UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

Ingrid Mayumi Hinobu

Avaliação do crescimento de duas espécies de
macrófitas aquáticas e do fitoplâncton em diferentes
concentrações de fósforo

Versão Corrigida

São Carlos

2019

INGRID MAYUMI HINOBU

Avaliação do crescimento de duas espécies de macrófitas
aquáticas e do fitoplâncton em diferentes concentrações de
fósforo

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de
São Carlos, da Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e
Saneamento.

Orientadora: Professora Maria do Carmo Calijuri

São Carlos

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

H54a	<p>Hinobu, Ingrid Mayumi</p> <p>Avaliação do crescimento de duas espécies de macrófitas aquáticas e do fitoplâncton em diferentes concentrações de fósforo / Ingrid Mayumi Hinobu; orientador Maria do Carmo Calijuri. São Carlos, 2019.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2019.</p> <p>1. Composição do fitoplâncton. 2. Crescimento de macrófitas aquáticas. 3. Nutrientes. 4. Estado trófico. I. Título.</p>
------	---

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Licenciada **INGRID MAYUMI HINOBU**.

Título da dissertação: "Avaliação do crescimento de duas espécies de macrófitas aquáticas e do fitoplâncton em diferentes graus de trofia".

Data da defesa: 21/08/2019.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof^a. Titular **Maria do Carmo Calijuri (Orientadora)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Dprovsda

Prof. Dr. **André Cordeiro Alves dos Santos**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Prof^a. Dr^a. **Ana Teresa Lombardi**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:
Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiola**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às mulheres da minha família que tanto me ensinaram e compartilharam forças para que eu fosse atrás dos meus sonhos e conquistas.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe pelo apoio e amor incondicionais que sempre me dedicou.

Ao meu pai que mesmo com, aproximadamente, 18.000 km de distância e toda a saudade que cabe nisso, é meu exemplo e motivo para continuar enfrentando as adversidades quando a vontade é desistir.

À Professora Maria do Carmo Calijuri pela oportunidade de aprendizado com seu grupo de pesquisa, pelo profissionalismo e pela confiança na minha capacidade.

À Professora Ana Teresa Lombardi, da Universidade Federal de São Carlos, por disponibilizar seu laboratório para as análises de clorofila-*a*.

À Dra. Flávia Bottino que participou e me ensinou em cada etapa da pesquisa com trabalhos de campo, metodologias de laboratório, interpretação de dados das macrófitas, entre outras estatísticas da vida. Agradeço também pelas correções das tantas versões do trabalho escrito e por ter compartilhado comigo sua força como cientista, mesmo quando suas forças pareciam não bastar até pra ela mesma.

À técnica Adriana Poli Miwa por toda a ajuda e dedicação com os procedimentos de laboratório.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento por todo o auxílio.

Ao Sr. Flávio pela permissão ao acesso do local das coletas.

Ao técnico Waldomiro Antônio Filho e ao motorista Benedito Patracon por todo o auxílio durante as coletas das amostras dos experimentos e das frutas pelo caminho.

À todo o grupo de pesquisa do Biotace pelas conversas, discussões e festinhas. Agradeço especialmente a Andressa, a Amanda e ao Fellipe que além de excelentes engenheiras e biólogo, são ótimos conselheiros, ouvintes, companhias para doces e amigos.

Aos amigos de São Carlos, que são o meu porto seguro desde 2011.

Ao Bruno, pelo companheirismo, pelo amor, pelo cuidado, pela paciência e por acreditar em mim em cada segundo deste trabalho.

Aos amigos da academia Tattinho Figth Center que me ajudaram a manter o equilíbrio nos momentos de dificuldade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPQ) pelo auxílio financeiro

RESUMO

HINOBU, I. M. **Avaliação do crescimento de duas espécies de macrófitas aquáticas e do fitoplâncton em diferentes concentrações de fósforo.** Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2019.

As macrófitas aquáticas, além da sua importância ecológica como abrigo para o zooplâncton, reservatório de nutrientes e agentes de biorremediação em ambientes eutrofizados, têm chamado atenção pelas consequências antagônicas de sua presença, como o fato de causar entupimentos em hidrelétricas e prejudicar a navegação em corpos d'água. Em ambientes com elevado grau de trofia, além da presença de macrófitas, é possível que ocorra um crescimento exacerbado do fitoplâncton. Nesse sentido, a presente pesquisa teve por objetivo identificar, através de experimentos de laboratório, a dinâmica das comunidades fitoplanctônicas e de macrófitas, em diferentes condições de trofia. Foram simulados os ambientes oligotrófico, mesotrófico e eutrófico em condições controladas (fotoperíodo de 12/12h e temperatura de $\pm 24^{\circ}\text{C}$). Utilizaram-se duas espécies de macrófitas, sendo uma submersa fixa (*Egeria najas*) e outra livre flutuante (*Lemna* sp.). A comunidade fitoplanctônica foi coletada em um ambiente fluvial tropical e concentrada para ser incubada nos experimentos. Cada uma das duas espécies de macrófitas foi colocada em meio de cultivo BG-11 juntamente com o inóculo de fitoplâncton, para cada estado trófico. Como controle, cada um dos três produtores primários, foi incubado isoladamente. Os experimentos tiveram a duração de 30 dias e as concentrações de ortofosfato, nitrato, bem como o crescimento das macrófitas e do fitoplâncton (em termos de densidade e biovolume) foram monitoradas periodicamente. Os resultados foram estatisticamente analisados com os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney para verificar as diferenças entre as condições estudadas. Verificaram-se maiores taxas de crescimento de *E. najas* no estado mesotrófico em interação com o fitoplâncton. A comunidade fitoplanctônica teve sua composição mais alterada pela presença de *E. najas*, do que pela presença de *Lemna* sp.. Em relação à *Lemna* sp., notou-se que o maior crescimento máximo foi na condição eutrófica e que o crescimento da macrófita foi reduzido pela presença do fitoplâncton. Concluiu-se que os diferentes estados tróficos e a presença de potenciais competidores direcionaram diferentes respostas entre as macrófitas aquáticas e o fitoplâncton.

Palavras-chave: Composição do fitoplâncton, crescimento de macrófitas aquáticas, nutrientes, estado trófico

ABSTRACT

HINOBU, I. M. **Evaluation of two aquatic macrophytes species and phytoplankton growth in diferente phosphorus concentrations.** Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2019.

Aquatic macrophytes have ecological importance due to their role as a shelter for microorganisms, nutrient reservoir and bioremediation agents in eutrophic environments. However, there are also antagonistic consequences caused by their presence, such as hydroelectric plants clogging and interference on water bodies with navigation purposes. In eutrophic systems, besides the presence of macrophytes, a high phytoplankton growth can occur. Therefore, the present study aimed to identify, through laboratory experiments, the dynamics of macrophytes and phytoplankton communities in different trophic states. Incubations were performed simulating oligotrophic, mesotrophic and eutrophic environments under controlled conditions (photoperiod of 12h/12h and temperature $\pm 24^{\circ}\text{C}$). Two macrophytes species were utilized, a submerged (*Egeria najas*) and a floating one (*Lemna* sp.). The phytoplankton was collected in a fluvial subtropical environment and concentrated to be incubated in the experiments. Each of the two macrophytes species was placed in BG-11 culture medium together with the phytoplankton inoculum, for each trophic state. Each of the three primary producers was incubated alone as a control. The assays took place over 30 days and the phosphorus and nitrogen concentrations, as well as the macrophytes and phytoplankton (in terms of density and biovolume) growth, were monitored periodically. The results were statically analyzed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test to verify the differences between the studied conditions. The highest growth rate of *E. najas* was verified in the mesotrophic state in interaction with phytoplankton. The phytoplankton community had its composition more altered by the presence of *E. najas*, than by the presence of *Lemna* sp.. Regarding *Lemna* sp., the highest value of maximum growth was in eutrophic state and the macrophyte growth was reduced by the presence of phytoplankton. It was concluded that the different trophic states and the presence of potential competitors directed different responses between aquatic macrophytes and phytoplankton.

Key words: Phytoplankton composition, macrophytes growth, nutrients, trophic levels

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis químicas analisadas para caracterização do local de amostragem, métodos de análise, limites de detecção-quantificação (LQ-LD)* e referências	43
Tabela 2 - Métodos de determinação e suas respectivas unidades de medidas dos teores de carbono (% de C), nitrogênio (NTK) e fósforo (PT) do sedimento.....	44
Tabela 3 – Métodos de determinação e suas respectivas unidades de medidas dos teores de Carbono (% de C), nitrogênio (NTK) e fósforo (PT) da massa seca (M.S.) do tecido das macrófitas	44
Tabela 4 – Concentrações das soluções estoques (Sol. Estoque) de NaNO_3 e de K_2HPO_4 e quantidade utilizada para preparar 1 L de meio de cultura de cada estado trófico.....	45
Tabela 5 - Estados Tróficos Simulados.....	46
Tabela 6 – Valores da radiação fotossinteticamente ativa (RSFA) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) e temperaturas do meio de cultivo ($^{\circ}\text{C}$) nos experimentos.....	47
Tabela 7 – Análises das variáveis físicas e químicas do meio de cultura dos experimentos ...	49
Tabela 8 – Média e desvio padrão dos valores do potencial Hidrogeniônico (pH), Saturação de Oxigênio Dissolvido na Água (% OD), Oxigênio Dissolvido (OD) (mg L^{-1}), Condutividade Elétrica (C.E.) ($\mu\text{S cm}^{-1}$), Sólidos Suspensos Totais (STT) (mg L^{-1}), Salinidade (Salin.) (psu), Turbidez (Turb.) (NTU), Temperatura (Temp.) ($^{\circ}\text{C}$); Pressão Atmosférica (Pres.Atm.) (psi); Radiação Subaquática Fotossinteticamente Ativa (RSFA) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g L}^{-1}$), Amônio (N-NH_4^+) ($\mu\text{g L}^{-1}$), Nitrito (N-NO_2^-) ($\mu\text{g L}^{-1}$), Nitrato (N-NO_3^-) (mg L^{-1}), Fósforo Total (PT) ($\mu\text{g L}^{-1}$), Fósforo Total Dissolvido (PTD) ($\mu\text{g L}^{-1}$), Ortofosfato (P-PO_4^{3-}) ($\mu\text{g L}^{-1}$) e Silicato (SiO_3^{2+}) (mg L^{-1}) do local de coleta nos três meses de amostragem.....	55
Tabela 9 – Concentrações médias e desvio padrão de clorofila- <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$), densidades (indivíduo mL^{-1}) e biovolume ($\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$) das comunidades fitoplanctônicas do local de coleta nos três meses de amostragem.....	55
Tabela 10 – Conteúdo de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N g}^{-1}$) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P g}^{-1}$) do sedimento nos três meses de amostragem	56
Tabela 11- Taxa de crescimento máximo ($\mu_{\text{máx}}$) (d^{-1}) das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos	60
Tabela 12 - Razões N:P do meio de cultura das cubas com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos	63
Tabela 13 – Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio	

total Kjeldahl (NTK) (mg-N g^{-1} M. S.) e fósforo total (PT) (mg-P g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de <i>E. najas</i> no início e no final dos experimentos dos diferentes estados tróficos .	65
Tabela 14 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (nº de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio (NTK) (mg-N g^{-1} M. S.) e fósforo (PT) (mg-P g^{-1} M. S.) nos tecidos dos espécimes de <i>Lemna</i> sp. no início e no final dos experimentos dos diferentes estados tróficos.....	68
Tabela 15 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N g^{-1} M.S.) e fósforo total (PT) (mg-P g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica	75
Tabela 16 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N.g^{-1} M.S.) e fósforo total (PT) (mg-P.g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica.....	81
Tabela 17 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N.g^{-1} M.S.) e fósforo (PT) (mg-P.g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica	87
Tabela 18 – Síntese do crescimento de <i>E. najas</i> e da comunidade fitoplanctônica nos três estados tróficos (ET)	89
Tabela 19 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (nº de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) dos tecidos dos espécimes de <i>Lemna</i> sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica	94
Tabela 20 - Taxa de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (nº de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) no tecido dos espécimes de <i>Lemna</i> sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica.....	100

Tabela 21 - Taxas de crescimento (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) no tecido dos espécimes de <i>Lemna</i> sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica	105
Tabela 22 - Síntese do crescimento de <i>Lemna</i> sp. e da comunidade fitoplanctônica nos três estados tróficos simulados.....	107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração de <i>Egeria najas</i> Planch destacando caule (a), flor (b) e nó-5foliado (c)	33
Figura 2 – Ilustração de <i>Lemna</i> sp.	35
Figura 3 – Estados Estáveis Alternativos	40
Figura 4 - Local de coleta.....	41
Figura 5 - Esquema dos tratamentos utilizados nas incubações de produtores primários	48
Figura 6 – Densidades das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão	58
Figura 7 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas nos estados oligotrófico (OLI), mesotrófico (MES) e eutrófico (EUT)	59
Figura 8– (a) Biovolume e (b) concentração de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	60
Figura 9- Concentrações médias de ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) do meio de cultura com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	61
Figura 10 – Concentrações médias de nitrato (N-NO ₃ ⁻) do meio de cultura com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	62
Figura 11 - Curvas de crescimento de <i>E. najas</i> nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão dos comprimentos dos espécimes (n=30).....	65
Figura 12 – Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) do meio de cultura das cubas de <i>E. najas</i> nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	66
Figura 13 – Curvas de crescimento de <i>Lemna</i> sp. nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3).....	67
Figura 14 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) do meio de cultura das cubas com <i>Lemna</i> sp. nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	69
Figura 15 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas com <i>E. najas</i> (Interação) e sem <i>E. najas</i> (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	71
Figura 16 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3).....	71

Figura 17 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram com <i>E. najas</i> (I) e sem <i>E. najas</i> (C) na condição oligotrófica	72
Figura 18 - Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas com <i>E. najas</i> (Interação) e sem <i>E. najas</i> (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	73
Figura 19 – Curvas de crescimento de <i>E. najas</i> sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=30)	75
Figura 20 – Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) das cubas com espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	76
Figura 21 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	77
Figura 22 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	78
Figura 23 – Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem <i>E. najas</i> (C) e com <i>E. najas</i> (I) na condição mesotrófica	79
Figura 24 - Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	80
Figura 25 – Curvas de crescimento de <i>E. najas</i> sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=30)	81
Figura 26 - Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) das cubas com espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	82
Figura 27 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição eutrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	83

Figura 28 – (a) Biovolume e (b) concentrações clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3).....	84
Figura 29 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas (a) com <i>E. najas</i> (Interação) e (b) sem <i>E. najas</i> (Controle) na condição eutrófica.....	85
Figura 30 – Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem <i>E. najas</i> (Controle) e com <i>E. najas</i> (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	86
Figura 31 – Curvas de crescimento de <i>E. najas</i> sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=30)	87
Figura 32 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com espécimes de <i>E. najas</i> que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	88
Figura 33 – Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	90
Figura 34 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	91
Figura 35 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp. (C) e com <i>Lemna</i> sp (I) na condição oligotrófica	92
Figura 36 - Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	93
Figura 37 – Curvas de crescimento de <i>Lemna</i> sp. com a comunidade fitoplanctônica (Interação) e sem a comunidade fitoplanctônica (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3) *	94
Figura 38- Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com espécimes de <i>Lemna</i> sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	95

Figura 39 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	96
Figura 40- (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)	97
Figura 41 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (C) e com <i>Lemna</i> sp. (I) na condição mesotrófica.....	98
Figura 42 - Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	98
Figura 43 – Curvas de crescimento de <i>Lemna</i> sp. sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3) *	99
Figura 44- Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com espécimes de <i>Lemna</i> sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica (Controle) na condição mesotrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	100
Figura 45 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6).....	101
Figura 46 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila- <i>a</i> das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3).....	102
Figura 47 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp. (C) e com <i>Lemna</i> sp. (I) na condição eutrófica	103
Figura 48 – (a) Concentrações de ortofosfato (P-PO ₄ ³⁻) e (b) nitrato (N-NO ₃ ⁻) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem <i>Lemna</i> sp. (Controle) e com <i>Lemna</i> sp. na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)	104
Figura 49 – Curvas de crescimento de <i>Lemna</i> sp. sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3) *	105

Figura 50 – (a) Concentrações de ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6) .. 106

Sumário

1. Introdução	27
2. Objetivos	31
2.1. Geral	31
2.2. Específicos	31
3. Revisão teórica	33
3.1. <i>Egeria najas</i> Planchon	33
3.2. <i>Lemna</i> sp.	35
3.3. Fitoplâncton	37
3.4. Interação entre as comunidades fitoplanctônica e de macrófitas	39
4. Material e métodos	41
4.1. Local de amostragem	41
4.2. Amostragem e tratamento das amostras	42
4.2.1. Água	42
4.2.2. Sedimento	43
4.2.3. Macrófitas	44
4.2.4. Fitoplâncton	45
4.3. Experimento	45
4.3.1. Preparação e caracterização do meio de cultura	45
4.3.2. Delineamento Experimental	46
4.3.3. Amostragens e análises	48
4.4. Análise dos dados	51
5. Resultados e discussão	53
5.1. Caracterização da água e do sedimento do local de amostragem	53
5.2. Análises nos experimentos	57
5.2.1. Experimentos controles	57
5.2.1.1. Comunidade fitoplanctônica	57
5.2.1.2. <i>E. najas</i>	64
5.2.1.3. <i>Lemna</i> sp.	67
5.2.2. Experimento de interação: Fitoplâncton e Macrófita Submersa	70
5.2.2.1. Condição Oligotrófica	70
5.2.2.2. Condição Mesotrófica	77
5.2.2.3. Condição Eutrófica	83

5.2.3.	Experimento de interação: Fitoplâncton e Macrófita Livre Flutuante.....	90
5.2.3.1.	Condição Oligotrófica	90
5.2.3.2.	Condição Mesotrófica	96
5.2.3.3.	Condição Eutrófica.....	101
6.	Conclusões	109
	Referências	111
	APÊNDICES	127
	ANEXOS	151

1. Introdução

As macrófitas aquáticas são produtores primários que apresentam grande amplitude ecológica e capacidade de adaptação aos ambientes (BIANCHINI, 2003; POMPÊO, 2017). Em decorrência da plasticidade fenotípica, esses vegetais exibem um gradiente de distribuição em corpos d'água, que variam desde a margem até a parte mais interna de um lago, e que serve como base de classificação para os biotipos desses vegetais. A partir da margem de um rio, têm-se as macrófitas anfíbias, seguidas pelas emergentes e com o aumento da profundidade estão as macrófitas submersas (fixas e livres) e, por fim, as plantas flutuantes (fixas e livres) (IRGANG; PEDRALLI; WAECHTER, 1984 apud POMPÊO, 2017).

A capacidade de assimilar nutrientes da coluna d'água (POMPÊO, 2017) configura-se em importante característica dos vegetais aquáticos com diferentes efeitos para os ambientes, dentre eles o crescimento exacerbado de macrófitas e a formação de densos stands na superfície da água ocasionando condições de anoxia e baixa biodiversidade nos ecossistemas em que elas estão presentes (DRIEVER; VAN NES; ROIJACKERS, 2005; PINTO; O'FARRELL, 2014). Estudos comprovaram que *Lemna* sp., uma espécie de macrófita livre flutuante, foi capaz de assimilar quase 100% das concentrações de fósforo e nitrogênio disponíveis no meio e apresentar elevada taxa de crescimento (SZABÓ et al., 2005). Espécies fixas ou enraizadas, por sua vez, são capazes de assimilar nutrientes tanto do ambiente aquoso quanto do sedimento. Essa característica assegura o crescimento do grupo mesmo em corpos d'água considerados oligotróficos e uma das consequências é que o fósforo absorvido do sedimento é incorporando às suas biomassas, possibilitando que o mesmo seja liberado na coluna d'água após a senescência desses vegetais (BINI et al., 1999; ESTEVES; CAMARGO, 1986; MOELLER; BURKHOLDER; WETZEL, 1988).

Existem ainda outras funções importantes das macrófitas como, por exemplo, ser fonte de matéria orgânica para microrganismos detritívoros em ambientes tropicais (TRINDADE et al., 2010), atuar como agentes filtradores de material particulado e sedimento (PEDRALLI; TEIXEIRA, 2003), ou ainda desempenhar a função de bioindicadora da qualidade da água em reservatórios (PEDRALLI, 2003).

Outro grupo de produtores primários apontado como bioindicador ambiental é a comunidade fitoplancônica, formada por organismos fotossintetizantes que são adaptados para viver em corpos d'água (REYNOLDS, 2006). O crescimento do fitoplâncton é fortemente regulado pela disponibilidade de nutrientes e, além disso, o grupo apresenta

grande distribuição e rápida resposta frente às variações ambientais, que resultam em mudanças estruturais na sua composição e densidade (DUARTE et al., 2017).

Embora amplamente reportada na literatura, uma das adversidades que persiste associada com algas e cianobactérias são os eventos de floração, ou seja, a proliferação excessiva desses microrganismos, geralmente, acompanhada da descarga de grandes quantidades de nutrientes em um corpo d'água e produtos indesejáveis, como cianotoxinas que tornam a água imprópria para consumo (NIMPTSCH; WIEGAND; PFLUGMACHER, 2008; ROIJACKERS, SZABÓ; SCHEFFER, 2004). Sob esse aspecto, compreender as funções de força que caracterizam a dinâmica do fitoplâncton é de grande relevância, principalmente, em ambientes com elevada intervenção antrópica.

A partir da ocorrência de diferentes eventos ambientais é possível que tanto as macrófitas quanto a comunidade fitoplanctônica estejam presentes no ecossistema, como também é possível que ocorra a alternância entre as duas comunidades (O'FARREL et al., 2011; SÁNCHEZ et al., 2015), promovendo a ideia dos chamados estados estáveis alternativos. Em outras palavras, no segundo caso, uma espécie ou grupo da biota domina o ambiente em detrimento de outras.

Os estados estáveis alternativos podem ser definidos como uma grande mudança, geralmente estocástica, em algo que até o momento apresentava uma tendência estável (SCHEFFER; CARPENTER, 2003). Das forças capazes de influenciar na estabilidade dos ambientes aquáticos, tem-se os níveis de nutrientes disponíveis na coluna d'água e as mudanças climáticas (SCHEFFER; van NES, 2007).

Em ecossistemas tropicais, como é o caso do Brasil, uma preocupação decorrente relacionada à qualidade dos recursos hídricos é a eutrofização (POMPÊO, 2017), isto é, o excesso de nutrientes, principalmente, fósforo e nitrogênio em determinado corpo d'água (VOLLENWEIDER, 1987). Sabendo que os compostos fosfatados e nitrogenados podem induzir a produtividade primária e que em regiões tropicais tem-se o crescimento de macrófitas e do fitoplâncton praticamente o ano todo devido às altas temperaturas e radiações solares (AZEVEDO, 1998; BIANCHINI, 2003; ESTEVES; CAMARGO, 1986), essa combinação de fatores instiga o interesse e a necessidade de preencher lacunas no conhecimento de como os produtores primários respondem a essas forças proporcionando uma maior garantia do uso correto desses organismos em programas de manejo, restauração e monitoramento dos ecossistemas.

Diante disso, este trabalho supõe que macrófitas livres flutuantes, macrófitas submersas enraizadas e a comunidade fitoplanctônica, devem responder de formas alternadas

em mesocosmos simulando diferentes estados tróficos iniciais. Espera-se que em ambiente com elevado grau de trofia seja observada a inibição do crescimento da comunidade fitoplanctônica influenciada pelo crescimento das macrófitas flutuantes, as quais ficam em uma posição favorável à captação da radiação na coluna d'água. Outra hipótese é que na simulação do ambiente com concentração média de nutrientes (e.g. estado mesotrófico), o fitoplâncton iniba o desenvolvimento das macrófitas, devido ao seu curto tempo de crescimento. Por fim, em ambientes com pouca disponibilidade de nutrientes, a hipótese é de que as macrófitas submersas fixas promovam a diminuição na densidade do fitoplâncton, em virtude da sua adaptação a esse tipo de ambiente.

2. Objetivos

2.1. Geral

Avaliar, experimentalmente, a dinâmica do desenvolvimento de uma macrófita submersa fixa (*Egeria najas*) e uma macrófita flutuante livre (*Lemna* sp.) em relação ao fitoplâncton em ambiente com diferentes concentrações de fósforo.

2.2. Específicos

- caracterizar o crescimento das duas espécies de macrófitas em diferentes concentrações de fósforo;
- caracterizar o crescimento, em termos de densidade e biovolume, e a composição da comunidade fitoplanctônica em diferentes concentrações de fósforo;
- identificar as respostas na composição da comunidade fitoplanctônica quando colocada em contato direto com macrófitas aquáticas em condições laboratoriais em variadas concentrações de fósforo;
- identificar se a presença da comunidade fitoplanctônica influencia no crescimento de macrófitas aquáticas em variadas concentrações de fósforo;

3. Revisão teórica

3.1. *Egeria najas* Planchon

A espécie *E. najas* (Figura 1) é uma macrófita submersa enraizada nativa da América do Sul, pertencente à família Hydrocharitaceae e apresenta inflorescência emergente vista acima da superfície da água composta por flores brancas. Geralmente apresenta 5 folhas por nó e o caule pode alcançar mais de 3 metros de comprimento (AMARAL et al., 2008).

Figura 1 – Ilustração de *Egeria najas* Planch destacando caule (a), flor (b) e nó-5foliado (c)

Fonte: Schreck, 2013

Uma de suas características é a capacidade de se multiplicar rapidamente a partir de fragmentos do caule (RODELLA et al., 2006) e apresentar baixa necessidade de radiação, o que permite seu desenvolvimento até mesmo em ambientes com alta turbidez (TAVECHIO; THOMAZ, 2003).

Outra estratégia de vida de macrófitas submersas é a produção de compostos alelopáticos que podem diminuir a densidade e alterar a composição da comunidade fitoplanctônica (DAI et al., 2016; JASSER, 1995). Ainda existem poucos estudos sobre alelopatia para o gênero *Egeria*, no entanto, Vanderstukken et al. (2011), confirmaram que além da competição por nutrientes, *E. densa*, que possui similaridade morfológica com *E. najas*, apresentou fortes evidências que sustentam sua capacidade de inibir o crescimento de *Scenedemus*, um gênero de microalgas pertencente a classe Chlorophyceae, através dos efeitos de compostos alelopáticos.

Do ponto de vista ecológico, junto com outras plantas aquáticas, *E. najas* estabiliza as margens de corpos d'água, serve de alimento e abrigo para pequenos animais aquáticos e tem a capacidade de oxigenar o ambiente (POTT; POTT, 2000). Também é uma planta frequentemente usada em aquários, uma das razões pela qual é encontrada além do seu local de origem (HARAMOTO; IKUSIMA, 1988; RODELLA et al., 2006).

Entre as justificativas do interesse em compreender as especificidades ecológicas e fisiológicas da espécie, está a preocupação com os prejuízos que o crescimento exacerbado de sua população pode causar em hidroelétricas, atividade de recreação e até mesmo para a navegação (PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA, 2004).

3.2. *Lemna* sp.

Em ambientes aquáticos subtropicais e tropicais, as macrófitas flutuantes são descritas por ter uma importância similar ou maior que as macrófitas submersas (MEERHOFF et al., 2003). Tal consideração resulta principalmente dos impactos que os *stands* formados pelas macrófitas flutuantes podem gerar, como a diminuição de oxigênio disponível e o sombreamento na coluna d'água (SCHEFFER et al., 2003). O fato de viverem livres na superfície da água, confere às macrófitas livres flutuantes a vantagem de estar na melhor posição para competição pela luz, quando comparadas as macrófitas submersas, por exemplo (SCHEFFER et al., 2003).

Lemnaceae, uma das famílias de macrófitas flutuantes, é formada por 4 gêneros, sendo um deles denominado *Lemna* e que abrange espécies conhecidas popularmente como lentilhas d'água (POTT, 2002). Os espécimes são formados por frondes de 0,8 a 5 milímetros de comprimento compostos por uma única raiz (POTT; POTT, 2000) (Figura 2).

Figura 2 – Ilustração de *Lemna* sp.

Fonte: Modificado de Freitas et al. (2017)

Em seu habitat, *Lemna* sp. é importante fonte de alimento para peixes, insetos e aves aquáticas (POTT; POTT, 2000). Ademais são fortes competidoras por luminosidade, o que pode influenciar a comunidade fitoplanctônica favorecendo, por exemplo, espécies de microalgas adaptadas à sombra (PINTO, ALLENDE; O'FARREL, 2007).

Estudos mostraram que a abundância de fósforo no ambiente, pode ser controlada pelas Lemnaceae por meio de um mecanismo de acúmulo desse nutriente dentro de vacúolos e, caso o ambiente se torne pobre em fósforo, a macrófita mantém o seu crescimento utilizando o conteúdo armazenado (KUFEL et al. 2012). Sabe-se também que a taxa de crescimento relativo de *Lemna* sp. é influenciada negativamente primeiro por baixa

disponibilidade de nitrogênio, depois por valores altos de pH e, em seguida, pela concentração de fósforo disponível (SZABÓ et al, 2005). Tais preferências e o rápido crescimento do grupo favorecem sua utilização em pesquisas laboratoriais e programas de biorremediação, como por exemplo, o tratamento de efluentes (DEMIREZEN; AKBULUT, 2011; POTT; POTT, 2000). Essa aplicação direciona grande parte dos trabalhos para simulação de condições que não condizem com aquelas encontradas em lagos, lagoas e reservatórios (KUFEL et al., 2012). Deste modo, pesquisas que forneçam informações sobre o comportamento de Lemnaceae em novas combinações de fatores ambientais são ainda necessárias.

3.3. Fitoplâncton

O sucesso dos microrganismos fotossintetizantes pode ser percebido nas mais diferentes condições ambientais e controlado de diversas formas. De acordo com Bernardo, Minillo e Dantas (2010), nas regiões tropicais a luz e a temperatura ambientais são constantes durante o ano todo, portanto, a distribuição do fitoplâncton depende de variações sazonais, caracterizados por períodos de chuva e seca. As variações desses períodos acarretam outras modificações no ecossistema como a alteração da turbidez e do nível da água e a diluição da concentração de nutrientes, resultando na seleção das espécies de microalgas.

Períodos de cheia podem favorecer espécies nanoplanctônicas de rápido crescimento pertencentes às classes Cryptophyceae, Chrysophyceae e Chlorophyceae (HUSZAR; REYNOLDS, 1997; SANTANA; FERRAGUT, 2016). Em corpos d'água tropicais e subtropicais à medida que o nível e fluxo da água diminuem, outros grupos podem se tornar mais abundantes como desmídias e diatomáceas que resistem a mistura da coluna d'água desde que a maior parte do volume esteja na zona eufótica. Por fim, nos períodos mais pronunciados de seca, isto é, quando a água está mais turva, espécies da classe Cyanophyceae são capazes de aumentar em densidade (HUSZAR; REYNOLDS, 1997).

Em relação às características ecológicas dos grupos fitoplanctônicos, a classe Chlorophyceae é apresenta diferentes estratégias de vida, como a rápida reprodução e ampla variação na estrutura morfológica, que favorecem seu desenvolvimento em uma gama de condições ambientais, entre elas o gradiente de disponibilidade de nutrientes (CROSSETTI; BICUDO, 2005). Em determinados ambientes, sua amplitude ecológica auxilia inclusive para a ocupação de algumas espécies do grupo em nichos previamente ocupados por cianobactérias (CROSSETTI; BICUDO, 2005).

Espécies filamentosas de cianobactérias são encontradas em ambientes com valores elevados de turbidez e ricos em nutrientes (REYNOLDS, 1998). A presença do grupo nesse tipo de condição ambiental é possibilitada geralmente pela alta razão superfície:volume resultante de ótimas condições nutricionais (BRASIL; HUSZAR, 2011). Por outro lado, elevados valores de turbidez combinados com baixa concentração de nutrientes contribuem para o desenvolvimento de grupos que apresentam comportamento de mixotrofia como é o caso de espécies pertencentes as classes Dinophyceae, Cryptophyceae e Chrysophyceae (BRASIL; HUSZAR, 2011; LOPES, FERRAGUT; BICUDO, 2009).

Segundo Reynolds (1998), as espécies fitoplanctônicas se diferenciam pela velocidade de absorção de nutrientes e pelas concentrações em que suas necessidades são satisfeitas para

cada tipo de nutriente, seja ele fósforo, nitrogênio, silicato, entre outros. Assim, as perspectivas de crescimento e sobrevivência das espécies são suportadas pela consideração de uma soma de fatores e não um ou outro requisito exclusivamente.

Nesse contexto, deve-se considerar que o contrário também ocorre, isto é, o funcionamento de um ecossistema tende a ser influenciado pela composição da comunidade fitoplanctônica (BRASIL; HUSZAR, 2011). É relevante mencionar que a alteração na composição florística das microalgas combinada com outros agentes abióticos, como o tempo de detenção hídrica, pode resultar em um ambiente adequado para a ocorrência de florações algais (SOARES et al., 2012). Em um estudo de caso, imagens de satélite revelaram que no reservatório de Ibitinga, no interior de São Paulo, o maior tempo de retenção hídrica estava relacionado com a ocupação de 80% da superfície do reservatório pelo fitoplâncton (LONDE et al., 2016). Os eventos de florações, ao formar uma película superficial, geram uma série de alterações em cadeia que comprometem a qualidade da água como a diminuição da transparência, a desoxigenação, alteração do sabor e odor, além da possibilidade da produção de cianotoxinas (BERNARDO, MINILLO, DANTAS, 2010).

Dado o exposto sobre os grupos fitoplanctônicos que apresentam diferentes mecanismos de tolerância as variáveis ambientais, argumenta-se a necessidade de obter novas percepções sobre seus comportamentos e fornecer mais subsídios para programas de manejo e tecnologias de tratamento da água.

3.4. Interação entre as comunidades fitoplanctônica e de macrófitas

Diferentes fatores abióticos podem gerar distúrbios que resultam em mudanças abruptas e alterações na composição de comunidades bióticas (LOPES, FERRAGUT; BICUDO, 2009), entre elas a coexistência ou dominância de produtores primários como as macrófitas e a comunidade fitoplanctônica. A competição entre essas comunidades ocorre, principalmente, em torno da disponibilidade de nutrientes, luz e carbono inorgânico (SAND-JENSEN; BORUM, 1991).

Em ensaios com mesocosmos, por exemplo, Vanderstukken et al. (2011) comprovaram o controle do fitoplâncton feito por macrófitas submersas através da competição por nutrientes e efeitos alelopáticos. Em contrapartida, outros autores relataram que o sombreamento causado pelo fitoplâncton é uma estratégia que permite a dominância dessa comunidade em detrimento da comunidade de macrófitas (SAND-JENSEN; BORUM, 1991).

Sob esse aspecto, Scheffer et al. (1993) propuseram um modelo de estados estáveis alternativos, isto é, a dominância de uma das comunidades em detrimento da outra, com base no ponto crítico da turbidez de um lago raso. De acordo com o modelo, as macrófitas tornam o ambiente menos turvo, no entanto, o aumento da disponibilidade de nutrientes conduz ao aumento da biomassa fitoplanctônica e, conseqüentemente, da turbidez, até que ao atingir um ponto crítico de turbidez as macrófitas se tornam ausentes.

Em 2014, Pinto e O'Farrel publicaram uma revisão sobre mudanças em ambientes dominados por macrófitas flutuantes e pelo fitoplâncton. A Figura 3 abaixo foi elaborada para exemplificar a dinâmica dessa alternância entre as comunidades dominantes e as setas tracejadas indicam o efeito dos produtores nas diferentes variáveis. Assim, abaixo do tapete de macrófitas (Figura 3a) percebem-se algumas características do ambiente como a baixa luminosidade e diminuição de sólidos suspensos, a produção de aleloquímicos que inibem o crescimento do fitoplâncton, além da absorção dos nutrientes da coluna d'água. Na figura 3b, que poderia ser o ambiente encontrado depois da retirada das macrófitas livres flutuantes, a comunidade fitoplanctônica e a luminosidade são maiores.

Figura 3 – Estados Estáveis Alternativos

a) Dominância de macrófitas flutuantes b) Dominância de fitoplâncton

Fonte: Modificado de Pinto e O'Farrel (2014)

Para entender a influência de uma comunidade sobre a outra, Gebrehiwot et al.(2017), realizaram um estudo investigando a dinâmica dos grupos de fitoplâncton encontrados em um lago a partir do gradiente de distribuição de macrófitas emergentes. Os autores encontraram que em águas abertas sem vegetação predominaram grupos de microalgas, com especializações como flagelos ou aerótopos, capazes de se movimentar verticalmente na coluna d'água, enquanto as espécies encontradas nos bancos de macrófitas eram mais aptas a sobreviver em condições de predação do zooplâncton abrigado nos corpos das plantas aquáticas.

Com base nas observações apresentadas, ressalta-se a importância de reconhecer o comportamento de cada grupo de autotrófos, pois ao longo de um gradiente de eutrofização, a substituição ou coexistência esperada de espécies pode ser surpreendida por mudanças drásticas em pontos críticos e resultar na dominância de diferentes espécies (SCHEFFER; VAN NES, 2007).

4. Material e métodos

4.1. Local de amostragem

A nascente do rio Jacaré-Pepira fica na divisa entre as cidades de Brotas e São Pedro e sua foz é uma região de remanso que apresenta características de um ecótono, devido à redução da vazão em virtude do barramento do Reservatório de Ibitinga. Essa região faz parte da sub-bacia do Rio Jacaré-Pepira e seus afluentes diretos do Rio Tietê, que por sua vez, faz parte da Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré. Segundo dados de 2017 do Comitê da Bacia Hidrográfica do Tietê-Jacaré, as principais atividades econômicas na área da bacia são produção de açúcar, álcool e cítricos.

Figura 4 - Local de coleta

Fonte: O Autor

A sub-bacia do Rio Jacaré-Pepira possui uma área de preservação permanente que está entre as duas maiores da Bacia Tietê-Jacaré, porém, quase 65% desta estão degradados e resta apenas 13,17% de sua vegetação remanescente (ATTANASIO, 2014).

4.2. Amostragem e tratamento das amostras

As amostras biológicas para esta pesquisa foram coletadas na área de transição entre o rio Jacaré-Pepira e o reservatório de Ibitinga (confluência com o Rio Tietê) (S21°53'36,6"; W48°45'33,7"). O local foi escolhido por já ser objeto de outros estudos em desenvolvimento.

Para realização dos experimentos em laboratório, amostras de água e das comunidades biológicas foram coletadas em três momentos diferentes devido a condições climáticas que comprometeram a amostragem dos organismos fitoplancônicos. Dessa forma, no mês de abril de 2018 as amostras foram obtidas para simulação do experimento em condição mesotrófica. Nos meses de maio e junho, as amostras foram coletadas para simular os ambientes eutrófico e oligotrófico, respectivamente.

4.2.1. Água

Para caracterização do local de amostragem, em cada coleta foram obtidos 5 L de água da subsuperfície da região de transição do rio Jacaré-Pepira e Reservatório de Ibitinga. Para caracterização do fitoplâncton, duas subamostras de, aproximadamente 0,2 L de água, foram reservadas e conservadas uma em solução de lugol 1% e a outra em formol 4%.

O volume restante da amostra foi fracionado para determinação das concentrações de fósforo e nitrogênio totais (≈ 1 L) e filtrado ($\approx 0,5$ L) em membrana de fibra de vidro com porosidade de $0,6 \mu\text{m}$ (GF-3 M&N®) para determinação dos nutrientes dissolvidos (Tabela 4). As membranas de filtração foram utilizadas para a determinação da concentração de clorofila-*a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) realizada após extração em etanol 80% e leitura em espectrofotômetro (NUSH, 1980 - modificado por NEN 6520, 2006).

Para determinação do carbono orgânico total (COT), carbono total (CT) e carbono inorgânico (CI) foi utilizado o método 5310 B (APHA, 2005) em analisador de carbono (TOC – V CPH Shimadzu®). A concentração de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), foi determinada em sistema automatizado (K-438, K-370 e B 414 Büchi®) e as determinações dos demais nutrientes foram realizadas em espectrofotômetro (DR4000 Hach®) (Tabela 1).

Tabela 1 – Variáveis químicas analisadas para caracterização do local de amostragem, métodos de análise, limites de detecção-quantificação (LQ-LD)* e referências

Variáveis	Unidade	Método	LQ - LD	Referência
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹	4500-NO ₃ ⁻ B	0,03 – 0,1	APHA (2005)
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	mg L ⁻¹	4500-N _{org} C (Modificado)	0,5 – 1,6	APHA (2005)
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	µg L ⁻¹	4500-NO ₂ ⁻ B	1,2 – 3,5	Mackereth, Heron, Talling (1978)
Amônio (NH ₄ ⁺)	µg L ⁻¹	Espectrofotométrico	2,0 – 6,5	Koroleff (1976)
Fósforo Solúvel Reativo (P-PO ₄ ³⁻)	µg L ⁻¹	4500-P E	1,0 – 3,0	APHA (2005)
Fósforo Total Dissolvido (PTD)	µg L ⁻¹	4500-P B (5) / 4500-P E	2,0 – 6,5	APHA (2005)
Fósforo Total (PT)	µg L ⁻¹	4500-P B (5) / 4500-P E	2,0 – 6,5	APHA (2005)

Fonte: O Autor

*Os limites de detecção e quantificação foram calculados em laboratório

Medidas *in situ* de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e temperatura da água foram feitas utilizando uma sonda multiparamétrica (HI9829 Hanna®). A radiação subaquática fotossinteticamente ativa (RSFA) também foi medida na subsuperfície ($\cong$ 10 centímetros) e no ar com auxílio de um radiômetro (LI – 1400 Ly-Cor®).

4.2.2. Sedimento

Amostras de sedimentos foram coletadas em pontos próximos aos locais onde as coletas de amostras biológicas e da água foram realizadas. Com o auxílio de uma draga de Van Veen amostras de, aproximadamente, 0,5 kg foram coletadas e acondicionadas em recipientes de polietileno e transportadas para o laboratório. Em seguida, o material foi seco ao sol e armazenado para caracterização quanto ao teor de carbono e nutrientes (fósforo total e nitrogênio total Kjeldahl), conforme a metodologia descrita na Tabela 2.

Tabela 2 - Métodos de determinação e suas respectivas unidades de medidas dos teores de carbono (% de C), nitrogênio (NTK) e fósforo (PT) do sedimento

Variável	Unidade de medida	Referência
C	%	Wetzel e Linkens (2001)
NTK	mg-N g ⁻¹	APHA (2005)
PT	mg-P g ⁻¹	Andersen (1976) / APHA (2005)

Fonte: O Autor

4.2.3. Macrófitas

Os organismos pertencentes ao grupo das macrófitas aquáticas flutuantes foram obtidas junto ao Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar, São Carlos-SP), que possui tanques de cultivo de diferentes espécies de macrófitas. A coleta foi feita manualmente direto dos tanques e as plantas armazenadas em recipientes plásticos para transporte até o laboratório.

As amostras de *E. najas* utilizadas para os ensaios foram coletadas na área de remanso entre o Reservatório de Ibitinga e o Rio Jacaré-Pepira, acondicionadas em caixa de isopor com água do ambiente para transporte até o laboratório.

Amostras de macrófitas dos dois grupos foram separadas e secas, em estufa de circulação forçada (60° C) até peso constante, para quantificação inicial do teor de carbono (% de C) e nutrientes totais (nitrogênio e fósforo) do tecido vegetal, conforme metodologia descrita na Tabela 6.

Tabela 3 – Métodos de determinação e suas respectivas unidades de medidas dos teores de Carbono (% de C), nitrogênio (NTK) e fósforo (PT) da massa seca (M.S.) do tecido das macrófitas

Variável	Unidade de medida	Referência
C	%	Wetzel e Linkens (2001)
NTK	mg-N g ⁻¹ M. S.	APHA (2005)
PT	mg-P g ⁻¹ M. S.	Andersen (1976) / APHA (2005)

Fonte: O Autor

4.2.4. Fitoplâncton

A comunidade fitoplanctônica foi coletada por meio de arraste vertical e horizontal em diferentes profundidades com o auxílio de uma rede de fitoplâncton (porosidade de 20 μm), adaptada para coletar aproximadamente 0,8 L de amostra por vez, a fim de concentrar os microrganismos. Em seguida as amostras foram filtradas em filtro de zooplâncton (porosidade de 65 μm), para evitar a predação das microalgas, e armazenadas em galão para transporte até o laboratório onde foram realizados os ensaios.

Aproximadamente 0,4 L da amostra foi armazenado para contagem e identificação da comunidade fitoplanctônica.

4.3. Experimento

4.3.1. Preparação e caracterização do meio de cultura

Em todos os tratamentos optou-se por utilizar o meio de cultura BG-11 (RIPPKA et al., 1979), pois testes prévios em laboratório comprovaram a viabilidade do crescimento do fitoplâncton e das macrófitas retirados do ambiente utilizando este meio de cultura.

Inicialmente, foram preparadas as soluções estoques dos micronutrientes conforme o protocolo original do meio de cultura BG-11 descrito no Anexo A, com exceção das soluções de NaNO_3 e K_2HPO_4 . A solução K_2HPO_4 é a principal fonte de fósforo no meio de cultura escolhido e foi alterada para que fossem alcançadas as concentrações do nutriente previstas para os experimentos (Tabela 4). Além disso, a solução de NaNO_3 , principal fonte de nitrogênio no meio BG-11, também foi alterada (Tabela 4) para determinação de três estados tróficos, baseados em Lamparalli (2004), considerando-se somente as concentrações de fósforo e nitrogênio nos experimentos (Tabela 5). O pH do meio de cultura foi ajustado para 7,4 com solução de HCl e tamponado com solução TRIS ($0,5 \text{ g L}^{-1}$).

Tabela 4 – Concentrações das soluções estoques (Sol. Estoque) de NaNO_3 e de K_2HPO_4 e quantidade utilizada para preparar 1 L de meio de cultura de cada estado trófico

Componente	Sol. Estoque	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
NaNO_3	65 mg L^{-1}	1 mL	1 mL	1 mL
K_2HPO_4	3550 $\mu\text{g L}^{-1}$	1 mL	2,5 mL	10 mL

Fonte: O Autor

Tabela 5 - Estados Tróficos Simulados

Variável	Unidade	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
N-NO ₃ ⁻	mg L ⁻¹	0,45	0,45	0,45
P-PO ₄ ³⁻	µg L ⁻¹	3,3	8,8	35,5
N:P	-	28:1	113:1	302:1
Índice de Estado Trófico	-	50	55	64

Fonte: O Autor

4.3.2. Delineamento Experimental

Cada experimento, isto é, cada condição trófica, teve a duração de 30 dias e todos foram conduzidos em uma sala do Laboratório de Biotoxicologia em Águas Continentais e Efluentes na Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (São Carlos - SP). A temperatura ambiente foi controlada e monitorada durante todos os ensaios com termômetro de bancada, bem como o fotoperíodo na sala mantido com 12 horas de luz e 12 horas de escuro através de iluminação com lâmpadas LED acopladas a um temporizador, com o máximo de radiação possível de alcançar dentro das condições laboratoriais.

As incubações foram feitas em 15 cubas de vidro (volume: 7 L, diâmetro: 20 cm, altura: 25 cm), encapadas com papel pardo para evitar a entrada de luz nas laterais, e dispostas aleatoriamente em bancada.

Das 15 cubas, 6 foram utilizadas para o crescimento isolado de cada grupo de macrófitas, sendo 3 cubas para *E. najas* e 3 cubas para *Lemna* sp, que foram designados como controles das macrófitas. Essas cubas foram, cada uma delas, preenchidas com 5 L de meio de cultura, evitando-se utilizar a capacidade máxima do recipiente.

As outras 9 cubas receberam, cada uma delas, 1 L do conteúdo armazenado em galão contendo o fitoplâncton coletado em campo, que foi previamente homogeneizado. As cubas também foram preenchidas com 4L de meio de cultura, evitando-se novamente a utilização da capacidade máxima e visando manter o padrão de 5 L totais em cada unidade experimental. É importante destacar que em todos os experimentos os inóculos não foram axênicos e a presença de bactérias e sua influência não foram levados em consideração nos resultados do presente trabalho.

Todas as cubas foram aeradas com um compressor de ar (MSV 10 VL/200, Schulz®) e a temperatura e a radiação da superfície da água foram monitoradas através de dois sensores (UA-002-08, HOBO® Pendant®), dispostos aleatoriamente entre as unidades experimentais.

Na Tabela 6 estão compilados os dados de temperatura do ar na sala de experimento, além da temperatura da água e da radiação fotossinteticamente ativa nas cubas contendo as amostras biológicas.

Tabela 6 – Valores da radiação fotossinteticamente ativa (RSFA) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) e temperaturas do meio de cultivo ($^{\circ}\text{C}$) nos experimentos

Tratamento	RSFA	Temperatura do ar	Temperatura da água
Oligotrófico	88,5	24,5	24,2
Mesotrófico	83,17	24,0	23,9
Eutrófico	88,0	24,0	24

Fonte: O Autor

Para cada estado trófico, 90 espécimes (sem brotos e/ou flores) de *E. najas* foram fracionados em fragmentos de 5 cm (porção apical) e lavados com água deionizada para retirada de sedimento e comunidade perifítica aderida. Em seguida, cada fragmento foi plantado em copos plásticos (0,05 L) preenchidos com areia fina previamente calcinada em mufla (Q318M24, Quimis®) pelo período de 1 hora. 6 grupos de 10 espécimes foram distribuídos em 6 cubas, sendo que 3 delas continham somente meio de cultura e outras 3 continham meio de cultura e fitoplâncton.

Para as incubações com *Lemna* sp., em cada estado trófico, os indivíduos foram selecionados com o critério de apresentar aspectos fenológicos semelhantes e lavados cuidadosamente com água deionizada para retirada de material aderido. 6 grupos de 10 espécimes foram separados e distribuídos em 6 cubas, sendo 3 preenchidas somente com meio de cultura e outras 3 cubas preenchidas com meio de cultura e inóculo de fitoplâncton.

Assim, para cada condição de trofia, foram feitas as seguintes incubações (Figura 5):

Figura 5 - Esquema dos tratamentos utilizados nas incubações de produtores primários

Fonte: O autor

Os conteúdos de cada cuba, de acordo com as respectivas numerações foram:

- *E. najas* Controle (Cubas 1,2 e 3);
- *Lemna* sp. Controle (Cubas 7,8 e 9);
- Fitoplâncton Controle (Cubas 13, 14 e 15);
- *E. najas* + Fitoplâncton (Cubas 4, 5 e 6);
- *Lemna* + Fitoplâncton (Cubas 10, 11 e 12);

Para a discussão do trabalho, os conjuntos formados pelas tréplicas das cubas e seus respectivos conteúdos (amostras biológicas e meio de cultura), foram tratados como unidade experimental.

4.3.3. Amostragens e análises

Em dias previamente selecionados (1, 5, 10, 20 e 30) foram realizadas coletas de 60 mL da água dos experimentos para análises físico-químicas e biológicas.

As metodologias adotadas foram escolhidas visando a menor oneração possível do volume das incubações e estão descritas na Tabela 7. As amostras para análise de nutrientes dissolvidos foram filtradas em membrana com porosidade de 0,6 μ m (GF-3/M&N®) e congeladas até o momento das análises. A quantificação de clorofila-*a* foi feita no mesmo dia da coleta pelo método da fluorimetria em fluorímetro (10-AU Turner Designs®).

Tabela 7 – Análises das variáveis físicas e químicas do meio de cultura dos experimentos

Variável	Unidade	Método	Referência
N-NO₃⁻	mg L ⁻¹	4500-NO ₃ ⁻ B	APHA (2005)
NH₄⁺	µg L ⁻¹	Espectofotométrico	Koroleff (1976)
P-PO₄⁻³	µg L ⁻¹	4500-P E	APHA (2005)
pH		Potenciométrico	pHmetro (TEC-2mp Tecnal®)

Fonte: O Autor

As amostras para contagem do fitoplâncton foram armazenadas em frascos âmbar com lugol 1%. A quantificação e qualificação da comunidade fitoplanctônica das incubações, foi feita a partir do método de sedimentação com câmara de Utermöhl (1958) utilizando microscópio óptico invertido (CK2 Olympus®) em aumento de 400 vezes. Foi estabelecida a contagem por transecto horizontal e vertical, com um mínimo de 50 campos e sempre que possível a contagem de 100 indivíduos da espécie mais frequente (LUND et al., 1958) ou até que ocorresse a estabilização da curva de espécies, isto é, a ausência de novas espécies por 10 campos consecutivos (SANT'ANNA et al., 2006). Para a contagem considerou-se como um indivíduo: organismos unicelulares, filamentos e colônias de cianobactéria.

O cálculo da densidade total foi feito segundo a equação 1 (APHA, 2005):

$$D = \frac{C \times At}{Af \times F \times V} \quad (1)$$

Em que:

D: densidade total (indivíduo mL⁻¹)

C: número de organismos contados

At: área total do fundo da câmara de sedimentação (mm²)

Af: área do campo de contagem (mm²)

F: número de campos contados

V: volume de amostra sedimentada (mL)

Adotou-se como sistema de classificação, a categorização de classes proposta por Round (1965; 1971) e para os gêneros, principalmente, o proposto no trabalho de Bicudo e Mezenes (2017). Para a identificação das espécies foram utilizados diversos trabalhos como: Anagnostidis e Komarék (1986, 1988, 1998); Aquino et al. (2016); Araujo (2016); Bicudo e Menezes (2017); Castro, Bicudo e Bicudo (1991); Bicudo et al.(2003); Bicudo e Pereira (2003); Felisberto e Rodrigues (2008); Godinho, González e Bicudo (2010); Martins (2014); Menezes e Bicudo (2008); Sant'anna et al.(2004); Ramos et al. (2012) entre outros.

Aproximadamente 20 organismos de cada espécie foram medidos (comprimento e largura), para a determinação da biomassa fitoplancônica por biovolume. Assim, a partir dos valores calculados da densidade e dos volumes das formas representativas de cada organismo, foi feito o cálculo do biovolume para cada espécie de acordo com a Equação 2:

$$\text{Biovolume} = V \times D \quad (2)$$

Em que:

Biovolume ($\text{mm}^3 \text{ L}^{-1}$)

D: densidade total (indivíduo mL^{-1})

V: volume médio

Para discussão dos resultados, optou-se por utilizar os grupos dominantes ou abundantes em termos de densidade. Foram consideradas dominantes as espécies com densidade acima de 50% da densidade total da amostra e as abundantes aquelas com densidade acima do valor médio da densidade total (de todas as espécies juntas) da amostra (LOBO; LEIGHTON, 1986).

A velocidade máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) do fitoplâncton, foi calculada pela Equação 3:

$$\mu_{\text{máx}} = \frac{\ln \frac{X}{X_0}}{t - t_0} \quad (3)$$

Em que:

X: biovolume final da fase exponencial ($\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$)

t: tempo final da fase exponencial (dia)

X_0 : biovolume inicial da fase exponencial ($\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$)

t_0 : tempo inicial da fase exponencial (dia)

Em intervalos predeterminados (dias 5, 10, 15, 20, 25 e 30) também foram feitas as medições no comprimento dos caules das macrófitas submersas e a contagem do número de indivíduos das macrófitas flutuantes. Tais medidas foram respectivamente utilizadas para o ajuste das curvas de crescimento e determinação da taxa de crescimento relativo de *E. najas* e *Lemna* sp. aplicadas em uma regressão linear com algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt descrita em PRESS et al. (1993), conforme a Equação 4 a seguir:

(4)

$$\frac{dN}{dt} = \mu N \left(1 - \frac{N}{K}\right)$$

Em que:

N: comprimento (cm) ou nº de indivíduos

K: comprimento máximo (cm) ou nº máximo de indivíduos

μ : constante de crescimento

t: tempo (dia)

Por fim, no 30º dia as macrófitas foram retiradas das unidades amostrais, medidas e contabilizadas e, em seguida, secas em estufa (40 °C) até peso constante para determinação dos estoques de nutrientes e carbono dos seus tecidos de acordo com os mesmos métodos descritos para quantificação de nutrientes das macrófitas coletadas em campo (Tabela 3). Até que fossem feitas as análises, o material foi moído em moinho (SL 035 Solab®) e armazenado em tubos Falcon®.

4.4. Análise dos dados

Os dados foram testados para normalidade e homogeneidade e, de acordo com os resultados, foram aplicados testes não paramétricos (Teste de Mann-Whitney e Teste de Kruskal Wallis) usando nível de significância de 0,05. Foram utilizados os softwares Statistica® 7.0 e Origin® 2018 64-Bit.

Para os testes estatísticos das macrófitas, optou-se por utilizar os dados gerados pelo modelo da curva de crescimento simulada, pois os coeficientes de determinação (R^2) foram quase sempre maiores que 0,9.

5. Resultados e discussão

5.1. Caracterização da água e do sedimento do local de amostragem

Os valores médios das variáveis físicas e químicas da água das 3 coletas realizadas no local de amostragem estão compilados na Tabela 8.

O potencial hidrogênio iônico foi estável durante as três coletas e apresentou valores próximos da neutralidade. Os valores encontrados foram similares aos registrados por Luzia (2004), tanto para o reservatório de Ibitinga quanto para o rio Jacaré-Pepira. Os valores de salinidade e pressão atmosférica também não variaram entre as 3 coletas.

A concentração de oxigênio dissolvido aumentou da coleta realizada em abril ($0,93 \text{ mg L}^{-1}$) para a coleta feita em junho ($5,42 \text{ mg L}^{-1}$).

A temperatura variou de acordo com a sazonalidade, sendo o maior valor registrado ($25,0^{\circ}\text{C}$) no mês de abril (início do outono) e o menor ($19,2^{\circ}\text{C}$) no início do inverno em junho de 2018.

Verificou-se também que a condutividade elétrica de todas as coletas variou entre 41 e $51 \mu\text{S cm}^{-1}$. Outros estudos (VIEIRA; MOURA; FERREIRA, 2005) descreveram valores de condutividade entre $126 \mu\text{S cm}^{-1}$ e $158 \mu\text{S cm}^{-1}$ para a mesma região em períodos de seca e chuvoso, respectivamente.

A concentração de sólidos suspensos totais (SST) variou entre 25 mg L^{-1} e 21 mg L^{-1} entre as coletas realizadas em abril e junho e os valores foram, aproximadamente, 40% mais elevados do que o maior valor registrado para a região do reservatório de Ibitinga em 2014 ($14,5 \text{ mg L}^{-1}$) (CAIRO et. al, 2017). Essa variação possivelmente explica a diminuição da turbidez da água de abril (12,7 NTU) para junho (9,5 NTU).

De forma geral, quando comparados os valores registrados entre 1989 e 1990 por Vieira et al. (2002) e os valores determinados durante o período da presente pesquisa, tanto para a região que antecede a foz do rio Jacaré-Pepira quanto para o reservatório de Ibitinga, ocorreram aumentos nas concentrações de todos os nutrientes da série nitrogenada e de fósforo total e ortofosfato. Um exemplo é a concentração de nitrato que foi $0,00012 \text{ mg L}^{-1}$ no período de seca em 1989/1990 e, no mesmo período de 2018, a menor concentração desse nutriente foi de $0,54 \text{ mg L}^{-1}$. Um estudo realizado para o período de seca, em junho de 2001, registrou a concentração média de nitrato de $5,58 \text{ mg L}^{-1}$ no reservatório de Ibitinga (CAVENAGHI, 2003). Atualmente, esse reservatório é circundado por plantações de cana de açúcar (CAIRO et al., 2017) e supõe-se que com o decorrer do tempo, a área de alagamento

entre o rio Jacaré-Pepira e o reservatório de Ibitinga, tem sido alvo de diferentes aportes de nutrientes, que escoam das áreas plantadas pelas chuvas.

Tabela 8 – Média e desvio padrão dos valores do potencial Hidrogeniônico (pH), Saturação de Oxigênio Dissolvido na Água (% OD), Oxigênio Dissolvido (OD) (mg L⁻¹), Condutividade Elétrica (C.E.) (μS cm⁻¹), Sólidos Suspensos Totais (STT) (mg L⁻¹), Salinidade (Salin.) (psu), Turbidez (Turb.) (NTU), Temperatura (Temp.) (°C); Pressão Atmosférica (Pres.Atm.) (psi); Radiação Subaquática Fotossinteticamente Ativa (RSFA) (μmol m⁻²s⁻¹), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) (μg L⁻¹), Amônio (N-NH₄⁺) (μg L⁻¹), Nitrito (N-NO₂⁻) (μg L⁻¹), Nitrato (N-NO₃⁻) (mg L⁻¹), Fósforo Total (PT) (μg L⁻¹), Fósforo Total Dissolvido (PTD) (μg L⁻¹), Ortofosfato (P-PO₄³⁻) (μg L⁻¹) e Silicato (SiO₃²⁺) (mg L⁻¹) do local de coleta nos três meses de amostragem

Variáveis Físicas e Químicas da Água																		
Mês	pH**	%OD	OD	C.E.	STT	Salin.	Turb.	Temp.	P. A.	RSFA	NTK	N- NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	PT	PTD	P- PO ₄ ³⁻	SiO ₃ ²⁺
										*	*							+
Abril	7,21	12,1	0,93	51	25	0,02	12,7	25,31	14,01									
		±2,3	±0,16	±0,0	±0,5	±0,0	±1,67	±0,05	±0,0	580	126,6	±0,07	±0,23	±0,04	±1,49	±1,38	±0,19	±0,0
Maio	7,52	32,5	2,63	42	21	0,02	12,3	22,82	14,07									
		±0,5	±0,04	±0,0	±0,0	±0,0	±0,06	±0,01	±0,0	304	507,3	±0,87	±0,24	±0,01	±4,88	±0,54	±0,94	±0,1
Junho	7,48	60,5	5,42	41	21	0,02	9,5	19,2	14,06									
		±2,3	±0,25	±0,58	±0,6	±0,0	±1,03	±0,12	±0,0	828	124,3	±2,65	±0,49	±0,01	±4,95	±0,60	±0,23	±0,2

Fonte: O Autor

*Os desvios não foram apresentados, pois as análises foram feitas sem réplicas.

**Não houve desvio

Tabela 9 – Concentrações médias e desvio padrão de clorofila-*a* (μg L⁻¹), densidades (indivíduo mL⁻¹) e biovolume (mm³ L⁻¹) das comunidades fitoplanctônicas do local de coleta nos três meses de amostragem

Variáveis	Coleta 1/Abril	Coleta 2/Maio	Coleta 3/Junho
Clorofila-<i>a</i>	2,3 ± 0,47	3,45 ± 0,71	8,3 ± 2,99
Densidade fitoplanctônica	1198	687	476
Biovolume fitoplâncton	0,61	0,25	0,33

Fonte: O Autor

Em relação à comunidade fitoplanctônica, em abril ocorreu a maior densidade e biovolume do fitoplâncton entre as três coletas realizadas (Tabela 9) e os organismos identificados na amostra foram: *Ankistrodesmus falcatus*, *Coelomonas tropicalis*, *Cryptomonas* spp., *Lepocinclis* spp., *Mallomonas mangofera*, *Pseudanabaena limnetica*, *Synechocystis aquatilis* e *Trachelomonas* spp.

Na coleta realizada no mês de maio, os táxons presentes na amostra do ambiente foram: *Cryptomonas* spp., *Jaaginema geminatum*, *Mallomonas mangofera*, *Monoraphidium irregulare*, *Ochromonas danica*, *Trachelomonas curta* e *Westella botryoides*.

Em junho, foi o período com a menor densidade fitoplanctônica (476 ind mL⁻¹) (Tabela 9). A comunidade encontrada no banco de macrófitas foi composta por: *Chlamydomonas* spp., *Cryptomonas* spp., *Frustulia* sp. e *Ochromonas danica*.

No que diz respeito às variáveis mensuradas no compartimento sedimento (Tabela 10), a concentração de nitrogênio do sedimento no mês de junho foi, aproximadamente, 30% menor do que as concentrações determinadas para os meses de abril e maio. Além disso, houve uma redução de aproximadamente 50% da concentração de carbono na coleta de junho quando comparada com as encontradas nas coletas de abril e maio.

Tabela 10 – Conteúdo de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N g}^{-1}$) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P g}^{-1}$) do sedimento nos três meses de amostragem

Coleta	% de C	NTK	PT
Abril	6	2400	1,52
Maio	6	2360	1,52
Junho	3	1690	1,58

Fonte: O autor

5.2. Análises nos experimentos

5.2.1. Experimentos controles

5.2.1.1. Comunidade fitoplanctônica

Na Figura 6, são apresentadas as densidades das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem interação com as macrófitas, nos diferentes estados tróficos simulados. Aplicando-se análises estatísticas, houve diferença significativa da densidade da comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica quando comparada aos valores encontrados para as condições mesotrófica ($p = 0,006$) e eutrófica ($p < 0,001$). Nos apêndices A, B e C, são apresentadas as tabelas de densidades das comunidades fitoplanctônicas determinadas para cada condição trófica.

Na condição oligotrófica foi observado um decaimento da densidade celular do primeiro até o décimo dia de experimento. Em decorrência da degradação das microalgas, sustentada pela queda da densidade celular, possivelmente houve liberação de fósforo na coluna d'água, a qual resultou na inversão do comportamento da biomassa fitoplanctônica, em termos de densidade celular, a partir do vigésimo dia de experimento quando a comunidade voltou a atingir aproximadamente o mesmo valor inicial. A concentração inicial de ortofosfato no meio de cultura da condição oligotrófica ($3,3 \mu\text{g L}^{-1}$) era próxima do valor limite de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ necessários para o crescimento de microalgas (LEE; JONES-LEE, 1998), assim, era esperada a menor densidade fitoplanctônica nessa condição.

Pelo fato de haver mais fósforo disponível para assimilação, esperava-se que na condição eutrófica fossem alcançadas as maiores biomassas em termos de densidade fitoplanctônica (CROSSETI; BICUDO, 2005), porém não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os estados mesotrófico e eutrófico ao longo do tempo. Os resultados indicam que, possivelmente, na condição mesotrófica, as concentrações de nutrientes foram suficientes para o crescimento do fitoplâncton, isto é, não houve limitação nutricional para as microalgas.

Figura 6 – Densidades das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão

Fonte: O autor

Na Figura 7, são apresentadas as abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas que cresceram sem a presença das macrófitas nos diferentes estados tróficos. Na condição oligotrófica (Figura 7), as classes Cryptophyceae e Chrysophyceae foram dominante e abundante, respectivamente, no dia 1 do experimento. A representatividade desses grupos pode ser justificada pelas suas estratégias de sobrevivência, como a produção de fosfatases pelas crisofíceas e pelo comportamento de mixotrofia de criptofíceas, em ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes (MOORTHY et al., 2017; CROSSETTI; BICUDO, 2005).

Na condição mesotrófica (Figura 7), a classe Cyanobacteria em quatro dos cinco dias amostrais. Esse grupo apresenta uma série de estratégias de sobrevivência como a produção de compostos aleloquímicos, a resistência à sedimentação e a presença de pigmentos acessórios (LÜRLING et al., 2013; SCHWADERER et al., 2011). A produção de aleloquímicos tem efeitos inibitórios e estimulantes, sendo um dos efeitos estimular o crescimento de outras cianobactérias, entre as quais *Pseudanabaena* spp. (SUIKKANEN; FISTAROL; GRANÉLI, 2005), o táxon que foi mais abundante na condição mesotrófica.

O gráfico da condição eutrófica (Figura 7), evidencia que entre os dias 5 e 30, Chlorophyceae foi a classe mais representativa da comunidade fitoplanctônica, sendo dominante em dois dos cinco dias amostrais. Entre os táxons mais descritivos da classe, durante o experimento, observou-se *Monoraphidium* que é um grupo característico de ambientes ricos em nutrientes (O'Farrel et al., 2011).

Figura 7 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas nos estados oligotrófico (OLI), mesotrófico (MES) e eutrófico (EUT)

Fonte: O autor

A Figura 8 apresenta a biomassa fitoplanctônica da condição controle em termos de biovolume e concentração de clorofila-*a*. Na condição oligotrófica foram registrados os menores valores de ambas as variáveis biológicas, quando comparados às condições mesotrófica e eutrófica. Entre os estados oligotrófico e eutrófico, houve diferença significativa entre os valores do biovolume celular ($p = 0,003$) e das concentrações de clorofila-*a* ($p < 0,001$). Essas diferenças refletem a densidade da comunidade fitoplanctônica ter sido menor na condição oligotrófica que na condição eutrófica. Uma possível inferência dos resultados é que a manutenção temporal da abundância dos organismos durante o experimento esteja relacionada com o acúmulo de maior concentração de fósforo pela comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica (HECKY; KILHAM, 1988).

Assim como a densidade, os biovolumes das condições mesotrófica e eutrófica não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). As concentrações de clorofila-*a*, por sua vez, foram significativamente maiores no estado eutrófico do que no mesotrófico ($p < 0,001$). O pico do biovolume no tratamento eutrófico no dia 20 se deu pela composição da estrutura da comunidade fitoplanctônica formada por diferentes táxons e de variados tamanhos como:

Dimorphococcus lunatus, *Frustulia* sp., *Gonatozygon monotaenium*, *Microcystis* sp., *Monoraphidium* spp., *Planktosphaeria gelatinosa*, entre outras. No tratamento mesotrófico, por sua vez, houve a dominância de pequenos filamentos de *Pseudoanabaena* sp. (volume celular na condição mesotrófica = $15,5 \mu\text{m}^3$).

Figura 8– (a) Biovolume e (b) concentração de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

Na Tabela 11, são apresentadas as taxas de crescimento máximo do fitoplâncton nos diferentes tratamentos estudados. Observou-se uma resposta positiva das microalgas em relação a maior disponibilidade inicial de ortofosfato na condição eutrófica, na qual a taxa de crescimento foi 23% e 69% maior que nas condições oligotrófica e mesotrófica, respectivamente.

Tabela 11- Taxa de crescimento máximo ($\mu_{\text{máx}}$) (d^{-1}) das comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos

Tratamento	$\mu_{\text{máx}}$
Oligotrófico	0,10
Mesotrófico	0,04
Eutrófico	0,13

Fonte: O Autor

Na Figura 9, podem ser observadas as concentrações de ortofosfato nas unidades experimentais contendo as comunidades fitoplactônicas sem as macrófitas nos diferentes estados tróficos. Devido aos diferentes estados de trofia, inicialmente, as unidades experimentais continham diferentes concentrações de ortofosfato. No primeiro dia, na condição eutrófica, observou-se uma concentração 5 vezes menor do que a inicial e, na condição mesotrófica, a concentração do dia 0 para o dia 1, foi de $8,8 \mu\text{g L}^{-1}$ para $4,5 \mu\text{g L}^{-1}$, aproximadamente metade da concentração inicial. A partir do quinto dia, os valores nos três tratamentos mantiveram um padrão e variaram entre $2,0$ e $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim, embora fossem diferentes no início dos experimentos, ao longo do tempo, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) das concentrações de ortofosfato nas unidades experimentais das comunidades fitoplanctônicas controles.

Figura 9- Concentrações médias de ortofosfato (P-PO_4^{3-}) do meio de cultura com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Devido à diferença na concentração de nitrogênio total presente no inóculo do fitoplâncton, as concentrações de nitrato das unidades experimentais contendo somente as comunidades fitoplanctônicas foram diferentes no dia 0 entre as simulações dos três estados tróficos. Na figura 10, nota-se que as concentrações no dia 0 foram similares entre os estados mesotrófico e eutrófico ($0,64 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,61 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente). No estado oligotrófico, a concentração de nitrato inicial foi $0,46 \text{ mg L}^{-1}$ e a partir do dia 10, ela permaneceu estável até o final do experimento.

Analisando-se estatisticamente as variações das concentrações de nitrato, identificou-se que os valores determinados no estado mesotrófico diferiram significativamente das concentrações nos estados oligotrófico ($p > 0,001$) e eutrófico ($p = 0,014$). Na condição mesotrófica, ocorreu um aumento da concentração de nitrato no décimo dia de experimento e embora não se possa afirmar o motivo dessa ocorrência, destaca-se como possibilidade a decomposição de microalgas e liberação do íon na água (CROSSETTI; BICUDO, 2005).

As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 10 – Concentrações médias de nitrato (N-NO_3^-) do meio de cultura com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Os resultados obtidos em relação ao efeito dos diferentes estados tróficos no fitoplâncton indicam que a disponibilidade de nutrientes afetou tanto a composição, quanto a biomassa da estrutura dessas comunidades. A menor densidade celular observada na condição oligotrófica, corrobora os resultados de uma pesquisa realizada em campo simulando o empobrecimento de nutrientes no ambiente (CROSSETTI; BICUDO, 2004). Os autores verificaram que a densidade do fitoplâncton diminuiu do estado eutrófico para o oligotrófico e que o fator limitante foi a disponibilidade de fósforo para assimilação.

Na Tabela 12, estão compilados os dados temporais das razões N:P nas unidades experimentais contendo somente as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados

tróficos. Considerando que as respostas do fitoplâncton são espécie-específicas (LITCHMAN, 2000), nesta pesquisa também pode-se afirmar que a concentração inicial de fósforo foi limitante para o crescimento da comunidade fitoplanctônica. Tal afirmação é sustentada pelo fato de que a razão N:P sempre foi maior que 16:1, que é a razão constata de nutrientes requerida pelo fitoplâncton (REDFIELD, 1958). A partir desse valor, o fósforo deve ser o primeiro fator limitante responsável pela resposta do fitoplâncton no ambiente em questão (REDFIELD, 1958).

Tabela 12 - Razões N:P do meio de cultura das cubas com as comunidades fitoplanctônicas nos diferentes estados tróficos

Tempo (Dia)	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
0	253:1	163:1	38:1
1	287:1	221:1	121:1
5	246:1	202:1	298:1
10	171:1	272:1	390:1
20	263:1	311:1	319:1
30	278:1	424:1	215:1

Fonte: O autor

5.2.1.2. *E. najas*

Na Figura 11, são apresentadas as curvas de crescimento da macrófita *E. najas* nos experimentos controles, ou seja, sem a presença da comunidade fitoplancônica, nos três estados tróficos simulados. O crescimento da macrófita *E. najas* apresentou diferença significativa entre as três condições nutricionais ($p < 0,001$). Na tabela 12 estão apresentados os valores parametrizados pelo modelo de crescimento da macrófita, a partir dos dados obtidos durante os experimentos, e as concentrações de nutrientes teciduais de *E. najas*. As concentrações de nutrientes teciduais da macrófita no início dos experimentos, foram assumidos como iguais aos valores determinados para as macrófitas das coletas.

E. najas apresentou um gradiente de plasticidade fenotípica, em termos de taxa de crescimento (μ), em relação a disponibilidade de ortofosfato sendo o maior valor determinado na condição eutrófica e que foi 2,7 vezes maior que o μ obtido na condição oligotrófica e 1,8 vezes maior que o μ determinado na mesotrófica. Em contraste ao observado para μ , no que diz respeito ao crescimento máximo, na condição mesotrófica, *E. najas* alcançou 12,30 cm, que foi 1,3 e 1,5 vezes maior do que os valores registrados nas condições oligotrófica e eutrófica, respectivamente (Tabela 12). Portanto, a maior disponibilidade de nutrientes na condição eutrófica, assumida como uma situação de estresse, estimulou o rápido crescimento (μ) de *E. najas*, mas afetou negativamente o alongamento máximo da macrófita (BOTTINO et al., 2017), o que pode ser um indicativo de uma estratégia de crescimento, descrita para macrófitas submersas invasoras, em que a macrófita apresenta a capacidade de se manter no ambiente embora as condições não sejam favoráveis para o seu crescimento (FASOLI et al., 2018; RICHARDS et al., 2006).

Em relação à composição química do tecido das macrófitas, os valores determinados para *E. najas* no início dos experimentos foram similares aos encontrados na literatura para os teores de carbono, nitrogênio e fósforo (CORRÊA; VELINI; ARRUDA, 2003). As concentrações de todos os componentes determinados no final de cada experimento foram similares entre os três estados tróficos (Tabela 13) e, de forma geral, os valores foram menores do que as concentrações de nutrientes teciduais iniciais. Os resultados sugerem que nas simulações dos estados oligotrófico e mesotrófico, os espécimes de *E. najas* utilizaram seus estoques de nutrientes para a manutenção do crescimento durante os experimentos e que os nutrientes obtidos do meio de cultura através das folhas não foram suficientes (GRANÉLI; SOLANDER, 1988; MADSEN; CEDERGREEN, 2002). Na condição eutrófica, a menor

variação da concentração de fósforo total no tecido de *E. najas* ocorreu, provavelmente, em virtude do menor crescimento da macrófita nesse estado trófico e da maior disponibilidade do nutriente no início dessa condição. Nos estados oligotrófico e eutrófico, constatou-se que houve perda de 1,5% de biomassa da macrófita.

Figura 11 - Curvas de crescimento de *E. najas* nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão dos comprimentos dos espécimes (n=30)

Fonte: O autor

Tabela 13 – Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N g^{-1} M. S.) e fósforo total (PT) (mg-P g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de *E. najas* no início e no final dos experimentos dos diferentes estados tróficos

Variável	Início			Final		
	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
Taxa de Crescimento	-	-	-	0,17	0,26	0,46
Crescimento Máximo	-	-	-	9,63	12,30	7,94
R^2	-	-	-	0,968	0,957	0,980
% de C	35	35	34,5	33,5	35	33
NTK	28,20	23,52	25,54	20,50	21,30	19,84
PT	5,76	4,14	3,88	3,92	3,19	3,56

Fonte: O Autor

Como pode ser visto na Figura 12, embora as concentrações iniciais de ortofosfato no meio de cultura fossem diferentes, no primeiro dia dos experimentos observou-se redução dos valores e as concentrações não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) entre os estados tróficos. A concentração inicial de nitrato foi igual nos três experimentos e não houve diferença temporal ($p > 0,05$). As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 12 – Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) do meio de cultura das cubas de *E. najas* nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O autor

Assim como outros estudos com *E. najas* (BINI et al., 1999) e *E. densa* (PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA, 2004), a presente pesquisa também obteve os maiores valores de crescimento da macrófita submersa, em termos de alongamento do caule, nos estados com baixas disponibilidades de nutrientes (mesotrófico e oligotrófico) conferindo um eficiente desempenho de *E. najas* em condições em que a única fonte de nutrientes foi a coluna d'água com baixos teores de fósforo. Thomaz et al. (2007) ao investigarem o crescimento de *E. najas* em diferentes concentrações de nutrientes no sedimento, constataram que o crescimento da macrófita não foi inibido pela baixa disponibilidade dos nutrientes na água e nem no sedimento. Além disso, a macrófita apresentou rápido crescimento ($\mu = 0,26 \text{ dia}^{-1}$), evidenciando que assim como *E. densa*, *E. najas* é uma espécie com capacidade de ocupação de grandes áreas em curtos períodos de tempo (PISTORI; CAMARGO; HENRY-SILVA, 2004).

5.2.1.3. *Lemna* sp.

Na Figura 13, são apresentadas as curvas de crescimento de *Lemna* sp., as quais foram estatisticamente diferentes entre os três estados tróficos simulados ($p < 0,001$). Na Tabela 14, estão apresentados os dados referentes ao crescimento máximo, às taxas de crescimento e às concentrações iniciais e finais de nitrogênio, fósforo e carbono teciduais da macrófita livre flutuante. Do mesmo modo que outros estudos relacionaram a dominância de *Lemna* sp. em ambientes que tiveram o aumento de fósforo dissolvido na coluna d'água (PORTIELJE; ROIJACKERS, 1995; BINI et al., 1999), na presente pesquisa a macrófita apresentou o maior valor de crescimento máximo, em número de indivíduos, na condição eutrófica (114 indivíduos) e foi quase 2 vezes maior que o valor determinado na condição oligotrófica e quase 3 vezes maior que o encontrado na mesotrófica.

Figura 13 – Curvas de crescimento de *Lemna* sp. nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=3$)

Fonte: O Autor

Na condição eutrófica, a macrófita livre flutuante apresentou o menor valor da taxa de crescimento relativo ($\mu = 0,19 \text{ dia}^{-1}$). Apesar de não ter ocorrido cobertura total da superfície da água nas cubas com a população de *Lemna* sp. na condição eutrófica, é possível que a menor taxa de crescimento esteja relacionado com o aumento na densidade populacional que resulta na competição intraespecífica por espaço (DRIEVER; NES; ROIJACKERS, 2005).

Espécies pertencentes à família Lemnaceae são descritas na literatura por apresentar a capacidade de armazenar fósforo que, posteriormente, pode ser utilizado para o crescimento quando o nutriente não estiver disponível no ambiente (GÉRARD; TRIEST, 2014). No início

dos experimentos das condições oligotrófica e mesotrófica, os espécimes de *Lemna* sp. apresentaram concentrações de fósforo tecidual de, aproximadamente, 3 mg-P g⁻¹ M.S.. Com esse resultado, pressupõe-se que os organismos estavam sendo cultivados em ambiente com concentrações baixas do nutriente, considerando que o estoque tecidual reflete a disponibilidade do mesmo no ambiente (KUFEL et al. 2012; PEETERS; NEEFJES; ZUIDAM, 2016). O acúmulo de fósforo no tecido da macrófita no final dos experimentos dos estados oligotrófico e mesotrófico, corrobora a capacidade de recuperação desses organismos e indicam que as concentrações de fósforo nas quais os espécimes foram cultivados eram menores do que as propostas pela presente pesquisa (PEETERS; NEEFJES; ZUIDAM, 2016). Como observado em outros estudos, a recuperação de macrófitas flutuantes após a alteração do tipo de ambiente, é mais lenta em virtude do aumento da concentração de fósforo, o que explica o menor crescimento máximo alcançado pela macrófita na condição mesotrófica quando comparado com o crescimento máximo no estado oligotrófico (PEETERS; NEEFJES; ZUIDAM, 2016). Concomitantemente, o menor crescimento e a recuperação da macrófita do estresse causado pela baixa disponibilidade de fósforo, também diminui sua necessidade por nitrogênio (GÉRARD; TRIEST, 2014), como mostram os resultados do aumento e manutenção da concentração de nitrogênio tecidual de *Lemna* sp. nas condições oligotrófica e mesotrófica, respectivamente.

Na condição eutrófica, por sua vez, as concentrações de ambos os nutrientes, fósforo e nitrogênio teciduais, diminuíram do início para o fim do experimento em virtude do crescimento da macrófita, evidenciando a mobilização da reserva de nutrientes (KUFEL et al., 2012).

Tabela 14 - Taxas de crescimento (μ) (dia⁻¹), crescimento máximo (nº de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio (NTK) (mg-N g⁻¹ M. S.) e fósforo (PT) (mg-P g⁻¹ M. S.) nos tecidos dos espécimes de *Lemna* sp. no início e no final dos experimentos dos diferentes estados tróficos

Variável	Início			Final		
	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
Taxa de Crescimento	-	-	-	0,26	0,30	0,19
Crescimento Máximo	-	-	-	58	39	114
R²	-	-	-	0,957	0,939	0,996
% de C	35,5	35,5	36	35,5	37	35
NTK	9,23	28,59	31,84	13,97	28,68	26,07
PT	3,11	3,03	6,51	6,25	4,32	5,74

Fonte: O Autor

Na Figura 14, são apresentadas as concentrações de ortofosfato e nitrato nas unidades experimentais contendo somente a macrófita livre flutuante nos experimentos simulando os três estados tróficos. As concentrações de ortofosfato, a partir do dia 1, não variaram temporalmente e ficaram abaixo de $5\mu\text{g L}^{-1}$ até o último dia dos experimentos. Analisando-se estatisticamente os dados, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) da disponibilidade do nutriente no decorrer dos experimentos.

Em relação às concentrações de nitrato, entre os estados mesotrófico e oligotrófico, houve diferença significativa ($p = 0,03$) da variação temporal do nutriente que pode estar associado com a redução dele a próximo de 0 mg L^{-1} , no quinto dia de experimento na condição mesotrófica. Pelo gráfico da figura 14, supõe-se que a macrófita tenha assimilado, aproximadamente, a mesma quantidade do nutriente nos três estados tróficos.

As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 14 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) do meio de cultura das cubas com *Lemna* sp. nos diferentes estados tróficos. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

5.2.2. Experimento de interação: Fitoplâncton e Macrófita Submersa

5.2.2.1. Condição Oligotrófica

Os dados de densidade, biovolume e concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas com e sem interação com a macrófita *E. najas* são apresentados nas Figuras 15 e 16, respectivamente. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os valores encontrados para as três variáveis biológicas ($p > 0,05$). Com exceção do décimo dia de experimento, nos outros dias amostrais as densidades das comunidades das duas condições apresentaram um comportamento similar, com redução na densidade nos dias 1 e 5 dos experimentos e aumento nos dias 20 e 30. No apêndice A pode ser consultada a lista com os dados das densidades fitoplanctônicas determinadas durante o experimento.

No vigésimo dia em que a comunidade de microalgas cresceu em interação com a macrófita submersa, constatou-se uma elevada concentração de clorofila-*a* ($6 \mu\text{g L}^{-1}$) que pode ser explicado pela eventual ocorrência de agregados de filamentos algais durante a determinação do pigmento.

No trigésimo dia de experimento, o biovolume da comunidade na condição controle, isto é, sem a macrófita submersa, foi 3 vezes maior do que na interação. Essa diferença pode ser explicada pela presença de táxons como *Navicula* sp. e *Golenkiniopsis longispina* na condição controle, enquanto na interação com a macrófita, o biovolume foi representado principalmente por pequenos filamentos de *Anabaenopsis* sp. Destaca-se que Jasser (1995), ao averiguar o impacto de macrófitas submersas e seus extratos na comunidade fitoplanctônica em experimentos de campo e laboratório, sugeriu que em alguns casos a presença de macrófitas submersas afetou principalmente a composição da estrutura da comunidade fitoplanctônica, o que pode refletir também na diferença de biovolume celular, enquanto que na densidade das microalgas o impacto eventualmente foi menor. A força da interação com a macrófita também foi percebida entre as taxas de crescimento máximo (μ) (Figura 16) das comunidades fitoplanctônicas que foi maior na condição em que *E. najas* estava ausente.

Figura 15 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas com *E. najas* (Interação) e sem *E. najas* (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

Figura 16 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

Na figura 17, são apresentadas as abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas das unidades experimentais com e sem a macrófita. Na condição controle (sem a macrófita), as classes Bacillariophyceae e Trebouxiophyceae foram mais representativas que no tratamento com a macrófita. Supõe-se que a diferença na composição das comunidades

fitoplanctônicas nos dois tratamentos, além de decorrer da competição por nutrientes, foi decorrente da supressão de algumas classes fitoplanctônicas por mecanismos alelopáticos, conforme já foi demonstrado em outros estudos realizados com *E. densa* (VANDERSTUKKEN et al., 2011). Além disso, segundo Hilt e Gross (2007), o grupo Bacillariophyceae é mais facilmente inibido por compostos produzidos por macrófitas do que outros grupos de microalgas. A classe Trebouxiophyceae, representada nessa condição pela espécie *Golenkiniopsis longispina* também parece ter sido inibida de alguma forma pela macrófita submersa, pois foi um dos grupos mais abundantes no tratamento controle em dois dos cinco dias amostrais.

No vigésimo dia de experimento, a classe Zygnemaphyceae foi abundante nos dois tratamentos. Como já descrito em outros trabalhos, ambientes oligotrófico e mesotrófico são favoráveis para o crescimento de espécies dessa classe (CROSSETTI; BICUDO, 2005; FERRAGUT et al., 2005) que também pode ter sido favorecida pela supressão de outras classes fitoplanctônicas.

Figura 17 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram com *E. najas* (I) e sem *E. najas* (C) na condição oligotrófica

Fonte: O autor

A Figura 18 apresenta os dados referentes às concentrações de ortofosfato e nitrato nas unidades experimentais das duas condições de crescimento das comunidades fitoplanctônicas, em interação e sem interação com a macrófita submersa, no estado oligotrófico. As concentrações de ambos os nutrientes foram significativamente menores ($P-PO_4^{3-} p = 0,004$; $N-NO_3^- p < 0,001$) na condição em que a macrófita estava presente. As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

As concentrações de nitrato na condição de interação entre a comunidade fitoplanctônica e *E. najas* estiveram acima do limite mínimo de $0,015 \text{ mg-N L}^{-1}$ requerido para o crescimento de microalgas. Porém, o mesmo não ocorreu com as concentrações de fósforo que, por sua vez, estiveram abaixo do limite mínimo de $3 \text{ } \mu\text{g-P L}^{-1}$ (LEE; JONES-LEE, 1998; REYNOLDS, 2006). Essa diferença de concentração de fósforo, também pode ter sido um dos fatores que conduziram a diferença da composição fitoplanctônica entre as comunidades que cresceram com e sem a macrófita, já que os gêneros fitoplanctônicos respondem de forma diferente a disponibilidade de nutrientes (MUELLER; MITROVIC, 2015).

Figura 18 - Concentrações médias de (a) ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) e (b) nitrato ($N-NO_3^-$) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas com *E. najas* (Interação) e sem *E. najas* (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Na Tabela 15 e na Figura 19 estão compilados os dados de crescimento da macrófita *E. najas* no estado oligotrófico. Observou-se que a taxa de crescimento e o crescimento

máximo de *E. najas* na condição de interação com a comunidade fitoplanctônica foram 41% e 22% maiores, respectivamente, quando comparado com os valores obtidos para a macrófita que cresceu sem interação com o fitoplâncton. Análises estatísticas também mostraram que o crescimento da macrófita na presença das microalgas diferiu significativamente do crescimento da macrófita na ausência das microalgas ($p < 0,001$). As taxas de crescimento determinadas para *E. najas* nos dois tratamentos estiveram acima dos valores encontrados na literatura que variam entre $0,04 \text{ d}^{-1}$ e $0,05 \text{ d}^{-1}$ (BIANCHINI et al., 2015; TAVECHIO; THOMAZ, 2003; THOMAZ et al., 2007). A diferença dos valores, provavelmente, seja em virtude das condições de cultivo como disponibilidade de nutrientes e duração dos experimentos.

Segundo Bianchini et al. (2015), mudanças na taxa de crescimento relativo das plantas estão relacionadas com características metabólicas e, entre as forças que determinam o crescimento máximo, tem-se a disponibilidade de nutrientes e competição por espaço. Também é característico de *E. najas* o comportamento de investir no alongamento do caule para maximizar a absorção de luz (SOUZA; THOMAZ; MURPHY, 2010). Diante do exposto, é possível que na presença da comunidade fitoplanctônica, os produtores primários tenham competido por luz o que ocasionou no investimento da macrófita no alongamento de seu caule e investimento na taxa de crescimento. Tais constatações, indicam que a macrófita exibiu adaptações para aproveitar tanto condições favoráveis para seu crescimento (ausência de herbivoria), como também explorou sua capacidade de manter o desenvolvimento em condições estressantes, tida como a competição interespecífica com as microalgas (RICHARDS et al., 2006). Além disso, as concentrações similares de nitrogênio e fósforo teciduais da macrófita, nas duas condições de crescimento (com e sem interação com a comunidade fitoplanctônica), é um pressuposto para que a competição por nutrientes não tenha interferido na assimilação dos recursos pela macrófita, o que novamente conduz para que o fator principal de competição entre os dois grupos de produtores primários tenha sido a luminosidade.

Tabela 15 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N g^{-1} M.S.) e fósforo total (PT) (mg-P g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,17	0,29
Crescimento Máximo	-	9,63	10,87
R^2	-	0,968	0,935
% C	35	33,5	32,5
NTK	28,20	20,50	20,84
PT	5,76	3,92	3,50

Fonte: O autor

Figura 19 – Curvas de crescimento de *E. najas* sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=30$)

Fonte: O autor

Na Figura 20, são apresentadas as concentrações dos nutrientes das cubas com *E. najas* na condição controle e em interação com a comunidade fitoplanctônica. As concentrações de ortofosfato ($p > 0,05$) e nitrato ($p > 0,05$) foram similares nas duas condições. As concentrações de amônio foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise. Os resultados finais das concentrações de nutrientes no meio, somados as concentrações similares de nitrogênio e fósforo teciduais de *E. najas* nas duas condições, indicam que a força de competição por nutrientes com o fitoplâncton, não foi um fator limitante para o crescimento da macrófita.

Figura 20 – Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

5.2.2.2. Condição Mesotrófica

Na Figura 21 estão apresentadas as densidades, ao longo do tempo, da comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica em interação e sem interação com a macrófita *E. najas*. Com *E. najas*, a biomassa fitoplanctônica, em termos de densidade, apresentou constante declínio. Na condição controle, no décimo dia de experimento observou-se um aumento da densidade da comunidade de microalgas, porém, no vigésimo dia de experimento constatou-se a redução da biomassa algal. As análises estatísticas indicaram que a diferença entre as densidades do fitoplâncton na condição controle e em interação com *E. najas* não foi significativa ($p > 0,05$). A lista com os dados das densidades das comunidades fitoplanctônicas na condição controle e em interação com *E. najas* está apresentada no Apêndice B.

Figura 21 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

A Figura 22 mostra as biomassas das comunidades fitoplanctônicas, em termos de biovolume e clorofila-*a*, crescendo com e sem a macrófita submersa. Análises estatísticas indicaram que tanto para o biovolume quanto para as concentrações de clorofila-*a*, as comunidades foram similares entre si ($p > 0,05$). No que diz respeito às taxas de crescimento (μ)(dia⁻¹), Figura 22a, tem-se que na presença da macrófita, a comunidade fitoplanctônica apresentou maior valor de μ do que na ausência de *E. najas*.

Figura 22 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

Pela Figura 23, na qual são apresentadas as abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas crescendo com e sem *E. najas*, percebe-se que na condição mesotrófica, ainda que não tenha ocorrido diferença significativa entre as densidades, biovolume e clorofila-*a*, a interação com as macrófitas promoveu a alteração na composição do fitoplâncton do presente estudo, assim como descrito na literatura em experimento com outras espécies de macrófitas (JASSER, 1995). Entre os fatores que encaminham para essa diferença estão a competição por nutrientes e a produção de compostos alelopáticos.

No primeiro e no quinto dia de experimento, espécies da classe Trebouxiophyceae foram as mais representativas na condição sem a macrófita submersa, o mesmo não ocorreu no tratamento de interação. A inibição inicial do crescimento desse grupo quando houve a presença da macrófita reforça os resultados encontrados na condição oligotrófica.

Na condição de interação com a macrófita, a classe Cryptophyceae foi uma das classes mais representativas da comunidade fitoplanctônica. Esse grupo é formado por *Cryptomonas*, um gênero de algas unicelulares flageladas e oportunistas adaptadas às variações ambientais e, no ambiente natural, já mostrou não serem afetadas pela presença de macrófitas em um reservatório oligo-mesotrófico do Estado de São Paulo (BICUDO; FERRAGUT; MASSAGARDI, 2009; CROSSETTI; BICUDO, 2008). A habilidade do gênero *Cryptomonas* de coexistir no ambiente com as macrófitas pode estar relacionada com a motilidade do grupo

devido à presença de flagelos que lhes permitem explorar o ambiente em busca de recursos como nutrientes e luz (SØNDERGAARD; MOSS, 1998), além do comportamento de mixotrofia quando o ambiente é pobre em nutrientes. Ressalta-se ainda que espécies da classe Cryptophyceae sejam importantes na cadeia trófica por não possuírem toxinas e sua composição é descrita como de boa qualidade em termos de alimento para os herbívoros (BARONE; NASELLI-FLORES, 2003).

Cyanobacteria esteve presente em todos os dias de experimento dos dois tratamentos e a classe Zygnemaphyceae foi dominante nos dias 20 e 30 dos tratamentos controle e de interação, respectivamente.

Figura 23 – Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem *E. najas* (C) e com *E. najas* (I) na condição mesotrófica

Fonte: O Autor

As concentrações de nitrato e ortofosfato das unidades experimentais contendo a comunidade fitoplanctônica com e sem *E. najas* são apresentadas na Figura 24. Na condição de interação com a macrófita, as concentrações de ambos os nutrientes ficaram abaixo das concentrações determinadas na condição em que havia somente a comunidade fitoplanctônica. A partir das análises estatísticas, identificou-se que as diferenças entre as concentrações dos nutrientes nas duas condições foram significativas ($p < 0,001$). As

concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 24 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

A Tabela 16 contém os dados de crescimento e concentrações de nutrientes de *E. najas* em interação e sem interação com a comunidade fitoplanctônica. Na Figura 25, são apresentadas as curvas de crescimento da macrófita submersa na condição mesotrófica. Na condição de interação, a taxa de crescimento da macrófita foi 40% maior do que a da macrófita que cresceu sem o fitoplâncton. Além disso, o crescimento máximo na condição controle foi 12,3 cm, enquanto que na condição de interação esse valor foi de 14,2 cm, o que equivale à redução de 13 % no crescimento máximo da macrófita sem a comunidade fitoplanctônica. Essa mesma constatação foi corroborada pelas análises estatísticas que confirmaram que houve diferença significativa no crescimento de *E. najas* nas duas condições ($p < 0,001$).

Analisando-se os resultados, na presente pesquisa na condição controle, a macrófita *E. najas* cresceu lentamente e, portanto, gastou menos nutrientes do que quando estava em interação com o fitoplâncton. Em contrapartida, a macrófita em interação com a comunidade fitoplanctônica investiu no rápido crescimento com uma taxa de $0,44 \text{ dia}^{-1}$ e com menores quantidades de nutrientes teciduais, evidenciando a capacidade de adaptação de acordo com

as variáveis ambientais, que neste caso foram favoráveis pela disponibilidade de nutrientes, pois no tratamento de interação havia ainda nitrato disponível que poderia ter sido usado para assimilação pelas macrófitas, e estressantes pela presença do fitoplâncton que pode resultar na competição interespecífica pela luminosidade (BINI; THOMAZ, 2005; RICHARDS, 2006).

Tabela 16 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N.g^{-1} M.S.) e fósforo total (PT) (mg-P.g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,26	0,44
Crescimento Máximo	-	12,30	14,17
R^2	-	0,957	0,957
% de C	35	35	32,5
NTK	23,52	21,30	15,70
PT	4,14	3,19	2,69

Fonte: O autor

Figura 25 – Curvas de crescimento de *E. najas* sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=30$)

Fonte: O autor

Na Figura 26, ainda na condição mesotrófica, são apresentadas as concentrações de ortofosfato e nitrato das unidades experimentais contendo *E. najas* com e sem interação o fitoplâncton. As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Quanto às análises estatísticas, as concentrações de ortofosfato não foram diferentes ($p > 0,05$) entre as cubas controles de *E. najas* e de interação entre *E. najas* e o fitoplâncton. As concentrações de nitrato foram significativamente diferentes ($p < 0,001$) entre as duas condições, porém não é possível afirmar se houve diferença na quantidade assimilada do nutriente pelos produtores primários, ou se a diferença foi em virtude da concentração inicial de nitrato, no dia da incubação, na condição de interação conter $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ a mais do nutriente, como consequência da sua concentração no inóculo do fitoplâncton.

Figura 26 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

5.2.2.3. Condição Eutrófica

Os dados de densidade, biovolume e concentrações de clorofila-*a* do fitoplâncton na condição eutrófica nos experimentos de interação com *E. najas* e controle são apresentados nas Figuras 27 e 28, respectivamente. Em termos de densidade, o comportamento das comunidades fitoplanctônicas foi estatisticamente similar ($p > 0,05$). No apêndice C é apresentada uma lista com os dados das densidades fitoplanctônicas dos experimentos controle e de interação com a macrófita submersa.

Na Figura 28, nota-se que tanto o biovolume celular quanto a concentração de clorofila-*a* da comunidade fitoplanctônica foram maiores na condição em que não houve a presença da macrófita submersa. O aumento acentuado do biovolume determinado para os organismos fitoplanctônicos na condição controle no vigésimo dia coincide com o aumento da concentração de clorofila-*a* no mesmo dia. Ambas as diferenças de biovolume ($p = 0,012$) e concentração de clorofila-*a* ($p < 0,001$) determinados nas duas condições foram significativas. Os dados indicaram também que na presença da macrófita a taxa de crescimento (μ) (Figura 28a) da comunidade fitoplanctônica foi menor do que a taxa registrada para a comunidade fitoplanctônica controle.

Figura 27 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição eutrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Figura 28 – (a) Biovolume e (b) concentrações clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

A diferença da concentração de clorofila-*a* e biovolume podem ser explicadas pela composição das comunidades fitoplanctônicas. Na interação com a macrófita *E. najas*, a espécie dominante ou mais abundante do fitoplâncton no decorrer do experimento foi *Monoraphidium pusillum*, enquanto na condição controle, usando apenas o fitoplâncton, o maior biovolume pode ser explicado pela presença de organismos maiores como *Uronema confervicolum* var. *africana*, *Planktosphaeria gelatinosa*, *Frustulia* sp. e *Golenkiniopsis longispina*.

A abundância relativa das classes fitoplanctônicas (Figura 29), indica que o grupo mais representativo no primeiro dia do experimento foi o mesmo nos dois tratamentos e foi composto pela espécie *Monas socialis* (classe Chrysophyceae), caracterizada por apresentar taxas de crescimentos muito altas (MIELEITNER et al., 2008), podendo explicar sua presença no início do experimento.

A classe Chlorophyceae, foi a mais representativa na condição controle desde o quinto até o último dia de experimento, enquanto na condição de interação com a macrófita, a classe foi dominante nos dias 10 e 20, e no dia 30 foi parcialmente substituída por Cyanobacteria.

Assim, na presente pesquisa observou-se que quando simulado um ambiente com características eutróficas, a presença da macrófita submersa *E. najas* não alterou a densidade

da comunidade fitoplanctônica, mas ficou evidente sua influência na composição estrutural da mesma.

Figura 29 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas (a) com *E. najas* (Interação) e (b) sem *E. najas* (Controle) na condição eutrófica

Fonte: O Autor

As concentrações de ortofosfato e nitrato das unidades experimentais contendo as comunidades fitoplanctônicas na condição eutrófica, com e sem a macrófita submersa, foram similares e os resultados podem ser vistos na Figura 30. Análises estatísticas também comprovaram que não houve diferença significativa entre elas ($p > 0,05$). As concentrações de amônio estiveram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 30 – Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem *E. najas* (Controle) e com *E. najas* (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

A diferença no crescimento da macrófita submersa, na presença e ausência da comunidade fitoplanctônica, foi imperceptível pelos dados apresentados na Tabela 16. No entanto, na Figura 31 é possível perceber o crescimento inicial mais acelerado da macrófita no tratamento controle. Analisando-se estatisticamente, houve diferença entre o crescimento da macrófita com e sem a comunidade fitoplanctônica ($p = 0,001$).

Na condição controle, a concentração de nitrogênio e a porcentagem de carbono tecidual da macrófita foram maiores do que os valores encontrados na macrófita na condição de interação com as microalgas.

As concentrações de fósforo no tecido das macrófitas em ambas as condições, com e sem a comunidade fitoplanctônica, diferiram apenas $0,28 \mu\text{g-P g}^{-1}$ entre si e foram próximas da concentração tecidual do nutriente no início do experimento. Esse resultado pode estar relacionado com o menor alongamento do talo de *E. najas* nessa condição, que teria preservado seu estoque de fósforo e também com a maior disponibilidade de ortofosfato do meio de cultura no início do tratamento.

Tanto na condição controle quanto na de interação com o fitoplâncton, a macrófita *E. najas* cresceu apenas cerca de 3 cm em 30 dias de incubação e provavelmente o excesso de nutrientes no início do tratamento foi o principal fator que suprimiu o crescimento da macrófita.

Tabela 17 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (mg-N.g^{-1} M.S.) e fósforo (PT) (mg-P.g^{-1} M.S.) nos tecidos dos espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,46	0,46
Crescimento Máximo	-	7,94	7,96
R^2	-	0,980	0,874
% C	34,5	33	30
NTK	25,54	19,84	17,58
PT	3,88	3,56	3,28

Fonte: O autor

Figura 31 – Curvas de crescimento de *E. najas* sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=30$)

Fonte: O autor

Na Figura 32 são apresentadas as concentrações de nitrato e ortofosfato das cubas em que a macrófita cresceu com e sem o fitoplâncton na condição eutrófica. Análises estatísticas demonstraram que houve diferença significativa das concentrações de nitrato entre as duas condições de crescimento da macrófita ($p < 0,001$), que pode ser resultante da concentração do nutriente no inóculo do fitoplâncton no início do experimento. As concentrações de ortofosfato, por sua vez, foram similares nos dois tratamentos ($p > 0,05$) e as de amônio estiveram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 32 - Concentrações médias de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *E. najas* que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

A Tabela 18, apresenta uma síntese do crescimento da macrófita submersa, *E. najas* nos tratamentos controles e em interação com a comunidade fitoplanctônica nas três concentrações de fósforo simuladas e, também, apresenta para as mesmas condições, os dados do crescimento do fitoplâncton na presença e ausência da macrófita.

Tabela 18 – Síntese do crescimento de *E. najas* e da comunidade fitoplanctônica nos três estados tróficos (ET)

ET	Condição	Crescimento máximo de <i>E. najas</i> (cm)	Biovolume máximo do fitoplâncton durante o experimento (mm ³ L ⁻¹)	μ _{máx} do fitoplâncton (dia ⁻¹)	Classe fitoplanctônica mais abundante no último dia de experimento
Oligotrófico	<i>E. najas</i> controle	9,63	-	-	-
	<i>E. najas</i> + Fitoplâncton	10,87	0,16	0,07	Cyanobacteria
	Fitoplâncton controle	-	0,89	0,10	Chlorophyceae
Mesotrófico	<i>E. najas</i> controle	12,30	-	-	-
	<i>E. najas</i> + Fitoplâncton	14,17	1,37	0,09	Zygnemaphyceae
	Fitoplâncton controle	-	1,04	0,04	Zygnemaphyceae
Eutrófico	<i>E. najas</i> controle	7,94	-	-	-
	<i>E. najas</i> + Fitoplâncton	7,96	1,30	0,05	Cyanobacteria
	Fitoplâncton controle	-	4,21	0,13	Chlorophyceae

Fonte: O Autor

5.2.3. Experimento de interação: Fitoplâncton e Macrófita Livre Flutuante

5.2.3.1. Condição Oligotrófica

Nas Figuras 33 e 34, são apresentadas as densidades, biovolume e concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas que cresceram com e sem a macrófita livre flutuante *Lemna* sp na condição oligotrófica. No apêndice A pode ser consultada a lista com os dados dos táxons e das densidades fitoplanctônicas.

Analisando-se estatisticamente as densidades, biovolume e concentrações de clorofila-*a* verificou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a comunidade controle e a comunidade em interação com a macrófita. Dessa forma, pressupõe-se que os mecanismos de controle de biomassa fitoplanctônica, proporcionados pela presença das macrófitas, não apresentaram efeitos significativos nesse estado trófico (LITCHMAN, 2000; O'FARREL et al., 2009).

Figura 33 – Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

Figura 34 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

As classes do fitoplâncton encontradas nos dois tratamentos podem ser vistas na Figura 35. Chlorophyceae e Bacillariophyceae estiveram entre as classes mais abundantes no final dos experimentos com e sem *Lemna* sp. na condição oligotrófica, e os gêneros mais representativos dentro de cada uma delas foram *Gloeocystis* e *Navicula*, respectivamente. Esses resultados indicam que esses organismos se mostraram bem adaptados às condições de baixa disponibilidade de nutrientes e à presença da macrófita.

A classe Chlamydomonadales que, embora estivesse presente no início do tratamento de interação com a macrófita, só apareceu novamente na quantificação da comunidade fitoplanctônica controle. Este resultado pode ser explicado pelo fato do grupo ser caracterizado por apresentar sensibilidade à baixa luminosidade na coluna d'água gerada por macrófitas flutuantes (PINTO; ALLENDE; O'FARREL, 2007).

Os resultados indicam que, apesar das densidades das comunidades fitoplanctônicas terem sido similares na presença e na ausência de *Lemna* sp., no final do experimento as composições das classes de microalgas apresentaram algumas diferenças que podem ter sido resultantes da competição por recursos entre a macrófita e o fitoplâncton, ou ainda, entre os próprios grupos fitoplanctônicos.

Figura 35 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem *Lemna* sp. (C) e com *Lemna* sp (I) na condição oligotrófica

Fonte: O autor

As concentrações de nutrientes, apresentadas na Figura 36, não foram diferentes entre os dois tratamentos ($p > 0,05$), porém é importante ressaltar que na condição de interação parte da assimilação de nitrato e de ortofosfato foi feita por *Lemna* sp, enquanto na condição controle, em que a macrófita não estava presente, aproximadamente a mesma quantidade total de nutrientes foi assimilada somente pela comunidade fitoplanctônica. As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 36 - Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp (Interação) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O autor

Na Tabela 19 e na Figura 37 são apresentados os dados de crescimento de *Lemna* sp. na condição oligotrófica, com e sem a comunidade fitoplanctônica. O crescimento máximo de *Lemna* sp. sem a comunidade fitoplanctônica foi significativamente maior do que o crescimento máximo da macrófita junto com o fitoplâncton ($p < 0,001$). Em relação aos nutrientes teciduais (Tabela 17), nota-se que a macrófita armazenou mais nitrogênio quando estava em interação com a comunidade fitoplanctônica e que os teores de carbono e concentrações de fósforo teciduais foram similares nas macrófitas das duas condições. Possivelmente, o armazenamento de nitrogênio está relacionado com o menor crescimento de *Lemna* sp. na condição de interação (GÉRARD; TRIEST, 2014).

A interação com as microalgas gerou uma redução de 20% na taxa de crescimento das macrófitas nesse estado trófico e o número máximo de indivíduos foi quase 35% menor na interação com o fitoplâncton. A resposta de redução no crescimento da macrófita livre flutuante na presença de microalgas foi reportada por outros autores, que destacaram que o rápido crescimento algal proporciona poucas chances para a ocupação da superfície da água pelas macrófitas (ROIJACKERS; SZABÓ; SCHEFFER, 2004).

Figura 37 – Curvas de crescimento de *Lemna* sp. com a comunidade fitoplanctônica (Interação) e sem a comunidade fitoplanctônica (Controle) na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3) *

Fonte: O Autor

*As médias foram calculadas a partir dos dados obtidos das réplicas dos tratamentos

Tabela 19 - Taxas de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (nº de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) dos tecidos dos espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,26	0,21
Crescimento Máximo	-	58	38
R^2	-	0,997	0,979
% de C	35,5	35,5	35,5
NTK	9,23	13,97	17,78
PT	3,11	6,25	6,06

Fonte: O Autor

Na Figura 38 são apresentadas as concentrações de ortofosfato e de nitrato das unidades experimentais com *Lemna* sp. no estado oligotrófico com e sem interação com as microalgas. As concentrações de ortofosfato das duas condições foram similares ($p > 0,05$). No entanto, as concentrações de nitrato foram significativamente menores ($p < 0,001$) na condição controle quando comparadas com a interação (*Lemna* sp. e fitoplâncton). As concentrações de amônio durante todos os experimentos foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 38- Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição oligotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

De acordo com alguns estudos (SMITH, 2014; SZABÓ et al., 2005), o nitrogênio costuma ser o primeiro fator limitante para o crescimento de *Lemna* sp. quando a macrófita está em interação com o fitoplâncton. Quando os dois grupos de produtores primários crescem juntos, ocorre uma sinergia da assimilação de nitrogênio e fósforo que resulta em maior consumo dos nutrientes do que em condições em que os grupos crescem isoladamente (SZABÓ et al., 2005). No entanto, acredita-se que na presente pesquisa, a limitação do crescimento de *Lemna* sp. foi, primeiramente, decorrente da interação física com as microalgas, pois além da competição por nutrientes, o fitoplâncton pode provocar sombreamento e obstrução dos estômatos dos frondes das macrófitas flutuantes (ROIJACKERS; SZABÓ; SCHEFFER, 2004) comprometendo o seu metabolismo. Assim, as menores concentrações de nitrato determinadas na condição controle (sem o fitoplâncton), elucidam a maior assimilação do nutriente por *Lemna* sp quando não houve interferência física da comunidade fitoplanctônica e pressupõe-se que o primeiro fator limitante do crescimento da macrófita não tenha sido necessariamente o falta do nutriente.

5.2.3.2. Condição Mesotrófica

Nas Figuras 39 e 40 são apresentados os dados de densidade e biovolume do fitoplâncton e concentrações de cloforila-*a*. Não houve diferença significativa dessas variáveis entre os experimentos controle e de interação na condição mesotrófica ($p > 0,05$). Esses resultados indicam que as alterações proporcionadas pela macrófita na coluna d'água, como o sombreamento e depleção de nutrientes, não foram suficientes para provocar alterações na biomassa fitoplanctônica (O'FARREL et al., 2009). No apêndice B é apresentada a tabela com os dados das densidades fitoplanctônicas determinadas nos experimentos controle e em interação na condição mesotrófica.

Figura 39 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=6)

Fonte: O Autor

Na Figura 40a, também são apresentadas as taxas de crescimento do fitoplâncton com e sem *Lemna* sp.. Assim como na presença de *E. najas* na condição mesotrófica, a interação com a macrófita flutuante, proporcionou efeito positivo induzindo o aumento da taxa de crescimento das microalgas, indicando que de forma geral, não houve competição por recursos entre as macrófitas e o fitoplâncton nesse estado trófico.

Figura 40- (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem *Lemna* sp (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

As classes fitoplanctônicas, na maioria dos dias amostrais, foram as mesmas nas condições controle e de interação (presença da macrófita) (Figura 41).

No décimo dia de experimento, em ambos os tratamentos, Cyanobacteria foi a classe mais abundante. Este grupo de microalgas apresenta pigmentos acessórios e vesículas de gás, que são mecanismos adaptativos à baixa luminosidade e que favorecem seu crescimento em detrimento de outros grupos (KRUK et al., 2010; REYNOLDS et al., 2002).

Em ambos os tratamentos, Trebouxiophyceae foi uma classe que compôs as comunidades fitoplanctônicas em todos os dias de experimento. Entre as espécies que compõe a classe, observou-se *Golenkiniopsis longispina*, a qual pertence a um gênero descrito na literatura pela habilidade de crescimento rápido capaz de superar outros grupos (SOMMER, 1985).

Figura 41 - Abundância relativa das classes fitoplantônicas sem *Lemna* sp. (C) e com *Lemna* sp. (I) na condição mesotrófica

Fonte: O Autor

As concentrações de N-NO_3^- e P-PO_4^{3-} (Figura 42) foram similares entre os tratamentos ($p > 0,05$) e as de amônio foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 42 - Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com as comunidades fitoplantônicas que cresceram sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Durante o experimento não houve a cobertura total da superfície da água das unidades amostrais pela macrófita, ou seja, não houve a formação de *stands* de *Lemna* sp. que poderiam causar sombreamento total da coluna d'água e afetar o crescimento do fitoplâncton (O'FARRELL et al., 2009). Da mesma maneira, as concentrações de nitrato estiveram acima do limite, geralmente, requerido de 0,015 mg-N L⁻¹ (LEE; JONES-LEE, 1998) pela comunidade fitoplanctônica. Assim, a luz e as concentrações de nitrato não devem ter sido fatores limitantes para o crescimento do fitoplâncton.

O crescimento de *Lemna* sp. foi significativamente maior no tratamento controle do que em interação com o fitoplâncton ($p < 0,001$). Os dados de crescimento da macrófita em ambas as condições são apresentados na Tabela 20 e na Figura 43. Na condição mesotrófica houve uma redução de 20% da taxa de crescimento de *Lemna* sp. no tratamento de interação com o fitoplâncton e, além de menor número de indivíduos, a composição tecidual de *Lemna* sp. evidencia o menor conteúdo nutricional da macrófita, reforçando o impacto gerado pela comunidade de microalgas. É possível que tenha ocorrido a competição interespecífica entre as duas comunidades de produtores primários pela aquisição de nutrientes, corroborado pela taxa de crescimento na condição de interação que foi similar a taxa determinada no tratamento controle da condição oligotrófica, e também que os resultados sejam decorrentes dos efeitos físicos da presença de microalgas, como sombreamento e obstrução dos estômatos de *Lemna* sp. (GÉRARD ; TRIEST, 2014 ; ROIJACKERS; SZABÓ; SCHEFFER, 2004; SZABÓ et al., 2005).

Figura 43 – Curvas de crescimento de *Lemna* sp. sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3) *

Fonte: O Autor *As médias foram calculadas a partir dos dados obtidos das réplicas dos tratamentos

Tabela 20 - Taxa de crescimento (μ) (dia^{-1}), crescimento máximo (n° de indivíduos), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) no tecido dos espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição mesotrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,30	0,24
Crescimento Máximo	-	39	24
R^2	-	0,939	0,844
% de C	35,5	37	35,5
NTK	28,59	28,68	27,65
PT	3,03	4,32	3,50

Fonte: O Autor

As concentrações de ortofosfato e nitrato (Figura 44) foram significativamente menores no tratamento controle (P-PO_4^{3-} $p = 0,002$; N-NO_3^- $p < 0,001$). A macrófita assimilou maior concentração de ortofosfato na ausência do fitoplâncton, porém não é possível afirmar o mesmo para o nitrato, devido à diferença inicial da concentração do mesmo no inóculo do fitoplâncton na condição de interação. As concentrações de amônio foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 44- Concentrações de (a) ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica (Controle) na condição mesotrófica. As barras indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

5.2.3.3. Condição Eutrófica

Nas Figuras 45 e 46 são apresentados os dados de densidade e biovolume fitoplanctônicos e concentrações de clorofila-*a* nos experimentos controle e em interação. No apêndice C são apresentados os dados das densidades fitoplanctônicas das condições controle e em interação.

A densidade e o biovolume do fitoplâncton na condição controle e de interação não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$). Particularmente, a concentração de clorofila-*a* foi significativamente maior ($p = 0,002$) na condição em que a comunidade fitoplanctônica cresceu na ausência de *Lemna* sp., sendo que as diferenças mais pronunciadas foram nos décimo e vigésimo dias de experimento.

As taxas de crescimento máxima do fitoplâncton foram similares entre os dois tratamentos (Figura 46a).

Figura 45 - Densidades das comunidades fitoplanctônicas sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Figura 46 – (a) Biovolume e (b) concentrações de clorofila-*a* das comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. (Interação) na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão (n=3)

Fonte: O Autor

Na Figura 47, são apresentadas as abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas que cresceram com e sem *Lemna* sp.. No dia 1 do experimento, a classe Chrysophyceae foi uma das mais representativas em ambas as comunidades fitoplanctônicas e a espécie mais abundante foi *Monas socialis*. Como já mencionado anteriormente, o gênero *Monas* é caracterizado na literatura por apresentar espécies pequenas, móveis e com o crescimento rápido, o que pode favorecer a sobrevivência e dominância do grupo em condições de sombreamento gerado pela macrófita na coluna d'água (MIELEITNER et al., 2008).

A classe Chlorophyceae esteve presente no quinto dia de experimento tanto da condição controle quanto de interação. *Monoraphidium* foi um dos gêneros mais representativos da classe e é um grupo conhecido por tolerar concentrações elevadas de nutrientes (REYNOLDS et al., 2002). Também pertencente à classe Chlorophyceae, a espécie *Planktosphaeria gelatinosa*, foi uma das mais descritivas da comunidade controle e de interação com a macrófita, porém sua presença foi mais evidente em dias diferentes de cada condição. Essa diferença indica a possibilidade da presença da macrófita provocar algum distúrbio que alterou o tempo de reprodução da espécie de microalga, que por sua vez, é descrita na literatura por crescer em águas claras e com baixa disponibilidade de nutrientes (KRUK et al., 2002; REYNOLDS et al., 2002).

No final do experimento, as classes fitoplanctônicas que melhor descreveram as comunidades nas condições controle e de interação, de forma geral foram as mesmas, sendo elas Chlorophyceae, Zygnemaphyceae, Cyanobacteria e Bacillaryophyceae.

Figura 47 - Abundância relativa das classes fitoplanctônicas que cresceram sem *Lemna* sp. (C) e com *Lemna* sp. (I) na condição eutrófica

Fonte: O Autor

As concentrações de nutrientes entre as unidades experimentais das condições controle e interação são apresentadas na Figura 48. De acordo com análises estatísticas, não houve diferença entre as concentrações dos dois nutrientes entre as unidades experimentais de ambas as condições ($p > 0,05$). As concentrações de amônio foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 48 – (a) Concentrações de ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com as comunidades fitoplanctônicas que cresceram sem *Lemna* sp. (Controle) e com *Lemna* sp. na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Na Tabela 21 e na Figura 49 estão compilados os dados de crescimento de *Lemna* sp. nas condições controle e de interação no estado eutrófico. O crescimento da macrófita no tratamento controle foi significativamente maior do que o observado na presença do fitoplâncton ($p < 0,005$). Houve uma redução de quase 50% do número máximo de indivíduos de *Lemna* sp. na condição de interação, o que representa a maior redução entre os três estados tróficos simulados. Porém, diferente dos outros registros, nesse caso a taxa de crescimento foi menor no tratamento controle de *Lemna* sp. do que no tratamento com influência da comunidade fitoplanctônica. A menor taxa de crescimento da macrófita na condição controle pode ser uma resposta ao aumento da própria densidade (DRIEVER; NES; ROIJACKERS, 2005), e provavelmente também seja em virtude da disponibilidade de nutrientes necessários para a reposição dos recursos internos utilizados no aumento temporal da biomassa (KUFEL et al., 2012).

A partir dos resultados obtidos para a condição eutrófica, infere-se novamente a possibilidade do fitoplâncton ter comprometido o metabolismo de *Lemna* sp. e impedido a assimilação de nutrientes através do sombreamento e obstrução dos estômatos da macrófita, além da competição interespecífica de nutrientes.

Tabela 21 - Taxas de crescimento (dia^{-1}), crescimento máximo (cm), coeficiente de determinação do modelo de crescimento (R^2) e conteúdos de carbono (% de C), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu\text{g-N.g}^{-1}$ M.S.) e fósforo total (PT) ($\mu\text{g-P.g}^{-1}$ M.S.) no tecido dos espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica

Variável	Início	Final	
		Controle	Interação
Taxa de Crescimento	-	0,19	0,27
Crescimento Máximo	-	114	53
R^2	-	0,996	0,984
% de C	36	35	35,5
NTK	31,84	26,07	23,97
PT	6,51	5,74	5,24

Fonte: O Autor

Figura 49 – Curvas de crescimento de *Lemna* sp. sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=3$) *

Fonte: O Autor

*As médias foram calculadas a partir dos dados obtidos das réplicas dos tratamentos

Na Figura 50, são apresentados os gráficos das concentrações de ortofosfato e nitrato nas unidades experimentais contendo *Lemna* sp. no estado eutrófico com e sem a comunidade fitoplanctônica. As concentrações de ortofosfato não diferiram entre os dois tratamentos ($p > 0,05$), mas a de nitrato sim ($p < 0,001$). Embora no dia 1 do experimento houvesse a maior concentração de nitrato na condição de interação (pelo fato do nutriente estar presente no inóculo de fitoplâncton), acredita-se que a diferença entre os tratamentos tenha sido em virtude de que, com o decorrer do tempo, a macrófita assimilou mais nitrogênio no tratamento controle. As concentrações de amônio foram abaixo do limite de detecção do método utilizado para análise.

Figura 50 – (a) Concentrações de ortofosfato (P-PO_4^{3-}) e (b) nitrato (N-NO_3^-) das cubas com espécimes de *Lemna* sp. que cresceram sem (Controle) e com (Interação) a comunidade fitoplanctônica na condição eutrófica. As barras verticais indicam $\pm$ desvio padrão ($n=6$)

Fonte: O Autor

Em síntese, para uma melhor visualização dos resultados, apresenta-se a Tabela 22 com os valores de crescimento máximo da macrófita flutuante e a velocidade máxima de crescimento e a classe mais abundante da comunidade fitoplanctônica no último dia de experimento nos três estados tróficos simulados.

Tabela 22 - Síntese do crescimento de *Lemna* sp. e da comunidade fitoplanctônica nos três estados tróficos simulados

ET	Condição	Crescimento máximo de <i>Lemna</i> sp (nº de indivíduos)	Biovolume máximo do fitoplâncton (mm ³ L ⁻¹)	µmáx do fitoplâncton (dia ⁻¹)	Classe fitoplanctônica mais abundante no último dia de experimento
Oligotrófico	<i>Lemna</i> sp. controle	58	-	-	-
	Interação <i>Lemna</i> sp. + Fitoplâncton	38	0,58	0,09	Bacillariophyceae
	Fitoplâncton controle	-	0,89	0,10	Chlorophyceae
Mesotrófico	<i>Lemna</i> sp. controle	39	-	-	-
	Interação <i>Lemna</i> sp. + Fitoplâncton	24	1,01	0,09	Zygnemaphyceae
	Fitoplâncton controle	-	1,04	0,04	Zygnemaphyceae
Eutrófico	<i>Lemna</i> sp. controle	114	-	-	-
	Interação <i>Lemna</i> sp. + Fitoplâncton	53	4,21	0,14	Chlorophyceae
	Fitoplâncton controle	-	5,51	0,13	Chlorophyceae

Fonte: O Autor

6. Conclusões

Considerando os dados obtidos dos experimentos das comunidades controles nos diferentes estados tróficos pode-se concluir que:

- As concentrações iniciais dos estados mesotrófico e eutrófico estimularam maiores valores de densidades das comunidades fitoplanctônicas do que a concentração do estado oligotrófico.
- A macrófita submersa *E. najas* apresentou diferentes estratégias de crescimento que resultaram em distintas taxas de crescimento relativo e valores de crescimento máximo nos três estados tróficos simulados. No estado eutrófico, essa espécie apresentou a maior taxa de crescimento relativo e o menor crescimento máximo, o que indica a possibilidade da espécie ser substituída no ambiente por outras espécies com maiores capacidades de alongamento do caule.
- A macrófita livre flutuante *Lemna* sp. foi fortemente influenciada pelos estados tróficos simulados. Além disso, observou-se que mesmo com uma densidade inicial baixa (10 indivíduos), a macrófita apresentou, no estado eutrófico, um crescimento de até 11 vezes o número inicial de indivíduos.
- Em relação aos experimentos de competição interespecífica nos diferentes estados tróficos, este estudo mostrou a alteração da estrutura da comunidade de microalgas influenciada pela presença de *E. najas*, embora não tenha ocorrido diferença na biomassa da comunidade. Espécies da classe Trebouxiophyceae nas condições oligotrófica e mesotrófica, foram suprimidas nas unidades experimentais de interações com a macrófita fixa submersa. Embora o grupo também tenha aparecido na condição de interação da condição eutrófica, é importante ressaltar que foi nesse estado trófico que a macrófita *E. najas* apresentou o menor valor máximo de crescimento.
- A interação com *Lemna* sp. não alterou a biomassa da comunidade fitoplanctônica nos três estados tróficos simulados e a composição estrutural da comunidade apresentou pouca alteração na presença da macrófita.
- Observou-se que a macrófita *E. najas* foi favorecida pela interação com a comunidade fitoplactônica, mas não é possível afirmar a razão para esse comportamento.
- A macrófita *Lemna* sp., em todos os estados tróficos estudados, teve o crescimento máximo reduzido quase pela metade quando em interação com a comunidade fitoplanctônica. Os resultados mostraram que o fitoplâncton parece ter comprometido

o metabolismo da macrófita principalmente através do sombreamento e obstrução dos estômatos dos frondes, impedindo-a de assimilar os nutrientes.

Em suma, a hipótese que *Lemna* sp inibiria o crescimento da comunidade fitoplanctônica não foi confirmada, possivelmente porque a macrófita não cobriu toda a superfície da água. Além disso, no estado mesotrófico, como hipotetizado, as microalgas inibiram o crescimento de *Lemna* sp. e, em contrapartida, no mesmo estado trófico a comunidade fitoplanctônica parece ter estimulado o crescimento de *E. najas*. Por fim, no estado oligotrófico, a macrófita submersa não diminuiu a densidade da comunidade fitoplanctônica, mas alterou a composição da mesma.

Referências

- AMARAL, M. C.; BITTICH, V.; FARIA, A. D.; ANDERSON, L. O.; AONA, L. Y. **Guia de campo para plantas aquáticas e palustres do estado de São Paulo**. Ed. Holos. Campinas. 452p. 2008
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 2 – Chroococcales. **Algological Studies**, v. 73, p. 157-226, 1986.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 3 – Oscillatoriales. **Algological Studies**, v. 50-53, p. 327-472, 1988.
- ANDERSEN, J.M. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. **Water Resources**, v. 10, p. 329-331, 1976.
- APHA – American Public Health Association (2005). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 21h edition. Washington.
- AQUINO, C. A. N.; BUENO, N. C.; MENEZES, V. C. Chlorococcales *sensu latu* (Chlorophyceae) de um ecossistema lótico subtropical, Estado do Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 3, p. 431-451, 2014
- ARAÚJO, G. J. M. Euglenophyta de águas continentais do Estado de São Paulo: inventário taxonômico. São Paulo, 2016. 308 p.
- ATTANASIO, C. M. **Guia de restauração de matas para a bacia hidrográfica do Tietê-Jacaré (UGRHI no. 13)**. Jahu-SP: Instituto Pró-Terra, p. 40, 2014
- BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. D. B. **Florações de Algas e de Cianobactérias - Suas Influências na Qualidade da Água e nas Tecnologias de Tratamento**. 1. ed. São Carlos: LDiBe,. v. 1., p. 536, 2010.
- BIANCHINI, I. JR. Modelos de crescimento e decomposição de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S.; BINI, L. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003. p. 341.

BIANCHINI, I. JR.; CINHA-SANTINO, M. B.; MILAN, J.A.M.; RODRIGUES, C. J.; DIAS, J. H. P. Model parametrization for the growth of three submerged aquatic macrophytes. **Journal of Aquatic Plant Management**, v. 53, p. 64-73, 2015.

BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C.; FERRAGUT, C.; LOPES, M. R. M.; PIRES, P. R. C. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 17: Chrysophyceae. **Hoehnea**, v. 30 (2), p. 127-153, 2003.

BICUDO, C. E. M.; FERRAGUT, C.; MASSAGARDI, M. R. Cryptophyceae population dynamics in an oligo-mesotrophic reservoir (Ninféias pond) in São Paulo, southeast Brazil. **Hoehnea**, v. 36 (1), p. 99-111, 2009.

BICUDO, C.E. M.; MENEZES, M. (2017). **Gêneros de algas continentais do Brasil – Chave para identificação e descrições**. 3ª ed. Ed. Rima

BICUDO, C.E.M.; PEREIRA, F.C. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 16: Chlorophyceae (Ulotrichales). **Hoehnea**, v. 30 (1), p. 31-37, 2003.

BINI, L. M.; THOMAZ, S. M. Prediction of *Egeria najas* and *Egeria densa* occurrence in a large subtropical reservoir (Itaipu Reservoir, Brazil-Paraguay). **Aquatic Botany**, v. 83, p. 227-238, 2005.

BINI, L. M.; THOMAZ, S. M.; MURPHY, K. J.; CAMARGO, A. F. M. Aquatic macrophyte distribution in relation to water and sediment conditions in the Itaipu Reservoir, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 415, p. 147-154, 1999.

BOTTINO, F.; MILAN, J. A .M.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, I. Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophytes species. **Chemosphere**, v. 186, p. 488-494, 2017.

BRASIL, J.; HUSZAR, V. L. M. O papel dos traços funcionais Na Ecologia do fitoplâncton continental. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 4, p. 799–834, 2011.

CAIRO, C. T.; BARBOSA, C. C. F.; NOVO, E. M. L. M.; CALIJURI, M. C.; Spatial and seasonal variation in diffuse attenuation coefficients of downward irradiance at Ibitinga Reservoir, São Paulo, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 784, p. 265-282, 2017.

CALIJURI, M.C.; CUNHA, D.G.F. (Coord.). **Engenharia Ambiental – Conceitos, Tecnologia e Gestão**. Rio de Janeiro, Elsevier, 2013.

CASTRO, A. A.; BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 2: Cryptophyceae. **Hoehnea**, v. 18 (1), p. 87-106, 1991.

CAVENAGHI, A. L.; VELINI, E. D.; GALO, M. L. B. T.; CARVALHO, F. T.; NEGRISOLI, E.; TRINDADE, M. L. B.; SIMIONATO, J. L. A.; Caracterização da qualidade da água e sedimento relacionados com a ocorrência de plantas aquáticas em cinco reservatórios da bacia do rio Tietê. **Planta daninha**, v. 21, Ed. Especial, p. 43-52, 2003.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 357, de 20 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes, e dá outras providências. Brasília, 2005.

CORRÊA, M.R.; VELINI, E.D.; ARRUDA, D.P. Composição química e bromatológica de Egeria densa, Egeria najas e Ceratophyllum demersum . **Planta Daninha**, v. 21, p. 7-13, 2003

CROSSETTI, L. O.; BICUDO, C. E. M. Effects of nutriente impoverishment on phytoplankton biomass: a mesocosms experimental approach in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, southeast Brazil. **Revista brasileira de botânica**, v. 28 (1), p. 95-108, 2005.

CROSSETTI, L. O.; BICUDO, C. E. M. Adaptations in phytoplankton life strategies to imposed change in a shallow urban tropical eutrophic reservoir, Garças Reservoir, over 8 years. **Hydrobiologia**, v. 614, p. 91-105, 2008.

CUNHA, D. G. F.; OGURA, A. P.; CALIJURI, M. D. C. Nutrient reference concentrations and trophic state boundaries in subtropical reservoirs. **Water Science and Technology**, v. 65, n. 8, p. 1461–1467, 2012.

DAI, Y. et al. Increasing phytoplankton-available phosphorus and inhibition of macrophyte on phytoplankton bloom. **Science of the Total Environment**, p. 1–10, 2016.

DRIEVER, S. M.; VAN NES, E. H.; ROIJACKERS, R. M. M. Growth limitation of *Lemna minor* due to high plant density. **Aquatic Botany**, v. 81, n. 3, p. 245–251, 2005.

DUARTE, I. D. et al. Water quality of a coastal lagoon (ES, Brazil): abiotic aspects, cytogenetic damage, and phytoplankton dynamics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 11, p. 10855–10868, 2017.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3ª Edição. Rio de Janeiro: Interciência. P. 826, 2011.

ESTEVEES, F. A.; CAMARGO, A. F. M. Sobre o papel das macrófitas aquáticas na estocagem e ciclagem de nutrientes. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 1, p. 273–298, 1986.

FASOLI, J. V. B.; MORMUL, R. P.; CUNHA, E. R.; THOMAZ, S. M. Plasticity response of an invasive macrophyte species to inorganic carbon availability and to the interaction with native species. **Hydrobiologia**, v. 827, p. 227–237, 2018.

FELISBERTO, S. A.; RODRIGUES, L.; SANTOS, H. S. Taxonomical and ecological characteristics of the desmids placoderms in reservoir: analyzing the spatial and temporal distribution. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 4, p. 392–403, 2014.

FERRAGUT, C.; LOPES, M. R. M.; BICUDO, D. C.; BICUDO, C. E. M.; VERCELLINO, I. S. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). **Hoehnea**, v. 32 (2), p. 137–184, 2005.

GRANÉLI, W.; SOLANDER, D. Influence of aquatic macrophytes on phosphorus cycling in lakes. **Hydrobiologia**, v. 170, p. 246–266, 1988.

GEBREHIWOT, M.; KIFLE, D.; STIERS, I.; TRIEST, L. Phytoplankton functional dynamics in a shallow polymictic tropical lake: the influence of emergent macrophytes. **Hydrobiologia**, v. 797, p. 69-86, 2017.

GÉRARD, J.; TRIEST, L. The effect of phosphorus reduction and competition on invasive Lemnids: life traits and nutrient Uptake. **ISRN Botany**, v. 2014, p. 1-9, 2014.

GODINHO, L. R.; GONZÁLEZ, A. A. C.; BICUDO, C. E. M. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 30: Chlorophyceae (família Scenedesmaceae). **Hoehnea**, v. 37 (3), p. 513-553, 2010.

HARAMOTO, T.; IKUSIMA, I. Life cycle of *Egeria densa* Planch., an aquatic plant naturalized in Japan. **Aquatic Botany**, v. 30, p. 389-403.

HECKY, R. E.; KILHAM, P. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. **Limnology and Oceanography**, v. 33, p. 796-822, 1988.

HILT, S.; GROSS, E. M. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes? **Basic and Applied Ecology**, v. 9, p. 422-432, 2008.

HUSZAR, V. L. M.; REYNOLDS, C. S. Phytoplankton periodicity and sequences of dominance in an Amazonian flood-plain lake (Lago Batata, Pará, Brazil): response to gradual environmental change. **Hydrobiologia**, v. 346, p. 169-181, 1997.

JASSER, I. The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions. **Hydrobiologia**, v. 306, p. 21-32, 1995.

JIANG, Y-J.; HE, W.; LIU, W-X.; QIN, N.; OUYANG, H-L.; WANG, Q-M.; KONG, X-Z.; HE, Q-S.; YANG, C.; YANG, B. XU, F-L. The seasonal and spatial variations of phytoplankton community and their correlation with environmental factors in a large eutrophic Chinese lake (Lake Chaohu). **Ecological Indicators**, v. 40, p. 58–67, 2014.

KOMÁREK J, ANAGNOSTIDIS K. **Cyanoprokaryota 1.** Teil: Chroococcales. In Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1 (H Ettl, G Gärtner, H Heynig, D Mollenhauer, eds.). Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, p.1-548, 1998.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Grasshoff, K. (ed.) **Methods of seawater analysis**. Verlag, Chemie Weinheim. p.117-181, 1976

KUFEL, L.; STRZALEK, M.; WYSOKINSKA, U.; BIARDZKA, E.; OKNINSKA, S.; RYS, K. Growth rate of duckweeds (Lemnaceae) in relation to the internal and ambiente nutrienre concentrations – testing the droop and monod models. **Polish Journal of Ecology**, v. 60, n. 2, p. 241-249, 2012.

KRUK, C.; HUSZAR, V. L. M.; PEETERS, E. T. H. M.; BONILLA, S.; COSTA, L.; LÜRLING, M.; REYNOLDS, C.; SCHFER, M. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. **Freshwater Biology**, v. 55, p. 614-627, 2010.

KRUK, C.; MAZZEO, N.; LACEROT, G.; REYNOLDS, C. S. Classification schemes for phytoplankton: a local validation of a functional approach to the analysis of species temporal replacement. **Journal of plankton research**, v. 24, n. 9, p.901-912, 2002.

LAMPARELLI, M. **Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: Avaliação dos métodos de monitoramento**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2004.

LEE, G. F.; JONES-LEE, A. 1998. Determination of Nutrient Limiting Maximum Algal Biomass in Waterbodies. *Report G. Fred Lee & Associates*, El Macero, CA. Disponível em <http://www.gfredlee.com/nut_limit.html> Acessado em 20 maio/2019.

LITCHMAN, E. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. **Freshwater Biology**, v. 44, p. 223-235, 2000.

LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctonicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. **Revista de Biología Marina**, v. 22 (1), p. 1-29, 1986.

LONDE, L. R.; NOVO, E. M. L. M.; BARBOSA, C.; ARAUJO, C. A. S. Water residence time affecting phytoplankton blooms: study case in Ibitinga Reservoir (São Paulo, Brazil) using Landsat/TM images. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 76, n. 3, p. 667-672, 2016.

LOPES, M. R. M.; FERRAGUT, C.; BICUDO, C. E. M. Phytoplankton diversity and strategies in regard to physical disturbances in a shallow, oligotrophic, tropical reservoir in Southeast Brazil. **Limnetica**, v. 28 (1), p. 159-174, 2009.

LUND, J. W., C. KIPLING, AND E. D. LE CREN. The inverted microscope method of estimating algal numbers and statistical basis of estimations by counting. **Hydrobiologia**, v. 11, p. 143-170, 1958.

LÜRLING, M.; ESHETU, F.; FAASSEN, E. J.; KOSTEN, S.; HUSZAR, V. L. M. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. **Freshwater Biology**, v. 58, p. 552-559, 2013.

LUZIA, A. P. Estrutura organizacional do fitoplâncton nos sistemas lóticos e lênticos da bacia Tietê-Jacaré (UGRHI-TIETÊ-JACARÉ) em relação à qualidade da água e estado trófico. São Carlos: UFSCar, p.169, 2009.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water chemistry: Some revised methods for limnologists**. Cumbria: Freshwater Biological Association, 1978. 121p.

MARTINS, M. D. Estudos polifásicos de populações de phormidioideae (oscillatoriales, caynobacteria), São José do Rio Preto, SP, 2014.

MEERHOFF, M.; MAZZEO, N.; MOSS, B.; ROGRÍGUEZ-GALLEGO, L. The structuring role of free-floating versus submerged plants in a subtropical shallow lake. **Aquatic Ecology**, v. 37, n. 4, p. 377–391, 2003.

MENEZES, M.; BICUDO, C. E. M. Flagellate green algae from four water bodies in the state of Rio de Janeiro, Southeast Brazil. **Hoehnea**, v. 35 (3), p. 435-468, 2008.

MIELEITNER, J.; BORSUK, M.; BÜRGI, H.; REICHERT, P. Identifying functional groups of phytoplankton using data from three lakes of different trophic state. **Aquatic Sciences**, v. 70, p. 30-46, 2008.

MOELLER, R. E.; BURKHOLDER, J. M.; WETZEL, R. G. Significance of sedimentary phosphorus to a rooted submersed macrophyte (*Najas flexilis* (Willd.) Rostk. and Schmidt) and its algal epiphytes. **Aquatic Botany**, v. 32, p. 261-281, 1988.

MOORTHY, S. D.; PTACNIK, R.; SANDERS, R. W.; FISCHER, R.; BUSCH, M.; HILLEBRAND, H. The functional role of planktonic mixotrophs in altering seston stoichiometry. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 79, p. 235-245, 2017.

NIMPTSCH, J.; WIEGAND, C.; PFLUGMACHER, S. Cyanobacterial Toxin Elimination via Bioaccumulation of MC-LR in Aquatic Macrophytes: An Application of the "Green Liver Concept". **Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 8552-8557, 2008.

NISHIMURA, P. Y.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPEO, M. O estudo fitoplânctônico com base nos grupos funcionais: origens e um vislumbre sobre seu futuro. In: **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015. p. 460.

O'FARRELL, I.; PINTO, P. T.; RODRÍGUEZ, P. L.; CHAPARRO, G.; PIZARRO, H. N. Experimental evidence of the dynamics effect of free-floating plants on phytoplankton ecology. **Freshwater Biology**, v. 54, p. 363-375, 2009.

O'FARRELL, I.; IZAGUIRRE, I.; CHAPARRO, G.; UNREIN, F.; SINISTRO, R.; PIZARRO, H.; RODRÍGUEZ, P.; PINTO, P. T.; LOMBARDO, R.; TELL, G. Water level as the main driver of the alternation between a free-floating plant and a phytoplankton dominated state: a long-term study in a floodplain lake. **Aquatic Sciences**, v. 73, p. 275-587, 2011.

ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de ecologia**. 5ª Edição. Cengage Learning, p. 632, 2007.

PEDRALLI, G. Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade da água: alternativas para usos múltiplos de reservatórios. In: THOMAZ, S.; BINI, L. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá-PR: EDUEM, 2003. p. 341.

PEDRALLI, G.; TEIXEIRA, M. C. B. Macrófitas aquáticas como agentes filtradores de materiais particulados, sedimentos e nutrientes. In: Henry, R. (ed). **Ecótonos nas interfaces dos ecossistemas aquáticos**. São Carlos-SP: Ed. Rima, 2003

PHILLIPS, G. L.; EMINSON, D.; MOSS, B. A mechanism to account for macrophyte decline in progressively eutrophicated freshwaters. **Aquatic Botany**, v. 4, p. 103–126, 1978.

PINTO, P. T.; ALLENDE, L.; O'FARREL, I. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. **Journal of Plankton Research**, v. 29, n. 1, p. 47-56, 2007

PINTO, P. T.; O'FARRELL, I. Regime shifts between free-floating plants and phytoplankton : A review. **Hydrobiologia**, n. June, 2014.

PISTORI, R. E. T.; CAMARGO, A. F. M.; HENRY-SILVA, G. G. Relative Growth Rate and Doubling Time of the Submerged Aquatic Macrophyte *Egeria densa* Planch. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 1, p. 77–84, 2004.

POMPÊO, M. **Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios tropicais brasileiros**. 1ª Edição ed. São Paulo: IB/USP, 2017.

POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas aquáticas e perifíton**: aspectos ecológicos e metodológicos. Editora Rima. São Carlos, p. 143, 2003.

PORTIELJE, R.; ROIJACKERS, R. M. M.; Primary succession of aquatic macrophytes in experimental ditches in relation to nutrient input. **Aquatic Botany**, v. 50, p. 127-140, 1995.

POTT, V.J., POTT, A. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal: Corumbá, 2000.

POTT, V.J. Lemnaceae In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Giulietti, A.M., Melhem, T.S., Bittrich, V., Kameyama, C. (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 2, pp: 135-140, 2002.

PRESS, W.H., TEUKOLSKY, S.A., VETTERLING, W.T., FLANNERY, B.P. **Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing**. Cambridge University Press, New York, p. 994, 1993.

RAMOS, G. J. P.; BICUDO, C. E. M.; GÓES, A. N.; MOURA, C. W. N. *Monoraphidium* and *Ankistrodesmus* (Chlorophyceae, Chlorophyta) from Patanal dos Marimbus, Chapada Diamantina, Bahia State, Brazil. **Hoehnea**, v. 39 (3), p. 421-434, 2012.

REDFIELD, A. The biological control of chemical factors in the environment. **American Scientist**, v. 46, n. 3, p. 205-221, 1958.

REYNOLDS, C.S. **The ecology of phytoplankton**. New York: Cambridge. p. 535, 2006.

REYNOLDS, C. S. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiologia**, v. 369/370, p. 11-26, 1998.

REYNOLDS, C. S.; JAWORSKI, G. H. M. Enumeration of natural *Microcystis* populations. **British Phycological Journal**, v. 13:3, p. 269–277, 1978.

REYNOLDS, C. S., HUSZAR, V., KRUK, C., NASELLI- FLORES, L., MELO, S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 5, p. 417–428, 2002.

RICHARDS, C.; BOSSDORF, O.; MUTH, N. Z.; GUREVITCH, J.; PIGLIUCCI, M. Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. **Ecology Letters**, v. 9, p. 981-993, 2006.

RICHARDSON, S. L. Response of epiphytic foraminiferal communities to natural eutrophication in seagrass habitats off Man O'War Cay, Belize. **Marine Ecology**, v. 27, n. 4, p. 404–416, 2006.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R. Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure culture of cyanobacteria. **Journal of general microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.

RODELLA, R. A.; COSTA, N. V.; COSTA, L. D. N. C.; MARTINS, D. Diferenciação entre *Egeria densa* e *Egeria najas* pelos caracteres anatômicos foliares. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 211-220, 2006.

ROIJACKERS, R.; SZABÓ, S.; SCHEFFER, M. Experimental analysis of the competition between algae and duckweed. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 160, n. 3, p. 401-412, 2004.

ROUND, F. E. **The biology of the algae**. London: Edward Arnold (Publishers), p. 269, 1965.

ROUND, F. E. The taxonomy of the Chlorophyta, 2. **British Phycological Journal**, v. 6, n. 2, p. 235-264, 1971.

SÁNCHEZ, M. L. et al. Changes in the phytoplankton structure in a Pampean shallow lake in the transition from a clear to a turbid regime. **Hydrobiologia**, v. 752, n. 1, p. 65–76, 2015.

SÁNCHEZ, M. L.; LAGOMARSINO, L.; ALLENDE, L.; IZAGUIRRE, I. Changes in the phytoplankton structure in a Pampean shallow lakes in the transition from a clear to a turbid regime. **Hydrobiologia**, v. 752, p. 65-76.

SAND-JENSEN, K.; BORUM, J. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. **Aquatic Botany**, v. 41, p. 137-175, 1991.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; SENNA, P. A.; KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ, J. Planktic cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococcales. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 213-227, 2004.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; AGUIJARO, L.F.; CARVALHO, M.C.; CARVALHO, L.R. & SOUZA, R.C.R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de**

cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Rio de Janeiro: Interciência, 2006.

SANTANA, L. M.; FERRAGUT, C. Structural changes of the phytoplankton and epiphyton in na urban hypereutrophic reservoir. **Acta Limnologia Brasiliensia**, v. 28, e. 29, 2016.

SANTANA, L. M.; MORAES, M. E. B.; SILVA, D. M. L.; FERRAGUT, C. Spatial and temporal variation of phytoplankton in a tropical eutrophic river. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 3, p. 600–610, 2016.

SANTOS, A. C. A.; CALIJURI, M. C.; MORAES, E. M.; ADORNO, M. A. T.; FALCO, P. B.; CARVALHO, D. P.; DEBERDT, G. K. B.; BENASSI, S. F. Comparison of three methods for Chlorophyll determination: Spectrophotometry and Fluorimetry in samples containing pigment mixtures and spectrophotometry in samples with separate pigments through High Performance Liquid. **Acta Limnologia Brasiliensia**, v. 15, n. 3, p. 7–18, 2003.

SCHEFFER, M.; CARPENTER, S. R. Catastrophic regime shifts in ecosystems: Linking theory to observation. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 12, p. 648–656, 2003.

SCHEFFER, M.; SZABÓ, S.; GRAGNANI, A.; VAN NES, E. H.; RINALDI, S.; KAUTSKY, N.; NORBERG, J.; ROIJACKERS, R. M. M.; FRANKEN, R. J. M. Floating plant dominance as a stable state. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 7, p. 4040–4045, 2003.

SCHEFFER, M.; HOSPER, S. H.; MEIJER, M-L.; MOSS, B.; JEPESSEN, E. Alternative equilibria in shalow lakes. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 8, n. 8, p. 275–279, 1993.

SCHEFFER, M.; VAN NES, E. Shallow lakes theory revisited: Various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. **Hydrobiologia**, v. 584, p. 455-466, 2007.

SCHRECK, C. *Elodea* Guide, 2013. Disponível em: <https://dnr.wi.gov/topic/invasives/documents/SS1116ElodeaGuide.pdf> Acesso em: 21 maio/2019.

SCHWADERER, A. S.; YOSHIYAMA, K.; PINTO, P. T.; SWENSON, N. G.; KLAUSMEIER, C. A.; LITCHMAN, E. Eco-evolutionary differences in light utilization traits and distributions of freshwater phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, v. 56 (2), p. 589-598, 2011.

SMITH, S. D. P. The roles of nitrogen and phosphorus in regulating the dominance of floating and submerged aquatic plants in a field mesocosm. **Aquatic Botany**, v. 112, p. 1-9, 2014.

SOARES, M. C. S.; MARINHO, M. M.; AZEVEDO, S. M. O. F.; BRANCO, C. W. C.; HUSZAR, V. L. M. Eutrophication and retention time affecting spatial heterogeneity in a tropical reservoir. **Limnologica**, v. 42, p. 197-203.

SOMMER, U. Comparison between steady state and non-steady state competition: Experiments with natural phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, v. 30 (2), p. 335-346, 1985.

SOUSA, W. T. Z.; THOMAZ, S. M.; MURPHY, K. J. Response of native *Egeria najas* Planch. and invasive *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle to altered hydroecological regime in a subtropical river. **Aquatic Botany**, v. 92, p. 40-48, 2010.

STRICKLAND, J. D. H. & PARSONS, T. R. **A manual of seawater analysis**. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada, Bull. 184p, 1972.

SUIKKANEN, S.; FISTAROL, G. O.; GRANÉLI, E. Effects of cyanobacterial allelochemicals on a natural plankton community. **Marine Ecology Progress Series**, v. 287, p. 1-9, 2005.

SZABÓ S.; ROIJACKERS, R.; SCHEFFER. A simple method for analyzing the effects of algae on the growth of *Lemna* and preventing algal growth in duckweed bioassays. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 157, n. 1, p. 567-575, 2003.

SZABÓ S.; ROIJACKERS, R.; SCHEFFER, M.; BORICS, G. The strength of limiting factors for duckweed during algal competition. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 164, n. 1, p. 127-140, 2005

TAVECHIO, W. L. G.; THOMAZ, S. M. Effects of light on the Growth and Photosynthesis of *Egeria najas* Planchon. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 203-209, 2003.

THOMAZ, S. M.; CHAMBERS, P. A.; PIERINI, S. A.; PEREIRA, G. Effects of phosphorus and nitrogen amendments on the growth of *Egeria najas*. **Aquatic Botany**, v. 86, p. 191-196, 2007.

TRINDADE, C. R. T.; PEREIRA, S. A.; ALBERTONI, E. F.; PALMA-SILVA, C. Caracterização e importância das macrófitas aquáticas com ênfase nos ambientes límnicos do campus Carreiros – FURG, Rio Grande, RS. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v. 5, n. 2, p. 1-22, 2010.

UTHERMÖL, H. **Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik**, 1958.

VANDERSTUKKEN, M.; MAZZEO, N.; COLEN, W.; DECLERCK, S. A. J.; MUYLAERT, K. Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illionensis*: a mesocosm study. **Freshwater Biology**, v. 56, p. 1837-1849, 2011.

VIEIRA, M. S.; FERREIRA, J. R.; CASTRO, P. M. G.; ROCHA, A. A. Aspectos da química da água e do sedimento do reservatório de Ibatinga (São Paulo, Brasil – 21°45'S E 48°50'W). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 28, n. 1, p. 77-91, 2002.

VIEIRA, M. S.; MOURA, M. A. M.; FERREIRA, J. R. Estudo das variações sazonais e espaciais dos íons dominantes na água e no sedimento da represa de Ibatinga (São Paulo, Brasil – 21°45'S E 48°50'W). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 523-534, 2005.

YILMAZ, D. D.; AKBULUT, H. Effect of circulation on wastewater treatment by *Lemna gibba* and *Lemna minor* (floating aquatic macrophytes). **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, p. 970-984, 2011.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analyses**. 3ªEdição. Nova York: W. B. Saunders Co. p.429, 2001.

WILLÉN, E. Planktonic diatoms – an ecological review. **Algological Studies**, p. 69-106, 1991.

APÊNDICES

Apêndice A – Lista das densidades dos taxóns encontrados nas comunidades fitoplanctônicas nas análises quantitativas do experimento simulando o estado oligotrófico

Oligotrófico															
Densidade (indivíduos.mL-1)	Fito + <i>Egeria</i>					Fito + <i>Lemna</i>					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Bacillariophyceae															
<i>Achnanthes catenatum</i> (J. Bily & Marvan) Lange-Bert.				32	18				17	24				68	30
<i>Fragilaria aquaplus</i> Lange-Bertalot & Ulrich, Lauterbornia 2014						216			17						
<i>Fragilaria</i> sp. Lyngbye 1819									17						
<i>Frustulia</i> sp. Rabenhorts 1853										17					
<i>Navicula</i> sp. Bory de St. Vincent 1822					18				28	453				183	623
<i>Nupela</i> sp. Vyerman & Compère 1991				19											
<i>Pinnularia brebissonii</i> (Kützing) Rabhenhorst var. <i>brebissonii</i> 1864					17				26	67					
<i>Ulnaria ulna</i> (C. L. Nitzsch) Compère var. <i>ulna</i> 1817										19				17	
Chlamydomonadaceae															
<i>Chlamydomonas</i> sp. Ehrenber 1833		19				39									
<i>Chlamydomonas debaryana</i> Goroschankin 1891					100								20	56	227

[illegible]

Oligotrófico															
Densidade (indivíduos.mL-1)	Fito + <i>Egeria</i>					Fito + <i>Lemna</i>					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Westella botryoides</i> (West) De Wildeman															79
Chrysophyceae															
<i>Chromulina elegans</i> Doflein	1091	38	69	34	54	1204	32	51	33		1133	20		28	
<i>Dinobryon sertularia</i> (Ehrenberg)					20		20		16	150		20		71	47
<i>Dinobryon</i> sp.	16		20									20			
<i>Mallomonas mangofera</i> (Harry & Bradley) f. foveata					18	39					15	20			
<i>Mallomonas matvienkoae</i> (Matvienko) Asmund & Kristiansen var. <i>grandis</i> Dürschmidt & Cronberg 1989			40	16	51										20
<i>Monas socialis</i> (Saville-Kent) Lemmermann 1910	293	18			20	216	18			17	188				
<i>Ochromonas margaritata</i> Skuja 1956		28				20	20		65	76		120	20	27	
Cryptophyceae															
<i>Chilomonas paramecium</i> Ehrenberg		19	59							17					
<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A. Castro, C. Bicudo & D. Bicudo 1992	96					93	44				66	53			49
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenber 1838			30		40	29					163	20		20	
<i>Cryptomonas obovata</i> Skuja		19	20		33	39		37				20			
<i>Rhodomonas Lacustris</i> Pascher & Ruttner	65		72	16		118			16		22	40			

Oligotrófico																
Densidade (indivíduos.mL-1)		Fito + <i>Egeria</i>					Fito + <i>Lemna</i>					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	
Cyanobacteria																
<i>Anabaenopsis</i> sp. V. V. Miller 1923	16			96	143				15	17						
Geitlerinema splendidum (Greville ex Gomont) Anagnostidis 1990				20												
<i>Jaaginema geminatum</i> (Meneghini ex Gomont) Anagnostidis & Komárek 1993		19	39	20				19	35	24		20	20	27	58	
<i>Leptolyngbya perelegans</i> (Lemmermann) Anagnostidis & Komárek 1989															20	
<i>Limnothrix</i> sp M.-E. Meffert 1988									17			80				
<i>Pseudanabaena limnetica</i> (Lemmermann) Komárek 1974	141					79					118	407				
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauvageau 1892	19	113	139	143	93	20	53	49	33	78	29	30	40	74	65	
Dinophyceae																
<i>Gonyaulax</i> sp. Diesing 1866										19					39	
Euglenophyceae																
<i>Scytomonas major</i> (Berliner) Lemmermann 1913					17			20								
Prasinophyceae																
	19	19		25	19	231		40	35		126		120	20		
<i>Angulomonas triquetra</i> Skvortzov 1968		19		32		79		40			44		120			
<i>Pedinomonas minutissima</i> Skuja 1956	19			19	19	281			35		207			20		
Trebouxiophyceae																

Oligotrófico															
Densidade (indivíduos.mL-1)	Fito + <i>Egeria</i>					Fito + <i>Lemna</i>					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Acanthosphaera zachariasii</i> (Lemmermann) 1899							20								
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> (H. C. Wood)														40	
<i>Franceia droescheri</i> (Lemmermann)						20	18			19					
<i>Golenkiniopsis longispina</i> (Korshikov) Korshikov									71	127				112	214
Zignemaphyceae			20	36	23		20	17	20	28				14	22
<i>Closterium cornu</i> Ehrenberg ex Ralfs 1848				39											
<i>Closterium diana</i> Ehrenberg ex Ralfs var. <i>brevius</i>									15						
<i>Closterium navicula</i> (Brébisson) Lütken var. <i>navicula</i> 1903				19											
<i>Closterium</i> sp.			20												
<i>Cosmarium pseudoconnatum</i> Nordstedt var. <i>pseudoconnatum</i>														14	
<i>Cosmarium regnelli</i> Wille var. <i>minimum</i> Eichler & Gutw Rozer									17						
<i>Cosmarium regnesii</i> Reinsch var. <i>regnesii</i> , Abh									17	19					
<i>Cosmarium sphagnicolum</i> var. <i>sphagnicolum</i> West & West				38	25			17	23	30					19

Oligotrófico															
Densidade (indivíduos.mL-1)	Fito + <i>Egeria</i>					Fito + <i>Lemna</i>					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Euastrum subornatum</i> West & West var. <i>brasiliense</i> Borge									15						
<i>Mougeotia</i> C. Agardh 1824				48											
<i>Staurastrum micronoides</i> Coesel & Josten														14	
<i>Staurastrum minimum</i> Coesel										37					37
<i>Staurastrum paradoxum</i> Meyen ex Ralfs															20
<i>Staurastrum quadrangulare</i> (Brébisson) var. <i>contectum</i>									17						
<i>Staurastrum quadrangulare</i> (Brébisson) var. <i>quadrangulare</i>					20					37					
<i>Staurastrum tetracerum</i> (Kützing) Ralfs ex Ralfs var. <i>tetracerum</i> f. <i>tetracerum</i>							20								19
<i>Stauroidesmus cuspidatus</i> (Brébisson ex Ralfs) Teiling var. <i>cuspidatus</i>										19					19
<i>Stauroidesmus dejectus</i> (Brébisson) Teiling									33	24					19

Apêndice B - Lista das densidades dos taxóons encontrados nas comunidades fitoplanctônicas nas análises quantitativas do experimento simulando o estado mesotrófico

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Bacillariophyceae															
<i>Fragilaria aquaplus</i> Lange-Bertalot & Ulrich, Lauterbornia 2014			35								19				
<i>Nupela</i> sp. Vyerman § Compère 1991			17								18				
<i>Pinnularia brebissonii</i> (Kützing) Rabhenhorst var. <i>brebissonii</i> 1864			18	16											
Chlamydomonadophyceae															
<i>Chlamydomonas planctogloae</i> Skuja 1956	19										18	1992	18		
<i>Chlamydomonas rattuli</i>	55	39	80	16	14	30	37	100			109		36		
<i>Chlamydomonas sordida</i> H. Ettl 1965	50										36	18			
<i>Chlamydomonas</i> sp. Ehrenber 1833	50												18		
<i>Gonium</i> sp. O. F. Müller 1773						79	267				109	339			
Chlorophyceae															
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs			88		19									228	
<i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Keinsch) Korshikov	15			80											
<i>Chlorella kessleri</i> Fott & Nováková 1969	19									35		146	19		

[illegible]

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Kormárková-Legnorová															
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G. M. Smith 1918				39	601				143	67			322	69	20
<i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenber) Chodat 1926		154	141	103	119	74					133	73			19
<i>Schroederia</i> sp. Lemmermann 1898										37					
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenber) E. Hegewald	17		12	19											
<i>Westella botryoides</i> (West) De Wildeman			211	289	74					69					
Chrysophyceae															
<i>Chromulina elegans</i> Doflein			53	40	69			20	18		93		31	35	
<i>Chromulina minima</i> Doflein 1923					118										
<i>Dinobryon sertularia</i> (Ehrenberg)					37	29	45	128	298			55		174	219
<i>Mallomonas mangofera</i> (Harry & Bradley) f. foveata		20	12			19	20				19		36		
<i>Mallomonas matvienkoae</i> (Matvienko) Asmund & Kristiansen var. <i>grandis</i> Dürschmidt & Cronberg 1989	44		18	16	20	20	40					31	19		
<i>Monas socialis</i> (Saville-Kent) Lemmermann 1910	481				59										
<i>Ochromonas danica</i> Pringsheim 1966	77	20			39	20					19				

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Ochromonas margaritata</i> Skuja 1956		39		27	27	118					19		19	58	48
Cryptophyceae															
<i>Chilomonas paramecium</i> Ehrenberg	77		36	19			93			35	27				19
<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A. Castro, C. Bicudo & D. Bicudo 1992	211	501	23		100	58	28		89	37	73	15	53	31	19
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenber 1838													18		
<i>Cryptomonas obovata</i> Skuja							19			58	37	36	36	58	
<i>Rhodomonas lacustris</i> Pascher & Ruttner	33					30					19				
Cyanobacteria															
<i>Anabaenopsis</i> sp. V. V. Miller 1923				16		111			56	92					19
<i>Aphanocapsa elachista</i> West & G. S. West 1894			17		25	20									29
<i>Coelomoron tropicalis</i> Sena, Peres & Komárek			17	706		801	297								20
<i>Dolichospermum spiroides</i> (Klebahn) Walcklin, Hoffmann & Komárek 2009	29					20					36	15			295
<i>Jaaginema geminatum</i> (Meneghini ex Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988	347	302	100	27	39	40		44	107	37	25	17	27	18	29
<i>Leptolyngbya perelegans</i> (Lemmermann) Anagnostidis & Komárek 1988	58		12						36	36					

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Lepocinclis ovum</i> (Ehrenberg)															
Lemmermann var. <i>dimidio-minor</i>		40													
(Deflandre) Conrad															
<i>Lepocinclis ovum</i> (Ehrenberg) Minkevich			17			20									
var. <i>ovum</i>															
<i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg)	32	20	21			20					18		18		
Ehrenberg var. <i>volvocina</i>															
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Swirenko							19								
var. <i>volvocinopsis</i>															
Prasinophyceae															
<i>Angulomonas triquetra</i> Skvortzov 1968		180											18		
<i>Pedinomonas minutissima</i> Skuja 1956		80	71	82	74	120		46	38	27	37	36		17	39
<i>Tetraselmis</i> sp.	15										19	18			
Trebouxiophyceae															
<i>Acanthosphaera zachariasii</i>		19				131	20				19				
(Lemmermann) 1899															
<i>Botryococcus</i> sp.			12	18		20	19		18		36	15			19
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> (H. C. Wood)								80		260				116	350
<i>Dictyosphaerium sphagnale</i> (Hindák)						40				130		219		69	77
<i>Franceia droescheri</i> (Lemmermann)	17					39				19					

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Golenkiniopsis longispina</i> (Korshikov)			50	29			19	44	686	273	19	18	82	76	87
Korshikov															
<i>Koliella longiseta</i> (Visch.) Hind. F. tenuis Nyg. 1977				33				14	24	27		27	19	39	58
<i>Micractinium pusillum</i> (Fresenius)										39		73	35		
Zignemaphyceae															
<i>Closterium cornu</i> Ehrenberg ex Ralfs 1848				20						19			19	35	
<i>Closterium diana</i> Ehrenberg ex Ralfs var. <i>minus</i>				37	40		19		72	56				44	39
<i>Closterium navicula</i> (Brébisson) Lütken var. <i>navicula</i> 1903										37					
<i>Closterium</i> sp.				16	20										
<i>Closterium tumidum</i> (Johnson) var. <i>nyladicum</i>										19					19
<i>Cosmarium abbreviatum</i> Raciborski var. <i>minus</i> (West & West) Krieger & Gerloff, Gattung 1965			15	16		20						18			
<i>Cosmarium regnelli</i> Wille var. <i>minimum</i> Eichler & Gutw Rozer				116	16				94	85				52	164
<i>Cosmarium regnesii</i> Reinsch var. <i>regnesii</i> , Abh				33			19	14						19	

Mesotrófico															
Densidade (indivíduo.mL ⁻¹)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Cosmarium</i> sp. Corda ex Ralfs		20	51			20		20	63	37	18		39		19
<i>Cosmarium sphagnicolum</i> var. <i>sphagnicolum</i> West & West			53	173	116	59	19	59	48	216			47	196	44
<i>Euastrum abruptum</i> Nordstedt var. <i>abruptum</i> F. <i>abruptum</i>														17	
<i>Euastrum hypochondrum</i> Nordstedt var. <i>hypochondrum</i>														17	
<i>Euastrum lapponicum</i> Schmidle var. <i>lapponicum</i> F. laeve Prescott														20	
<i>Gonatozygon monotaenium</i> De Bary ex Rab.					19										
<i>Staurastrum micronoides</i> Coesel & Josten				39		20									
<i>Staurastrum minimum</i> Coesel	17		51	88	24	20		53	91	304	19		19	154	135
<i>Staurastrum paradoxum</i> Meyen ex Ralfs				60				28	30	46				50	32
<i>Staurastrum quadrangulare</i> (Brébisson) var. <i>quadrangulare</i>															19
<i>Staurodesmus cuspidatus</i> (Brébisson ex Ralfs) Teiling var. <i>cuspidatus</i>								14		28				36	39
<i>Staurodesmus lobatus</i> (Borgesen) Bournelly var. <i>ellipticus</i>										17					

Apêndice C - Lista da densidade dos taxóons encontrados nas comunidades fitoplanctônicas nas análises quantitativas do experimento simulando o estado eutrófico

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Bacillaryophyceae															
<i>Achnantheidium catenatum</i>															
(J. Bily & Marvan) Lange-Bert.				44	19				31	20			20		21
<i>Fragilaria aquaplus</i> Lange-Bertalot & Ulrich, Lauterbornia 2014								18		15					
<i>Fragilaria</i> sp. Lyngbye 1819										17				33	12
<i>Frustulia</i> sp. Rabenhorts 1853		30						27	48	23			196	236	136
<i>Navicula</i> sp. Bory de St. Vincent 1822								37	36				39	91	18
<i>Nupela</i> sp. Vyerman & Compère 1991									236						26
<i>Pinnularia brebissonii</i> (Kützing) Rabhenhorst var. <i>brebissonii</i> 1864			17												17
<i>Ulnaria ulna</i> (C. L. Nitzsch) Compère var. <i>ulna</i> 1817							37	52	72	18			39	106	53
Chlamydomonadophyceae															
<i>Chlamydomonas rattuli</i>			35		19	18	134	36						16	
<i>Chlamydomonas sordida</i> H.											921				

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Ettl 1965															
Chlorophyceae															
<i>Actinastrum hantzschii</i> (Lagerheim) var. <i>subtile</i>					38		134	690	196			142	276	132	35
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs				18	67										
<i>Chlorella kessleri</i> Fott & Nováková 1969					193										
<i>Chlorococcum infusionum</i> (Schrack) Meneghini 1842				703						140					441
<i>Chlorolobion braunii</i> (Nägeli) Komárek 1979	58		52		19	18	37				25	19			34
<i>Coelastrum astroideum</i> (De Notaris)															82
<i>Coelastrum reticulatum</i> (P. A. Dangeard) Senn 1899									162						
<i>Demodesmus pseudodenticulatus</i> (E. Hegewald) E. Hegewald														52	34
<i>Demodesmus communis</i> (E. Hegewald) E. Hegewald												146			
<i>Dimorphococcus lunatus</i> (A. Braun)									261	367			562	728	233
<i>Kirchneriella lunaris</i>			54	45			50	37	16			62	128	233	17

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
(Kirchner) K. Möbius, Abh. Senckenber. Naturf. Ges. 18:331. 1894 <i>Monoraphidium caribeum</i> (Hindák) <i>Monoraphidium irregulare</i> (G. M. Smith) Komárková- Legnerová <i>Monoraphidium komarkovae</i> Neygaard, Bot Tidsskr <i>Monoraphidium nanum</i> (Ettl) Hindák 1980: 145, pl.59: figs 2-4 <i>Monoraphidium pusillum</i> (Printz) Komárková- Legnerová <i>Pectinodesmus pectinatus</i> (Meyen) E. Hegewald <i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G. M. Smith 1918 <i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenber) Chodat 1926 <i>Schroederia antillarum</i>															
				737	289		714	1140	1291	311		2220	843	633	371
		62	889	287	567		83	69	664	192		50	127	72	97
	39														
							28	82					28		
		952	5800	3726	217	93	1779	1859	133	35	45	1163	869	669	205
										62			157	101	
			727	45	19	19	17	1503	1145	356		1733	904	732	398
				109	111	33		82	168	469			98	240	382
						25	17					36			

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
(Komárek)															
<i>Schroederia</i> sp. Lemmermann 1898				19					20		20				
<i>Schroederia spiralis</i> (Printz) Koršikov									16						
<i>Sphaerocystis planctonica</i> (Koršikov) Bourrelly 1974												2542			
<i>Tetraëdron caudatum</i> (Corda) Hansgirg 1839					96								79	255	208
<i>Tetraedron minimum</i> (A. Braun) Hansg.															17
<i>Uronema confervicolum</i> Lagerheim var. <i>africana</i> (Borge) Printz 1964					96				2728	1617				129	1539
<i>Westella botryoides</i> (West) De Wildeman			297				19	546			20	18	20	364	
Chrysophyceae															
<i>Chromulina elegans</i> Doflein										68					
<i>Chromulina minima</i> Doflein 1923											153				51
<i>Dinobryon cylindricum</i> (Imhof, 1980) var. <i>cylindricum</i>										62					
<i>Dinobryon sertularia</i>												19			

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
(Ehrenberg)															
<i>Dinobryon</i> sp.			16			35	69				96	94			
<i>Mallomonas mangofera</i> (Harry & Bradley) f. <i>foveata</i>	39					69	58				40	156			
<i>Mallomonas matvienkoae</i> (Matvienko) Asmund & Kristiansen var. <i>grandis</i> Dürschmidt & Cronberg 1989														16	
<i>Monas socialis</i> (Saville-Kent) Lemmermann 1910	5296	707	304			1894					2312	18			
<i>Ochromonas danica</i> Pringsheim 1966						23									
<i>Ochromonas margaritata</i> Skuja 1956					151	117				169		18			
Cryptophyceae															
<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A. Castro, C. Bicudo & D. Bicudo 1992	87	29	16	84		259	126	36			74	56	79		17
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenber 1838					77	17		18							
<i>Cryptomonas obovata</i> Skuja	19			39	116			37				39			
<i>Rhodomonas lacustris</i>			113			16	1228	110			100	843	98		

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
Pascher & Ruttner															
Cyanobacteria															
<i>Anabaenopsis</i> sp. V. V. Miller 1923				26	29			18	98	77				91	74
<i>Aphanocapsa elachista</i> West & G. S. West 1894									20						
<i>Chamaesiphon conferviculus</i> A. Braun in Rabenhorts 1865									196	20					187
<i>Dolichospermum</i> <i>spiroides</i> (Klebahn) Walcklin, Hoffmann & Komárek 2009							17								
<i>Geitlerinema splendidum</i> (Greville ex Gomont) Anagnostidis 1990					359		35					46			
<i>Jaaginema geminatum</i> (Meneghini ex Gomont) Anagnostidis & Komárek 1992					76			19	46	47	49			41	32
<i>Leptolyngbya perelegans</i> (Lemmermann) Anagnostidis & Komárek 1989					19						20				
<i>Limnothrix</i> sp M.-E. Meffert		19				40		18	48	15				36	

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Trachelomonas</i>															
<i>volvocinopsis</i> Swirenko var.						35					25		18		
<i>volvocinopsis</i>															
Prasinophyceae															
<i>Angulomonas triquetra</i>		19													
Skvortzov 1968															
<i>Pedinomonas minutissima</i>									334	48					109
Skuja 1956															
Trebouxiophyceae															
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>									119	17		154		13	108
(H. C. Wood)															
<i>Dictyosphaerium sphagnale</i>			87		193						119				
(Hindák)															
<i>Franceia droescheri</i>									16			19		14	
(Lemmermann)															
<i>Golenkiniopsis longispina</i>							17	37	79				57	511	
(Korshikov) Korshikov															
<i>Koliella longiseta</i> (Visch.)														10	68
Hind. F. tenuis Nyg. 1977															
<i>Micractinium pusillum</i>									20					73	
(Fresenius)															
Zignemaphyceae															
<i>Closterium cornu</i> Ehrenberg									31	33			20	243	54

Eutrófico															
Densidade (indivíduos.mL)	Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
ex Ralfs 1848															
<i>Closterium diana</i>															
Ehrenberg ex Ralfs var.				17	19		17	74	59	62		19	95	73	94
<i>minus</i>															
<i>Closterium navicula</i>															
(Brébisson) Lütken var.		23							16					20	
<i>navicula</i> 1902															
<i>Closterium</i> sp.								18	103	15			20	37	
<i>Closterium tumidum</i>															
(Johnson) var. <i>nyladicum</i>										17					17
<i>Cosmarium regnesii</i> Reinsch															
var. <i>regnesii</i> , Abh										33					24
<i>Cosmarium sphagnicolum</i>															
var. <i>sphagnicolum</i> West & West				101	19				54	70				139	206
<i>Euastrum denticulatum</i>															
(Kirchn.) F. Gay var.														36	
<i>retangulare</i> West & West															
<i>Euastrum hypochondrum</i>															
Nordstedt var.															12
<i>hypochondrum</i>															
<i>Gonatozygon monotaenium</i>															
De Bary ex Rab.									16				18	95	14
<i>Mougeotia</i> C. Agardh 1824									162						53

Eutrófico																
Densidade (indivíduos.mL)		Fito + <i>E. najas</i>					Fito + <i>Lemna</i> sp.					Fito Controle				
Classe/Espécie		Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30	Dia 1	Dia 5	Dia 10	Dia 20	Dia 30
<i>Staurastrum</i>	<i>micronoides</i>										20					
Coesel & Josten																
<i>Staurastrum</i>	<i>minimum</i>					19			29	50				48	24	
Coesel																
<i>Staurastrum</i>	<i>paradoxum</i>							19		18				10	20	
Meyen ex Ralfs																
<i>Staurastrum</i>	<i>quadrangulare</i>															
(Brébisson)	var.								16							
<i>quadrangulare</i>																
<i>Staurastrum</i> sp.																18
<i>Staurastrum</i>	<i>striolatum</i>															
(Nägeli) Archer														16	12	
<i>Staurastrum</i>	<i>tetracerum</i>															
(Kützing) Ralfs ex Ralfs var.									16	17				73	30	
<i>tetracerum</i> f. <i>tetracerum</i>																
<i>Staurodesmus</i>	<i>convergens</i>															
(Ehrenberg ex Ralfs) Teiling									19	16	21			23	17	
var. <i>laportei</i> Teiling																
<i>Staurodesmus</i>	<i>cuspidatus</i>															
(Brébisson ex Ralfs) Teiling															18	15
var. <i>cuspidatus</i>																
<i>Staurodesmus</i>	<i>dejectus</i>															
(Brébisson) Teiling										59	15					

ANEXOS

Anexo A - Meio de Cultura BG-11

Componente	Quantidade (mL.L⁻¹)	Concentração da Sol Estoque	Concentração final (mM)
NaNO₃	10	30g/200 mL água	17,6
K₂HPO₄ + 3H₂O	10	0,8g/200 mL água	0,23
MgSO₄ + 7H₂O	10	0,15g/200mL água	0,03
CaCl₂ + 2H₂O	10	0,72g/200 mL água	0,24
Ácido Cítrico	10	0,12g/200 mL água	0,031
Citrato Férrico de Amônio	10	0,12g/200 mL água	0,021
Na₂EDTA 2H₂O	10	0,02g/200 mL de água	0,0027
Na₂CO₃	10	0,4 g/200 mL de água	0,19
Solução Metais Traço A5 + Co*	1		

Fonte: Adaptado de Rippka *et al.* (1979)

Anexo B - Solução de Metais traço*

Componente	Quantidade (g.L⁻¹)
H₃BO₃	2,860
MnCl₂ + 4H₂O	1,810
ZnSO₄ + 7H₂O	0,222
NaMoO₄	0,390
CuSO₄ + 5H₂O	0,079
Co(NO₃)₂ + 6H₂O	0,0494

Fonte: Rippka *et al.* (1979)