519
<i>Monoraphidium tortile</i>	Monotor	-0,928	0,103
<i>Mougeotia</i> sp.	Moug	0,344	0,481
<i>Navicula cryptotenella</i>	Navcryp	-0,553	0,441
<i>Nitzschia palea</i>	Nitzpal	-0,812	-0,200
<i>Staurastrum tetracerum</i>	Staurate	0,353	0,322
<i>Synechocystis aquatilis</i>	Syneco	0,426	0,516
<i>Teilingia granulata</i>	Teiling	0,074	0,675
<i>Trachelomonas</i> sp ₁	Tracsp1	0,144	0,104
<i>Trachelomonas volvocina</i>	Tracvol	-0,803	0,368
Variância explicada		40,69%	13,32%

5.6.2.5. Índices biológicos

O número de táxons de algas perifíticas por unidade amostral (riqueza) apresentou tendência de aumento com a adição de N e P (Figura 39). Em relação ao controle, os valores médios para o período experimental ($n = 8$) foram mais elevados nos tratamentos 1, 2 e 3, sendo, respectivamente, de 30 (C), 34 (T₁), 38 (T₂) e 42 (T₃).

Tanto a equitabilidade quanto a dominância apresentaram muitas flutuações ao longo do período experimental, principalmente nos tratamentos enriquecidos (Figura 39). Em média ($n = 8$), a dominância foi pouco mais elevada nos T₂ e T₃ e, de forma inversa, a equitabilidade foi levemente mais baixa nos T₂ (0,52) e T₃ (0,51), quando comparada ao C (0,55) e T₁ (0,55).

O índice de diversidade de Shannon (H'), assim como as medidas anteriores, apresentou maior flutuação durante o período experimental nos tratamentos com pulsos de enriquecimento (Figura 39). Os valores médios ($n = 8$) foram muito similares, variando de 2,71 (C), 2,73 (T₁ e T₃) a 2,77 (T₂).

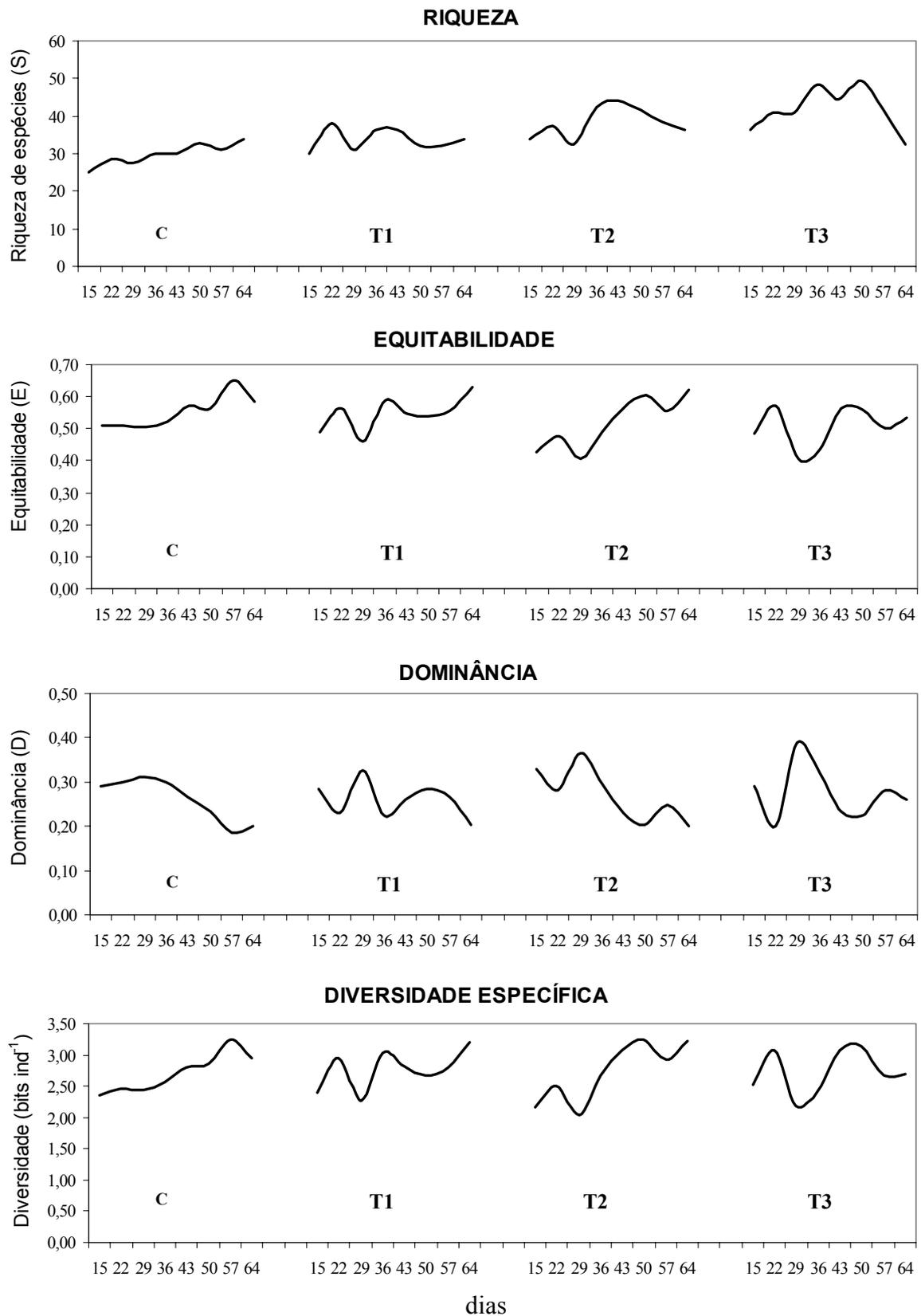


Figura 39. Valores de riqueza de espécies (S), equitabilidade (E), dominância (D) e diversidade de Shannon (bits ind⁻¹) da comunidade de algas perifíticas ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos (C = controle, T₁ = tratamento 1, T₂ = tratamento 2 e T₃ = tratamento 3).

5.6.3. Análise Integrada das Características Limnológicas Abióticas e Bióticas

A análise de correspondência canônica (ACC) foi realizada a partir de seis variáveis abióticas (pH, oxigênio dissolvido, gás carbônico livre, nitrato, ortofosfato e fósforo total) e 34 espécies de algas perifíticas. Foram incluídos os táxons com densidades superiores a 0,5% da densidade total no decorrer de toda a sucessão, separadamente, para cada tratamento.

A análise resumiu 31,0% da variabilidade total dos dados em seus dois primeiros eixos, apresentando autovalores para os eixos 1 ($\lambda_1 = 0,256$) e 2 ($\lambda_2 = 0,176$) estatisticamente significativos ($p = 0,010$), conforme teste de Monte Carlo. As correlações espécie-ambiente para os eixos 1 ($r = 0,86$) e 2 ($r = 0,96$) foram elevadas e significativas, indicando forte relação entre as espécies e as variáveis abióticas (Tabela 13).

No eixo 1 (Figura 40), houve a separação das unidades amostrais em função dos níveis de enriquecimento (diferentes tratamentos). As unidades relativas principalmente ao C, mas também ao T₁, posicionaram-se à direita do eixo 1, enquanto que as unidades relativas aos T₂ e particularmente ao T₃ estiveram, em sua maioria, posicionadas à esquerda do eixo. As últimas (T₂ e T₃) apresentaram maior associação com os valores mais elevados de OD, PT, NO₃ e PO₄. Porém, o coeficiente canônico indicou que o oxigênio dissolvido (OD: $r = -0,64$) e o fósforo total (PT: $r = -0,58$) foram as variáveis que mais pesaram na ordenação neste eixo (Tabela 14). Por sua vez, as correlações “intra-set”, que demonstram a correlação entre as variáveis abióticas considerando a relação de dependência espécie-ambiente, indicaram como variáveis mais importantes, em ordem decrescente, o oxigênio dissolvido (OD: $r = -0,92$), o fósforo total (PT: $r = -0,90$) e, também, o nitrato (NO₃: $r = -0,60$) (Tabela 14).

Em relação às variáveis biológicas, 15 táxons apresentaram correlações mais elevadas ($r \geq 0,5$) com o eixo 1 da ACC (Tabela 15). Destes, 11 estiveram associados ao T₃ e foram, em ordem decrescente de importância: *Trachelomonas volvocina* (**Tracvol:** -0,81), *Characiopsis* sp1. (**Charsp1:** -0,76), *Nitzschia palea* (**Nitzpal:** - 0,76), *Characiopsis* sp3. (**Charsp3:** -0,74), *Kirchneriella pinguis* (**Kping:** -0,72), *Characiopsis* sp2 (**Charsp2:** -0,68), *Chlamydomonas sagitulla* (**Chlsag:** -0,66), *Chromulina elegans* (**Chromel:** -0,62), *Monoraphidium tortile* (**Monotor:** -0,59), *Cryptomonas* sp2. (**Crypto2:** -0,59), Cianofíceia filamentosa sp6 (**Cifil6:** - 0,59). Os mais associados ao T₂ foram: *Navicula cryptotenella* (**Navcryp:** -0,57), *Achnantidium microcephalum* (**Acmicro:** -0,53), *Gomphonema subtile* (**Gsubt:** -0,50) e *Achnantidium blanqueanum* (Maillard) Lange-Bertalot (**Acblan:** -0,46). As espécies que mais se associaram ao controle, com correlações com o eixo 1 $\geq 0,3$, foram quatro zignemafíceas, três das quais desmídias (*Mougeotia* sp., *Cosmarium undulatum* Corda

ex Ralfs var. *minutum* Wittrock, *Staurastrum tetracerum*, *Teilingia granulata*), bem como uma cianofíceia (*Synechocystis aquatilis*).

No eixo 2, houve a separação dos estádios da sucessão. Associados aos valores mais elevados de CO₂L e aos mais baixos de pH, NO₃ e PO₄, estão as unidades amostrais relativas ao 43^o, 50^o, 57^o e 64^o dias de sucessão de todos os tratamentos, à exceção de duas observações no T3. No lado positivo do eixo, posicionaram-se as unidades relativas aos períodos iniciais do experimento (15-36 dias de sucessão), associadas inversamente às condições abióticas destacadas acima. Os coeficientes canônicos apontaram o pH (pH: 0,95) e o nitrato (NO₃: 0,95) como as variáveis de maior contribuição no lado positivo do eixo. Ainda, no lado positivo do eixo 2, as correlações “intra-set” identificaram o pH (pH: 0,76), o ortofosfato (PO₄: 0,71) e o nitrato (NO₃: 0,65) como importantes variáveis na ordenação, considerando a relação de dependência espécie-ambiente. No lado negativo do mesmo eixo, o gás carbônico livre (CO₂L: - 0,69) foi a variável de maior peso na ordenação (Tabela 14).

Entre as variáveis biológicas, as que apresentaram as maiores correlações com o eixo 2 e que se associaram aos estádios finais de acompanhamento da sucessão foram (Tabela 15): *Brachysira vitrea* (**Bravit:** -0,72), *Encyonema lunata* (**Enclun:** -0,52), *Synechocystis aquatilis* (**Syneco:** -0,51), *Achnantidium blanqueanum* (**Acblan:** -0,50), *Staurastrum tetracerum* (**Staurate:** -0,48), *Frustulia crassinervia* (Brébisson ex W. Smith) Costa var. *crassinervia* (**Frucras:** -0,47), *Cosmarium abbreviatum* Raciborski (**Cosmaab:** -0,43), *Teilingia granulata* (**Teiling:** -0,42), *Navicula cryptotenella* (**Navcryp:** -0,42) e *Achnantidium microcephalum* (**Acmicro:** -0,42). Em contrapartida, associadas ao período inicial do experimento (15-36 dias), destacaram-se, em ordem decrescente, *Monoraphidium arcuatum* (Korsikov) Hindák (**Monoarc:** 0,53), cianofíceia filamentosa sp7 (**Cifil7:** 0,49) e *Chlamydomonas planctogloea* (**Chlplan:** 0,47).

Em síntese, o eixo de maior variabilidade representou as mudanças na estrutura específica da comunidade em função do enriquecimento e o eixo 2, do processo sucessional.

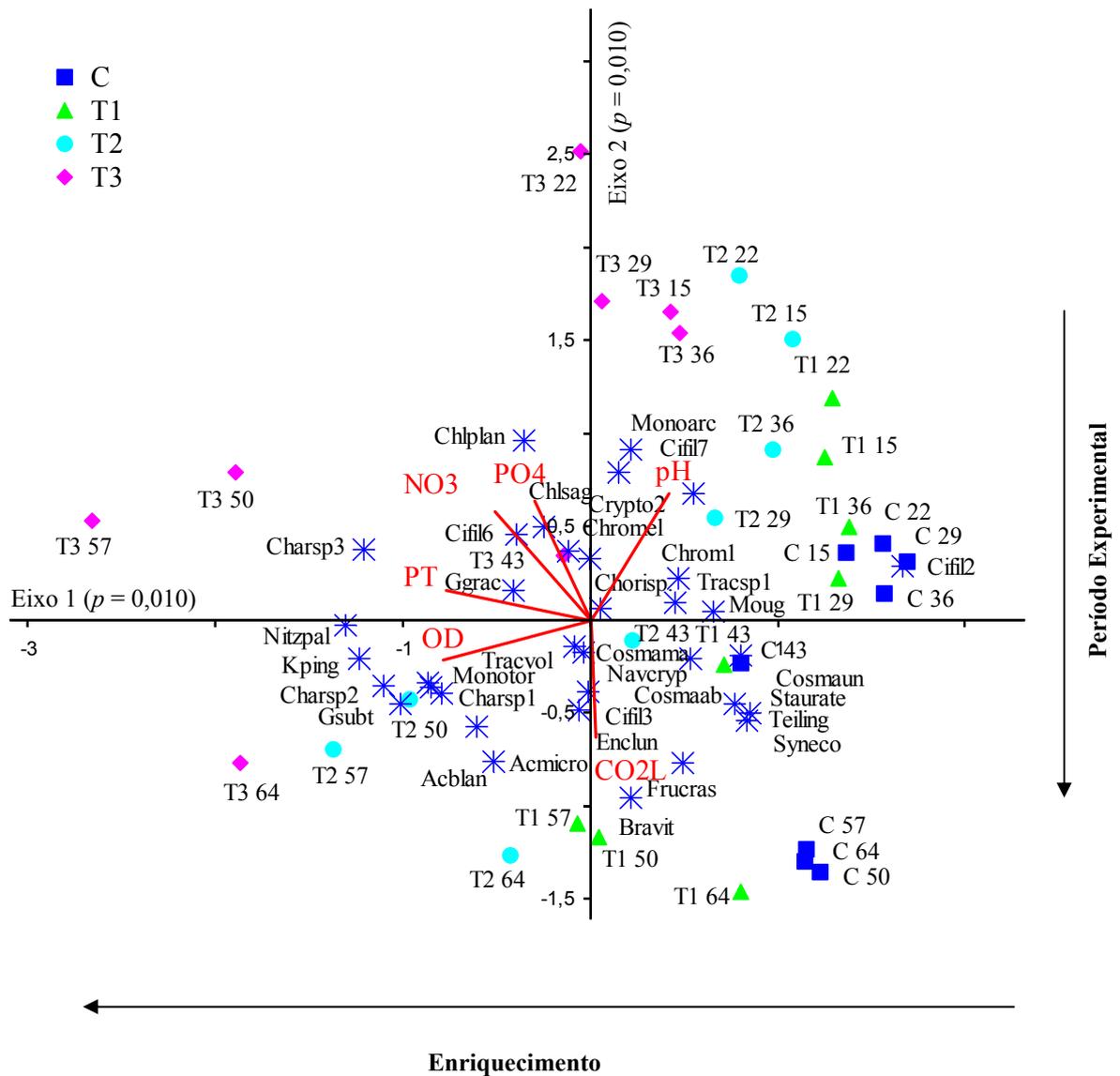


Figura 40. Ordenação da ACC das unidades amostrais dos diferentes tratamentos ($n = 2$). C = controle, T₁ = tratamento 1, T₂ = tratamento 2 e T₃ = tratamento 3. Os números indicam os dias sucessionais. Abreviações das variáveis ambientais: **pH**: potencial hidrogeniônico, **CO₂L**: gás carbônico livre, **OD**: oxigênio dissolvido, **PT**: fósforo total, **PO₄**: ortofosfato, **NO₃**: nitrato. Abreviações das espécies, conforme tabela 15.

Tabela 13. Síntese dos resultados da ACC realizada a partir de seis variáveis ambientais e 34 variáveis biológicas (densidade de espécies de algas).

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores (λ)	0,256	0,176
Porcentagem de variância explicada	18,4	12,6
Porcentagem de variância acumulada	18,4	31,0
Correlação de Pearson (espécies-ambiente)	0,862	0,963
Teste Monte-Carlo	Autovalores	0,010
	Correlações espécie-ambiente	0,010

Tabela 14. Coeficientes canônicos e correlações “intra-set” de seis variáveis ambientais com os eixo 1 e 2 da ACC, realizada com 34 variáveis biológicas (densidade de espécies de algas perifíticas) em diferentes tratamentos de enriquecimento.

Variáveis ambientais	Coeficiente Canônico		Coeficiente de Correlação “intra-set”	
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
pH	0,190	0,949	0,479	0,755
Oxigênio dissolvido (OD)	- 0,638	0,316	- 0,918	- 0,233
Gás Carbônico Livre (CO ₂ L)	0,238	- 0,032	0,027	- 0,692
Nitrato (NO ₃)	- 0,199	0,952	- 0,597	0,649
Ortofosfato (PO ₄)	- 0,220	- 0,160	- 0,349	0,711
Fósforo Total (PT)	- 0,577	- 0,389	- 0,899	0,176

Tabela 15. Correlações das densidades de espécies de algas perifíticas com os eixos 1 e 2 da ordenação pela ACC.

Variáveis (Espécies de Algas)	Abreviações	Componentes Principais	
		1	2
<i>Achnantidium blanqueanum</i>	Acblan	- 0,457	- 0,496
<i>Achnantidium microcephalum</i>	Amicro	- 0,527	- 0,420
<i>Brachysyra vitrea</i>	Bravit	- 0,106	- 0,720
<i>Characiopsis</i> sp.1	Charsp1	- 0,764	- 0,397
<i>Characiopsis</i> sp.2	Charsp2	- 0,682	- 0,260
<i>Characiopsis</i> sp.3	Charsp3	- 0,744	0,084
<i>Chlamydomonas planctogloea</i>	Chlplan	- 0,452	0,473
<i>Chlamydomonas sagittula</i>	Chlasag	- 0,661	0,316
<i>Choricystis minor</i>	Chorisp	- 0,324	- 0,139
<i>Chromulina elegans</i>	Chromel	- 0,616	0,192
<i>Chromulina</i> sp.1	Chrom1	0,105	0,024
cianofícea filamentosa sp.2	Cifil2	0,246	0,017
cianofícea filamentosa sp.6	Cifil6	- 0,586	0,192
cianofícea filamentosa sp.7	Cifil7	- 0,199	0,489
<i>Cosmarium abbreviatum</i>	Cosmaab	0,142	- 0,434
<i>Cosmarium majae</i>	Cosmama	- 0,408	- 0,366
<i>Cosmarium undulatum</i>	Cosmaun	0,321	- 0,315
<i>Cryptomonas</i> sp.2	Crypto2	- 0,592	0,193
<i>Encyonema lunata</i>	Enclun	- 0,339	- 0,525
<i>Frustulia crassinervia</i>	Frucras	0,047	- 0,474
<i>Gomphonema gracile</i>	Ggrac	- 0,429	- 0,027
<i>Gomphonema subtile</i>	Gsubt	- 0,496	- 0,237
<i>Kirchneriella pinguis</i>	Kping	- 0,720	- 0,187
<i>Leptolyngbya perelegans</i>	Cifil3	- 0,236	- 0,354
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	Monoarc	- 0,131	0,530
<i>Monoraphidium tortile</i>	Monotor	- 0,593	- 0,260
<i>Mougeotia</i> sp.	Moug	0,285	- 0,179
<i>Navicula cryptotenella</i>	Navcryp	- 0,566	- 0,421
<i>Nitzschia palea</i>	Nitzpal	- 0,764	- 0,107
<i>Staurastrum tetracerum</i>	Staurate	0,267	- 0,475
<i>Synechocystis aquatilis</i>	Syneco	0,296	- 0,512
<i>Teilingia granulata</i>	Teiling	0,271	- 0,424
<i>Trachelomonas</i> sp.1	Tracsp1	0,077	- 0,147
<i>Trachelomonas volvocina</i>	Tracvol	- 0,814	- 0,378
Varição explicada		18,4%	12,6%

6. DISCUSSÃO

CARACTERIZAÇÃO ABIÓTICA DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O Lago das Ninféias é um sistema tropical raso, mesotrófico (IET médio = 46) (BICUDO, D. *et al.* 2002), cuja carga média mensal de fósforo lançada via entradas pontuais é de $5,7 \text{ gP m}^{-2} \text{ ano}^{-1}$ (banco de dados do projeto em se insere esta pesquisa). No que se refere ao padrão de estrutura térmica, é polimíctico quente descontínuo (BICUDO, D. *et al.* 2002). Pela série mensal de cinco anos de informação (1997-2000, banco de dados) o ambiente apresenta baixas concentrações médias de nutrientes da série fósforo (valores médios de PT = $25 \mu\text{g L}^{-1}$, PDT = $10 \mu\text{g L}^{-1}$, PO₄ < $4 \mu\text{g L}^{-1}$) e valores médios de nitrogênio total e nitrato, respectivamente, de 600 e $180 \mu\text{gN L}^{-1}$. Apresenta abundante vegetação aquática submersa e flutuante, e penetração total de luz na coluna d'água praticamente ao longo de todo o ano (FONSECA 2005), propiciando o profuso desenvolvimento do perifíton.

Em trabalho experimental recentemente realizado no Lago das Ninféias, FERMINO (2006) reportou o fósforo como o nutriente limitante ao longo do ano para a comunidade perifítica, atuando como nutriente limitante único, limitante primário ou, ainda, estando co-limitado pelo nitrogênio. Desta forma, em nenhum momento o nitrogênio foi identificado como o nutriente limitante ou limitante primário. Particularmente para o verão, período do presente estudo, o perifíton apresentou limitação primária por fósforo e secundária por nitrogênio, o que foi corroborado pela fase piloto deste estudo.

Baseando-se nas informações acima, o delineamento experimental buscou avaliar os efeitos dos pulsos de enriquecimento por P em três níveis, porém em condições de boa

disponibilidade de N, sobre a estrutura e o funcionamento do perifíton, bem como estimar a contribuição relativa desta comunidade na retenção do fósforo.

Conforme análise integrada das características abióticas (ACP), a maior variabilidade dos dados (eixo 1) representou o enriquecimento artificial, de forma a separar as unidades amostrais referentes ao controle e pré-enriquecimento das relativas ao pós-enriquecimento, as quais estiveram associadas aos maiores valores de nitrato, condutividade, NT, PDT e PO₄. Todos os nutrientes da série P (PT, PDT e PO₄) e os da série N (NT, NO₂ e NO₃), à exceção do NH₄, foram significativamente mais elevados no pós-enriquecimento e apresentaram maiores valores de acordo com os níveis mais elevados de adição de sais.

Outras variáveis como pH, condutividade, alcalinidade, oxigênio dissolvido e íons bicarbonato também foram significativamente mais elevados no pós-enriquecimento. Vale destacar o aumento nos teores de oxigênio dissolvido ($> 6 \text{ mg L}^{-1}$) em resposta à adição crescente de N e P. Para o mesmo ambiente, FERMINO (2006) também encontrou valores significativamente mais elevados de OD em condições de enriquecimento combinado de N e P, quando comparado aos enriquecimentos isolados de N ou P, evidenciando a maior atividade fotossintética nessas condições experimentais. Mesma tendência foi observada por FERRAGUT (2004) para experimento de enriquecimento com perifíton e fitoplâncton realizado em represa oligotrófica situada na mesma área de estudo.

Em síntese, pode-se considerar que as características abióticas pretendidas com o experimento foram atingidas, com resposta nítida e crescente dos teores de nutrientes em função dos níveis maiores de enriquecimento. Finalmente, com base nos teores médios de fósforo total na condição de pós-enriquecimento (Tabela 4) e no esquema de classificação trófica da OECD (OECD 1982, BICUDO *et al.* 2006), os tratamentos foram classificados em mesotrófico (C), eutrófico (T₁ e T₂) e hipereutrófico (T₃).

MUDANÇAS DE BIOMASSA

A variação de biomassa algal perifítica pode ser causada pela interação de uma série de fatores ambientais, incluindo a escala dentro do sistema lacustre, tais como luz, temperatura, nutrientes, herbivoria e tipo de substrato, bem como a escala sistêmica, como a influência da geologia, do clima e das atividades humanas (BIGGS 1996).

Particularmente as concentrações disponíveis de nutrientes têm papel essencial no controle da composição e da biomassa dos produtores primários, sendo consenso na literatura mundial que o nitrogênio e fósforo, além da sílica (para as diatomáceas), são os principais nutrientes reguladores do crescimento da maioria das espécies algais. Trabalhos experimentais

de enriquecimento, realizados no mundo e no Brasil, têm auxiliado no entendimento do papel isolado dos nutrientes na acumulação de biomassa perifítica. Muitos desses trabalhos reportam o aumento nas concentrações de clorofila-*a* durante o período sucessional (usualmente 30 dias) frente ao aumento nos teores de nutrientes (CERRAO *et al.* 1991, ENGLE & MELACK 1993, FERRAGUT 1999, HAVENS *et al.* 1999a, HAVENS *et al.* 1999b, FERMINO 2006). Entretanto, trabalhos que avaliem o efeito do pulso de enriquecimento (curta escala temporal) sobre a biomassa perifítica inexistem no país e, possivelmente, em regiões tropicais/subtropicais de modo geral.

Verificou-se, no presente, resposta marcada de incremento de biomassa fotossintética após 24 horas de adição de nutrientes e, particularmente, após o 29º dia de colonização do perifíton e no tratamento com nível médio de enriquecimento (T₂). Comparando com as demais comunidades avaliadas, o fitoplâncton respondeu de forma mais acentuada do que o perifíton (T₁ e T₂) a partir do 35º dia, enquanto o teor de biomassa do complexo macrófita aquática-perifíton não sofreu alteração. Nota-se, portanto, resposta rápida das comunidades que apresentam curto tempo de geração (perifíton e fitoplâncton) aos pulsos de nutrientes.

O efeito cumulativo dos pulsos de enriquecimento foi bastante evidente para os três componentes biológicos avaliados. Valores mais elevados de clorofila-*a* do perifíton foram obtidos ao longo do experimento nos tratamentos enriquecidos, sendo proporcionalmente maiores em função nos níveis de enriquecimento. Experimentos de adição de nutrientes (isolado por P, N ou combinado por N e P) têm comprovado a tendência de incremento de biomassa perifítica. Em trabalho experimental realizado no mesmo reservatório do presente estudo, foi verificado aumento na biomassa perifítica em resposta à adição isolada de P, mas principalmente mediante adição conjunta de N e P (FERMINO 2006). Para a mesma unidade de conservação (PEFI), resultados semelhantes foram verificados para uma represa oligotrófica (FERRAGUT 1999). Ainda, em trabalho experimental de oligotrofização em sistema eutrofizado, foi verificado maior incremento de biomassa perifítica na condição eutrófica, ou seja, em condição de melhor disponibilidade de nutrientes (BARCELOS 2003). Em sistemas tropicais/subtropicais destaca-se o trabalho de HAVENS *et al.* (1999b) que, a partir da adição conjunta e em níveis crescentes de N e P em lago raso subtropical, apontou diferenças significativas e crescentes de clorofila-*a*.

Em relação ao perifíton, a resposta da biomassa fitoplanctônica ao efeito cumulativo dos pulsos de enriquecimento foi bem menor (em cada tratamento), assim como aos níveis crescentes destes, exceto ao T₂ a partir do 57º dia do experimento (Tabelas 6 e 7). Valores mais elevados de biomassa para o fitoplâncton em experimentos realizados em represas do

PEFI também foram reportados a partir da adição conjunta de N e P em represa oligotrófica (FERRAGUT 2004) e em condição eutrófica obtida em experimento de oligotrofização realizado em represa eutrófica (CROSSETTI & BICUDO 2005).

Em relação à biomassa produzida pelo complexo macrófitas aquáticas-perifíton, aumento significativo foi observado no nível de maior enriquecimento (T_3). Vale destacar que grande parte da contribuição em massa neste tratamento, em relação aos demais, deveu-se à presença de metafiton associado às escamas de *Ricciocarpus natans*. O metafiton era visualmente composto por filamentos conspícuos de algas verdes, muito provavelmente, zignemafíceas que cresceram abundantemente nas condições de maior disponibilidade de nutrientes. Crescimento de algas filamentosas metafíticas propiciado por experimentos de enriquecimento já foi reportado em outros ambientes rasos lênticos (HOWARD-WILLIAMS 1981, MACDOUGAL 1997).

Os dados do presente indicam que o incremento de biomassa perifítica foi direcionado pelos pulsos de enriquecimento, mas principalmente pelas cargas crescentes de nutrientes e pelo efeito cumulativo destas em cada tratamento. Considerando que os níveis de biomassa atingidos no tratamento T_3 (razão molar N/P = 44) foram equivalentes aos dos experimentos realizados por FERMINO (2006) para o mesmo local (valor médio = $1,28 \mu\text{g cm}^{-2}$), porém sob condição contínua de difusão de nutrientes e razão molar N/P = 15, sugere-se que a acumulação de biomassa seja mais dependente das cargas absolutas de N e P do que da razão de disponibilidade desses recursos. De modo geral, o incremento de biomassa foi proporcionalmente (em relação ao controle) mais acentuado no perifíton do que no fitoplâncton. Muito provavelmente esta diferença seja resultado da ação conjunta da adição de nutrientes e do processo autogênico sucessional do perifíton, visto que o fitoplâncton aproveitou mais prontamente os recursos disponíveis no meio, conforme verificado pela maior incorporação de fósforo neste compartimento biológico (Figuras 29 e 30). Finalmente, em condições de maior aporte de nutrientes (T_3), observou-se diminuição no desenvolvimento do perifíton e fitoplâncton a partir do 53º dia e simultâneo aumento substancial da biomassa do complexo macrófitas aquáticas-perifíton. Uma vez que o nutriente limitante (P) foi mais incorporado ao fitoplâncton e que os valores de radiação subaquática diminuíram cerca de duas vezes no T_3 , no último dia do experimento (de 610 - no controle, para $334 \mu\text{mol S}^{-1} \text{m}^{-2}$ no T_3), sugere-se a ocorrência de efeito do sombreamento das macrófitas sobre as comunidades algais.

MUDANÇAS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química do perifíton engloba todos os componentes da comunidade, inclusive detritos, e vem sendo empregada com sucesso como indicadora da disponibilidade de nutrientes no meio (VYMAZAL *et al.* 1994, BIGGS 1995, BORCHARDT 1996, FRANCOUER *et al.* 1999, STELZER & LAMPERTI 2001, MABERLY *et al.* 2002). Estudos experimentais com manipulação de N, P e/ou NP têm mostrado que o perifíton pode seqüestrar nutrientes da água (HAVENS *et al.* 1999a, 1999b, FERRAGUT 1999, BARCELOS 2003, FERMINO 2006).

Os resultados ora observados discordam dos estudos citados, visto que a composição química do perifíton (%N e %P) não respondeu de forma significativa ao aumento das cargas de nutrientes. As porcentagens de P, mesmo mediante adição de nutrientes, mantiveram-se abaixo de 0,5% por unidade de massa seca do perifíton, ou seja, em nível abaixo do limiar de limitação por tal nutriente (BIGGS 1995).

Muito provavelmente o período (e/ou freqüência) dos pulsos de enriquecimento (24 horas) não tenha sido suficiente para o suprimento adequado do nutriente limitante. Exclui-se a maior influência da competição por recursos entre os compartimentos avaliados, já que tanto o seston, quanto, principalmente, as macrófitas mantiveram-se P-limitados durante todo o experimento. Considerando que os três compartimentos biológicos mantiveram a limitação por P, é possível que o período e/ou a freqüência dos pulsos de enriquecimento não tenham sido suficientes, ou que o fósforo tenha ficado retido em outro compartimento não avaliado, tal como no sedimento ou no sedimento e biofilme acumulados no fundo dos mesocosmos ao longo do experimento. Vale salientar que, no caso da acumulação no sedimento, os elevados níveis de oxigênio dissolvido durante o experimento ($> 6 \text{ mg L}^{-1}$) seriam suficientes para impedir a eventual redistribuição deste recurso para a coluna d'água, que se processa em sedimentos anóxicos (KALFF 2002).

BALANÇO DE MASSA PARA O FÓSFORO

Em sistemas tropicais/subtropicais informações sobre o destino do fósforo nos compartimentos biológicos concentram-se nas áreas alagadas da Flórida. Ainda assim, HAVENS *et al.* (2004) comentam sobre a escassez desta abordagem incluindo as comunidades litorâneas dos “wetlands” (MCDUGAL *et al.* 1997, HAVENS *et al.* 1999a, 1999b). No Brasil, inexistem informações a respeito da retenção de fósforo pelas comunidades em condições naturais e em condições de manipulação de nutrientes.

Os resultados do balanço de massa para o fósforo, considerando os pulsos de enriquecimento (condições pré e pós-enriquecimento), mostraram baixa retenção deste

elemento em todos os compartimentos biológicos avaliados nos diferentes tratamentos. Muito provavelmente o P ficou retido em outro compartimento não quantificado, como no sedimento acumulado no fundo dos mesocosmos ao longo do experimento.

Considerando o último dia do experimento (64^o dia) e as comunidades, separadamente, as maiores massas orgânicas das macrófitas e do perifíton foram verificadas no T₃. Para o seston, o maior valor foi observado no T1. Em termos comparativos, o seston foi o maior produtor de massa para todos os tratamentos, à exceção do T3 onde o complexo macrófitas aquáticas-perifíton foi mais representativo, provavelmente devido à grande contribuição em massa dos filamentos de algas metafíticas.

O balanço de massa do P para o último dia do experimento para os compartimentos avaliados indicou o seston como o principal seqüestrador de P em todos os tratamentos, seguido pelo complexo macrófitas-perifíton e, finalmente, pelo perifíton. Entretanto, outro compartimento não quantificado neste estudo foi o responsável pela maior retenção de P (78-97%). Em experimento com P marcado (³²P), realizado no lago Okeechobee (Flórida), o perifíton e o fitoplâncton conjuntamente contribuíram com somente 9% da quantidade de fósforo retido na comunidade. O maior reservatório de P foi constatado nas folhas mortas (33%) e nos biofilmes de algas bentônicas sobre o sedimento (54%) (HAVENS *et al.* 1999b). Em experimento complementar ao publicado pelos últimos autores, HAVENS *et al.* (2004) realizaram um balanço de massa mais detalhado, onde verificaram uma maior contribuição das massas superficiais de algas metafíticas (39%), seguido pelos biofilmes bentônicos, que acumularam cerca de 32% do P adicionado experimentalmente.

Os resultados descritos no presente trabalho, conjuntamente com os trabalhos realizados na Flórida (HAVENS *et al.* 1999a, HAVENS *et al.* 1999b e HAVENS *et al.* 2004), sustentam a idéia de que em ambientes rasos, como pequenos reservatórios e “wetlands”, nos quais a penetração da luz é total e incidente sobre o sedimento, as comunidades de algas perifíticas podem desempenhar importante papel, embora não completamente esclarecido, sobre a dinâmica do P no sistema, conforme também salientado por outros autores. (MAZUMDER *et al.* 1989, SAND-JENSEN & BORUM 1991, AXLER & REUTER 1996, WETZEL 1996). Embora o seston tenha sido o maior responsável pela retenção de P dentre as comunidades avaliadas no Lago das Ninféias, os resultados assinalam a importância do compartimento sedimento ou sedimento-biofilme (perifíton) na retenção deste elemento. Futuros estudos em sistemas tropicais e subtropicais devem ser realizados em escala mais fina na tentativa de identificar e quantificar os potenciais sorvedouros/assimiladores de P nas comunidades litorâneas.

MUDANÇAS NA ESTRUTURA ESPECÍFICA DA COMUNIDADE DE ALGAS PERIFÍTICAS EM RESPOSTA AOS PULSOS DE ENRIQUECIMENTO

Os pulsos de enriquecimento ao longo do período experimental promoveram o aumento da densidade total de algas perifíticas, proporcionalmente mais evidente no tratamento mais enriquecido (T₃). O aumento da densidade de algas perifíticas em condições de maior disponibilidade isolada de fósforo, ou simultânea de N e P, foi reportado em outros experimentos realizados em represas oligotrófica (FERRAGUT 1999) e mesotrófica (FERMINO 2006) no PEFI, bem como em lagoa marginal situada no Estado de São Paulo (SUZUKI 1991). Apesar da escassez de informações, tais resultados estão de acordo com a maior tendência de P-limitação para o perifíton em regiões tropicais/subtropicais, incluindo o Brasil, conforme apontado em revisão feita por HUSZAR *et al.* (2005).

A representatividade das duas principais classes de algas variou pouco em função do tipo de tratamento. Mediante concentrações crescentes de N e P, as crisofíceas ultrapassaram as cianofíceas, que passaram a ser a segunda classe mais abundante. No tratamento mais enriquecido (T₃), houve nítido aumento de abundância das clorofíceas, bem como diminuição das zignemafíceas. O favorecimento das clorofíceas com o enriquecimento é comumente relatado (BIGGS 1996, MCCORMICK *et al.* 1998, HAVENS *et al.* 1999), assim como também já observado em represa oligotrófica no PEFI, a partir do aporte de fósforo (FERRAGUT 1999). Em trabalho experimental realizado no local deste estudo, a diminuição de zignemafíceas ocorreu mediante aporte de P e de NP, sendo associado aos maiores aportes de fósforo (FERMINO 2006).

Mudanças na composição taxonômica do perifíton em resposta ao enriquecimento por P vêm sendo documentadas em diversos ambientes lênticos de água doce (GOLDSBOROUGH & ROBINSON 1996, MCCORMICK *et al.* 1996, MCCORMICK & O'DELL 1996, MCCORMICK *et al.* 1998, PAN *et al.* 2000, FERRAGUT 2004, FERMINO 2006). Atributos da comunidade como presença e abundância de táxons indicadores de algas perifíticas têm sido usados como métrica de índices de integridade biótica em nível regional (PAN *et al.* 2000, MCCORMICK *et al.* 2001).

Para o presente estudo, as espécies com densidades médias mais elevadas foram denominadas *descriptoras da comunidade* perifítica e, dentre elas, tiveram destaque em todos os tratamentos uma cianofíceia (*Synechocystis aquatilis*) e uma crisofíceia (*Chromulina elegans*). Situação distinta foi verificada por FERRAGUT (2004) em trabalho experimental em sistema oligotrófico, onde a adição de P desfavoreceu as crisofíceas, particularmente *Chromulina elegans*, e somente em condições de adição isolada de N essa classe de algas foi

favorecida. É provável que a elevada disponibilidade de nitrato tenha favorecido o aumento em densidade de espécies de crisofíceas, considerando que estas utilizam como recurso alimentar, preferencialmente, formas de nitrato e amônio (LEHMAN 1976 em SANDGREN 1988).

A partir da Análise de correspondência canônica (ACC) foram identificadas as espécies aqui consideradas como *descriptoras ambientais*. Todas as espécies selecionadas como descritoras da comunidade apareceram como descritoras ambientais, entretanto nem todas as descritoras ambientais mostraram contribuição média elevada ao longo de todo o período experimental (Figura 36, Tabela 15).

Os resultados da ACC permitiram a identificação de três grupos de associações de espécies (guildas) indicadoras das condições ambientais:

Guilda 1: quatro espécies associadas ao C (*Cosmarium undulatum* var. *minutum*, *Mougeotia* sp., *Staurastrum tetracerum*, *Teilingia granulata* e *Synechocystis aquatilis*);

Guilda 2: quatro espécies associadas ao T₂ (*Achnantheidium blanqueanum*, *Achnantheidium microcephalum*, *Gomphonema subtile* e *Navicula cryptotenella*);

Guilda 3: onze espécies associadas ao T₃ (*Characiopsis* sp₁., *Characiopsis* sp₂., *Characiopsis* sp₃., *Chlamydomonas sagittula*, *Chromulina elegans*, *Cryptomonas* sp₂., *Kirchneriella pinguis*, *Monoraphidium tortile*, *Nitzschia palea*, *Trachelomonas volvocina* e uma cianofícea filamentosa sp₆).

No Lago das Ninféias, as espécies associadas ao controle foram uma cianofícea (*Synechocystis aquatilis*) e quatro zignemafíceas, três delas desmídias (*Cosmarium undulatum* var. *minutum*, *Mougeotia* sp., *Staurastrum tetracerum* e *Teilingia granulata*), as quais mostraram estreita associação com os menores valores de OD, PT ($r \geq 0,9$) e NO₃ ($r = 0,6$). Experimento de enriquecimento isolado e combinado (N, P), realizado no Lago das Ninféias, demonstrou estreita associação de espécies de desmídias perifíticas com as condições de ausência de aporte de fósforo e temperaturas mais elevadas (FERMINO 2006). Desta forma, o favorecimento das desmídias no controle foi, muito provavelmente, mais influenciado pelos menores valores de P do que de N. Ainda, conforme COESEL (1982), as desmídias geralmente ocorrem em ambientes oligo-mesotróficos e sua presença está bastante relacionada à ocorrência de macrófitas aquáticas e aos valores mais elevados de temperatura. Variações de temperatura entre 25-30 °C são consideradas ótimas para o crescimento deste grupo de algas (COESEL & WARDENAAR 1990). No presente estudo, realizado no período de verão, a temperatura da água manteve-se elevada ao longo de todo o período experimental, variando na faixa de 20 a 30 °C. Além disto, o Lago das Ninféias é um ambiente com abundante

vegetação aquática submersa e flutuante, o que propicia o bom desenvolvimento do perifíton e de espécies de desmídias (COESEL 1982). Estudos realizados no Brasil corroboram a associação positiva entre riqueza de macrófitas aquáticas e de desmídias (RODRIGUES & BICUDO 2001, FELISBERTO & RODRIGUES 2005).

Associadas de forma inversa às variáveis ambientais acima (OD, PT, NO₃), quatro espécies de diatomáceas associaram-se ao T₂ (*Achnantheidium blanqueanum*, *Achnantheidium microcephalum*, *Gomphonema subtile* e *Navicula cryptotenella*). As duas espécies de *Achnantheidium* citadas acima foram descritoras ambientais, tendo sido favorecidas em condições de alta disponibilidade de N e P. O gênero *Achnantheidium* (citado como *Achnantes*) tem grande amplitude ecológica, ocorrendo em ambientes pouco a muito enriquecidos (VAN DAM *et al.* 1994). Mais especificamente, *Achnantheidium minutissimum* (citada como *Achnantes minutissima*) foi documentada para um amplo espectro de disponibilidade de N e P em rios canadenses (WINTER & DUTHIE 2000). *Navicula cryptotenella*, ocorre, principalmente, em ambientes com valores de pH iguais ou superiores a 7 e que apresentam permanentemente boa disponibilidade de oxigênio dissolvido (VAN DAM *et al.* 1994). No presente estudo, os valores de pH foram em média 6,6 e chegaram a atingir 7,3, enquanto que o oxigênio dissolvido manteve-se sempre elevado, com valores médios de 9,2 mg L⁻¹. Já, *Gomphonema subtile* está usualmente presente em ambientes muito oxigenados, com pH em torno de 7, porém com baixa disponibilidade de nitrogênio (VAN DAM *et al.* 1994). Nas condições experimentais do presente estudo, *G. subtile* configurou-se como uma descritora ambiental e não uma descritora da comunidade. Mostrou-se mais tolerante ao N, já que ocorreu no T₂, cujos níveis de nitrogênio total foram, em média, de 3.200 µgN L⁻¹, ou seja, discordando do mencionado sobre a disponibilidade deste nutriente pelos autores anteriormente citados.

Uma terceira guilda, constituída por maior número de táxons (11 espécies), mostrou elevada associação aos maiores valores de OD, PT e NO₃. Dentre as espécies estão três representantes das classes Xanthophyceae (*Characiopsis* sp₁., *Characiopsis* sp₂., *Characiopsis* sp₃.) e Chlorophyceae (*Chlamydomonas sagitulla*, *Kirchneriella pinguis*, *Monoraphidium tortile*) e apenas um representante das classes Euglenophyceae (*Trachelomonas volvocina*), Bacillariophyceae (*Nitzschia palea*), Chrysophyceae (*Chromulina elegans*), Cryptophyceae (*Cryptomonas* sp₂) e Cyanophyceae (cianofíceia filamentosa sp₆).

As xantofíceas são freqüentemente encontradas no plâncton, entretanto cerca de 30% das espécies tem hábito tipicamente perifítico (PARRA & BICUDO 1995). Os dados aqui levantados concordam com FERRAGUT (1999), que em estudo experimental em represa

oligotrófica no PEFI, observou aumento dos representantes perifíticos desta classe com a adição de P, entretanto os mesmos não foram considerados descritores ambientais. Ainda para o PEFI, uma espécie de *Characiopsis* também foi associada às condições de eutrofia em experimento de oligotrofização em represa eutrófica (BARCELOS (2003).

Espécies de *Chlamydomonas* estão bem representadas no perifíton em represas do PEFI e têm mostrado ampla tolerância às condições tróficas, indicando que sejam euritróficas. No presente estudo, *Chlamydomonas sagitulla* esteve associada à elevada disponibilidade de NP, tendo sido considerada descritora ambiental do T₃. Esta mesma espécie associou-se à guilda com adição isolada de P em experimento de eutrofização realizado em represa oligotrófica no PEFI (FERRAGUT 2004). Ainda, outras três espécies do gênero (*C. epibiotica*, *C. planctogloea* e *C. sordida*) mostraram associação com a adição conjunta de NP neste último trabalho. Para o Lago das Ninféias, FERMINO (2006) observou que o gênero *Chlamydomonas* participou de forma expressiva na estrutura da comunidade em todas as épocas do ano e em praticamente todos os tratamentos, sendo que, especificamente, *C. epibiotica* e *C. gleopara* foram consideradas descritoras ambientais da condição de adição isolada de P. Elevada representação de *C. planctogloea* também foi encontrada em represas oligotrófica (VERCELLINO & BICUDO 2006) e eutrófica (VERCELLINO 2001), porém sem ser caracterizada como descritora ambiental. Finalmente, grande contribuição deste gênero também foi verificada em estudo da diversidade fitoplanctônica do Lago das Ninféias (FONSECA 2005). FERRAGUT (2004) atribui o sucesso das espécies de *Chlamydomonas* ao seu tamanho diminuto, pois levam vantagem seletiva tanto em condições oligotróficas, devido à alta razão superfície/volume, como em eutróficas, já que são oportunistas e crescem em pulsos devido ao seu ciclo de vida curto (HAPPEY-WOOD 1988).

Duas espécies de Chlorococcales (*Kirchneriella pinguis* e *Monoraphidium tortile*) estiveram associadas à elevada disponibilidade de NP no T₃. *Kirchneriella pinguis* e uma outra espécie de *Monoraphidium* (*M. arcuatum*) também foram consideradas descritoras ambientais da comunidade perifítica por FERRAGUT (2004), em resposta à adição conjunta de N e P em represa oligotrófica. Para o Lago das Ninféias, *Monoraphidium circinale* e *M. griffithii* foram consideradas descritoras da comunidade, sendo mais abundantes nas condições de enriquecimento isolado ou combinado por N e P (FERMINO 2006). Ainda para o PEFI, em experimento de oligotrofização em represa eutrófica, *Monoraphidium contortum* foi associada à guilda de eutrofia (BARCELOS 2003). A presença constante do gênero *Monoraphidium* em experimentos de enriquecimento ou em condição mais enriquecida (experimento de

oligotrofização) realizados no PEFI concorda com a afirmação de REYNOLDS *et al.* (2002) de que este é um gênero comumente associado a ambientes rasos e enriquecidos.

Em relação às euglenofíceas, muitas espécies habitam as interfaces ar-água e sedimento-água, muitas vezes levando vantagens competitivas no hábito perifítico (ROSOWSKI 2003). Espécies desta classe geralmente estão associadas ao conteúdo de matéria orgânica presente no sistema (SOMASHEKAR 1984) e podem apresentar resposta positiva a níveis crescentes de nitrato, conforme testado em cultura (GRAHAM & MCCOY 1974 em WEHR & SHEATH 2003). No presente estudo, *Trachelomonas volvocina* associou-se à elevada disponibilidade de NP no T₃, provavelmente em função dos níveis muito elevados de nitrato verificados nesta condição experimental. Entretanto, tal resultado discorda dos verificados em estudo de oligotrofização experimental realizado no PEFI, onde as espécies de euglenofíceas estiveram mais associadas às guildas de mesotrofia e oligotrofia (BARCELOS 2003).

O gênero *Nitzschia* é rico em espécies e muitas delas tem afinidade por ambientes organicamente poluídos, ricos em matéria orgânica e pobres em oxigênio (VAN DAM *et al.* 1994). Ainda conforme este autor, *Nitzschia palea* é uma espécie que ocorre em pH neutro (em torno de 7), têm baixos requerimentos por oxigênio dissolvido e necessita de elevadas concentrações de compostos orgânicos nitrogenados. No presente trabalho, *N. palea* é mais uma das espécies que se associou às elevadas concentrações de N e P no T₃. Conforme FERMINO (2006), este táxon destacou-se como importante espécie descritora da comunidade perifítica, bem como descritora ambiental da condição com suprimento isolado ou combinado de P no Lago das Ninféias. Da mesma forma, FERRAGUT (2004) encontrou *N. palea* intimamente associada à maior disponibilidade de P em experimento de enriquecimento realizado em represa oligotrófica no PEFI. Ainda para esta área de estudo, *N. palea* apresentou elevada associação às condições eutróficas do Lago das Garças no período chuvoso (VERCELLINO 2001). Trabalhos realizados em sistemas lóticos na região do Rio Grande do Sul confirmam a ocorrência de *N. palea* (epilítica) em áreas altamente poluídas (LOBO *et al.* 2004a, LOBO *et al.* 2004b). Fora do Brasil, outros táxons de *Nitzschia* foram reportados em áreas mais eutrofizadas dos Everglades, Flórida (MCCORMICK *et al.* 1996) e vários estudos já relataram a preferência de *N. palea* por sistemas hipereutróficos (VAN DAM *et al.* 1994), eutróficos (PRINGLE 1990), mesotróficos (YANG & DICKMAN 1993) e, mais especificamente, como espécie indicadora da elevada disponibilidade de fósforo (WINTER & DUTHIE 2000, PAN *et al.* 1996).

Chromulina elegans, por sua vez, foi uma importante espécie descritora da comunidade e do ambiente no T₃, onde as concentrações de N e P foram as mais elevadas. Também para o

Lago das Ninféias, duas espécies de *Chromulina* (*C. elegans* e *C. verrucosa*) foram associadas à adição isolada de P (FERMINO 2006). Todavia, em trabalho experimental realizado em sistema oligotrófico, *Chromulina elegans* foi considerada como espécie descritora da comunidade e ambiental na condição sem adição de nutrientes - controle (FERRAGUT 2004), indicando que mais informações sobre a autoecologia desta e de outras espécies são necessárias.

Em síntese, foram caracterizadas três guildas indicadoras das condições ambientais propostas pelo enriquecimento em concentrações crescentes de N e P no Lago das Ninféias. A primeira delas foi constituída por cinco espécies associadas ao controle (C) e à condição de mesotrofia: *Cosmarium undulatum* var. *minutum*, *Staurastrum tetracerum*, *Teilingia granulata*, *Mougeotia* sp. e *Synechocystis aquatilis*. Com base na literatura, as desmídias destacaram-se na guilda de mesotrofia. O segundo agrupamento constituiu-se por espécies que se associaram ao T₂, ou seja, à condição eutrófica: *Achnanthydium blanqueanum*, *Achnanthydium microcephalum*, *Navicula cryptotenella* e *Gomphonema subtile*. Como as duas últimas espécies são comumente relatadas em associação à disponibilidade de oxigênio e nitrato, as espécies de *Achnanthydium* destacam-se na guilda de eutrofia. Finalmente, a terceira guilda, associada ao T₃ e à condição hipereutrófica, foi constituída por 11 táxons: *Characiopsis* sp_{1.}, *Characiopsis* sp_{2.}, *Characiopsis* sp_{3.}, *Chlamydomonas sagittula*, *Kirchneriella pinguis*, *Monoraphidium tortile*, *Nitzschia palea*, *Chromulina elegans*, *Cryptomonas* sp_{2.}, *Trachelomonas volvocina* e uma cianofícea filamentosa sp_{2.}. Destas espécies, seis também foram destacadas em literatura para o PEFI ou de modo mais abrangente, de forma que foram reputadas como melhor indicadoras da guilda de hipereutrofia no Lago das Ninféias, como segue: espécies de *Characiopsis*, *Chlamydomonas sagittula*, *Monoraphidium tortile* e *Nitzschia palea*.

Pelo exposto, sugere-se que, mediante aporte de nutrientes (P e N), a comunidade natural de algas perifíticas do Lago das Ninféias pode sofrer redução de desmídias, com aumento de representatividade de algumas espécies de *Achnanthydium* (em condição eutrófica) e, posteriormente, de representantes de diferentes algas, tais como espécies de *Characiopsis*, *Chlamydomonas*, *Monoraphidium* e *Nitzschia palea* (em condição hipereutrófica).

ÍNDICES BIOLÓGICOS

O aumento no número de táxons (riqueza) frente à adição de nutrientes também foi reportado por FERRAGUT (2004) em trabalho de adição experimental de N e P em represa

oligotrófica no PEFI, assim como por FERMINO (2006), porém apenas no inverno e em resposta à adição de P no Lago das Ninféias. Ainda, valores mais elevados de riqueza foram encontrados em condição mesotrófica a partir de experimento de oligotrofização em represa eutrófica (BARCELOS 2003).

Em relação à diversidade, os valores praticamente não diferiram entre os diferentes tratamentos. Situação distinta foi observada em outros trabalhos de enriquecimento/empobrecimento realizados no PEFI. Assim, aumento de diversidade foi observado mediante adição de P em represa oligotrófica (FERRAGUT 2006), adição isolada e conjunta de N e P em represa mesotrófica (FERMINO 2006) e em condição de mesotrofia em represa eutrófica (BARCELOS 2003).

A diversidade de algas perifíticas nas condições experimentais no Lago das Ninféias pode ser considerada elevada, desde que o valor máximo para o índice utilizado é de 5 bits ind^{-1} (MARGALEF 1972) e que todos os valores encontrados foram superiores a 2,5 bits ind^{-1} . Índices mais elevados para o perifíton foram reportados em outras represas situadas na mesma microbacia hidrográfica em condições naturais, em sistema eutrófico e oligotrófico (VERCELLINO 2001, VERCELLINO & BICUDO 2006), de redução e de adição de nutrientes em mesocosmos (BARCELOS 2003, FERRAGUT 2004), mas não mediante adição em níveis crescentes de P (FERRAGUT 2004).

De modo geral, os índices biológicos avaliados não foram sensíveis à adição de nutrientes, exceto à riqueza de espécies que apresentou tendência de aumento com o enriquecimento.

7. CONCLUSÕES

O delineamento experimental foi definido após fase piloto, baseada em experimento de enriquecimento isolado de P e combinado com N, seguido de 12 coletas intensivas no período de 49 horas. O esgotamento de nitrato verificado com a adição isolada de P indicou limitação secundária pelo nitrogênio. Optou-se, assim, pela adição conjunta de nutrientes, para que se pudesse avaliar o efeito da adição do P sobre as comunidades algais, em condições de boa disponibilidade de N.

O experimento final foi conduzido “*in situ*”, a partir de mesocosmos com sistema de controle do fluxo da água, o que possibilitou a renovação da água quando necessário, bem como condições mais próximas das do ambiente. Constou de um controle e três tratamentos, com dosagens crescentes de NP, e foi desenvolvido durante 64 dias, com coletas semanais realizadas antes do enriquecimento (pré-enriquecimento) e após 24h da adição de nutrientes (pós-enriquecimento). A maior variabilidade abiótica das condições experimentais resultou do enriquecimento artificial, de forma que as observações no pós-enriquecimento foram separadas das do controle e do pré-enriquecimento pelos valores mais elevados de nitrato, NT, PDT, PO₄ e condutividade nas primeiras. Considerou-se, portanto, que as características abióticas pretendidas com o experimento foram atingidas, com resposta nítida e crescente dos teores de nutrientes em função dos níveis maiores de enriquecimento. Com base nos teores médios de fósforo total na condição pós-enriquecimento e no esquema de classificação trófica

da OECD, os tratamentos foram classificados em mesotrófico (C), eutrófico (T₁ e T₂) e hipereutrófico (T₃).

Mudanças de Biomassa – Após os pulsos de enriquecimento (24h), o incremento de biomassa fotossintética perifítica foi quase sempre maior do que o do fitoplâncton, enquanto que o complexo macrófita aquática-perifiton não sofreu alteração. Foi evidente a resposta mais rápida das comunidades que apresentam curto tempo de geração (perifiton e fitoplâncton) aos pulsos de nutrientes.

O incremento de biomassa devido ao efeito cumulativo dos pulsos de enriquecimento foi proporcionalmente (em relação ao controle) mais acentuado no perifiton que no fitoplâncton. Muito provavelmente esta diferença seja resultado da ação conjunta da adição de nutrientes e do processo autogênico sucessional do perifiton, visto que o fitoplâncton aproveitou mais prontamente os recursos disponíveis no meio, conforme verificado pela maior incorporação de fósforo neste compartimento biológico. Nas condições de maior aporte de nutrientes, houve diminuição no desenvolvimento do perifiton e fitoplâncton a partir do 53º dia acompanhado de marcado aumento da biomassa do complexo macrófitas aquáticas-perifiton. Considerando que o nutriente limitante (P) foi mais incorporado pelo fitoplâncton e que os valores de radiação subaquática diminuíram cerca de duas vezes nesse tratamento, sugere-se o efeito de sombreamento das macrófitas sobre as comunidades algais.

Conclui-se que o incremento de biomassa perifítica foi primordialmente direcionado pelas cargas crescentes de nutrientes e pelo efeito cumulativo destas em cada tratamento, sendo também controlado pelos pulsos de enriquecimento e pelo efeito de sombreamento pelas macrófitas em condições mais elevadas de cargas. Sugere-se que a acumulação de biomassa perifítica seja mais dependente das cargas absolutas de N e P do que da razão de disponibilidade desses recursos.

Mudanças na Composição Química das Comunidades - A composição química do perifiton, fitoplâncton e do complexo macrófitas-perifiton não respondeu de forma significativa ao aumento das cargas absolutas de nutrientes. As porcentagens de P, mesmo mediante adição de nutrientes, mantiveram-se abaixo de 0,5% por unidade de massa seca, ou seja, demonstrando limitação por fósforo. É provável que o período (e/ou frequência) dos pulsos de enriquecimento (24 horas) não tenha sido suficiente para o suprimento adequado do nutriente limitante. Ainda, que o fósforo tenha ficado retido em outro compartimento não avaliado, tal como no sedimento e sua microflora associada (perifiton) acumulados no fundo

dos mesocosmos ao longo do experimento. Finalmente, deve-se avaliar se a razão de suprimento de N e P é mais relevante do que suas cargas absolutas para incorporação desses recursos nas comunidades avaliadas.

Balanço de Massa para o Fósforo - O balanço de massa para o fósforo, considerando os pulsos de enriquecimento (condições pré e pós-enriquecimento), mostraram baixa retenção deste elemento em todos os compartimentos biológicos avaliados nos diferentes tratamentos. Muito provavelmente o P ficou retido em outro compartimento não quantificado, como no sedimento e sua microflora associada (perifiton) acumulados no fundo dos mesocosmos ao longo do experimento.

O balanço de massa do P para o último dia do experimento indicou o seston como o principal seqüestrador de P em todos os tratamentos, seguido pelo complexo macrófitas-perifiton e, finalmente, pelo perifiton. Entretanto, outro compartimento não quantificado neste estudo foi o responsável pela maior retenção de P (78-97%). Sugere-se que em ambientes rasos, como pequenos reservatórios e “wetlands”, nos quais a penetração da luz é total e incidente sobre o sedimento, as comunidades de algas perifíticas possam desempenhar importante papel, embora não completamente esclarecido, sobre a dinâmica do P no sistema. Embora o seston tenha sido o maior responsável pela retenção de P dentre as comunidades avaliadas no Lago das Ninféias, os resultados assinalam a importância do compartimento sedimento ou sedimento-biofilme (perifiton) na retenção deste elemento.

A **hipótese 1** foi, portanto, refutada. Todavia, estudos mais refinados devem englobar a avaliação do compartimento sedimento, de sua microflora associada (perifiton), do metafiton associado às macrófitas e das massas desprendidas de algas filamentosas na ciclagem de P em sistemas rasos tropicais.

Mudanças na Estrutura Específica da Comunidade de Algas Perifíticas - De modo geral, os índices biológicos avaliados não foram sensíveis à adição de nutrientes, exceto à riqueza de espécies que apresentou tendência de aumento com o enriquecimento.

Os pulsos cumulativos de nutrientes promoveram o aumento da densidade total de algas perifíticas, sendo proporcionalmente mais evidente no tratamento mais enriquecido. Entretanto, em nível de grandes grupos taxonômicos houve pouca variação entre tratamentos, nos quais as duas principais classes foram as cianofíceas e crisofíceas. Ainda, no tratamento mais enriquecido (T₃), houve nítido aumento de abundância das clorofíceas, bem como diminuição das zignemafíceas.

Em nível taxonômico mais fino, ou seja, de espécies, a resposta da comunidade foi nitidamente diferenciada. Foram caracterizados três grupos de associações de espécies (guildas) indicadores das condições experimentais:

A guilda 1 foi constituída por cinco espécies associadas ao controle (C) e à condição de mesotrofia: *Cosmarium undulatum* var. *minutum*, *Staurastrum tetracerum*, *Teilingia granulata*, *Mougeotia* sp. e *Synechocystis aquatilis*. Com base na literatura e em trabalhos realizados no PEFI, as desmídias destacaram-se na guilda de mesotrofia.

A guilda 2 foi formada por espécies que se associaram ao T₂, ou seja, à condição eutrófica: *Achnanthydium blanqueanum*, *Achnanthydium microcephalum*, *Navicula cryptotenella* e *Gomphonema subtile*. Como as duas últimas espécies são comumente relatadas em associação à disponibilidade de oxigênio e nitrato, as espécies de *Achnanthydium* destacam-se na guilda de eutrofia.

Finalmente, a guilda 3, associada ao T₃ e à condição hipereutrófica, foi constituída por 11 táxons: *Characiopsis* sp₁., *Characiopsis* sp₂, *Characiopsis* sp₃., *Chlamydomonas sagitulla*, *Kirchneriella pinguis*, *Monoraphidium tortile*, *Nitzschia palea*, *Chromulina elegans*, *Cryptomonas* sp₂, *Trachelomonas volvocina* e uma cianofícea filamentosa sp₂. Destas espécies, seis também foram destacadas em literatura para o PEFI ou de modo mais abrangente, de forma que foram reputadas como melhor indicadoras da guilda de hipereutrofia no Lago das Ninféias, como segue: espécies de *Characiopsis*, *Chlamydomonas sagitulla*, *Monoraphidium tortile* e *Nitzschia palea*.

A **hipótese 2** foi, portanto, confirmada. Pode-se sugerir que, mediante aporte de nutrientes (P e N), a comunidade natural de algas perifíticas do Lago das Ninféias pode sofrer redução de desmídias, com aumento de representatividade de algumas espécies de *Achnanthydium* (em condição eutrófica) e, posteriormente, de representantes de diferentes algas, tais como espécies de *Characiopsis*, *Chlamydomonas*, *Monoraphidium* e *Nitzschia palea* (em condição hipereutrófica).

Considerações Finais - A estrutura da comunidade de algas perifíticas no Lago das Ninféias sofreu alterações mediante aportes intermitentes de nutrientes, principalmente, no que se refere à acumulação de biomassa e em nível específico de algas. O principal eixo direcionador das alterações deveu-se à resposta cumulativa aos pulsos de nutrientes e aos níveis crescentes de cargas de N e P. Os resultados permitem afirmar que aportes de N e P, mesmo durante curtos períodos de tempo, ou seja, de cargas intermitentes, podem provocar mudanças irreversíveis na comunidade perifítica natural do Lago das Ninféias, levando à

redução de espécies nativas representadas primordialmente por desmídias. Por fim, reforça-se a utilização do perifiton na detecção de sinais precoces de eutrofização e sugere-se o papel potencial desta comunidade, ainda que escassamente compreendido, na dinâmica do P em sistemas lacustres tropicais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, C.S. & MENEZES, M. 1997. Algas flageladas clorofiladas da área de influência da BR-364, Vilhena – Ouro Preto D'Oeste, sudeste do Estado de Rondônia, Brasil. *Hoehnea* 24(2): 1-16.
- ANDERSEN, J.M. 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Resources* 10: 329-331.
- AXLER, R.P., REUTER, J.P. 1996. Nitrate uptake by phytoplankton and periphyton: whole-lake enrichments and mesocosms ¹⁵N experiments in an oligotrophic lake. *Limnology and Oceanography* 41: 659-671.
- BARBOSA, L.M., POTOMATI, A. & PECCININI, A.A. 2002. PEFI: histórico e legislação *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 15-28.
- BARCELOS, E.M. 2003. Avaliação do perifiton como sensor da oligotrofização experimental em reservatório eutrófico (Lago das Garças, São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 118 p.
- BARROS, F., MAMEDE, M.C.H., MELO, M.M.R.F., LOPES, E.A., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., KIRIZAWA, M., MUNIZ, C.F.S., MAKINO-WATANABE, H., CHIEA, S.A.C. & MELHEM, T.S. 2002. A flora fanerogâmica do PEFI: composição, afinidades e conservação. *In*: BICUDO, D.C., FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Orgs.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, p. 93-110.
- BICUDO, C.E.M. 2004. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, S.P. Algas, 18: Chlorophyceae. *Revista Brasileira de Botânica* 27 (1): 85-102.
- BICUDO, C.E.M.; CARMO, C.F.; BICUDO, D.C.; HENRY, R.; PIÃO, A.C.S.; SANTOS, C.M. & LOPES, M.R.M. 2002. Morfologia e morfometria de três reservatórios do PEFI. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 141-158.

- BICUDO, C.E.M., BICUDO, D.C, FERRAGUT, C., LOPES, M.R.M. & PIRES, P.R. 2003. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, S.P. Algas, 17: Chrysophyceae. *Hoehnea* 30 (2): 127-153.
- BICUDO, D.C. 1989. Algas epífitas do Lago das Ninféias, São Paulo, Brasil, 2: Xantophyceae. *Revista Brasileira de Biologia* 49 (3): 851-860.
- BICUDO, D.C. 1990a. Algas epífitas do Lago das Ninféias, São Paulo, Brasil, 3: Crysophyceae. *Revista Brasileira de Biologia* 50: 355-375.
- BICUDO, D.C. 1990b. Considerações sobre metodologias de contagem de algas do perifiton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 459-475.
- BICUDO, D.C. 1996. Algas epífitas do Lago das Ninféias, São Paulo, Brasil, 3: Chlorophyceae, Oedogoniophyceae e Zygnemaphyceae. *Revista Brasileira de Biologia* 56 (2): 345-374.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. 2002a. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 351p.
- BICUDO, D.C.; FORTI, M.C.; CARMO, C.F.; BOUROTE, C.; BICUDO, C.E.M.; MELFI, A.J. & LUCAS, Y. 2002b. A atmosfera, as águas superficiais e os reservatórios no PEFI: caracterização química. *In: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 158-198.*
- BICUDO, D.C, FONSECA, B.M., BICUDO, C.E.M., BINI, L.M. & JESUS, T.A. 2006. Remoção de *Eichhornia crassipes* em um reservatório tropical raso e suas implicações na classificação trófica do sistema: estudo de longa duração no Lago das Garças, São Paulo, Brasil. *In: TUNDISI, J.G., TUNDISI, T.M & GALLI, C.S. Eutrofização na América do Sul: causas, consequências e tecnologias de gerenciamento e controle. p. 413-438.*
- BIGGS, B.J.F. 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. *Freshwater Biology* 33: 419-448.
- BIGGS, B.J.F. 1996. Patterns in benthic algae of streams. *In: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. New York: Academic Press. p. 31-56.*
- BORCHARDT, M.A. 1996. Nutrients. *In: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L. & LOWE, R.L. Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems. San Diego: Academic Press. p. 184-227.*
- BURKHOLDER, J.A. & WETZEL, R.G. Epiphytic microalgae on natural substrata in a hardwater lake: seasonal dynamics of community structure, biomass and ATP content. *Archiv Hydrobiologie Supplement* 83: 1-56.1990.
- CARMO, C.F., HENRY, R., BICUDO, D.C. & BICUDO, C.E.M. 2002. A degradação da água nos reservatórios do PEFI. *In: BICUDO, D.C., FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 271-296.*
- CARRICK, H.J., LOWE, R.L. & ROTENBERRY, J.T. 1988. Guilds of benthic algae along nutrient gradients: relationship to algal community diversity. *J. N. American Journal of Benthological Society* 7: 117-128.
- CERRAO, G.C., MOSCHINI-CARLOS, V., SANTOS, M.J. & RIGOLIN, O. 1991. Efeito do enriquecimento artificial sobre a biomassa do perifiton em tanques artificiais na Represa do Lobo ("Broa"). *Revista Brasileira de Biologia* 51: 71-78.
- COESEL, P.F.M. 1982. Structural characteristics and adaptations of desmid communities. *Journal of Ecology* 70: 163-177.
- COESEL, P.F.M. & WARDENAAR, K. 1990. Growth responses of planktonic desmids species in a temperature – light gradient. *Freshwater Biology* 23: 551-560.

- CONTI, J.B. & FURLAN, S.A. 2003. Geocologia: O Clima, Os Solos e a Biota. *In*: ROSS, J.L. (Org.) Geografia Do Brasil. São Paulo: Edusp, São Paulo. p. 67-207.
- CRONK, J.K., MITSCH, W.J. 1994. Periphyton productivity on artificial and natural surfaces in constructed freshwater wetlands under different hydrologic regimes. *Aquatic Botany* 48: 325-341.
- CROSSETTI, L. & BICUDO, C.E.M. 2005. Effects of nutrient impoverishment on phytoplankton biomass: a mesocosms experimental approach in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, southeast Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 28 (1): 95-108.
- ENGLER, D.L. & MELACK, J.M. 1993. Consequences of riverine flooding for seston and the periphyton of floating meadows in a Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography* 38: 1500-1520.
- FAIRCHILD, G.W., LOWE, R.L. 1984. Artificial substrates which release nutrients: effects on periphyton and invertebrate succession. *Hydrobiologia* 114: 29-37.
- FELISBERTO, S.A. & RODRIGUES, L. 2005. Influência do gradiente longitudinal (rio-barragem) na similaridade das comunidades de desmóides perifíticas. *Revista Brasileira de Botânica* 28 (2): 241-254.
- FERMINO, F.S. 2006. Avaliação sazonal dos efeitos do enriquecimento por N e P sobre o perifíton em represa tropical rasa mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo). Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 121 p.
- FERNANDES, A.J.; REIS, L.A.M. & CARVALHO, A. 2002. Caracterização do Meio Físico. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 49-62.
- FERRAGUT, C. 1999. Efeito do enriquecimento por nitrogênio e fósforo sobre a colonização e sucessão da comunidade de algas perifíticas : biomanipulação em reservatório raso oligotrófico em São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 190 p.
- FERRAGUT, C. 2004. Respostas das algas perifíticas e planctônicas à manipulação de nutrientes (N e P) em reservatório urbano (Lago do IAG, São Paulo). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 184 p.
- FERRAGUT, C.; LOPES, M.R.M.; BICUDO, D.C.; BICUDO, C.E.M., & VERCELLINO, I.S. 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). *Hoehnea* 32: 137-184.
- FONSECA, B.M. 2005. Diversidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em dois reservatórios rasos com diferentes estados tróficos no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 208p.
- FRANCOEUR, S.N., BIGGS, B.J.F., SMITH, R.A. & LOWE, R.L. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 242-260.
- GEITLER, L. 1932 Cyanophyceae. *In*: RABENHORST, L. Kryptogamen-flora. New York: Akademische Verlagsgesellschaft Leipzig. 1196 p.
- GOLDSBOROUGH, K.D. & ROBINSON, G.G.C. 1996. Pattern in wetlands. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 78-117.
- GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R.S. 1969. Methods for chemical analysis of freshwaters. Oxford and Edinburg: Blackwell Scientific Publications. International Biological Programme. (Handbook, 8). 171p.

- GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R.S., OHMSTAD, M.A.M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. 2^a edition. Blackwell Scientific Publications. International Biological Program, Oxford (Handbook, 8). 213 p.
- HALL, R.I., SMOL, J.P. 1992. A weight – averaging regression and calibration model for inferring total phosphorus concentration from diatoms in British Columbia (Canada) lakes. *Freshwater Biology* 27: 417-434.
- HAPPEY-WOOD, V.M. 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. *In*: Sandgreen, C.D. (ed.) Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press. p. 175-226.
- HARPER, D. 1992. Eutrophication of freshwater. London: Ed. Chapman Hall. 327 p.
- HASLE, G.R. & FRYXELL, G.A. 1970. Diatoms: cleaning and mouting for light and electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society* 89: 469-474.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., MEEKER, R.H. & DAVIS, W.P. 1996. Phytoplankton and perifiton responses to in situ experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *Journal of Plankton Research* 18: 551-556.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., RODUSKY, A.J. & SHARFSTEIN, B. 1999a. Littoral periphyton responses to nitrogen and phosphorus: an experimental study in a subtropical lake. *Aquatic Botany* 63: 267-290.
- HAVENS, K.E., EAST, T.L., HWANG, S.J., RODWSKY, A.J., SHARFSTEIN, B. & STEINMANN, A.D. 1999b. Algal responses to experimental nutrient addition in the littoral community of a subtropical lake. *Freshwater Biology* 42: 329-344.
- HAVENS, K.E., STEINMAN, A.D. & HWANG, S.J. 2001. Phosphorus uptake by plankton and periphyton in relation to irradiance and phosphate availability in a subtropical lake (Lake Obeechobee, Florida, USA). *Arch für Hydrobiologie* 151 (2): 177-201.
- HAVENS, K.E., SHARFSTEIN, B., RODUSKY, A.J. & EAST, T.L. 2004. Phosphorus accumulation in the littoral zone of a subtropical lake. *Hydrobiologia* 517: 15-24.
- HILLEBRAND, H. & SOMMER, U. 2000. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication. *Aquatic Botanic* 67: 221-223.
- HOWARD-WILLIAMS, C. 1981. Studies on the ability of a *Potamogeton pectinatus* community to remove dissolved nitrogen and phosphorus compounds from lake water. *Journal of Applied Ecology* 18: 619-637.
- HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, C.; MARTINELLI, L.A. & HENRY, R. 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e perifiton em ecossistemas continentais lênticos no Brasil. *In*: ROLDAM, F., CÉSAR, D. & MARINHO, M. (orgs.) Lições em Limnologia: Fronteiras Conceituais. RiMa Editora, São Carlos. p. 243-260.
- ISTVANOVICS, Y., VOROS, L., HERODEK, S. TOTH, L.G, TATRAI, I. 1986. Changes of phosphorus and nitrogen concentration and of phytoplankton in enriched lake enclosures. *Limnology and Oceanography* 31 (4): 798-811.
- KALFF J. 2002. *Limnology*. Prentice Hall, New Jersey.
- KOMÁREK, J. & FOTT, B. 1983. Chlorophyceae (Grynalgen), Ordnung: Chlorococcales. *In*: HUBER-PESTALAZZI, G. (Ed.). *Das phytoplankton des Sysswassers: Systematic und Biologie*, Stuttgart: E. Schwarzerbart sche Verlags buchhandlung 7. 1044p.
- KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1999. Cyanoprocaryota, 1: Chroococcales. *In*: Huber-Pestalozzi, G. (ed.). *Das phytoplankton des sysswasser: Systematik und Biologie*, band 7. Schwarzerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1044 p.

- KRAMMER, K. & LANGE-BERTALOT, H. 1986. Bacillariophyceae, 1: Naviculaceae, In: Ettl, H., Gerloff, F. & Heynig, H. (eds.). Stuswasserflora von Mitteleuropa. Band 2(1). Gustav Fischer, Stuttgart, 876 p.
- LLOYD, M. & GHELARDI, R.J. 1964. A table for calculating the equitability component of species diversity. *Journal of Animal Ecology* 33: 217 – 225.
- LOBO, A.E. & LEIGHTON, G. 1986. Estructuras de las fitocenosis planctónicas de los sistemas de desembocaduras de ríos y esteros de la zona central de Chile. *Revista de Biología Marina* 22: 143-170.
- LOBO, E.A., CALLEGARO, V.L.M., HERMANY, G., GÓMEZ, N., ECTOR, L. 2004. Review of the use of microalgae in South America for monitoring rivers, with special referente to diatoms. *Vie Milieu* 54 (2-3): 105-114.
- LOBO, E.A., BES, D., TUDESQUE, L., ECTOR, L. 2004. Water quality assessment of the Pardinho River, RS, Brazil, using epilithic diatom assemblages and faecal coliforms as biological indicators. *Vie Milieu* 54 (2-3): 115-125.
- LOWE, R.L. & PAN, Y. 1996. Benthic algal communities as biological monitors. *In*: STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. (ed.). *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, USA. p.705-739.
- LUND, J.W.G., KIPLING, C. & LÊ-CREN, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hidrobiologia* 11: 143-170.
- MABERLY, S.C., KING, L., DENT, M.M., JONES, R.I. & GIBSON, C.E. 2002. Nutrient limitation of phytoplankton and periphyton growth in upland lakes. *Freshwater Biology* 47: 2136-2152.
- MCDUGAL, R.L., GOLDSBOROUGH, G.L. & HANN, B.J. 1997. Responses of a prairie wetland to press and pulse addition of inorganic nitrogen and phosphorus: production by planktonic and benthic algae. *Archiv für Hydrobiologie* 140: 145-167.
- MACKERET, F.J.H., HERON, J., TALLING, J.F. 1978. *Water analysis: some revised methods for limnologists*. Cumbria: Freshwater Biological. (Association. Scientific Publication, 39). Ed. Wilson, Son Ltda, Kendall. 117 p.
- MANNY, B.A., JOHSON, W.C., WETZEL, R.G. 1994. Nutrient additions by waterfowl to lakes and reservoirs: predicting their effects on productivity and water quality. *Hydrobiologia* 279/280: 121-132.
- MARCUS, M.D. 1980. Periphytic community response to chronic nutrient enrichment by a reservoir discharge. *Ecology* 61: 387-399.
- MARGALEF, R. 1972. Homage to Evelyn Hutchinson, or why is there an upper limit to diversity. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* 44: 221-235.
- MAZUMDER, A., TAYLOR, W.D., MCQUEEN, D.J. & LEAN, D.R.S. 1989. Effects of nutrients and grazers on periphyton phosphorus in lake enclosures. *Freshwater Biology* 22: 405-415
- MCCORMICK, P.V. & O'DELL, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 450-468.
- MCCORMICK, P.V., RAWLIK, P.S., LURDING, K., SMITH, E.P. & SKLAR, F.H. 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutrient gradient in the northern Florida Everglades. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 433-449.
- MCCORMICK, P.V. & STEVENSON, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology* 34: 726-733.
- MCCORMICK, P.V., O'DELL, M.B., SHUFORD III, R.B.E., BACKUS, J.G. & KENNEDY, W.C. 2001. Periphyton responses to experimental phosphorus enrichment in a subtropical wetland. *Aquatic Botany* 71: 119-139.

- MCCUNE, B. & MEFFORD, M.J. 1999. PC-ORD for Windows. Multivariate analysis of ecological data, version 4.10. MjM Software Design, Oregon. 47 p.
- MENDES, R. S. & BARBOSA, F.A.R. 2002. Efeito do enriquecimento in situ sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia* 14: 77-86.
- ODUM, E.P. 1971. *Fundamentals of Ecology*. Editora W.B. Saunders, Philadelphia. 574 p.
- ODUM, E.G. 1983. *Ecologia*. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 434 p.
- OECD, 1982. *Eutrophication of waters: monitoring, assessment and control*. OECD, Paris. 154p.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., HILL, B.H., HERLIHY, A.T. & COLLINS, G.B. 1996. Using diatoms as indicators of ecological conditions in lotic systems: a regional assessment. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 481-495.
- PAN, Y., STEVENSON, R.J., VAITHIYANATHAN, P., SLATE, J. & RICHARDSON, C.J. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. *Freshwater Biology* 44: 339-353.
- PARRA, O.O. & BICUDO, C.E.M. 1995. *Introducción a la biología y sistemática de las algas de aguas continentales*. Santiago: Editora da Universidad de Concepción. 268p.
- PEREIRA, S.Y., REIS, L.M., ODA, G.H. & IRITANI, M.A. 2002. Caracterização dos recursos hídricos subterrâneos. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). *Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo*. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 63-74.
- PINTO-COELHO, R.M., COELHO, M.M., ESPÍRITO-SANTO, M.M., CORNELISSEN, T.G. 1999. Efeitos da eutrofização na estrutura da comunidade planctônica na Lagoa da Pampulha. *In*: HENRY, R. *Ecologia de Reservatórios: Estrutura, Função e Aspectos Sociais*. Botucatu: FUNDBIO: FAPESP. 551-572 p.
- PLANAS, D. 1998. Optimización del muestro del perifiton em los estudios de impacto. *In*: CONGRESO LATINO-AMERICANO DE FICOLOGIA, 4, 1996, Caxambú, MG. *Conservação da Biodiversidade e Novas Tecnologias: Promessas e Perigos*. São Paulo: Sociedade Ficológica da América Latina e Caribe, p. 295-306.
- POMPÊO, M.L.M. & MOSCHINI-CARLOS, V. 2003. *Macrófitas aquáticas e perifiton: aspectos ecológicos e metodológicos*. Editora RIMA. 124 p.
- PRIMACK, R.B., RODRIGUES, E. 2001. *Biologia da Conservação*. Londrina: Ed. Gráfica e Editora Midiograf 327p.
- PRINGLE, C.M. 1990. Nutrient spatial heterogeneity: effects on community structure, physiognomy, and diversity of stream algae. *Ecology* 71: 905-920.
- REBOUÇAS, AC., BRAGA, B. & TUNDISI, J.G. 1999. *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo: Ed. Escrituras 717p.
- REYNOLDS, C.S., HUSZAR, V., KRUK, C., NASELLI-FLORES, L. & MELO, S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417-428.
- RODRIGUES, L. & BICUDO, D.C. 2001. Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradient of the upper Paraná river floodplain, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 24 (3): 235 – 248. São Paulo.
- ROSOWSKI, J.R. 2003. Photosynthetic euglenoids. *In*: WEHR, J.D. & SHEATH, R.G. *Freshwater algae of North America, ecology and classification*. New York: Academic Press. 918p.
- SANDGREN, C.D. 1988. The Ecology of Chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. *In*: SANDGREN, C.D. *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press. 9-104 p.

- SAND-JENSEN, K. & BORUM, J. 1991. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany* 41: 137-175.
- SANT'ANNA, C.L., AZEVEDO, M.T.P., SORMUS, L. 1989. Fitoplâncton do Lago das Garças. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, Brasil: estudo taxonômico e aspectos ecológicos. *Hoehnea* 16: 89-131.
- SANTOS, P. & FUNARI, F.L. 2002. Clima local. *In*: BICUDO, D.C.; FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M. (Eds.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo. São Paulo: Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. p. 29-48.
- SARTORY, D.P. & GROBBELAAR, J.U. 1984. Extraction of Chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- SCHWARZBOLD, A., ESTEVES, F.A. & PANOSSO, R.F. 1990. Relações entre peso seco e clorofila-a do perifiton em função de diferentes idades e épocas de coletas de pecíolos de *Eichhornia azurea* (Sw) Künth. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 493-515.
- SHANNON, C.E. & WEAVER, W. 1963 The mathematical theory of communication. Urbana: Illinois University Press. 177 p.
- SHEPHERD, G.J. 1996. Fitopac 1: manual do usuário. Departamento de Botânica, UNICAMP. 95p.
- SIMPSON, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688.
- SOKAL, R.R., ROHLF, F.J. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. New York: Freeman and Company 887p.
- SOLORZANO, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography* 14: 799-801.
- SOMASHEKAR, K. 1984. Phytoplankton constituents as indicator of water quality: a study of the River Cauvery. *International Journal Environmental Studies* 23: 209-215.
- STELZER, R.S. & LAMBERTI, G.A. 2001. Effects of N:P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community structure, biomass, and elemental composition. *Limnology and Oceanography* 46: 356-367.
- STEVENSON, J.R. 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. *In*: STEVENSON, J. R., BOTHWELL, M.L., LOWE, R.L. *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p.3-30.
- STEWART, P.M., PRATT, J., CAIRNS, J.JR. 1985. Diatom and protozoa accrual on artificial substrats in lentic habitats. *Transactions American Microscope Society* 104: 369-377.
- STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. 1960. A manual of sea water analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 125: 1-185.
- SUZUKI, M.S. 1991. Mudanças na estrutura e sucessão das comunidades fitoplanctônicas e perifíticas da lagoa do Infernã (SP), causadas pelo processo de enriquecimento artificial. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TER-BRAAK, C.J.F. 1986. Canonical Correspondence Analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67 (5): 1167-1179.
- TOLEDO, A.P., TALARICO, M., CHINEZ, S.J. & AGUDO, E.G.A. 1983. A aplicação de modelos simplificados para a avaliação de processo da eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. *In*: XIX Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Camboriú, Santa Catarina. 57p.
- UMBREIT, W.W., BURRIS, R.H. & STAUFFER, J.F. 1964. Manometric methods applicable to the study of tissue metabolism. Ed. Burgess publishing Company. p. 208-209.
- VALDERRAMA, G.C. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109 – 112.

- VAN DAM, H., MERTENS, A. & SINKILDAM, J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-133.
- VAN-DER-HOEK, C., MANN, D. G., & JAHNS, H. M. 1997. An introduction to phycology. Cambridge University Press, Cambridge, 627p.
- VERCELLINO, I. S. 2001. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em dois reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo: influência do estado trófico e período climatológico. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 176 p.
- VERCELLINO, I. & BICUDO, D.C. 2006. Sucessão da comunidade de algas perifíticas em reservatório oligotrófico tropical (São Paulo, Brasil): comparação entre período seco e chuvoso. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 363-377.
- VYMAZAL, J. 1989. Use of periphyton for nutrient removal from waters. *In: D.A. Hammer, Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. Lewis: Chelsea, MI p. 558-564.
- VYMAZAL, J., CRAFT, C.B. & RICHARDSON, C.J. 1994. Periphyton response to nitrogen and phosphorus additions in Florida Everglades. *Archiv fur Hydrobiologie, Algological Studies* 73: 75-97.
- VYMAZAL, J. & RICHARDSON, C.J. Periphyton and macrophyte study in the Everglades area WCA-2A Abstracts from INTECOL's IV International Wetlands Conference, 13-18 September, 1992, Columbus, OH.
- WEHR, J.D. & SHEATH, R.G. 2003. Freshwater algae of North America, ecology and classification. Academic Press. USA. 918p.
- WETZEL, R.G. 1983. Recommendation for future research on periphyton. *In: WETZEL, R.G. (ed.). Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague, Dr. W. Junk Publishers, p. 339-346.
- WETZEL, R.G. 1990. Land-water interfaces: Metabolic and Limnological regulators. *International Association of Theoretical and Applied Limnology* 24:6-24.
- WETZEL, R.G. 1996. Benthic algal and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. *In : STEVENSON, R.J., BOTHWELL, M.L. & LOWE, R.L. (eds.) Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. New York: Academic Press. p. 641-667.
- WETZEL, R.G. & LIKENS, G.E. 1991. *Limnological Analyses*. New York: Springer-Verlag. 331pp.
- WETZEL, R.G. 1993. *Limnology*. Toronto: W.B. Saunders Company. 919p.
- WINTER, J.G. & DUTHIE, H.C. 2000. Epilithic diatoms as indicators of stream total N and total P concentration. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 32-49.
- XAVIER, M.B. 1988. O gênero *Euglena* Ehrenberg de lagos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Hoehnea* 15: 65-87.
- XAVIER, M.B. 1989a. O gênero *Lepocinlis* Perty de lagos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Hoehnea* 16: 133-147.
- XAVIER, M.B. 1989b. O gênero *Phacus* Dujardin de lagos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Hoehnea* 16: 149-164.
- XAVIER, M.B. 1994. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Algas* 5: Euglenophyceae (Euglenaceae pigmentadas). *Hoehnea* 21(1/2): 47-73.
- YANG, J.R. & DICKMAN, M. 1993. Diatoms as indicator of lake trophic status in central Ontario, Canada. *Diatom Research* 8 (1): 179-193.

Apêndice 1. Resultados da Análise de Variância (ANOVA-1 way) para os valores médios das variáveis abióticas durante o período experimental.

(*) par de tratamento com diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)
 (NS) sem diferença significativa pelo teste de Tukey

Variável		Tratamentos					
		C x T1	C x T2	C x T3	T1 x T2	T1 x T3	T2 x T3
Temperatura	F= 0,39 p= 0,760	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pH	F= 3,88 p= 0,012	NS	NS	*	NS	*	NS
Condutividade	F= 7,35 p= 0,000	*	*	*	*	*	*
OD	F= 6,69 p= 0,000	*	*	*	NS	NS	NS
CO₂L	F= 1,47 p= 0,228	NS	NS	NS	NS	NS	NS
HCO₃	F= 2,63 p= 0,055	NS	NS	*	NS	NS	NS
Alcalinidade	F= 2,68 p= 0,051	NS	NS	*	NS	NS	NS
Radiação	F= 0,74 p= 0,534	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NH₄	F= 2,08 p= 0,108	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NO₃	F= 83,00 p= 0,000	*	*	*	*	*	*
NO₂	F= 60,06 p= 0,000	*	*	*	*	*	*
NT	F= 326,39 p= 0,000	*	*	*	NS	*	*
PO₄	F= 64,76 p= 0,000	NS	*	*	NS	*	*
PT	F= 71,17 p= 0,000	*	*	*	NS	*	*
PDT	F= 70,27 p= 0,000	NS	*	*	*	*	*
SSR	F= 0,25 p= 0,859	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Apêndice 2. Resultados da análise de variância (Anova- 1 way) para a biomassa (clorofila-a e MSLC) e composição química do perifiton nas condições de pós-enriquecimento.

(*p*) valores de probabilidade

(*) par de tratamento com diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

(NS) sem diferença significativa pelo teste de Tukey

		Período Experimental							
		15	22	29	36	43	50	57	64
Clorofila-a	F= 0,30	F= 27,19	F= 27,22	F= 203,55	F= 14,44	F= 5,75	F= 11,04	F= 32,94	
	<i>p</i> = 0,826	<i>p</i> = 0,004	<i>p</i> = 0,004	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,013	<i>p</i> = 0,062	<i>p</i> = 0,021	<i>p</i> = 0,003	
	C x T1	NS	*	*	*	NS	NS	NS	*
	C x T2	NS	*	*	*	NS	NS	*	*
	C x T3	NS	*	*	*	*	NS	*	*
	T1 x T2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	T1 x T3	NS	NS	*	*	*	NS	NS	NS
	T2 x T3	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
	MSLC	F= 16,14	F= 331,67	F= 2,53	F= 49,30	F= 27,01	F= 10,76	F= 70,30	F= 83,35
	<i>p</i> = 0,011	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,196	<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 0,004	<i>p</i> = 0,022	<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 0,000	
C x T1	NS	*	NS	*	NS	*	NS	NS	
C x T2	*	*	NS	NS	*	NS	*	*	
C x T3	*	*	NS	NS	*	NS	*	NS	
T1 x T2	*	NS	NS	*	*	NS	NS	*	
T1 x T3	NS	*	NS	*	NS	NS	*	NS	
T2 x T3	NS	*	NS	*	NS	NS	*	*	
% N	F= 2,33	F= 6,48	F= 11,24	F= 3,45	F= 8,56	F= 14,62	F= 0,60	F= 6,92	
	<i>p</i> = 0,216	<i>p</i> = 0,051	<i>p</i> = 0,020	<i>p</i> = 0,131	<i>p</i> = 0,032	<i>p</i> = 0,013	<i>p</i> = 0,647	<i>p</i> = 0,046	
	C x T1	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
	C x T2	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
	C x T3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	T1 x T2	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
	T1 x T3	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
	T2 x T3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*
	% P	F= 32,99	F= 1,20	F= 1,20	F= 7,70	F= 21,33	F= 11,73	F= 4,69	F= 13,90
	<i>p</i> = 0,003	<i>p</i> = 0,418	<i>p</i> = 0,416	<i>p</i> = 0,039	<i>p</i> = 0,006	<i>p</i> = 0,019	<i>p</i> = 0,085	<i>p</i> = 0,014	
C x T1	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	
C x T2	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	
C x T3	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	
T1 x T2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	
T1 x T3	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	
T2 x T3	NS	NS	NS	NS	*	*	NS	NS	

Apêndice 3. Resultados da análise de variância (Anova- 1 way) para a biomassa (clorofila-a e MSLC) e composição química do fitoplâncton nas condições de pós-enriquecimento.

(*p*) valores de probabilidade

(*) par de tratamento com diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

(NS) sem diferença significativa pelo teste de Tukey

		Período Experimental							
		15	22	29	36	43	50	57	64
<u>Clorofila-a</u>	F=	3,67	5,67	11,44	4,92	6,82	8,13	47,19	2,45
	<i>p</i> =	0,121	0,064	0,020	0,079	0,047	0,035	0,001	0,203
	C x T1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS
	C x T2	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
	C x T3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	T1 x T2	NS	*	*	NS	NS	NS	*	NS
	T1 x T3	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	NS
	T2 x T3	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
	<u>MSLC</u>			F= 13,99 <i>p</i> = 0,014	F= 19,92 <i>p</i> = 0,007	F= 17,89 <i>p</i> = 0,009	F= 2,00 <i>p</i> = 0,256	F= 7,31 <i>p</i> = 0,042	F= 18,11 <i>p</i> = 0,009
C x T1	*	NS	NS	*	NS	NS	*	*	
C x T2	*	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	
C x T3	*	*	*	NS	NS	*	NS	NS	
T1 x T2	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	*	
T1 x T3	*	*	*	*	NS	NS	*	*	
T2 x T3	*	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	
<u>% N</u>	F=	143,00	3,75	20,44	8,26	12,06	42,48	23,37	7,64
	<i>p</i> =	0,000	0,117	0,007	0,035	0,018	0,002	0,005	0,039
	C x T1	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
	C x T2	*	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
	C x T3	*	NS	*	NS	*	NS	*	NS
	T1 x T2	*	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
	T1 x T3	*	NS	NS	NS	*	NS	*	*
	T2 x T3	*	NS	NS	NS	NS	*	*	NS
	<u>% P</u>			F= 11,96 <i>p</i> = 0,018	F= 27,50 <i>p</i> = 0,004	F= 14,36 <i>p</i> = 0,013	F= 4,81 <i>p</i> = 0,082	F= 4,38 <i>p</i> = 0,094	F= 4651,32 <i>p</i> = 0,000
C x T1	NS	*	NS	NS	NS	*	*	*	
C x T2	*	*	NS	NS	NS	*	*	*	
C x T3	*	*	*	NS	NS	*	*	*	
T1 x T2	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS	
T1 x T3	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS	
T2 x T3	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	

Apêndice 5. Resultados da Análise de Variância (ANOVA-1 way) para os valores médios das variáveis biológicas das comunidades avaliadas durante o período experimental.

(*) par de tratamento com diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)
 (NS) sem diferença significativa pelo teste de Tukey

Variável		Tratamentos					
		C x T1	C x T2	C x T3	T1 x T2	T1 x T3	T2 x T3
Clorofila-a (perifíton)	F= 6,26 p= 0,001	NS	NS	*	NS	NS	NS
MSLC (perifíton)	F= 1,98 p= 0,127	NS	NS	NS	NS	NS	NS
%N (perifíton)	F= 2,05 p= 0,116	NS	NS	NS	NS	NS	NS
% P (perifíton)	F= 1,79 p= 0,159	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Clorofila-a (seston)	F= 0,80 p= 0,501	NS	NS	NS	NS	NS	NS
MSLC (seston)	F= 1,42 p= 0,245	NS	NS	NS	NS	NS	NS
%N (seston)	F= 5,02 p= 0,004	NS	*	NS	*	NS	NS
% P (seston)	F= 12,13 p= 0,000	*	*	*	NS	NS	NS
MS (macrófita)	F= 15,73 p= 0,000	NS	NS	*	NS	*	*
%N (macrófita)	F= 2,09 p= 0,112	NS	NS	NS	NS	NS	NS
% P (macrófita)	F= 15,21 p= 0,000	*	*	*	NS	NS	NS

Apêndice 6. Valores médios (n = 2) da densidade total de classes de algas perifíticas (org cm⁻²) ao longo dos 64 dias de colonização nos diferentes tratamentos.

	15	22	29	36	43	50	57	64
Controle								
Oedogoniophyceae	0	91	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyceae	192	951	3694	3112	11268	10158	36636	72436
Zygnemaphyceae	2208	7895	7387	14552	29322	43708	40594	45811
Chlorophyceae	13031	17666	21546	16279	33876	29857	33838	37654
Cyanophyceae	39883	108396	207047	169957	355122	252088	121021	151130
Cryptophyceae	393	879	6156	5865	8496	6156	8195	5233
Chrysophyceae	36200	88156	114912	100257	182574	310262	180263	249215
Dinophyceae	519	272	410	462	684	1231	1259	462
Prasinophyceae	0	0	0	0	0	0	0	0
Euglenophyceae	2286	8141	5951	5198	28926	8926	16769	22110
Xanthophyceae	0	440	0	0	3276	4309	0	2308
T1								
Oedogoniophyceae	162	0	0	1250	2112	8643	5643	3664
Bacillariophyceae	316	3402	9850	30491	60383	102962	136201	155366
Zygnemaphyceae	3507	20898	12620	29818	61560	41402	27189	30047
Chlorophyceae	29751	55161	31703	51460	42217	49683	44374	32246
Cyanophyceae	148886	113238	206534	163230	374399	518827	446053	332717
Cryptophyceae	1928	2673	616	2405	15149	8615	2308	10260
Chrysophyceae	188309	243000	296411	381095	367911	336851	340888	238911
Dinophyceae	648	1215	616	866	1086	0	0	0
Prasinophyceae	0	0	0	0	0	0	0	0
Euglenophyceae	8019	10449	7387	19526	17382	11180	9234	12459
Xanthophyceae	154	1944	3386	13178	5884	9730	13081	9527
T2								
Oedogoniophyceae	462	0	0	6048	4104	10547	839	3288
Bacillariophyceae	479	6464	8088	35136	72333	183593	136758	179212
Zygnemaphyceae	6327	12620	10633	12366	25137	27204	19453	26000
Chlorophyceae	28403	109577	39055	69750	89262	106689	45841	75057
Cyanophyceae	202994	286562	360259	330714	393471	545213	393558	408437
Cryptophyceae	1813	3386	3451	342	1026	769	3321	0
Chrysophyceae	287194	376439	320671	376938	364230	632393	463853	387254
Dinophyceae	171	616	1959	0	1026	0	1606	803
Prasinophyceae	0	0	0	1620	0	0	0	0
Euglenophyceae	7780	11081	5770	10314	9234	13625	14855	5927
Xanthophyceae	0	616	1706	11592	72333	52190	30257	51963
T3								
Oedogoniophyceae	462	0	3202	5500	9017	710	3809	962
Bacillariophyceae	893	9454	35821	37365	81475	116789	92729	71128
Zygnemaphyceae	7467	29296	11921	18484	11280	29310	8084	8201
Chlorophyceae	54581	222770	132220	109856	119073	147520	130465	89809
Cyanophyceae	153917	315330	479024	619702	488051	590826	855077	759729
Cryptophyceae	693	0	0	2155	1338	1944	1049	1215
Chrysophyceae	222108	436801	1248161	669456	378058	507496	686603	819821
Dinophyceae	863	1731	1029	1077	733	0	0	0
Prasinophyceae	0	0	0	0	0	0	2099	0
Euglenophyceae	8953	22096	7862	14544	13542	8673	17994	18073
Xanthophyceae	0	0	5632	11538	22591	11402	32723	142155