



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Christine Lourenço Amorim Pereira

**Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e  
variação estequiométrica do perifíton em rios tropicais**

Rio de Janeiro  
2015

Christine Lourenço Amorim Pereira

**Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e variação estequiométrica do perifíton em rios tropicais**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Eugenia Zandonà

Coorientador: Prof. Dr. Timothy Peter Moulton

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

P436      Pereira, Christine Lourenço Amorim.  
            Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e  
            variação estequiométrica do perifíton em rios tropicais / Christine Lourenço  
            Amorim Pereira. – 2015.  
            169 f. : il.

            Orientadora: Eugenia Zandonà.  
            Coorientador: Timothy Peter Moulton.  
            Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade do Estado do  
            Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

            1. Ecologia aquática - Teses. 2. Ecologia dos rios - Teses. 3. Alga - Teses. 4.  
            Solo - Uso - Rio de Janeiro (Estado) - Teses. I. Zandonà, Eugenia. II. Moulton,  
            Timothy Peter. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia  
            Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 574.5

Autorizo para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação,  
desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Christine Lourenço Amorim Pereira

**Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e variação  
estequiométrica do perifíton em rios tropicais**

Dissertação apresentada, como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre, ao Programa  
de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, da  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 16 de Janeiro de 2015.

Orientadores:

Prof.<sup>a</sup> Dra. Eugenia Zandonà

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Timothy Peter Moulton

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Bruno Henrique Pimentel Rosado

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof. Dr. Marcelo Manzi Marinho

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Vera Lúcia de Moraes Huszar

Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. Albert Luiz Suhett

Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rosana Mazzoni

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2015

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço aos meus pais, Leno e Cristina, por todo o suporte, carinho, amor e atenção incondicionais que tive a honra de receber daqueles que considero, dentre todos, os meus melhores amigos. Não posso deixar de agradecer, também, ao Jorge por todo o companheirismo e compreensão ao longo destes dois anos de mestrado. Em especial, o meu enorme “muito obrigada” ao meu irmão, Lucas, por toda a ajuda nos campos e todas as aventuras provenientes destas experiências, certamente aprendemos muito juntos nesta jornada!

Agradeço à professora Eugenia Zandonà por toda a orientação oferecida desde que nos conhecemos. Definitivamente a sua importância sobrepuja a de professora, e encontra na palavra ‘mestre’ um significado mais próximo da realidade. Nossas conversas, reuniões, campos, contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal. Sem você este trabalho não seria viável, e sou-lhe profundamente grata pela excelente orientação para o trabalho e para a vida.

Agradeço, também, ao professor Tim pela imensa sabedoria e paciência. Obrigada pelo tempo dispensado a mim durante a realização deste trabalho. O seu ponto de vista sobre muitas questões foi crucial em diversos momentos.

Agradeço aos colegas de laboratório pelo fácil convívio e discussões saudáveis. Em especial, agradeço ao Vinícius Neres de Lima pela indispensável ajuda nas análises estatísticas e pelo constante compartilhamento de sua sabedoria em nossas – muitas – conversas (obrigada, Vini!). Também ao Tom Heatherly pela ajuda nas análises da taxonomia (Thank you, Tom). Agradeço à Flavia Tromboni pela imensa ajuda nos campos e nas análises dos nutrientes: obrigada pelas infinitas horas dispensadas nas análises de fósforo, você foi incansável! Não poderia esquecer dos amigos que auxiliaram imensamente nos trabalhos de campo: Monalisa Araújo, Eduardo Silva e Rafael Feijó. Agradeço às amigas Cláudia Machado, Joanna de Mattos e Claudia Andrade pelas conversas e pelo apoio moral essencial na reta final do trabalho: certamente vocês me deram forças nos momentos mais difíceis! Um grande obrigada, também, aos estagiários do LERC pelo auxílio: Jeferson Ribeiro, Gabriel Goulart, Beatriz Ferreira, Tamara Magalhães, Mariana Gonzalez, Diego Rafael e Bruna Silva.

Agradeço à minha grande amiga e doutoranda Viviane Bernardes pelo essencial compartilhamento teórico-prático da taxonomia, certamente as minhas horas passadas no laboratório não seriam tão agradáveis sem a sua presença!

Agradeço ao professor Steve Thomas pela ajuda no projeto contemplado pelo programa Ciências Sem Fronteiras.

Agradeço ao Cláudio Cardoso Marinho, do Laboratório de Limnologia da UFRJ, pela ajuda nas análises estequiométrica. Agradeço ao professor Marcelo Manzi Marinho pelo auxílio na calibração do fluorímetro e por ter aceitado fazer parte da minha banca. Agradeço, também, aos professores Vera Huszar, Bruno Rosado, Albert Suhett e Rosana Mazzoni por fazerem parte da banca.

Agradeço aos administradores da Reserva Ecológica de Guapiaçu por todo o suporte logístico oferecido durante os campos.

Agradeço à agência de fomento Capes pela bolsa recebida durante o desenvolvimento do trabalho e ao programa Ciências Sem Fronteiras, pelo suporte financeiro para a realização do projeto.

Há homens que lutam por um dia e são bons.  
Há outros que lutam por um ano e são melhores.  
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.  
Porém, há os que lutam toda a vida.  
Estes são os imprescindíveis

*Bertold Brecht*

## RESUMO

LOURENCO-AMORIM, Christine. *Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e variação estequiométrica do perifíton em rios tropicais*. 2015. 169f.: il. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Os rios em todo o mundo estão ameaçados através da alteração do uso e cobertura do solo. Nesse contexto, o perifíton é sugerido como indicador biológico devido ao seu ciclo de vida curto, à comunidade autótrofa e à riqueza de espécies. O objetivo deste estudo foi identificar mudanças em parâmetros estruturais e funcionais da assembleia perifítica em relação aos diferentes tipos de cobertura do solo (pristino, perturbação intermediária e perturbado); em especial na limitação nutricional, crescimento e acúmulo, composição taxonômica e estequiometria da comunidade. O trabalho foi desenvolvido em três rios (Santa Maria, Itaperiti, Anil) da bacia Guapi-Macacu, RJ, Brasil. A limitação nutricional foi acessada através de Substratos Difusores de Nutrientes alocados *in situ*; estes substratos consistem em potes com agar-agar, enriquecidos com nutrientes (N, P, N+P), ou não (controle), que difundem até o filtro, servindo de substrato para o crescimento perifítico. Ainda, o crescimento foi acessado através da colonização de azulejos, amostrados em datas diferentes; na última data, a amostragem também foi feita para a verificação da composição taxonômica e estequiométrica da assembleia. Os resultados mostraram que a comunidade perifítica é limitada primariamente por luz nos pontos prístinos; já nos pontos perturbados, há limitação por nitrogênio ou fósforo, dependendo do uso do solo predominante – agricultura com maior aporte de nitrogênio, causando limitação por fósforo, e pecuária com maior aporte de fósforo, causando limitação por nitrogênio. Os trechos perturbados apresentaram maior biomassa perifítica em termos de clorofila *a*; além disso, também mostraram as maiores taxas de crescimento da comunidade. Também, houve mudanças na composição taxonômica da comunidade no gradiente de perturbação, com o aumento de gêneros tolerantes à poluição e diminuição de gêneros não tolerantes e da diversidade e a equitabilidade. A intensidade luminosa foi determinante na presença dos táxons, e a concentração de fosfato, nas suas abundâncias. Por fim, as razões estequiométricas - C:N, C:P and N:P - diminuíram em função da concentração de nutrientes na água, indicando o potencial de remoção de nutrientes em córregos poluídos. O presente trabalho foi inovador na área limnológica devido à abordagem estequiométrica em conjunto com o grande número de outras variáveis biológicas. Em tempo, a dificuldade de separação dos efeitos das variáveis ambientais neste estudo *in situ* faz com que seja sugerido o uso de experimentos controlados em mesocosmos posteriormente.

Palavras-chave: Uso do solo. Perifíton. NDS. Estequiometria. Crescimento. Taxonomia.



## ABSTRACT

LOURENCO-AMORIM, Christine. *Impacto do uso do solo no crescimento, limitação nutricional, taxonomia e variação estequiométrica do perifíton em rios tropicais*. 2015. 169f.:il. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The rivers around the world are threatened by changes in land use. In this context, the periphyton is a great biological indicator due to its short life cycle, the autotrophic community and species richness. The aim of this study was to identify changes in structural and functional attributes of the periphytic assemblages in relation to the different land uses (pristine, mixed, and impacted); especially related to nutritional limitation, growth and accumulation, taxonomic composition and stoichiometry of the community. The study was conducted in three rivers (Santa Maria, Itaperiti, Anil) of Guapi-Macacu basin, RJ, Brazil. Nutritional limitation was accessed through Nutrient Diffusing Substrata allocated in situ; these substrata consist of agar solution enriched with nutrients (N, P, N+P) or not (control), which diffuse through the filter, which acts as a substrate for the periphyton growth. Growth was also assessed through colonization of tiles, sampled at 4 different dates; on the last date, samples were used to assess the taxonomic and stoichiometric composition of the periphyton. The results showed that periphyton community was limited primarily by light at pristine sites; the disturbed reaches were limited by nitrogen or phosphorus, depending on the prevailing land use – agriculture with higher nitrogen supply, causing limitation by phosphorus, and livestock with higher phosphorus supply, causing nitrogen limitation. The disturbed site also showed higher periphyton biomass in terms of chlorophyll *a*. In addition, the highest community growth rates were found at the disturbed reaches. There were changes in the periphyton taxonomic composition along the impact gradient, with increasing pollution-tolerant genera and disappearance of non-tolerant genera. The diversity and evenness of algae taxa were higher in pristine sites. Canopy openness was an important factor determining presence/absence of taxa, while PO<sub>4</sub> concentration was crucial for their abundances. Finally, the periphyton stoichiometric ratios – measured as C:N, C:P and N:P - decreased according to the nutrient concentration in the water, indicating the potential for nutrient removal in polluted streams. This work was innovative in limnological area due to the stoichiometric approach and the large number of other biological variables. The difficulty of separating the environmental variables effects in this study *in situ* suggests the use of controlled experiments in mesocosms in latter studies.

Keywords: Land use. periphyton. Nutrient diffusing substrata. Stoichiometry. Growth. Taxonomy.

## LISTA DE FIGURAS

|             |                                                                                                      |    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 –  | Ciclo esquemático do nitrogênio.....                                                                 | 24 |
| Figura 2 –  | Ciclo esquemático do fósforo.....                                                                    | 25 |
| Figura 3 –  | O ciclo dos nutrientes e o conceito de “spiralling” .....                                            | 26 |
| Figura 4 –  | Figura esquemática da hipótese da luz : nutrientes.....                                              | 32 |
| Figura 5 -  | Representação esquemática das hipóteses formuladas.....                                              | 40 |
| Figura 6 –  | Localização dos três rios estudados no complexo hidrográfico<br>Guapiaçu-Macacu.....                 | 41 |
| Figura 7 –  | Caracterização do uso do solo adjacente aos rios.....                                                | 42 |
| Figura 8 –  | Exemplo de pontos considerados prístinos, perturbação intermediária e<br>perturbados.....            | 45 |
| Figura 9 –  | Desenho experimental realizado em três rios do complexo de bacias<br>Guapi-Macacu.....               | 47 |
| Figura 10 – | Substratos Difusores de Nutrientes.....                                                              | 50 |
| Figura 11 - | Curva de calibração de clorofila <i>a</i> .....                                                      | 52 |
| Figura 12 – | Instalação <i>in situ</i> do experimento com azulejos.....                                           | 55 |
| Figura 13 – | Análise exploratória dos dados físicos e químicos.....                                               | 65 |
| Figura 14 – | Gráfico de barras das taxas de difusão.....                                                          | 68 |
| Figura 15 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) em cada categoria de uso do solo no rio Santa<br>Maria..... | 71 |
| Figura 16 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) ao longo do rio Santa Maria.....                            | 72 |
| Figura 17 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) em cada categoria de uso do solo no rio Anil.....           | 73 |
| Figura 18 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) ao longo do rio Anil.....                                   | 74 |
| Figura 19 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) em cada categoria de uso do solo no rio Itaperiti....       | 75 |
| Figura 20 – | Clorofila <i>a</i> (mg.m <sup>-2</sup> ) ao longo do rio Itaperiti.....                              | 76 |
| Figura 21 – | ‘Response ratio’ por categoria de uso do solo para o rio Santa Maria.....                            | 76 |
| Figura 22 – | ‘Response ratio’ por categoria de uso do solo para o rio Anil.....                                   | 77 |
| Figura 23 – | ‘Response ratio’ por categoria de uso do solo para o rio Itaperiti.....                              | 77 |
| Figura 24 – | Regressões lineares clorofila <i>a</i> potes controle e variáveis ambientais.....                    | 78 |
| Figura 25 – | Curva de crescimento clorofila <i>a</i> ao longo do tempo.....                                       | 81 |
| Figura 26 – | Regressões entre clorofila <i>a</i> e floresta e correnteza.....                                     | 82 |
| Figura 27 – | Regressões entre clorofila <i>a</i> e concentraçãoo amônio e massa seca.....                         | 83 |

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 28 – Taxa de crescimento ao longo do tempo.....                                                  | 85  |
| Figura 29 – Massa seca livre de cinzas ao longo do tempo.....                                           | 88  |
| Figura 30 – Matéria orgânica e inorgânica em cada categoria de uso do solo.....                         | 91  |
| Figura 31 – Porcentagem dos grandes grupos presentes no perifíton em cada categoria do uso do solo..... | 93  |
| Figura 32 – Abundância relativa dos táxons presentes.....                                               | 94  |
| Figura 33 – NMDS entre abundância das espécies algais e as variáveis ambientais....                     | 99  |
| Figura 34 – Razão estequiométrica C:P em relação às categorias de uso do solo.....                      | 101 |
| Figura 35 – Razão estequiométrica C:N em relação às categorias de uso do solo.....                      | 102 |
| Figura 36 – Razão estequiométrica N:P em relação às categorias de uso do solo.....                      | 102 |
| Figura 37 – Regressões lineares C:N e variáveis ambientais.....                                         | 104 |
| Figura 38 – Regressões lineares C:P e variáveis ambientais.....                                         | 105 |
| Figura 39 – Regressões lineares N:P e variáveis ambientais.....                                         | 107 |
| Figura 40 – Regressões lineares.....                                                                    | 109 |
| Figura 41 – Regressões lineares.....                                                                    | 110 |

## LISTA DE TABELAS

|             |                                                                              |    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 –  | Características estruturais das assembleias perifíticas.....                 | 18 |
| Tabela 2 –  | Porcentagem de floresta calculada para cada ponto estudado.....              | 44 |
| Tabela 3 –  | Variáveis físicas e químicas nas categorias de uso do solo.....              | 66 |
| Tabela 4 –  | Variáveis físicas e químicas nos rios estudados.....                         | 67 |
| Tabela 5 –  | ANOVA split-plot Substratos Difusores de Nutrientes.....                     | 69 |
| Tabela 6 –  | ANOVA repeated measures Clorofila <i>a</i> .....                             | 80 |
| Tabela 7 –  | ANOVA repeated measures taxa de crescimento.....                             | 84 |
| Tabela 8 –  | Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade nas categorias... | 97 |
| Tabela 9 –  | Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade nos rios.....     | 97 |
| Tabela 10 – | NMDS. Ordenação da abundância algal com as variáveis ambientais.....         | 99 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

|      |                                                                |
|------|----------------------------------------------------------------|
| MSLC | Massa Seca Livre de Cinzas                                     |
| ANL  | Rio Anil                                                       |
| DM   | Dry Mass (Massa Seca)                                          |
| ITA  | Rio Itaperiti                                                  |
| MI   | Matéria Inorgânica                                             |
| MO   | Matéria Orgânica                                               |
| NDS  | Nutrient Diffusing Substrata (Substrato Difusor de Nutrientes) |
| STM  | Rio Santa Maria                                                |

## SUMÁRIO

|       |                                                                                    |    |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------|----|
|       | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                             | 17 |
| 1     | <b>PERIFITON.....</b>                                                              | 17 |
| 1.1   | <b>O perifíton e a sua importância.....</b>                                        | 17 |
| 1.2   | <b>Diversidade taxonômica do perifíton.....</b>                                    | 18 |
| 1.3   | <b>Colonização e sucessão do perifíton.....</b>                                    | 20 |
| 1.4   | <b>Limitação do crescimento do perifíton.....</b>                                  | 21 |
| 1.4.1 | <u>Controle <i>bottom-up</i>.....</u>                                              | 22 |
| 1.5   | <b>Papel do perifíton na ciclagem de nutrientes.....</b>                           | 23 |
| 1.5.1 | <u>A limitação nutricional e a lei do mínimo de Liebig.....</u>                    | 27 |
| 1.6   | <b>O perifíton como bioindicador em rios.....</b>                                  | 27 |
| 1.7   | <b>Estequiometria ecológica.....</b>                                               | 29 |
| 1.7.1 | <u>Consumo de luxo.....</u>                                                        | 30 |
| 1.7.2 | <u>A hipótese da luz : nutrientes.....</u>                                         | 31 |
| 1.7.3 | <u>A hipótese da taxa de crescimento.....</u>                                      | 33 |
| 1.8   | <b>Impactos do uso do solo e o novo código florestal.....</b>                      | 33 |
| 1.8.1 | <u>Eutrofização.....</u>                                                           | 35 |
| 1.9   | <b>Justificativa.....</b>                                                          | 36 |
| 2     | <b>OBJETIVO.....</b>                                                               | 38 |
| 2.1   | <u>Objetivos gerais.....</u>                                                       | 38 |
| 2.2   | <u>Objetivos específicos.....</u>                                                  | 38 |
| 2.3   | <b>Hipóteses.....</b>                                                              | 38 |
| 3     | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                     | 41 |
| 3.1   | <b>Área de estudo.....</b>                                                         | 41 |
| 3.2   | <b>Variáveis físicas e químicas.....</b>                                           | 45 |
| 3.3   | <b>Desenho experimental.....</b>                                                   | 46 |
| 3.4   | <b>Limitação Nutricional.....</b>                                                  | 47 |
| 3.4.1 | <u>Descrição e preparo das unidades experimentais (NDS) .....</u>                  | 47 |
| 3.4.2 | <u>Instalação do experimento <i>in situ</i>.....</u>                               | 49 |
| 3.4.3 | <u>Quantificação da clorofila <i>a</i>.....</u>                                    | 50 |
| 3.4.4 | <u>Transformação dos dados.....</u>                                                | 51 |
| 3.4.5 | <u>Response ratio.....</u>                                                         | 52 |
| 3.4.6 | <u>Teste de difusão.....</u>                                                       | 53 |
| 3.5   | <b>Crescimento e acúmulo.....</b>                                                  | 54 |
| 3.5.1 | <u>Descrição e preparo das unidades experimentais.....</u>                         | 54 |
| 3.5.2 | <u>Instalação do experimento <i>in situ</i>.....</u>                               | 54 |
| 3.5.3 | <u>Quantificação da clorofila <i>a</i>.....</u>                                    | 55 |
| 3.5.4 | <u>Quantificação da massa seca (MS) .....</u>                                      | 55 |
| 3.5.5 | <u>Quantificação da massa seca livre de cinzas (Ash-Free Dry Mass: MSLC ).....</u> | 56 |

|         |                                                              |     |
|---------|--------------------------------------------------------------|-----|
| 3.5.6   | <u>Taxa de crescimento e estoque</u> .....                   | 57  |
| 3.6     | <b>Composição Taxonômica</b> .....                           | 57  |
| 3.6.1   | <u>Descrição e preparo das unidades experimentais</u> .....  | 57  |
| 3.6.2   | <u>Caracterização taxonômica</u> .....                       | 57  |
| 3.7     | <b>Estequiometria</b> .....                                  | 59  |
| 3.7.1   | <u>Descrição e preparo das unidades experimentais</u> .....  | 59  |
| 3.7.2   | <u>Análises laboratoriais</u> .....                          | 59  |
| 3.8     | <b>Análises estatísticas</b> .....                           | 60  |
| 4       | <b>RESULTADOS</b> .....                                      | 63  |
| 4.1     | <b>Variáveis físicas e químicas</b> .....                    | 63  |
| 4.2     | <b>Limitação nutricional</b> .....                           | 68  |
| 4.2.1   | <u>Teste de difusão</u> .....                                | 68  |
| 4.2.2   | <u>Substratos Difusores de Nutrientes (NDS)</u> .....        | 69  |
| 4.2.2.1 | Santa Maria.....                                             | 69  |
| 4.2.2.2 | Anil.....                                                    | 72  |
| 4.2.2.3 | Itaperiti.....                                               | 74  |
| 4.3     | <b>Crescimento e acúmulo</b> .....                           | 79  |
| 4.3.1   | <u>Clorofila a</u> .....                                     | 79  |
| 4.3.2   | <u>Taxa de Crescimento</u> .....                             | 83  |
| 4.3.2.1 | Santa Maria.....                                             | 84  |
| 4.3.2.2 | Anil.....                                                    | 84  |
| 4.3.2.3 | Itaperiti.....                                               | 85  |
| 4.3.3   | <u>Massa seca livre de cinzas</u> .....                      | 86  |
| 4.3.3.1 | Santa Maria.....                                             | 87  |
| 4.3.3.2 | Anil.....                                                    | 87  |
| 4.3.3.3 | Itaperiti.....                                               | 87  |
| 4.3.4   | <u>Matéria orgânica (MO) e matéria inorgânica (MI)</u> ..... | 90  |
| 4.4     | <b>Composição Taxonômica</b> .....                           | 92  |
| 4.4.1   | <u>Grandes grupos</u> .....                                  | 92  |
| 4.4.2   | <u>Gêneros</u> .....                                         | 93  |
| 4.4.3   | <u>Parâmetros de riqueza e diversidade</u> .....             | 96  |
| 4.4.4   | <u>Presença/ausência e abundância</u> .....                  | 98  |
| 4.4.5   | <u>Lista taxonômica</u> .....                                | 100 |
| 4.5     | <b>Estequiometria</b> .....                                  | 100 |
| 5       | <b>DISCUSSÃO</b> .....                                       | 111 |
| 5.1     | <b>Variáveis físicas e químicas</b> .....                    | 112 |
| 5.2     | <b>Limitação nutricional</b> .....                           | 114 |
| 5.2.1   | <u>Teste de difusão</u> .....                                | 114 |
| 5.2.2   | <u>NDS</u> .....                                             | 115 |
| 5.3     | <b>Crescimento e Acúmulo</b> .....                           | 118 |

|       |                                                   |     |
|-------|---------------------------------------------------|-----|
| 5.4   | <b>Composição taxonômica.....</b>                 | 122 |
| 5.4.1 | <u>Grandes grupos.....</u>                        | 122 |
| 5.4.2 | <u>Distribuição de abundância dos táxons.....</u> | 123 |
| 5.4.3 | <u>Gêneros.....</u>                               | 124 |
| 5.4.4 | <u>Parâmetros de riqueza e diversidade.....</u>   | 129 |
| 5.5   | <b>Estequiometria.....</b>                        | 130 |
|       | <b>CONCLUSÃO.....</b>                             | 134 |
|       | <b>APÊNDICE A – Lista taxonômica.....</b>         | 137 |
|       | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                           | 145 |



## INTRODUÇÃO

### 1 PERIFÍTON

#### 1.1 O perifíton e a sua importância

O estudo do perifíton pode ser traduzido, para pessoas leigas, como o estudo do “limo” que está aderido em superfícies aquáticas submersas. Apesar desta observação trivial sugerir o estudo perifíton como objetivo simples, a realidade desta comunidade é muito mais complexa. O termo “perifíton” é de origem grega e significa, literalmente, “ao redor da planta”. Posteriormente o termo ganhou conotação mais ampla e é denominado para todos os organismos aquáticos sésseis que crescem em superfícies submersas (Cooke, 1956).

O perifíton, portanto, constitui o crescimento microfloral sobre superfícies submersas em ambientes aquáticos, podendo ser principalmente rochas (epilíton), madeiras (epipendriton), outras plantas (epifíton) ou sedimento fino (epipélton). Compreende cianobactérias e algas unicelulares, pequenas espécies algais filamentosas, bactérias, fungos, diatomáceas e outros micro-organismos (Moulton et al. 2009) que estão firmes ou frouxamente aderidos aos substratos, e pode ser composto de organismos vivos ou mortos (Wetzel 1983). Além da complexa comunidade de microorganismos, grande parte do material perifítico é extracelular. A matéria não-viva, detritos orgânicos e inorgânicos, constitui a maior parte do perifíton, cuja estabilidade e coesão são mantidas pela produção de uma matriz polissacarídica (Roemer et al. 1984).

A característica lótica dos ecossistemas de riachos dificulta o estabelecimento de algas fitoplancônicas, bem como limita a distribuição de macrófitas devido a distúrbios físicos (Lamberti et al. 2006), tais como correntezas, inundações, entre outros. Nesse cenário, as algas perifíticas são os principais produtores primários na maioria dos riachos e essa matéria autóctone, produzida pelo próprio sistema, é particularmente importante em riachos tropicais (Brito et al. 2006; Davies et al. 2008).

Os estudos sobre a comunidade perifítica tornaram-se essenciais para a melhor compreensão ecológica dos ecossistemas aquáticos continentais. Esta comunidade desempenha reconhecido papel nos ciclos energéticos, consistindo na fonte principal ou dominante de síntese de matéria orgânica nas regiões litorais ou nos ecossistemas rasos, sendo responsáveis pela fixação de carbono e sequestro de nutrientes essenciais como nitrogênio e

fósforo, tornando-os disponíveis aos consumidores através da cadeia alimentar (Dodds 2003, Lowe and Pan 1996, Vadeboncoeur et al. 2002, Wetzel 1983, 1996 e 2001).

A comunidade das algas perifíticas pode ser caracterizada por meio de vários parâmetros estruturais e funcionais (tabela 1). Os parâmetros estruturais permitem a caracterização instantânea das assembleias algais; já os parâmetros funcionais (processos medidos ao longo do tempo) são medidas ou indicadores do metabolismo do perifíton: taxa de fotossíntese, taxa de respiração, produtividade primária, taxa de crescimento, entre outros (Santos et al. 2013).

Tabela 1 - Características estruturais das assembleias perifíticas

| <b>Características Estruturais</b> | <b>Medidas / Estimativas</b>                                                           |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Biomassa</b>                    | Clorofila <i>a</i> , Peso seco livre de cinzas (MSLC), Razão clorofila <i>a</i> : MSLC |
| <b>Estrutura de espécies</b>       | Densidade algal, Abundância relativa das espécies                                      |
| <b>Diversidade</b>                 | Índices de diversidade, Riqueza de espécies, Equitabilidade, Dominância                |
| <b>Composição elementar</b>        | Razão molar C:N:P                                                                      |

## 1.2 Diversidade taxonômica do perifíton

São cinco as linhagens algais mais comumente encontradas no perifíton de águas continentais: Cyanobacteria (cianofíceas), Ochrophyta (diatomáceas), Chlorophyta (clorofíceas, algas verdes), Streptophyta (algas verdes, desmídias e carofíceas) e Rhodophyta (rodofíceas, algas vermelhas). A divisão Cyanobacteria é constituída de organismos procariontes e faz parte do domínio *Eubacteria*, ao passo que os outros grupos encontram-se disseminados em várias linhagens no domínio *Eukaria*. Em *Eukaria*, as maiores biomassas de perifíton estão divididas no reino *Plantae* (Chlorophyta, Streptophyta e Rhodophyta) e sub-reino *Stramenopiles* (Ochrophyta) (Burliga e Schwarzbald 2013).

Em relação às algas, este grupo constitui um conjunto de organismos distribuídos em grupos taxonômicos muito diversificados e, muitas vezes, não possuem laços de parentesco

entre si. A classificação das algas permanece, ainda, amplamente fundamentada em características como a natureza e localização dos pigmentos, dos carboidratos de reserva e a disposição dos tilacóides (Franceschini 2010). Apesar da grande diversidade metabólica e tipos de reprodução, todas as divisões compartilham uma característica em comum: possuem clorofila *a*.

Quanto à diversidade morfológica, as algas perifíticas possuem uma grande diversidade de formas de vida. Os tipos de talo podem variar desde unicelulares, coloniais, pseudofilamentosos a filamentosos não ramificados e ramificados (Bicudo e Menezes 2006; Franceschini *et al.* 2010). Também apresentam diferentes adaptações morfológicas ao tipo de aderência ao substrato, podendo ser firmemente aderidas, aderidas por mucilagem almofadada, mucilagem em tubo, entre outros (Schwarzbald e Burliga 2013).

A composição da comunidade perifítica, tanto autotrófica quanto heterotrófica, é influenciada tanto por fatores abióticos (profundidade, fluxo de água, pluviosidade, luminosidade, temperatura, pH, concentrações de nutrientes) como bióticos (competição, predação, taxas reprodutivas, emigração, imigração), que irão interferir na dominância dos grupos e, às vezes, até das espécies (Sharapova 2010). A ocorrência e persistência das espécies nos ambientes aquáticos dependem da capacidade adaptativa e do limite de tolerância dos organismos.

As diatomáceas são algas que predominam no perifíton por apresentarem estratégias adaptativas como alta resistência a distúrbios físicos, capacidade de adesão a substratos (pela presença de poros, produção de mucilagem e pedúnculo) e altas taxas de migração (Round *et al.* 1990; Biggs *et al.* 1998; Fernandes 2005). Apesar de alguns autores argumentarem que apenas a identificação de diatomáceas a nível específico é capaz de detectar diferenças entre as condições biológicas dos rios (Lavoie *et al.* 2009), outros, em contraste, mostram que a identificação ao nível de gênero é tão eficiente quanto a de nível de espécies (Kelly *et al.* 1995, Wu 1999, Raunio and Soininem 2007 e Rimet and Bouchez 2012).

Os pesquisadores tem discordado nos méritos relativos de se usar a assembleia perifítica total ou apenas as diatomáceas na avaliação da qualidade das águas (DeNicola *et al.* 2014). A inclusão dos táxons que não são diatomáceas deveria, em teoria, permitir uma representação mais diversa das comunidades perifíticas em maiores abrangências de concentrações de nutrientes e relações mais precisas com a qualidade da água (King *et al.* 2000 e DeNicola *et al.* 2004). Mas, modelos baseados em diatomáceas apenas, são tão poderosos quanto aqueles que consideram toda a assembleia (Kelly *et al.* 2008).

### 1.3 Colonização e sucessão do perifíton

A colonização é definida como o processo pelo qual uma ou mais espécies se instala em um substrato anteriormente não ocupado (Ab'Saber *et al.* 1997). A sucessão ecológica é entendida como a colonização sucessiva e contínua de um local por certas populações de espécies, acompanhada da extinção de outras (Towsend *et al.* 2010). Esses processos são importantes e devem ser considerados no estudo ecológico do perifíton. Tratando-se de substrato artificial, como lâmina de vidro ou azulejo, o período de colonização de microalgas pode variar entre duas, três ou quatro semanas (Cerrao *et al.* 1991; Vercellino and Bicudo 2006).

O evento de sucessão se inicia com o aumento da biomassa total, segue com o aumento da produção primária e estruturação mais complexa das comunidades e culmina no desenvolvimento de mecanismos da homeostase (Margalef 1983). A concentração de clorofila *a* é um bom indicativo da maturidade do sistema no máximo desenvolvimento algal; enquanto que a biomassa pode continuar a aumentar após o máximo de clorofila *a*, em razão do acúmulo de células mortas (Cattaneo *et al.* 1975).

O processo de colonização inicia-se com a deposição de substâncias orgânicas e com uma cobertura de bactérias, aderidas ao substrato por este suporte de matéria orgânica particulada morta (Flemming 1995). Após esta colonização primária, pequenas algas – mais comumente pequenas diatomáceas penadas – se aderem à matriz orgânica secretada pelas bactérias. Nos estágios avançados do desenvolvimento do perifíton, algas clorofíceas e cianobactérias filamentosas podem crescer, formando uma comunidade disposta em camadas (Hoagland *et al.* 1982; Tuchman 1996).

Considerando a característica intrínseca a todas as populações de um crescimento exponencial, a resposta do porquê populações na natureza não crescem sem parar foi de extrema importância na ecologia. Assim, modelos matemáticos servem para descrever e prever o crescimento de populações naturais. Em 1798 Malthus desenvolveu o modelo exponencial de crescimento das populações, onde a taxa de mudança do tamanho populacional no tempo ( $dN/dt$ ) era proporcional a uma taxa intrínseca de crescimento ( $r$ ) e ao tamanho populacional ( $N$ ).

O matemático belga Pierre F. Verhulst, em 1837, propôs um modelo que supõe que uma população poderá crescer até um limite máximo, a partir do qual tende a se estabilizar. Este modelo atende à condição de que a taxa de crescimento efetiva de uma população varia

ao longo do tempo. Neste contexto, em baixas densidades o crescimento populacional é baixo e vai aumentando até atingir o seu máximo (onde o tamanho da população corresponde à metade da capacidade de suporte do sistema,  $K/2$ ), depois do qual o crescimento populacional desacelera à medida que o tamanho da população se aproxima da capacidade de suporte ( $K$ ).

A taxa de crescimento do perifíton é difícil de ser determinada, sendo indiretamente medida através da biomassa das algas ou da atividade fotossintética. O padrão verificado na taxa de crescimento do perifíton, em substrato artificial, em geral segue uma curva sigmoide (Sand-Jensen 1983). A parte inferior da curva representa a colonização inicial do substrato e a parte superior o crescimento de uma comunidade madura. Após um rápido crescimento inicial exponencial, o biofilme atinge um nível constante, sofrendo, então, um declínio da biomassa.

O ambiente e fatores bióticos são importantes no processo de colonização. Além da velocidade da corrente, outros fatores como nutrientes, luz, temperatura, instabilidade do substrato e interações biológicas regulam o equilíbrio da biomassa perifítica (Biggs 1996; McCormick 1996). A remoção do perifíton de sua base pode ocorrer por descamação, como resultado da limitação de luz e/ou nutrientes ou por outros distúrbios relacionados a enchentes, por exemplo (Peterson 1996).

#### 1.4 Limitação do crescimento do perifíton

O perifíton é afetado por uma matriz complexa de interações (Pringle and Triska 2006), e a sua distribuição, biomassa e produção nos córregos são controlados por vários fatores, dentre os quais a disponibilidade de luz - um fator limitante para a fotossíntese - é, frequentemente, o mais importante (Boston and Hill 1991). O crescimento do perifíton é potencialmente limitado por diversos fatores, bióticos e abióticos, que podem ser divididos em duas grandes categorias: limitação do tipo *top-down* e limitação do tipo *bottom-up* (Power 1992, Rosemond et al. 1993, Lourenço-Amorim et al. 2014) que se espalham ao longo das redes tróficas.

Os conceitos dos controles *top-down* e *bottom-up* são melhor entendidos considerando-se uma comunidade com três níveis tróficos. Assim, o controle *top-down* é feito pelos predadores sobre os pastadores e estes sobre os produtores primários; ao passo que o controle *bottom-up* ocorre devido à disponibilidade de nutrientes, por exemplo, para o

crescimento dos produtores primários e devido à quantidade dos produtores primários para os pastejadores, bem como a densidade destes para os predadores (Begon et al. 2007).

Desta forma, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, carga nutricional e velocidade da água são considerados controladores *bottom-up* do crescimento do perifíton, ao passo que os fatores bióticos como a herbivoria e as interações tróficas subsequentes existentes nas cadeias alimentares aquáticas são considerados controladores *top-down* do crescimento do perifíton (Moulton et al. 2004).

#### 1.4.1 Controle *bottom-up*

O controle ascendente (*bottom-up*) foi originalmente proposto por Oksanen (1988), que defendeu que o mundo nem sempre é verde: em ecossistemas extremamente improdutivos a herbivoria será fraca por não haver alimento suficiente para sustentar populações efetivas de herbívoros, de modo que as plantas e os herbívoros serão limitados “de baixo para cima” (*bottom-up*). Diversos fatores são importantes para o crescimento perifítico e podem ter efeitos limitantes do tipo *bottom-up*. Dentre esses fatores, pode-se destacar a quantidade de luz (Dudgeon 1988, Bunn et al. 1990, Mosich et al. 2001), velocidade da correnteza (Ruttner 1963, Moulton et al. 2009) e a carga nutricional dos ecossistemas (Rosemond et al. 1993, Power 1992). A quantidade de luz incidente nos corpos d’água usualmente influencia positivamente o crescimento da comunidade perifítica, havendo maiores quantidades de clorofila com menores graus de sombreamento (Dudgeon 1988, Bunn et al. 1990, Mosich et al. 2001).

A velocidade da correnteza pode afetar o crescimento do perifíton uma vez que fortes fluxos de água podem impedir o estabelecimento das comunidades perifíticas (Ruttner 1963), enquanto baixos fluxos de água não fornecem o aporte de gases e nutrientes necessários ao estabelecimento dessas comunidades (Steinman and McIntire 1986, Steinman and Lamberti 1996). Geralmente, a velocidade da correnteza apresenta uma relação positiva com o crescimento do perifíton (Moulton et al. 2009) até um determinado ponto, a partir do qual a relação se inverte e maiores fluxos d’água prejudicam o estabelecimento da comunidade perifítica (Ruttner 1963). De fato, a questão da influência da correnteza no crescimento do perifíton é tratada em duas vertentes: seu efeito positivo na renovação das camadas estagnadas sobre as superfícies - onde o crescimento perifítico se dá - e o seu efeito negativo

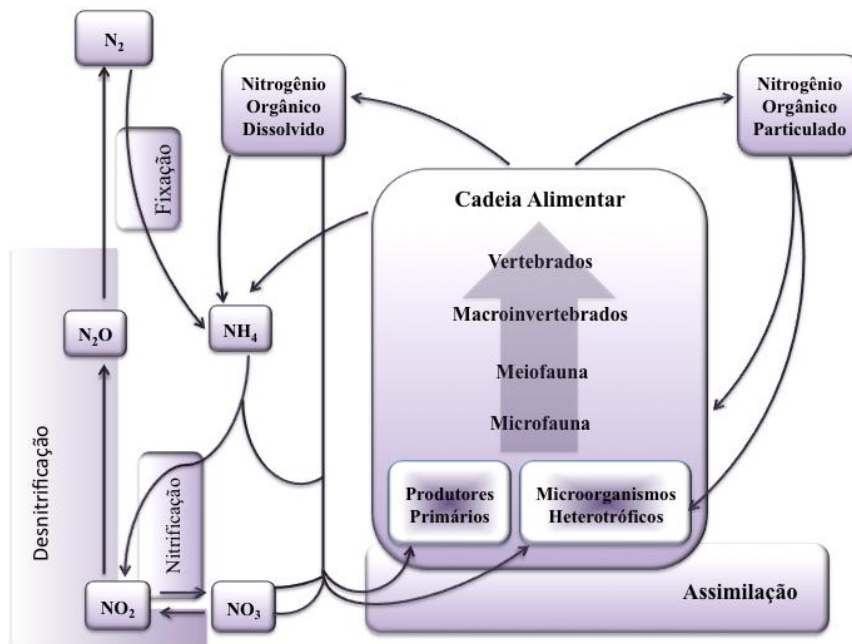
de atrito e retirada dessas comunidades (Steinman and McIntire 1986, Stevenson 1996, Steinman and Lamberti 1996, Ghosh and Gaur 1998, Ryder et al. 2006); o balanço entre essas vertentes culmina no efeito “final” da correnteza em cada ecossistema.

Dentre os controladores *bottom-up*, a limitação nutricional dos ecossistemas é o mais discutido na literatura (Hecky and Kilham 1988, Power 1992, Rosemond et al. 1993, Sterner and Hessen 1994, Downing et al. 1999, Fermino et al. 2004, Templer et al. 2005, Carey et al. 2007, Murakami and Rogridues 2009, Davis et al. 2010, Green and Finlay 2010, Hill et al. 2010, Martinelli et al. 2010, McArthur et al. 2010, Finlay et al. 2011, Harpole et al. 2011, Brookshire et al. 2012, Lourenço-Amorim et al. 2014). Por este motivo, essa parte será discutida mais detalhadamente em seções posteriores.

### **1.5 Papel do perifíton na ciclagem de nutrientes**

Nitrogênio e fósforo são macronutrientes necessários para o crescimento dos produtores primários em ambientes aquáticos. O nitrogênio inorgânico dissolvido se encontra, em sua maior parte, sob a forma de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), que são assimilados a diferentes eficiências; havendo também o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), em minoria (Newbold 1992). Já o nitrogênio orgânico pode se apresentar sob diversas formas - dissolvidas ou particuladas -, incluindo aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas e uréia (Dodds 2002b). A biota é capaz de acelerar o transporte à jusante através da conversão dos nutrientes particulados em suas formas dissolvidas, que são mais prontamente utilizados pelos organismos autótrofos (Newbold 1992) (Figura 1).

Figura 1 - Ciclo esquemático do nitrogênio



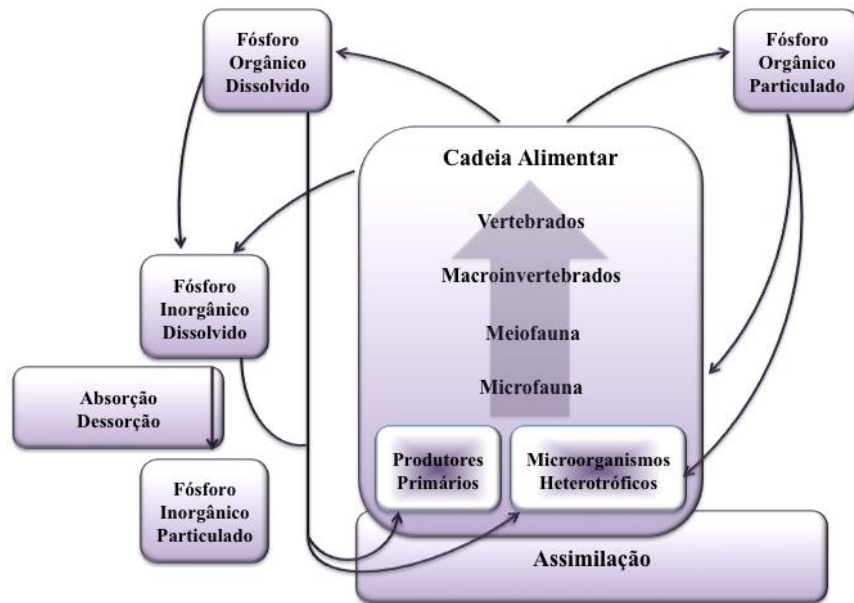
Fonte: modificado de Newbold, 1992.

O fósforo em ambientes aquáticos pode estar sob as formas coloidal, particulada ou dissolvida. O fósforo biologicamente disponível é definido pela fração que é assimilada prontamente pelos organismos (Reynolds and Davies 2001). O fósforo total é composto pela sua maior fração sob a forma de fósforo particulado e sua menor fração sob a forma de fósforo total dissolvido, no entanto esta última é prontamente disponível aos autótrofos (Lewis 2008). Dentro da categoria de fósforo inorgânico dissolvido, há a forma de ortofosfato ( $PO_4^{3-}$ ) (Strickland and Parsons 1972). Já a categoria de fósforo orgânico dissolvido não é bem definida, envolvendo fragmentos de ácidos nucleicos, fosfolipídios e inositol hexafosfato (Newbold 1992). O fósforo é considerado particulado quando incorporado em estruturas minerais, na matéria orgânica e superfícies (Newbold 1992). A biota é capaz de acelerar o transporte à jusante através da conversão dos nutrientes particulados em suas formas dissolvidas, que são mais prontamente utilizados pelos organismos autótrofos (Figura 2).

Considerando que diversos autores utilizam diferentes terminologias para descrever frações químicas similares (Haygarth and Sharpley 2000), neste trabalho foi lido o fósforo solúvel reativo (SRP). Esta categoria consiste na fração de fósforo filtrada que contém fósforo dissolvido menor que  $0,45 \mu m$  e inclui íons ortofosfato inorgânico completamente dissociados, incluindo  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  e  $PO_4^{3-}$ . Estas são as formas de fósforo mais prontamente biodisponíveis, sendo o  $PO_4^{3-}$  a forma mais abundante.



Figura 2 - Ciclo esquemático do fósforo



Legenda: modificado de Newbold, 1992.

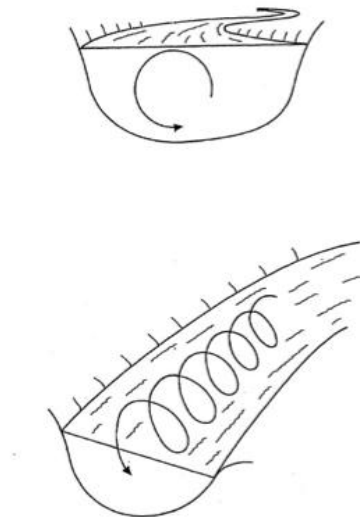
As concentrações dos nutrientes nos córregos variam com a geologia da bacia hidrográfica e a vegetação, bem como com características físico-químicas da água (Tank et al. 2006). Determinados micronutrientes - como cálcio, magnésio, potássio, sódio e outros - estão presentes nos rios em excesso em relação às demandas biológicas, contrastando com os macronutrientes fósforo e nitrogênio, que frequentemente apresentam pouca oferta em relação à demanda, e estão sujeitos a consideráveis usos à jusante (Newbold 1992).

Devido à natureza corrente dos rios e constantes mudanças na entrada de nutrientes, as concentrações de nitrogênio e fósforo na coluna d'água mudam continuamente como resultado da absorção biológica, degradação (liberação) e movimento longitudinal. A extensão do ciclo biogeoquímico é altamente dependente da hidrologia de captação, reatividade dos solos e sedimentos e condições meteorológicas (House 2003).

Nesse ciclo de nutrientes, a biota é capaz de afetar as concentrações de nutrientes, e a recíproca é verdadeira. Essas influências mútuas ocorrem em um modelo de transporte à jusante, onde processos bióticos em trechos à montante influenciam aqueles à jusante (Newbold 1992). Conforme o nutriente é submetido a diferentes transformações retornando ao seu estado inicial e completando um ciclo, ele também percorre uma determinada distância à jusante, e assim o ciclo deslocado longitudinalmente é denominado “*spiralling*” (Webster 1975, Wallace et al. 1977, Webster and Patten 1979, Newbold 1991) (Figura 3).

Esse movimento constante do fósforo (também de nitrogênio) entre os componentes bióticos e abióticos do sistema são considerados processos físico-chaves na modificação e controle do fluxo de fósforo no ambiente aquático (House 2003).

Figura 3 - O ciclo dos nutrientes e o conceito de “spiralling”



Legenda: O ciclo dos nutrientes (primeira figura, corte transversal do rio) em conjunto com o transporte à jusante, culminando no conceito de “spiralling” – segunda figura  
 Fonte: Retirado de Newbold, 1992.

A baixa densidade de organismos especializados fixadores de nitrogênio que conseguem usar seu reservatório gasoso faz com que esse nutriente possa, muitas vezes, ser limitante no ecossistema. A limitação primária no crescimento algal por nitrogênio tem sido evidenciada em rios tropicais (Downing et al. 1999, Flecker et al. 2002) e temperados (Hill and Knight 1988); e foi considerada como a mais comum nos trópicos (Downing et al. 1999).

Já o fósforo, sob a forma predominante de fosfato, pode se tornar limitante uma vez que tende a se ligar a argila, tendo o seu transporte lento para os sistemas aquáticos (Dodds 2002a). A limitação por fósforo na produção primária foi mostrada em muitos rios tropicais (Pringle et al. 1986, Larned and Santons 2000) e temperados (Fairchild et al. 1985, Pan and Lowe 1994). A limitação por nutrientes (N e P) tem grande influência na produção primária aquática quando a luz não é um fator limitante (Carey et al. 2007, Davies et al. 2008). Não obstante, a limitação por nutrientes pode ser influenciada, também, pela sazonalidade (Francoeur et al. 1999).

O crescimento e reprodução das algas perifíticas são influenciados pela disponibilidade de nutrientes (Rodrigues and Bicudo 2001; Murakami and Rodrigues 2009; Ferragut and Bicudo 2010). E vários fatores influenciam, positiva ou negativamente, a assimilação de nutrientes pelas algas. Dentre eles: velocidade da água, habilidades competitivas das espécies algais, disponibilidade de luz, temperatura da água, distúrbios, herbivoria, instabilidade da camada circundante (limite entre a água e o perifíton) e o processo de difusão - dependente da espessura do biofilme (Borchardt 1996).

#### 1.5.1 A limitação nutricional e a lei do mínimo de Liebig

As necessidades de múltiplos elementos variam dentro e entre espécies, podendo causar um descompasso entre a demanda do consumidor e a oferta do elemento (Moe 2005), podendo afetar o crescimento do organismo (Sternner and Elser 2002). Uma consequência direta do desequilíbrio entre oferta e a demanda é a Lei do Mínimo de Liebig, onde o crescimento de produtores primários é limitado pelo elemento cuja concentração seja inferior a um valor mínimo, abaixo do qual as sínteses não podem mais ser feitas (Liebig 1840). Considerando que o crescimento dos produtores primários é limitado pelo recurso mais escasso, e não pela quantidade total de recursos disponíveis, este fator limitante pode ser detectado por diversos métodos, dentre eles destaca-se o método do Substrato Difusor de Nutrientes (NDS). A técnica de NDS será explicada mais detalhadamente na seção 3.4.1, mas, brevemente, consiste em 4 potes enriquecidos, ou não com nutrientes (C, N, P e NP) e a limitação nutricional perifítica é determinada a partir do maior crescimento da comunidade sobre o pote contendo o nutriente limitante.

#### 1.6 O perifíton como bioindicador em rios

O crescimento da população mundial, especialmente em nações em desenvolvimento, acarreta mudanças no uso da terra, bem como uso de fertilizantes, diminuição da vegetação ripária e outros (Martinelli *et al.* 2010), havendo a necessidade de se conhecer as consequências nas comunidades aquáticas (Kohler 2010). Assim, indicadores biológicos

rápidos vêm sendo propostos a fim de detectar impactos relacionados ao aporte de nutrientes (Ferragut and Bicudo 2009).

Avaliações dos impactos antrópicos sobre os rios e córregos podem ser feitas de diversas maneiras, e são amplamente baseadas em medidas químicas, que, por serem pontuais, necessitam de um grande número de amostragens para terem maior precisão (Loeb 1992; Petts *et al.* 2002). O monitoramento biológico permite, até certo ponto, antecipar impactos, avaliar o risco ecológico e as consequências dos impactos: um grande conjunto de fatores interage para ordenar e consolidar as características biológicas em rios, especialmente aquelas que dependem dos substratos e de sua composição (Tundisi and Matsumura-Tundisi 2008).

Os indicadores biológicos possibilitam medir a qualidade da água com base nas respostas dos organismos em relação ao meio onde vivem. Essas espécies frequentemente funcionam como uma informação antecipada (Tundisi and Matsumura-Tundisi 2008). A utilização de organismos sésseis como indicadores biológicos é vantajosa principalmente no sentido de que representam os efeitos imediatos de fatores ambientais, como também os efeitos prévios (Frithsen and Holland 1990; Júlio-Júnior *et al.* 2005).

Nesse contexto o perifíton tem sido sugerido como um indicador precoce do processo da eutrofização (Dodds 2003; McCormick and O'Dell 1996; McCormick and Stevenson 1998), devido a vários fatores: 1) o ciclo de vida curto, que fornece respostas rápidas diante de mudanças ambientais; 2) a comunidade primariamente autótrofa, que promove o intercâmbio entre os componentes químicos, físicos e biológicos na cadeia alimentar; 3) a riqueza em espécies em relação a outros grupos aquáticos, que fornece um sistema rico de informações (Lowe and Pan 1996; McCormick and Stevenson 1998; Stevenson 1996).

A aplicação mais frequente do perifíton no monitoramento ambiental consiste na análise do impacto de fontes pontuais de contaminação em sistemas lóticos (Whitton *et al.* 1991). Mais recentemente tem crescido o uso do perifíton para acessar a disponibilidade de nutrientes limitantes em sistemas aquáticos (McCormick *et al.* 1998; Francoeur *et al.* 1999).

Assim, estudos que envolvem o enriquecimento de nitrogênio e fósforo nas comunidades perifíticas são necessários para se entender a limitação nutricional em ambientes aquáticos. Isso apresenta importantes implicações biológicas uma vez que o perifíton consiste na base das cadeias alimentares e alterações nesse nível podem acarretar efeitos em cascata nos níveis tróficos superiores (Scrimgeour and Chambers 1997). De fato, o perifíton tem sido utilizado em investigações e experimentos para avaliar impactos provocados por efluentes

industriais (Prisha 1994; Dubé and Culp 1996), por poluição orgânica (Biggs 1989; Lobo *et al.* 1996; Salomoni *et al.* 2006) e pela eutrofização (Lobo *et al.* 2004; Schneck *et al.* 2007).

No Brasil, os trabalhos de bioindicação de qualidade da água utilizam essencialmente diatomáceas e foram desenvolvidos a partir da década de 1980 e são direcionados para ambientes lóticos (Lobo and Torgan 1988; Lobo *et al.* 1995, 1996, 2004 a, b, c, 2006; Souza 2002; Hermany *et al.* 2006; Düpont *et al.* 2007). Estes estudos tem reportado a influência de ambientes urbanos e rurais sobre a estrutura e distribuição das assembleias de diatomáceas perifíticas.

### 1.7 Estequiometria Ecológica

O estudo da estequiometria ecológica tem uma longa história na ecologia. O exemplo mais conhecido de uma análise ecológica explícita é a análise pioneira de Redfield, em 1934, culminando no desenvolvimento da razão de Redfield (abordada posteriormente, nesta seção). No entanto, os conceitos estequiométricos tem sido aplicados há mais tempo, antes de terem sido organizados sob o escopo “estequiometria ecológica”.

A estequiometria ecológica pode ser entendida como o balanço de múltiplas substâncias químicas em processos e interações ecológicas, ou o estudo desse balanço; também se refere ao balanço de matéria e energia (Sternner and Elser 2002).

A partir da consideração que os organismos são substâncias químicas complexas e evoluídas que interagem entre si e com o meio abiótico, eles devem obedecer os princípios de conservação de energia e massa. Assim, a estequiometria ecológica é estudada como abundâncias relativas de macroatomos (C:N:P), principalmente. A razão de Redfield, marco no estudo da estequiometria ecológica, consiste na razão  $C_{106}:N_{16}:P_1$  que Redfield achou para o plâncton marinho de diferentes regiões (Redfield 1934; Redfield *et al.* 1963).

As razões C:N:P dos autótrofos, *in situ*, indicam a identidade do nutriente limitante e a severidade da limitação para o crescimento (Tanner *et al.* 1998). Embora amplamente usada nos estudos ecológicos, a razão de Redfield tem sido criticada por alguns autores que argumentam que esta razão está longe de ser constante (Falkowski 2000).

A aquisição e perda dos diferentes elementos não são perfeitamente acopladas entre si nos organismos autótrofos. O desacoplamento entre a fixação de carbono e a aquisição de nutrientes junto com a capacidade deles reorganizarem o conteúdo celular em resposta à

condições ambientais, permite a exploração de recursos variados eficientemente (Berman-Frank and Dubinsky 1999). Em outras palavras, os organismos fotoautotróficos são plásticos, apresentando a flexibilidade de ajustar a taxa de crescimento e a alocação dos componentes celulares às condições ambientais, embora isto não signifique que estes organismos não enfrentam problemas relacionados à deficiência nutricional. Isto os torna contrastantes à homeostase C:N:P mantida pelos animais (Sterner and Elser 2002), o que significa que a composição química do corpo dos autótrofos varia de acordo com a composição química do ambiente (em conformidade com o conceito de “você é o que você come”).

#### 1.7.1 Consumo de Luxo

O “consumo de luxo” se refere ao excesso de nutrientes no organismo acima do que é imediatamente necessário para o crescimento (Dodds 2002). O consumo de luxo de um determinado elemento ocorre quando outro elemento começa a limitar o crescimento. Neste ponto, a taxa de crescimento e a absorção do nutriente não limitante não são equivalentes.

A acumulação de nutrientes pelo consumo de luxo pode ocorrer sob a forma de compostos de armazenamento. Quando expostos a níveis de fósforo acima daqueles necessários imediatamente para o crescimento, as algas podem acumular P como polifosfato (Jaeger *et al.* 1997). De maneira similar, os autótrofos podem adquirir o nitrogênio em excesso (Miyashita and Miyazaki 1992); as cianobactérias podem acumular N na forma de grânulos de cianoficina (Sterner and Elser 2002).

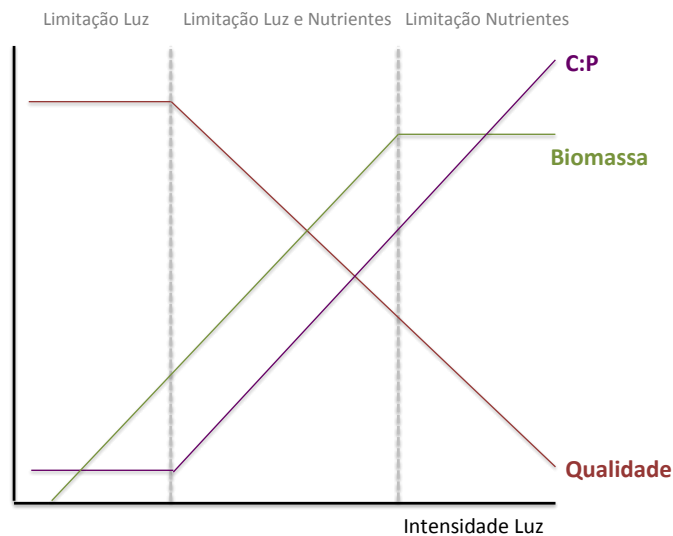
Assim, devido à capacidade de armazenamento dos autótrofos (especialmente em grandes vacúolos), a razão estequiométrica N:P dos autótrofos é próxima àquela do ambiente (Fanta *et al.* 2010, Small and Pringle 2010, Kohler *et al.* 2011). Além disso, as cadeias alimentares pelágicas marinhas são construídas sobre uma base autótrofa relativamente homogênea e rica em nutrientes, ao passo que os autótrofos dos ecossistemas de água doce e terrestres apresentam razões C:N:P extremamente variáveis (Sterner and Elser 2002).

### 1.7.2 A hipótese da luz : nutrientes

A importância da intensidade da luz e sua interação com nutrientes, afetando o crescimento perifítico nos rios, tem sido reconhecida na forma da hipótese luz : nutrientes. Proposta por Urabe e Sterner (1996) e elaborada por Sterner (1997), ela estabelece que, conforme a intensidade luminosa aumenta, o conteúdo nutricional das algas perifíticas (i.e. qualidade / composição química), como fonte de recursos para os próximos níveis tróficos, diminui. Embora a hipótese tenha sido elaborada em termos de razão P:C, estudos subsequentes tem interpretado os resultados com C:P (Urabe *et al.* 2002, Hall *et al.* 2004, Dickman *et al.* 2006, Hall *et al.* 2007, Dickman *et al.* 2008 e Faithfull *et al.* 2011).

Assumindo a concentração de fósforo constante, a biomassa perifítica vai inicialmente aumentar conforme a intensidade de luz aumentar. Isto porque em baixas intensidades luminosas, o crescimento das algas do perifíton é limitado pela irradiância. Eventualmente a intensidade luminosa atinge um ponto de saturação para o crescimento, que fica limitado por um segundo fator (concentração de fósforo, por exemplo) e a biomassa atinge um platô que não cresce mais. Simultaneamente, a razão C:P vai aumentar conforme a luz aumenta. Em baixos níveis de intensidade luminosa, o fornecimento de fósforo é suficiente em relação à biomassa. No entanto, conforme a luz aumenta, aumenta também a biomassa do biofilme e a proporção de carbono (energia), levando a um aumento da razão C:P (Figura 4). O aumento dessa razão é refletido numa diminuição da qualidade do perifíton como fonte de recurso (Sterner *et al.* 1997, Sterner and Elser 2002, Dickman *et al.* 2006).

Figura 4 - Figura esquemática da hipótese da luz : nutrientes



Legenda: A figura mostra as variações da biomassa, razão C:P e qualidade do perifíton em função da intensidade de luz. Em baixas intensidades luminosas há limitação por luz, e, conforme a intensidade de luz aumenta, há a limitação por luz e nutrientes, seguida da limitação nutricional apenas.

Fonte: Adaptado de Urabe e Sterner, 1996.

Espécies algais que apresentam diferentes estratégias de vida e adaptações à luz diferem em sua estequiometria devido a diferenças na composição celular (Elser *et al.* 1996, Geider *et al.* 1998, Arrigo 2005). Espécies aptas à pouca disponibilidade de luz apresentam maiores concentrações de clorofila. Considerando a razão N:P da clorofila relativamente alta, quando comparada a outros componentes celulares, as algas sob condições de baixa luminosidade podem vir a assimilar mais nitrogênio devido às suas demandas metabólicas (Geider *et al.* 1998).

No entanto, poucos estudos investigaram os efeitos simultâneos de luz e nutrientes da composição elementar (Fanta *et al.* 2010). Alguns estudos acharam que o sombreamento não reduziu a razão C:P do perifíton (Frost and Elser 2002, Huggins *et al.* 2004), enquanto outros acharam que a redução da luminosidade aumentou a razão C:P (Hillebrand *et al.* 2004, Qin *et al.* 2007); ambos os resultados são o contrário do previsto pela hipótese luz:nutriente, sugerindo que o estudo estequiométrico da comunidade perifítica é particularmente complexo porque, além de uma série de fatores afetar a sua distribuição, composição e estrutura, a comunidade é composta por organismos heterotróficos, microfauna e matéria orgânica e inorgânica, além das algas.



### 1.7.3 A hipótese da taxa de crescimento

A hipótese da taxa de crescimento foi formulada por Elser (1996) como explicação para a grande covariância entre o conteúdo celular de fósforo e a taxa de crescimento do organismo. Esta hipótese estabelece que há maiores concentrações de fósforo celular sob situações de intenso crescimento. Ou seja, organismos sob condições de crescimento exponencial (com alta taxa de crescimento) devem ter maior conteúdo de fósforo que aqueles sob menores taxas de crescimento. Isto porque quanto maior a taxa de crescimento, maior a quantidade de RNA ribossomal do organismo e, portanto, maior concentração celular de fósforo devido à baixa razão N:P do rRNA (Elser *et al.* 1996, Sterner and Elser 2002, Hill and Fanta 2008).

Isto significa, também, que as algas são mais facilmente limitadas por fósforo em altas taxas de crescimento e mais facilmente limitadas por nitrogênio em baixas taxas de crescimento (Sterner and Elser 2002).

## 1.8 Impactos do uso do solo e o novo código florestal

Atualmente, quase metade da população mundial vive em áreas urbanas, e a perspectiva é de que 60% dessa população será urbana até 2030 (ONU 2003; Avelar *et al.* 2009). O processo de migração das populações para as áreas urbanas acarreta na ampliação das demandas industriais, comerciais e de habitação (Su *et al.* 2010). Além disso, o acelerado crescimento da população, somado ao desenvolvimento econômico de muitos países, provocam aumento na demanda de produção de alimentos (Grimm *et al.* 2008; Stevenson and Sabater 2010), expandindo concomitantemente áreas de cultivo agrícola.

Historicamente, as margens dos rios têm sido os locais preferidos para a formação das cidades (Cunha 2003; Cunico 2010), sendo estes elementares como fonte de água potável, recursos pesqueiros, irrigação e sistemas de remoção de resíduos. Desta forma, rios em todo o mundo estão ameaçados através da alteração do uso do solo, que afeta a hidrobiologia e a qualidade das águas (Stevenson and Sabater 2010).

Nas áreas rurais, os recursos hídricos são deteriorados em virtude das aplicações de fertilizantes e defensivos agrícolas, pecuária e outras atividades agrícolas (Kim *et al.* 2009).

Os fertilizantes e agrotóxicos atingem os ecossistemas aquáticos através de pulverizações, escoamento e lixiviação (Landry *et al.* 2004).

Nesse contexto, a transformação de florestas nativas em agricultura é uma das mudanças esperadas, juntamente ao aumento da utilização de fertilizantes, aumento da herbivoria por animais e redução da cobertura de vegetação ripária. Os efeitos dessas mudanças nas comunidades aquáticas locais ainda não são completamente entendidos, especialmente nos trópicos (Wantzen *et al.* 2006).

A vegetação ripária fornece um suporte geológico na dinâmica dos processos hidrogeomorfológicos (Ab'Saber 2001), tais como renovação da qualidade da água, controle de sedimentação dos ecossistemas aquáticos, suprimento de matéria orgânica para a fauna, entre outros (Tundisi and Matsumura-Tundisi 2008). A qualidade da água é alterada substancialmente pela remoção da floresta ripária (Secretaria de Meio Ambiente e Banco Mundial 2010), ficando evidente o aumento de fósforo, nitrogênio total, amônio e turbidez (Peierls *et al.* 1991, Allan *et al.* 1997).

É possível a identificação de um gradiente de perda de qualidade do habitat associado ao processo de degradação da floresta adjacente aos riachos, resultando no incremento da entrada de sedimentos e maior insolação no curso d'água (Casatti *et al.* 2010). As diferenças na ictiofauna, por exemplo, são claras: na presença de floresta ripária, há alta riqueza de espécies, ao passo que na ausência de vegetação ripária ou vegetação de má qualidade, há diminuição da biomassa íctica e perda de espécies sensíveis (Ferreira 2010).

O regime termal do rio tem sido citado como importante na manutenção da saúde do rio (Caissie 2006). O sombreamento reduz a temperatura do rio, em especial as temperaturas máximas (Bowler *et al.* 2012). Nesse sentido, as árvores existentes no corredor ripário tem efeitos positivos para a ecologia do rio e do ecossistema como um todo. Por exemplo, a vegetação ripária pode estabilizar as margens dos rios, reduzindo a erosão, e fornecem habitat e refúgio para várias espécies (Lenane 2012). As árvores também alteram os nutrientes no ambiente à medida que suas raízes podem atuar como um sumidouro de nutrientes removendo-os do ambiente, enquanto as folhas agem como fonte de nutrientes no processo de decomposição (McCall 2014).

O Código Florestal trata a mata ciliar como “área de preservação permanente”, com diversas funções ambientais (Lei 12.651/2012). Esta mesma Lei (conhecida como o Novo Código Florestal) reconhece que essas florestas adjacentes aos rios devem ter uma extensão específica mínima de acordo com a largura do rio. Considerando rios de até 10m de largura

(situação da maioria dos rios brasileiros), a vegetação ripária deve ter uma largura mínima de 30 metros.

#### 1.8.1 Eutrofização

Frequentemente citadas como o principal fator que afeta o acúmulo do perifíton e sua biomassa, as concentrações de nutrientes tem sido responsabilizadas de 23 a 40% da variação da clorofila *a* / crescimento perifítico nos rios (Biggs and 2000, Dodds *et al.* 2002).

O fósforo é uma fonte comum não-pontual (difusa) para rios cujo entorno haja uso excessivo de lotação do gado e excreção direta dos animais nos cursos d'água (Carpenter *et al.* 1998, Hooda *et al.* 2000). Adubos e fertilizantes também são ricos em fósforo e outros nutrientes, principalmente nitrogênio, que estimulam o crescimento perifítico. Outras fontes de fósforo não-pontuais incluem estradas, entradas de fossas sépticas e erosão do solo – como resultado do desmatamento (Hooda *et al.* 2000, Mainstone and Parr 2002, Withers and Jarvie 2008).

O nitrogênio também pode ser originado de fontes não-pontuais, sendo a agricultura a principal fonte, com o aumento do uso de fertilizantes. Através da análise de isótopos estáveis, Whitehead *et al.* (2002) concluíram que 15% do nitrogênio aplicado na agricultura como fertilizante ainda estava disponível para a absorção biológica nos rios no ano seguinte.

A eutrofização é o termo usado para descrever o enriquecimento nutricional e o processo que ocorre nos ecossistemas aquáticos e terrestres como resultado, sendo nitrogênio e fósforo são os principais dirigentes nesse processo (Gold and Sims 2005). A eutrofização é um problema para a qualidade e status ecológico quando altas concentrações de nutrientes coincidem com o período de primavera/verão de crescimento das plantas – incluindo o perifíton (Jarvie *et al.* 2006).

Em condições favoráveis ao surgimento do escoamento superficial – desmatamento da mata ciliar – os elementos químicos nitrogênio e fósforo, especialmente, são transportados para os cursos d'água, enriquecendo-os (Barreto *et al.* 2013). O carreamento de herbicidas para a água, através da lixiviação horizontal e vertical, contribui para a degradação da qualidade da água à medida que essas substâncias químicas são degradadas e transferidas através de processos biológicos e químicos (Zanini 2009).

O excesso de nutrientes pode aumentar o crescimento de macrófitas e perifíton, assim como as algas planctônicas suspensas na coluna d'água (Smith 2003). Frequentemente há uma mudança na composição de espécies de diatomáceas e nanoeucariotos para um aumento de espécies formadoras de florações e cianobactérias, que podem ser tóxicas para animais e humanos e não-comestíveis para invertebrados pastadores (Smith 2003). Outros efeitos ecossistêmicos incluem o aumento da turbidez da água (i.e. diminuição da transparência da coluna d'água), perda da diversidade de espécies, mudanças na composição específica e redução das concentrações de oxigênio dissolvido à noite, levando à morte de peixes (Smith 2003, Gold and Sims 2005).

Além dos efeitos ecológicos, a eutrofização pode resultar em problemas sociais e econômicos. Dentre estes, destaca-se a redução do valor estético da água (que pode ter repercussões econômicas incluindo a perda do valor recreacional) e a aquisição de gosto, odor e problemas de filtragem no abastecimento de água potável (Pretty *et al.* 2002, Smith 2003).

Desse modo, para manter as boas condições ecológicas da água, é necessário reduzir o fluxo de nutrientes para o rio - principalmente os provenientes da produção agrícola como nitrogênio e fósforo mas também aqueles de áreas urbanas e industriais (Zanini 2009).

## 1.9 Justificativa

O Brasil conta com uma ampla rede hidrográfica, subdividida em oito bacias principais – bacia do rio Amazonas, bacia do rio Tocantins, bacia do Atlântico Norte e Nordeste, bacia do rio São Francisco, bacia do Atlântico Leste, bacia do rio Paraná, bacia do rio Uruguai e bacia do Atlântico Sudeste. A superfície territorial do país é de 851 milhões de hectares, sendo 29% desta superfície explorada com agropecuária, totalizando 249 milhões de hectares: 77 milhões são ocupados com lavouras e 172 milhões com pastagens (ANA 2009).

Segundo a Agência Nacional das Águas (2003), 56% dos municípios do país utilizam águas superficiais pelo menos como uma das alternativas de mananciais. Entretanto, observa-se que essa alternativa é a que mais está exposta às fontes de poluição e contaminação: há uma ou mais formas de poluição ou contaminação em 26,7% dos municípios com captação superficial (ANA 2003). Dentre estes, foram verificadas contaminações por despejo de esgoto doméstico em 14,24% e contaminações por resíduos agrotóxicos e fertilizantes em 16,23% dos municípios.

Existem poucos sistemas de monitoramento da qualidade da água e são raros os corpos d'água cujas informações estão armazenadas em bancos de dados, com ênfase para as algas perifíticas (Moresco e Rodrigues 2013). Estudos sobre a comunidade perifítica são injustificavelmente escassos diante da grande diversidade de ambientes aquáticos no Brasil e da reconhecida alta diversidade dos organismos que compõem o perifíton (Schneck 2013). Há uma carência de estudos que tenham um enfoque ecológico nas pesquisas sobre perifíton no Brasil, bem como estudos experimentais que testem hipóteses ecológicas utilizando o perifíton como modelo (Schneck 2013). Ressaltando estudos relacionados a experimentos de manipulação de nutrientes, apenas um trabalho no país foi feito em sistemas lóticos (Mendes and Barbosa 2002).

A identificação dos mecanismos que traduzem perturbação (desmatamento) em alteração funcional e estrutural é essencial, não apenas para o desenvolvimento de um quadro conceitual para a bacia hidrográfica, mas também para o auxílio de decisões socioeconômicas sobre a gestão e conservação dos ecossistemas (Burcher *et al.* 2007).

Considerando o exposto, o presente trabalho visa identificar as mudanças ocorridas na comunidade perifítica em função do gradiente de perturbação. O diferencial deste estudo consta na quantidade de parâmetros da comunidade perifítica que foram acessados. Tendo em vista que diversos fatores físicos e químicos afetam o crescimento do perifíton, sendo a maioria dos que estimulam o crescimento presente nos sítios perturbados (maior luminosidade, maior aporte nutricional), um dos objetivos do estudo é estudar como o crescimento do perifíton é afetado por perturbações na vegetação ripária. Além disso, como visto nas seções anteriores sobre a importância do perifíton na ciclagem de nutrientes e da frequente limitação perifítica - seja por N ou P, outro objetivo do trabalho é em relação aos fatores limitantes (considerando a lei do mínimo de Liebig) no gradiente de perturbação, considerando o sombreamento pela vegetação ripária nos trechos prístinos e o aporte nutricional diferenciado entre N e P nos trechos perturbados. Em relação à grande diversidade taxonômica e à plasticidade da comunidade, o terceiro objetivo do estudo é observar se há mudanças nos táxons presentes e da diversidade em função da perturbação. Por fim, em relação à estequiometria, este estudo tem por objetivo a verificação da mudança das razões estequiométricas da comunidade perifítica, de modo a se observar qual das hipóteses ocorre (hipótese de luz:nutrientes e hipótese da taxa de crescimento), e se a quantidade dos nutrientes na biomassa perifítica varia de acordo com os nutrientes disponíveis no corpo d'água. Os objetivos e as questões testadas estão melhores explicadas nas duas seções subsequentes.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivos gerais

O presente trabalho teve por objetivo identificar mudanças nas mais importantes características e processos ecossistêmicos da comunidade perifítica como efeito de diferente uso da vegetação ripária, no caso, áreas de floresta (pristino), mata remanescente ciliar (perturbação intermediária) e agricultura/pasto (perturbado).

### 2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são determinar os efeitos dos diferentes tipos de uso e cobertura do solo em:

- (1) Limitação de nutrientes no crescimento do perifíton;
- (2) Crescimento e acúmulo do perifíton;
- (3) Composição taxonômica da comunidade perifítica;
- (4) Estequiometria do perifíton.

### 2.3 Hipóteses

Tendo em vista os objetivos propostos, o trabalho foi estruturado para responder a quatro perguntas principais. Abaixo estão as hipóteses formuladas.

Primeiramente, a premissa geral é a de que ocorram mudanças físicas e químicas em função do gradiente de perturbação (desmatamento para uso agro-pecuário), tais como: diminuição da cobertura do dossel, acarretando maior luminosidade em ambientes mais perturbados e aumento do aporte nutricional em função do uso predominante do solo (agricultura fornecendo maior aporte de nitrogênio e pecuária, de fósforo).

**(1) A comunidade perifítica é limitada nutricionalmente em função das categorias de uso do solo?**

Neste trabalho espera-se que não haja limitação nutricional nos sítios prístinos devido à limitação principal por luz - mesma quantidade de clorofila *a* em todos os potes de NDS (Figura 5). Já nos trechos perturbados e de perturbação intermediária, pode ser que o aporte de concentrações diferenciadas de N e P em função dos diferentes tipos de uso do solo provoquem a limitação do outro nutriente, cuja disponibilidade seja menos proeminente – maiores quantidades de clorofila *a* nos potes N e NP ou P e NP, indicando limitação por N ou P, respectivamente (Figura 5).

**(2) O crescimento da comunidade perifítica é diferenciado em função das categorias de uso do solo?**

Espera-se que o crescimento perifítico seja maior em função do gradiente de perturbação (desmatamento). Assim, supõe-se que o estoque da assembleia perifítica em termos de clorofila *a* e MSLC, e também a taxa de crescimento, seja maior nos sítios perturbados que nos sítios florestados devido à maior disponibilidade de luz e nutrientes, essenciais ao crescimento de produtores primários (Figura 5). Espera-se, também, que haja maior acúmulo de matéria inorgânica na comunidade perifítica de acordo com o gradiente de perturbação à medida que a retirada da vegetação ripária tem por consequência o maior carreamento de sedimentos para os corpos hídricos.

**(3) A composição taxonômica das assembleias perifíticas muda em função do gradiente de perturbação?**

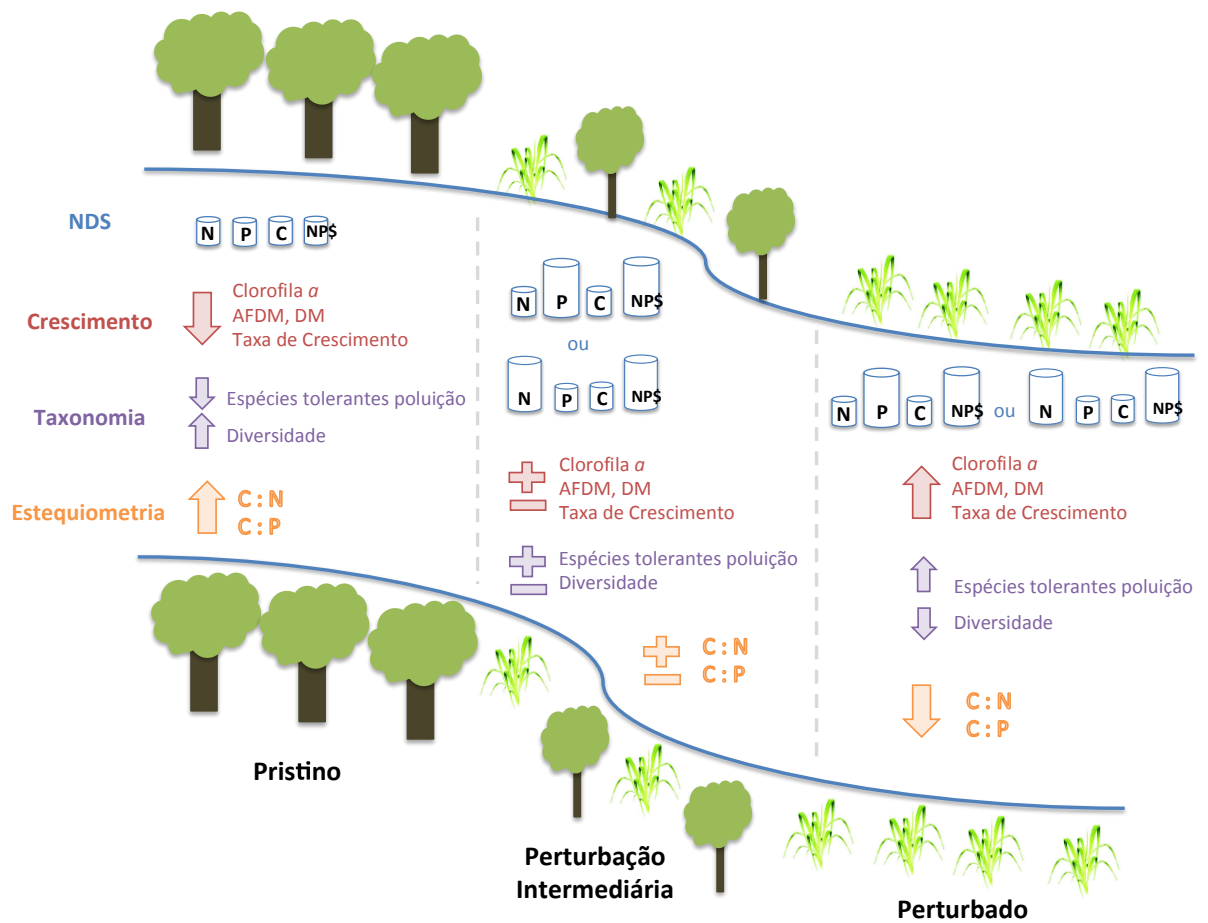
Neste estudo espera-se que haja uma mudança na composição taxonômica das comunidades perifíticas no gradiente de perturbação com o aumento de gêneros tolerantes à poluição e/ou alta luminosidade e uma diminuição de gêneros não tolerantes a estas condições (Figura 5). Também espera-se um declínio da diversidade de gêneros em função da perturbação, possivelmente pelo fato que os ambientes prístinos apresentam maior heterogeneidade de variáveis físicas, suportando maiores valores de diversidade (Figura 5) - a perturbação tende a uniformizar os ambientes em termos de composição do substrato, correnteza e luminosidade.

**(4) A composição estequiométrica das assembleias perifíticas muda em função do gradiente de perturbação?**

Como é esperado que as concentrações nutricionais dos corpos d'água não sejam constantes, supõe-se que a hipótese de luz:nutrientes não ocorra neste estudo. E espera-se que a composição estequiométrica da comunidade perifítica não seja homeostática, estando

relacionada às razões dos nutrientes das águas, tendo maior qualidade (menor C:N e C:P) com o aumento da carga nutricional (Figura 5); em tempo, espera-se que a comunidade perifítica apresente maiores quantidade de fósforo quando apresentam altas taxas de crescimento, como previsto pela hipótese da taxa de crescimento.

Figura 5 - Representação esquemática das hipóteses formuladas.



Legenda: Na figura estão as variáveis operacionais descritoras das variáveis teóricas expostas no texto.

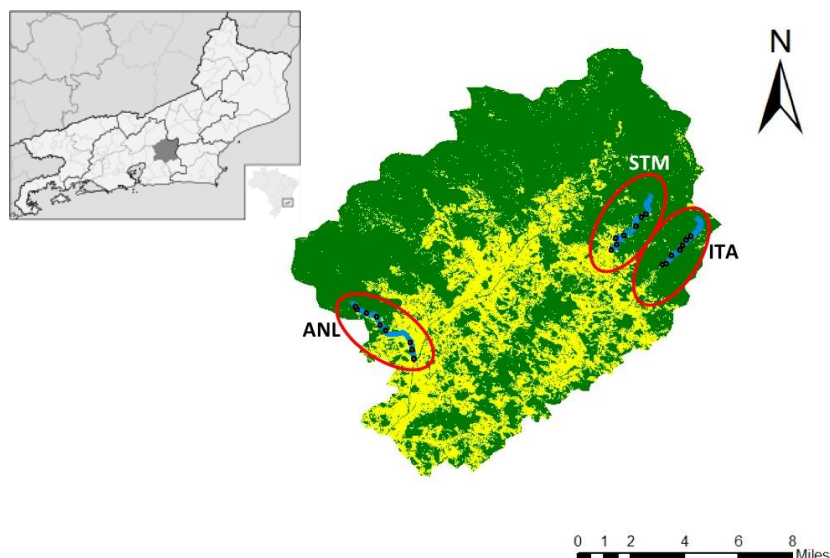


### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

Os rios estudados estão localizados no complexo hidrográfico Guapiaçu-Macacu e são identificados por Anil, Itaperiti e Santa Maria (Figura 6). Este complexo de bacias possui uma área de drenagem de cerca de 1640 Km<sup>2</sup>, com uma população do entorno acima de 100 mil habitantes. Suas águas atendem cerca de 2,5 milhões de habitantes com irrigação, piscicultura, agropecuária e abastecimento público dos municípios de Cachoeira de Macacu, Guapimirim, Itaboraí, São Gonçalo e Niterói (Pereira *et al.* 2012). Em função da importância deste sistema hidrográfico para o estado do Rio de Janeiro, foi criada a Área de Proteção Ambiental (APA) do rio Macacu que determina a proteção de terrenos na faixa complementar de 150 m de suas margens e seu principal afluente, o rio Guapiaçu (Rio de Janeiro 2002).

Figura 6 - Localização dos três rios estudados no complexo hidrográfico Guapiaçu-Macacu



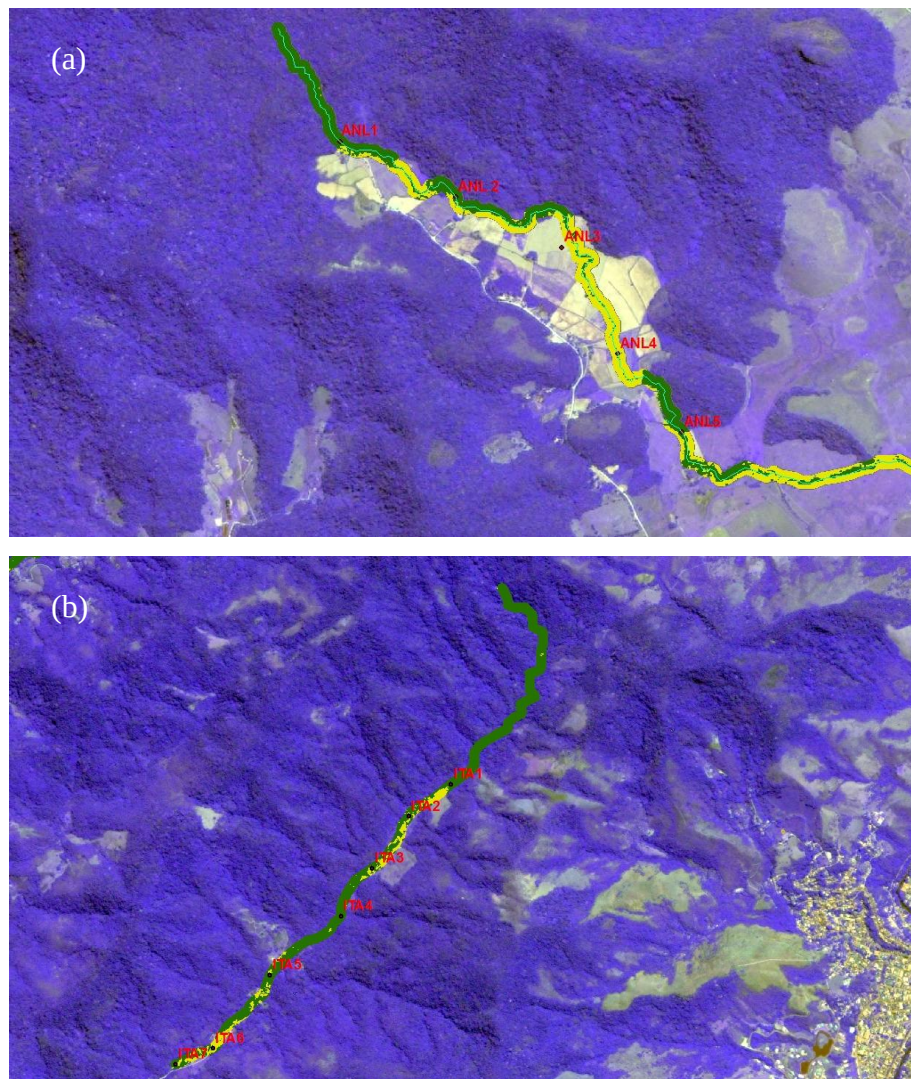
Legenda: Os rios estão circulados em vermelho, com os pontos estudados (pontos pretos). A figura mostra, em verde, os trechos florestados e, em amarelo, os desmatados.

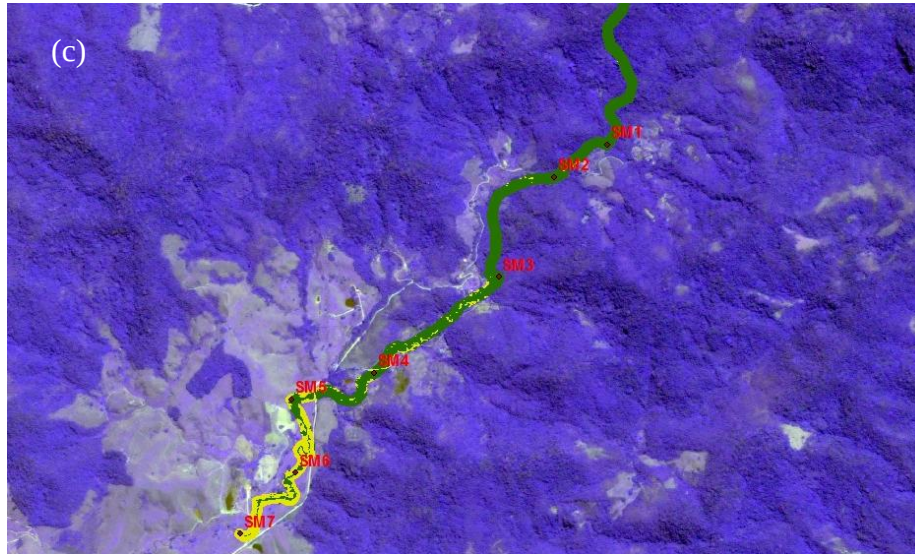
Fonte: Wikipédia e elaboração própria.

Os pontos a serem estudados foram escolhidos ao longo do rio aproximadamente equidistantes entre si. A distância média entre os pontos é de 500m. Inicialmente foi feita uma caracterização de diversos pontos do rio, e posteriormente foram escolhidos sete pontos em cada um dos três rios, totalizando 21 pontos estudados (Figura 7).

Após esta etapa inicial, foi feita uma classificação não supervisionada da cobertura do solo com o auxílio de imagens satélites SPOT5 e os softwares ENVI e GIS para cada um dos três rios em questão (Figura 7). A zona tampão escolhida foi a de 30m de área ripária.

Figura 7 - Caracterização do uso do solo adjacente aos rios (continua)





Legenda: Caracterização do uso do solo adjacente aos rios (zona tampão de 30m) – em verde está representada a porção florestada e, em amarelo, a porção desmatada para o uso agropecuário. Em vermelho, os pontos estudados dos rios (a) - rio Anil, (b) - rio Itaperiti e (c) - rio Santa Maria.

Isto feito, as porcentagens de floresta e desmatamento foram calculadas para cada um dos pontos estudados (Tabela 2). Foram considerados 300m à montante do ponto em um buffer de 30m de vegetação ripária.

Tabela 2 - Porcentagem de floresta calculada para cada ponto estudado

| <b>Sítio</b> | <b>% Floresta</b> | <b>Categorias</b> |
|--------------|-------------------|-------------------|
| STM 1        | 100               | Pristino          |
| STM 2        | 98                | Pristino          |
| STM 3        | 100               | Pristino          |
| STM 4        | 85                | Intermediário     |
| STM 5        | 70                | Intermediário     |
| STM 6        | 20                | Perturbado        |
| STM 7        | 12                | Perturbado        |
| ITA 1        | 100               | Pristino          |
| ITA 2        | 56                | Perturbado        |
| ITA 3        | 57                | Perturbado        |
| ITA 4        | 99                | Intermediário     |
| ITA 5        | 90                | Intermediário     |
| ITA 6        | 51                | Perturbado        |
| ITA 7        | 60                | Perturbado        |
| ANL 1        | 100               | Pristino          |
| ANL 2        | 57                | Intermediário     |
| ANL 3        | 52                | Perturbado        |
| ANL 4        | 8                 | Perturbado        |
| ANL 5        | 60                | Intermediário     |
| ANL 6        | 3                 | Perturbado        |
| ANL 7        | 6                 | Perturbado        |

Legenda: Porcentagem de floresta calculada para cada ponto estudado e a categorização utilizada. Os rios estão identificados pelas siglas STM (Santa Maria), ITA (Itaperiti) e ANL (Anil).

Os sítios foram, então, categorizados em: pristino, perturbação intermediária e perturbado. Esta categorização foi feita com base nas porcentagens de floresta calculadas previamente e nas observações visuais feitas em cada um dos pontos. Considerando que os impactos locais de luminosidade e sombreamento são determinantes para a estrutura e composição das algas perifíticas (Carey *et al.* 2007), fez-se necessária a categorização dos pontos levando em consideração, também, as análises visuais em campo. Na figura abaixo estão ilustrados alguns pontos considerados como pristino, perturbação intermediária e perturbado (Figura 8).



Figura 8 - Exemplo de pontos considerados prístinos, perturbação intermediária e perturbados



Legenda: (a,c) - Pontos considerados prístinos; (b) - perturbação intermediária; (d) - Perturbados caracterizados por pasto; (e) perturbados caracterizados por agricultura.

### 3.2 Variáveis físicas e químicas

As seguintes variáveis foram medidas: correnteza (m/s), profundidade (cm), largura (m), temperatura (°C), cobertura vegetal (%) e nutrientes ( $\mu\text{g/L}$ ). Neste ponto, ressalta-se que a perturbação provocada pelo desmatamento foi medida de duas formas: em uma escala mais local e outra em uma escala um pouco maior. Quando a medida foi feita considerando a porcentagem de canópis (% cobertura vegetal), retrata-se uma escala mais local; ao passo que, quando se considera a porcentagem de floresta, uma escala maior considerando mais à montante está sendo retratada, pois são considerados não só a cobertura local no ponto, mas também 300m à montante e 30m de solo adjacente ao rio (zona tampão de 30m).

As medidas da profundidade e largura foram feitas a partir do uso de trenas e réguas milimetradas. A correnteza foi definida pelo aparelho correntímetro (FP111 Flow Probe, Global Water, Gold River, CA, EUA). A porcentagem de cobertura vegetal foi determinada

com um densiômetro esférico (Forest densiometer, Bartlesville, OK, EUA) nos quatro pontos cardeais; e a temperatura foi acessada através da utilização de termômetro.

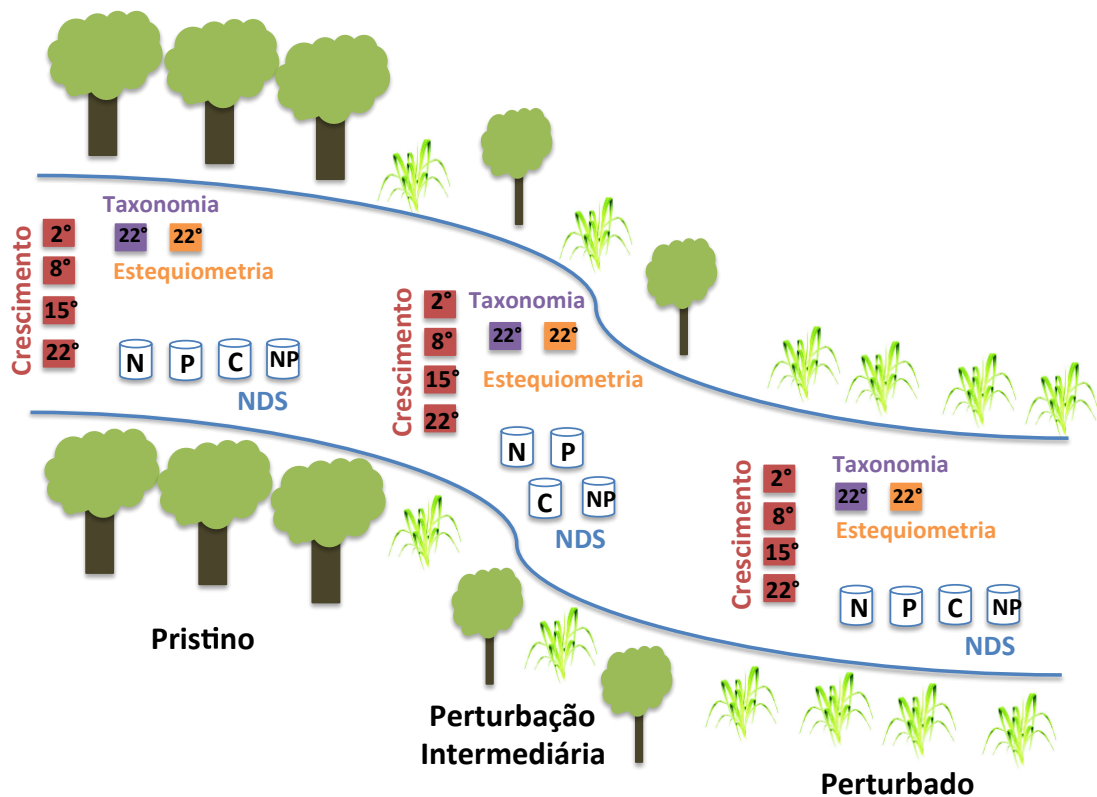
Considerando as análises dos nutrientes: amônia foi medida através do método de OPA (Taylor et al. 2007) usando o fluorímetro Trilogy (Turner Designs), fosfato também foi medido pelo mesmo aparelho através da técnica de azul de molibdênio (Murphy and Riley 1962) e o nitrato foi medido pelo autoanalisador FIA (Flow Injection Autoanalyzer – FIA Lab2500) através do método de redução de nitrato a nitrito pela coluna Cd-Cu (APHA 1995).

### **3.3 Desenho experimental**

O estudo foi realizado em três rios do complexo de bacias Guapiaçu-Macacu, cada um com diferentes gradientes de uso da vegetação ripária - englobando trechos prístinos, de agricultura, pasto e com floresta remanescente secundária. Variáveis físicas e químicas e biológicas foram medidas em sete localidades por rio, totalizando vinte e uma localidades de coleta.

A fim de atingir os objetivos propostos, o projeto foi estruturado basicamente em dois experimentos concomitantes: substratos difusores de nutrientes por 15 dias e alocação de azulejos *in situ* para diversas finalidades ao longo do tempo até 22 dias. O desenho experimental está esquematizado na figura 9.

Figura 9 – Desenho experimental realizado em três rios do complexo de bacias Guapi-Macacu.



Legenda: Em cada categoria de uso e cobertura do solo (Pristino, Perturbação Intermediária e Perturbado) foram alocados *in situ*: (1) Substratos difusores de nutrientes (em azul) por 15 dias, e (2) azulejos foram colocados *in situ* para três finalidades principais: estequiometria (em laranja) e a composição taxonômica (em lilás) da comunidade perifítica retirados no último dia de experimento (dia 22) e crescimento e acúmulo das algas perifíticas (em vermelho) retirados nos dias 2, 8, 15 e 22 de experimento.

### 3.4 Limitação Nutricional

#### 3.4.1 Descrição e preparo das unidades experimentais (NDS)

O hábito do perifíton de ser associado a superfícies submersas permitiu a introdução da técnica do substrato difusor de nutrientes (NDS) (Fairchild et al. 1985, Pringle et al. 1986, Mendes and Barbosa 2002, Fermino et al. 2004, Capps et al. 2011, Lourenço-Amorim et al. 2014). Esta técnica é usada para se acessar a limitação de nutrientes em rios e córregos

(Francoeur 2001) a partir da resposta perifítica *in situ* ao enriquecimento de nutrientes, especialmente o nitrogênio e o fósforo (Pringle et al. 1986, Winterbourn 1990, Flecker et al. 2002, Fermino et al. 2004, Carey et al. 2007, Capps et al. 2011, Lourenço-Amorim et al. 2014).

O efeito do enriquecimento experimental por nutrientes sobre o perifíton vem sendo empregado de forma crescente para avaliar a resposta desta comunidade para detectar limitação de nutrientes em geral e, também, processos de eutrofização. As abordagens são variadas e vêm sendo baseadas na acumulação de biomassa (Allen and Hershey 1996, Havens et al. 1999, Flecker et al. 2002, Tank and Dodds 2003, Tank et al. 2006, Capps et al. 2011).

Diversos experimentos *in situ* tem sido usados para se determinar a limitação por nutrientes em rios e córregos. A adição de nutrientes em trechos de rios é outra técnica empregada para se acessar a limitação dos produtores primários, por exemplo (Corkum 1996, Flecker et al. 2002). No entanto, esses métodos podem ser custosos, logisticamente inviáveis e requerem um tempo intensivo (Capps et al. 2011). Deste modo, a técnica de substrato difusor de nutrientes surgiu como um método alternativo para se acessar a limitação de nutrientes em rios e córregos (Francoeur 2001). A técnica de NDS se mostra acessível por ser menos custosa e de fácil replicação (Rugenski et al. 2008; Tank et al. 2006).

Os substratos difusores de nutrientes (NDS) consistem em recipientes preenchidos com solução e nutrientes. Esses nutrientes vão sendo difundidos por esse meio (sólido ou fluido) e alcançam a coluna d'água passando por um filtro poroso – que serve de substrato para a colonização algal (Capps et al. 2011). Três metodologias de NDS comumente utilizadas são: potes de argila (*clay pots*), potes plásticos e “*periphytometers*” (Pringle and Triska 2006); dessas, o método de potes de argila é o mais amplamente empregado (Rugenski et al. 2008). Essa técnica dos potes de argila pode ser usada para testar as mesmas finalidades que os potes plásticos, no entanto alguns autores recomendam que os potes de argila não podem ser usados para estimar a limitação por fósforo por conta de alguns elementos que podem estar presentes nos potes (como ferro, cálcio e alumínio) que podem se ligar ao fósforo e modificar as suas taxas de difusão (Brown et al. 2001). Já nos “*periphytometers*” os nutrientes difundem através de substrato inerte, igualmente à metodologia dos potes plásticos, e não apresentam problemas de retenção do fósforo; desse modo, o meio utilizado para a difusão dos nutrientes é um meio fluido, havendo a necessidade de uma membrana no topo (juntamente ao filtro *glass-fiber-filter*) para regular a difusão dos nutrientes atrás do tempo. No entanto, essa metodologia não pode ser usada facilmente para se determinar o efeito da



herbivoria dos herbívoros pois essa atividade pode destruir os filtros e evitar a colonização algal (Capps *et al.* 2011).

Nesse contexto, os NDS de potes de plástico surgem como uma boa, e viável, alternativa. Consistem em recipientes preenchidos com solução nutritiva, a qual é continuamente liberada a partir da difusão pelo Agar-Agar (Fermino *et al.* 2004). Desse modo, o substrato age como fonte pontual de nutrientes, que são liberados na coluna d'água através de um filtro poroso, o qual promove a colonização perifítica (Capps *et al.* 2011). A limitação por nutrientes é indicada quando o crescimento algal ou produção primária no substrato enriquecido com nutriente é significativamente superior aos substratos controle (Rugenski *et al.* 2008).

Assim, os NDS foram constituídos por potes plásticos (vasilhas de filme de 35mm) de 35mL atóxicos e inertes do ponto de vista químico, preenchidos com solução Agar-Agar da marca Vetec® a 2% e 3% - no caso do tratamento com adição de ambos os nutrientes (Fairchild *et al.* 1985, Fermino *et al.* 2004). Os NDS foram divididos em um tratamento controle (sem adição de nutrientes) e três tratamentos enriquecidos do seguinte modo: N (adição de nitrogênio sob a forma de nitrato de sódio 0,5mol/L), P (adição de fósforo sob a forma de fosfato dibásico de potássio 0,5mol/L) e N+P (adição de nitrogênio e fósforo sob as formas de nitrato de sódio e fosfato dibásico de potássio, seguindo a Razão de Redfield 16:1). Estes permaneceram à temperatura ambiente para a solidificação das soluções. Posteriormente, foram colocados *glass-fritted filters* no topo de cada pote, fixadas com tampas fendidas com uma circunferência de 2,2 cm de diâmetro (Capps *et al.* 2011; Tank *et al.* 2006). Os filtros em questão servem de substrato para o crescimento perifítico (Figura 10).

Todos os potes foram afixados com abraçadeiras a barras de plástico em formato de 'L' de 21cm de comprimento por 5cm de largura; onde cada continha um pote de cada tipo de tratamento, dispostos aleatoriamente (Capps *et al.* 2011; Tank *et al.* 2006), o que totalizou 252 potes dispostos em 63 barras (Figura 10).

#### 3.4.2 Instalação do experimento *in situ*

As barras foram colocadas em um isopor refrigerado para o deslocamento até o sítio de estudo, onde foram ancoradas aos substratos arenosos com auxílio de parafusos sem fim e

porcas. As barras foram fixadas paralelas à correnteza, de modo a limitar a sedimentação nos NDS (Figura 10c).

Cada sítio continha 3 barras, totalizando 12 unidade de NDS por sítio e 21 barras (84 unidade de NDS) por rio.

Figura 10 – Substratos Difusores de Nutrientes



Legenda: (a) - Os substratos difusores de nutrientes individuais; (b) - os NDS agrupados em barras-L; (c) - o experimento alocado *in situ*.

### 3.4.3 Quantificação da clorofila *a*

Ao final do experimento (depois de 15 dias, aproximadamente), os filtros usados para a colonização perifítica (*glass-fritted-filter*) foram removidos, colocados em potes previamente codificados e protegidos da luminosidade, e congelados imediatamente até a mensuração da quantidade de clorofila *a* de cada filtro.

A quantificação de clorofila *a* existente nos filtros ocorreu em duas partes, identificadas por extração e leitura das amostras. Durante a extração, 10 mL de etanol 90% foram colocados nos potes de modo a cobrir os filtros, permanecendo assim por 24 horas no freezer e na ausência de luz. O solvente utilizado é considerado mais eficiente para a extração,

bem como o metanol, no entanto este último é extremamente tóxico (Ritchie 2006; Scheer 1991). Todo o processamento das amostras foi realizado em condições de luminosidade mínima de modo a evitar a degradação da clorofila (HMSO 1983). A leitura das amostras foi feita através do fluorímetro Trilogy (Turner Designs), baseando-se no princípio de fluorescência onde alguns átomos e moléculas possuem a capacidade de absorver energia luminosa em determinado comprimento de onda e logo em seguida reemitir essa energia luminosa em outro comprimento de onda, normalmente maior. Uma vez os potes com os filtros terem sido retirados do freezer, uma alíquota do extrato foi retirada e colocada numa cubeta no aparelho e a luz de excitação do fluorímetro passa através da amostra, causando a fluorescência da clorofila *a* existente dentro das células algais (Moulton *et al.* 2009), fornecendo o resultado de fluorescência da alíquota.

Para se atingir o fator de correção pelo qual o valor das amostras lidas no aparelho Trilogy deveria ser multiplicado, fizemos a regressão linear entre o valor obtido da leitura no espectrofotômetro e o valor obtido para a mesma amostra no Trilogy. O valor da equação dessa reta foi considerado como o fator de correção.

#### 3.4.4 Transformação dos dados

A fim de determinar a quantidade de clorofila *a*, diversas diluições do extrato de um filtro de uma cultura de cianobactérias foram feitas para serem lidas pelo espectrofotômetro adicionalmente, e a adequação dos valores foi feita por intermédio do método monocromático de Lorenzen (1967). Nessa equação acha-se o valor de clorofila ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) da seguinte forma: diferença da absorbância de luz do espectrofotômetro em 664 nanômetros e 750 nanômetros, esse valor menos a diferença da absorbância em 664 e 750 nanômetros das amostras acidificadas (Parsons *et al.* 1984), esse resultado foi multiplicado pela quantidade de solvente utilizado para a extração (no caso, 10 mL de etanol) e por um coeficiente inerente à absorbância do etanol (27,9); tudo isso dividido pela área do filtro.

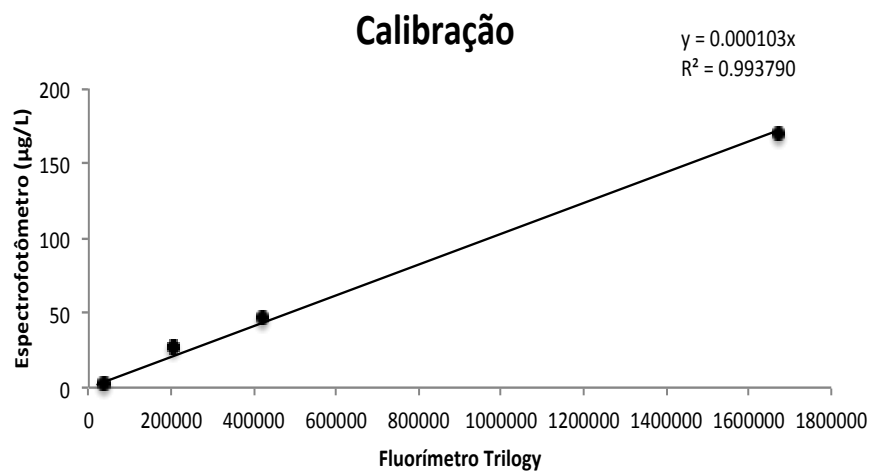
Posteriormente fez-se uma regressão linear para os valores encontrados pelo fluorímetro Trilogy e para os valores ajustados do Espectrofotômetro, e o valor da equação da reta encontrada (0.000103) foi multiplicado pelos demais valores encontrados no fluorímetro Trilogy afim de se encontrar a quantidade de clorofila final existente em cada filtro.

Assim, a relação entre clorofila medida pelo fluorímetro e pelo espectrofotômetro é

linear ( $r^2 = 0.99$ ,  $n = 5$ ) e o fator de calibração, dado pela equação da reta, foi  $1.03 \times 10^{-4}$ . E a equação para clorofila a nesse estudo foi:  $\text{Clorofila } (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}) = (0.000103 \times \text{Fluorescência} \times \text{Volume Extraído}) / \text{Área Filtro}$  (Figura 11).

Quando os dados não obedeciam a distribuição normal, foram logaritmizados posteriormente.

Figura 11 - Curva de calibração de clorofila *a*



Legenda: Curva de calibração de clorofila *a*: Espectrofotômetro x Fluorímetro.

### 3.4.5 Response ratio

As análises também foram feitas em termos do efeito da resposta em relação ao controle – *response ratio*. Assim, valores de clorofila *response ratio* maiores que 1 indicam crescimento positivo e efeito da adição do nutriente; valores menores de 1 indicam um decréscimo e, portanto, efeito negativo da adição de nutrientes e valores iguais a 1 indicam nenhum efeito da adição de nutriente.

### 3.4.6 Teste de difusão

O delineamento experimental para o procedimento de teste de difusão dos sais foi uma modificação do que Fermino e Bicudo dispuseram em 2004 e Capps em 2011. Assim, o experimento foi composto por 5 tratamentos, cada qual com 3 repetições ( $n=3$ ), a saber: (1) adição isolada, à solução de Agar-Agar e água, de fosfato dibásico de potássio 0,5mol/L, (2) adição isolada, à solução de Agar-Agar e água, de nitrato de sódio 0,5mol/L, (3) adição isolada, à solução de Agar-Agar, de nitrato de sódio e fosfato dibásico de potássio, seguindo a Razão de Redfield 16:1, (4) apenas a solução de Agar-Agar e água e (5) apenas água.

Os potes de NDS para o teste de difusão dos sais foram construídos concomitantemente àqueles para as análises de clorofila *a* e, antes da alocação dos mesmos no sítio de estudo, o teste de difusão dos sais foi conduzido, bem como logo após a retirada dos NDS, com o término do experimento, no 15º dia.

Durante os testes de difusão, os NDS não estavam afixados nas barras ‘L’, no entanto para a condução do experimento e a disposição dos NDS nos rios, os mesmos foram alocados em barras ‘L’, minimizando as diferenças em potencial em relação aos outros NDS destinados à quantificação de clorofila *a*.

Assim, os doze NDS, nos dias 0 e 15 do experimento, foram mergulhados individualmente durante 1 hora em béquers com capacidade de 1L preenchidos com 500mL de água deionizada e selados com papel alumínio de modo de minimizar as possíveis trocas com o meio externo, em termos de contaminação e evaporação da água. Não ocorreu fluxo de água durante o tempo do experimento, após o qual foram retiradas sub-amostras de 60mL que foram filtradas e congeladas a fim da determinação das concentrações de nitrato e fosfato (fósforo solúvel reativo) pelas técnicas já descritas na seção 3.2

De acordo com o que foi feito por Capps (2011), as concentrações dos nutrientes foram normalizadas contra os controles – que consistiram em 500mL de água destilada incubada por 1 hora no béquer com capacidade de 1L,  $n=3$  – e as concentrações de difusão de sais, calculadas em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , transformadas para  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  (Fermino e Bicudo, 2004).

### 3.5 Crescimento e acúmulo

#### 3.5.1 Descrição e preparo das unidades experimentais

O crescimento e estoque da comunidade perifítica foram acessados através do segundo experimento mencionado – a utilização de azulejos. Este delineamento experimental permitiu a determinação do crescimento e estoque, bem como a estequiometria e composição taxonômica do perifíton, descritas nas seções 3.6 e 3.7, respectivamente.

As unidades experimentais consistiram em azulejos de 25 cm<sup>2</sup> colocados *in situ*, servindo como substrato para o crescimento da comunidade perifítica. Os azulejos foram retirados em diferentes datas subsequentes: dias 3, 7, 15 e 22 de experimento, aproximadamente. A cada data de coleta dois azulejos eram retirados a fim de se determinar a quantidade de clorofila *a*, massa seca e massa seca livre de cinzas; na última data de coleta, haviam três azulejos adicionais à medida que foram destinados para as análises estequiométricas e taxonômicas descritas posteriormente nas seções 3.6 e 3.7, respectivamente.

#### 3.5.2 Instalação do experimento *in situ*

Os azulejos foram arranjados numa estrutura construída por fios de cobre, presos por clips (“binder clip”), e afixada em areia por intermédio do auxílio de parafusos sem fim e porcas.

Um total de 11 azulejos foram alocados por sítio, apresentando os destinos já citados: dois por data de coleta para o crescimento e três adicionais para as análises estequiométricas e taxonômicas, no último dia de coleta (Figura 12).

Figura 12 - Instalação *in situ* do experimento com azulejos.



### 3.5.3 Quantificação da clorofila *a*

A quantificação da clorofila *a* foi a mesma descrita para os substratos difusores de nutrientes na seção 3.4.3. Resumidamente, consistiu na extração dos filtros em etanol 90% por 24h e leitura das amostras no fluorímetro Trilogy (Turner Designs). Quando os dados não obedeciam a distribuição normal, foram logaritmizados posteriormente. E as análises do crescimento perifítico foram feitas excluindo-se o dia 2 de amostragem.

### 3.5.4 Quantificação do peso seco (Dry Mass: DM)

O peso seco representa a massa perifítica total (organismos vivos, detritos orgânicos e inorgânicos) removida do substrato (Moschini-Carlos, 1996).

Nesse sentido, em cada data de coleta, o perifíton raspado dos dois azulejos foi filtrado em filtros de fibra de vidro GFF 25mm Ø (Whatman GFF, Whatman Inc., Piscataway, NJ,

USA) previamente calcinados e pesados. Em seguida, os filtros foram secos em estufa a 60°C até que os mesmos atingissem peso constante (72 horas), quando, então, foram novamente pesados para a determinação do peso seco, expresso em  $\text{g.m}^{-2}$ , utilizando a seguinte equação:

$$\text{PS (g/m}^2\text{)} = [(\text{Pt} - \text{Pi}) * (\text{Vr/Vf})] / \text{S}$$

aonde,

PS = peso seco;

Pt = peso após secagem em estufa (peso do filtro + peso do material particulado) em gramas;

Pi = peso do filtro calcinado, antes da filtração, em gramas;

Vr = volume de água utilizado na raspagem do substrato, em L;

Vf = volume da amostra filtrado (pelo filtro GFF), em L;

S = área colonizada do substrato, em  $\text{m}^2$ .

### 3.5.5 Quantificação do peso seco livre de cinzas (Ash-Free Dry Mass: MSLC )

Após a determinação do peso seco, o mesmo filtro contendo o material seco foi submetido à mufla a 550°C durante 1 hora e pesado novamente. Assim, todo o conteúdo orgânico é calcinado, restando apenas a fração inorgânica, que corresponde às cinzas.

A determinação do peso seco livre de cinzas equivale à diferença entre o peso seco e às cinzas (peso do filtro após a calcinação). Os resultados foram expressos em % de matéria orgânica do peso seco (peso seco livre de cinzas) e % de matéria inorgânica do peso seco (cinzas).

Em tempo, a porcentagem de clorofila foi determinada a partir da razão entre a concentração de clorofila e MSLC, multiplicado por cem.



### 3.5.6 Taxa de crescimento e estoque

A taxa de crescimento foi determinada para cada dia de experimento à partir da fórmula:  $\Delta N/\Delta t$ , aonde se considera o crescimento líquido atingido em um determinado dia (em clorofila  $\text{mg.m}^{-2}$ ) dividido pela quantidade de dias de colonização do substrato. Já o “estoque” foi determinado como o crescimento líquido no último dia de experimento. As análises da taxa de crescimento medida através de  $\Delta N/\Delta t$  foram feitas através do log da taxa e excluindo-se o dia 2 de amostragem.

## 3.6 **Composição taxonômica**

### 3.6.1 Descrição e preparo das unidades experimentais

O preparo das unidades experimentais, bem como a instalação do experimento *in situ*, foram os mesmos para a seção 3.5.1 referente ao crescimento e acúmulo perifítico.

A composição taxonômica da comunidade perifítica, a exemplo da composição estequiométrica, também foi determinada para o último dia do experimento (dia 22, aproximadamente). O perifíton foi raspado dos três azulejos destinados à estequiometria e composição taxonômica, e uma alíquota de 4 mL foi retirada para a composição taxonômica. As amostras foram, então, alocadas em *ependorfs* e fixadas com uma gota de solução Lugol.

### 3.6.2 Caracterização taxonômica

As análises qualitativa e quantitativa do perifíton foi realizada a partir de observações de amostras fixadas com solução Lugol, utilizando microscópio óptico equipado com câmara clara e máquina fotográfica.

De cada amostra foram preparadas duas lâminas (2mL) para avaliação populacional e contagem de indivíduos em campo inteiro. A identificação foi feita ao menor nível

taxonômico possível, com o auxílio da bibliografia. O sistema de classificação utilizado foi o de Bicudo e Menezes (2006), Schwarzbald, Burliga e Torgan (2013).

Foram feitos cálculos de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade dos táxons em cada sítio estudado a partir das abundâncias de cada táxon. A fim de se obter os valores destes parâmetros para cada categoria de uso e cobertura do solo, foram feitas médias dos sítios de cada categoria.

A riqueza expressa o número de táxons presentes em cada amostra analisada quantitativamente. Portanto, o cálculo da riqueza foi feito, simplesmente, contando-se a quantidade de táxons presentes nas amostras.

A diversidade de espécies foi determinada a partir de dados de densidade, através do Índice de Diversidade de Shannon e Weaver (1963). Os resultados foram obtidos a partir da seguinte equação:

$$H' = \sum [ (n_i/N) * \ln(n_i/N) ]$$

Onde,

$H'$  = Diversidade de Shannon;

$n_i$  = Número de indivíduos da espécie  $i$ ;

$N$  = Número total de exemplares.

A equitabilidade foi calculada segundo a equação de Pielou (1975) descrita abaixo:

$$J' = H' / H'_{\max}$$

Onde,

$J'$  = Equitabilidade;

$H'$  = Diversidade da amostra (Shannon);

$H'_{\max}$  = Diversidade máxima da amostra ( $\ln S$ ).

Quanto ao índice de dominância de Simpson, o cálculo foi feito de acordo com a fórmula a seguir:

$$c = \sum (n_i/N)^2$$

Onde,

$c$  = Dominância;

$n_i$  = número de indivíduos da espécie  $i$ ;

$N$  = número total de exemplares.

### 3.7 Estequiometria

#### 3.7.1 Descrição e preparo das unidades experimentais

O preparo das unidades experimentais, bem como a instalação do experimento *in situ*, foram os mesmos para a seção 3.5.1 referente ao crescimento e acúmulo perifítico.

A composição elementar da comunidade perifítica foi determinada para o último dia do experimento (dia 22, aproximadamente), quando considerou-se que havia material suficiente para as análises laboratoriais. O perifíton colonizado nos três azulejos foi raspado, acondicionado em sacos *whirl-pack* e congelado em seguida.

#### 3.7.2 Análises laboratoriais

A composição elementar do perifíton foi acessada através das concentrações de carbono, nitrogênio e fósforo totais da comunidade.

O material foi seco em estufa até que restasse apenas o peso seco da amostra. Em seguida, a amostra foi autoclavada durante 30 minutos com persulfato de potássio em meio básico a 120°C (Valderrama 1981). O fósforo orgânico foi digerido a ortofosfato e o nitrogênio orgânico a nitrato, sendo, a partir daí, ambos tratados da mesma forma que a água, descrito anteriormente na seção 3.2. O carbono foi analisado a partir de digestão com solução de dicromato de potássio em meio básico a 120°C, por 30 minutos; o dicromato que não foi consumido, é determinado por espectrofotometria visível.

### 3.8 Análises estatísticas

A estatística descritiva foi utilizada para avaliar o padrão do conjunto de dados abióticos e bióticos, obtidos durante o período amostral. Os cálculos da média e erro padrão foram feitos não somente para as variáveis físicas e químicas, mas para todas as variáveis biológicas dependentes, aqui estudadas, em relação às categorias de uso e cobertura do solo.

A análise exploratória, através da correlação de Pearson foi feita para se observar as tendências e correlações entre as variáveis físicas e químicas. Cada variável físico-químicas (variável dependente) também foi analisada por ANOVA two-way para se observar as diferenças entre as três categorias de uso e cobertura do solo (fator fixo) e entre os três rios estudados (fator fixo), e o teste post-hoc de Tukey quando necessário.

Para avaliar se há limitação nutricional nas diferentes categorias de uso e cobertura do solo, os dados de NDS foram analisados através de ANOVA split-plot modificada; considerando as categorias de uso e cobertura do solo como fator principal (com três níveis), os rios como blocos (com três níveis) e os tratamentos de enriquecimento nutricional como subplots (com quatro níveis) - e a quantidade de clorofila *a* acessada nos potes como variável dependente. Quando houve interações com rios, os efeitos foram identificados individualmente. Considerando as interações com rio, foram feitas ANOVAs split-plot para cada rio individualmente (tratamento entre blocos: categoria = fator fixo; tratamento dentro dos blocos: tratamento nutricional = fator fixo; blocos: sítio = fator randômico; quantidade de clorofila *a* acessada nos potes = variável dependente). Quando houve interação entre categoria e tratamento nutricional, a natureza da interação foi explorada através da avaliação dos efeitos simples. Assim, foram feitas ANOVAs para cada categoria de uso e cobertura do solo (fator fixo) de cada rio aonde houve a interação, para averiguar as diferenças entre a quantidade de clorofila (variável dependente) dos tratamentos nutricionais (fator fixo); seguidas de teste post-hoc de Tukey quando necessário. Além disso, foram feitas uma série de ANOVAs para a quantidade de clorofila *a* de cada tratamento nutricional (variável dependente) entre as categorias de uso do solo (fator fixo); seguidas de teste post-hoc de Tukey, quando necessário.

Em tempo, para verificar as relações entre as variáveis físicas e químicas e o crescimento líquido do perifíton, a quantidade de clorofila nos potes controle de NDS pode ser uma alternativa aos dados obtidos nos azulejos. Portanto, foram feitas ANCOVAs entre a quantidade de clorofila *a* acessada nos potes controle (variável dependente) e cada uma das variáveis físicas e químicas (covariada), tendo os rios como fatores fixos. Quando foi

observada a interação com rios, foram feitas regressões, para cada rio, entre a quantidade de clorofila *a* acessada nos potes controle (variável dependente) e as variáveis físicas e químicas (variável independente).

Para averiguar se o crescimento perifítico difere entre as categorias de uso do solo, as variáveis dependentes relacionadas ao crescimento (i.e. clorofila *a*, taxa de crescimento e MSLC ) foram analisadas, separadamente, através de ANOVAs parcialmente nested com as correções de Greenhouse-Geisser e Huynh-Feldt, nos rios com as três categorias de uso do solo (três níveis: pristino, perturbação intermediária e perturbado), dos três rios (três níveis: ANL, ITA e STM) na bacia Guapi-Macacu. Dois ou três sítios de cada combinação categoria-rio foram amostrados nos dias 8, 15 e 22 de experimento (dia: 'fixed within plot effect').

Ainda, para verificar como o crescimento perifítico muda em função das variáveis físicas e químicas, foram feitas, também, uma série de ANCOVAs entre as variáveis dependentes - clorofila *a*, taxa de crescimento, MSLC e % clorofila – com cada uma das variáveis físicas e químicas (covariada) entre os rios (fator fixo). Quando houve interação com rios, foram feitas regressões entre as variáveis dependentes e as variáveis físicas e químicas (independentes) para cada um dos rios estudados.

Para testar se os táxons relacionados com a poluição e/ou alta luminosidade aumentam com o gradiente de perturbação, foram feitas uma série de ANOVAs entre os grandes grupos (variável dependente) e as categorias de uso e cobertura do solo (fator fixo). Foram feitas, também, ANCOVAs entre alguns gêneros (variável dependente) e cada variável físicas e químicas (covariada), considerando-se rios como fator fixo. Ainda, a presença/ausência e abundância dos gêneros foram analisadas através de perManovas entre as duas variáveis dependentes supracitadas e categoria; entre as variáveis dependentes (presença/ausência e abundância) e rio; também com canópia; e com fosfato. Por fim, as relações entre os gêneros e as variáveis físicas e químicas foram averiguadas através da análise multivariada NMDS.

Já para testar a mudança da diversidade (e outro parâmetro taxonômicos) em função do gradiente de perturbação, foram feitas uma série de ANOVAs two-way entre diversidade, dominância e equitabilidade (variáveis dependentes) e as categorias de uso e cobertura do solo (fator fixo) e rios (fator fixo); quando houve interação com rios, foram feitas ANOVAs, para cada rio separadamente, entre as variáveis dependentes supracitadas e as categorias de uso e cobertura do solo (fator fixo). Essas variáveis taxonômicas também foram testadas em função das variáveis físicas e químicas medidas; assim, também foram feitas ANCOVAs para a diversidade (variável dependente) e cada uma das variáveis físicas e químicas (covariada), tendo rios como fator fixo; quando houve interação com rios, foram feitas

regressões entre a variável dependente supracitada e os fatores físicos e químicos (variável independente) para cada rio.

Finalmente, as análises estatísticas relacionadas à estequiometria englobaram ANOVAs two-way para cada razão estequiométrica separadamente (C:N, C:P, N:P) para analisar a diferença entre as categorias de uso e cobertura do solo (fator fixo) e entre os rios estudados (fator fixo) – para testar se há mudança da razão estequiométrica da comunidade periférica em função do gradiente de perturbação. Também foram feitas análises para testar a mudança das razões estequiométricas em função das variáveis físicas e químicas; assim, foram feitas uma série de ANCOVAs para cada razão estequiométrica (variável dependente) e cada uma das variáveis físicas e químicas (covariada), tendo rio como fator fixo. Quando houve interação com rio, foram feitas diferentes regressões entre as variáveis dependentes e cada uma das variáveis físicas e químicas (variáveis independentes), para cada rio estudado.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Variáveis físicas e químicas

A figura 13 mostra os resultados da correlação de Pearson entre as variáveis físicas e químicas. Assumindo relações lineares, quanto maior a distância da cabeceira (i.e. conforme o fluxo à jusante), maior a área aberta da vegetação ripária ( $R^2 = 0.68$ ,  $p < 0.001$ ), maior a correnteza ( $R^2 = 0.61$ ,  $p < 0.001$ ), temperatura ( $R^2 = 0.42$ ,  $p < 0.01$ ), concentração de amônio ( $R^2 = 0.40$ ,  $p < 0.01$ ) e concentração de fosfato ( $R^2 = 0.43$ ,  $p < 0.01$ ).

Há uma relação positiva entre a área aberta e o fluxo ( $R^2 = 0.79$ ,  $p < 0.001$ ), bem como entre a área aberta e amônio ( $R^2 = 0.76$ ,  $p < 0.001$ ) e área aberta e temperatura ( $R^2 = 0.48$ ,  $p < 0.01$ ). Há, também, uma relação entre correnteza a concentração de amônio ( $R^2 = 0.74$ ,  $p < 0.001$ ) e temperatura e nitrato ( $R^2 = 0.64$ ,  $p < 0.01$ ; esta relação aparenta ser positiva até uma determinada temperatura, a partir da qual se torna negativa). Os sítios estudados (21 sítios ao longo dos 3 rios) apresentam relação com amônio ( $R^2 = 0.69$ ,  $p < 0.01$ ) e nitrato ( $R^2 = 0.56$ ,  $p < 0.01$ ); já as categorias, nas quais os sítios foram agrupados, apresentam relação positiva com fosfato ( $R^2 = 0.43$ ,  $p < 0.01$ ).

Considerando as variáveis físicas em relação às categorias de uso do solo pristino, perturbação intermediária e perturbado (Tabela 3), nota-se que a porcentagem de floresta - considerando-se a zona tampão de 30 metros - diminui significativamente com a perturbação. A partir da análise da ANOVA, o padrão é observado para os três rios: os sítios prístinos são mais florestados que os de perturbação intermediária, seguidos dos perturbados (para o rio STM  $F_{2,4}=115.81$ ,  $p < 0.0001$ ; ITA  $F_{1,4}=95.82$ ,  $P=0.001$ ; embora não significativo para ANL  $F_{1,4}=5.57$ ,  $p=0.078$ ).

Considerando a porcentagem de área aberta, a mesma aumenta significativamente com a perturbação (Tabela 3). Nos três rios estudados, os sítios perturbados apresentam menor porcentagem de área aberta que os de perturbação intermediária e prístinos (para o rio ANL  $F_{1,4}=2246.89$ ,  $p < 0.0001$ ; ITA  $F_{1,4}=17.03$ ,  $P=0.01$ ; e STM  $F_{2,4}=2315.58$ ,  $p < 0.0001$ ).

Outra variável física que também aumenta significativamente com a perturbação é a correnteza (para o rio ANL  $F_{1,4}=17.02$ ,  $p=0.015$  e STM  $F_{2,4}=12.85$ ,  $p=0.018$ ; embora não significativo para ITA  $F_{1,4}=2.294$ ,  $p=0.204$ ); já a temperatura (Tabela 3. STM  $F_{2,4}=3.55$ ,  $p=0.13$ , ANL  $F_{1,4}=1.14$ ,  $p=0.35$  e ITA  $F_{1,4}=1.754$ ,  $p=0.256$ ) e profundidade (Tabela 3. para STM  $F_{2,4}=2.75$ ,  $p=0.18$ , ANL  $F_{1,4}=0.7$ ,  $p=0.45$  e ITA  $F_{1,4}=0.22$ ,  $p=0.66$ ) também aumentam,

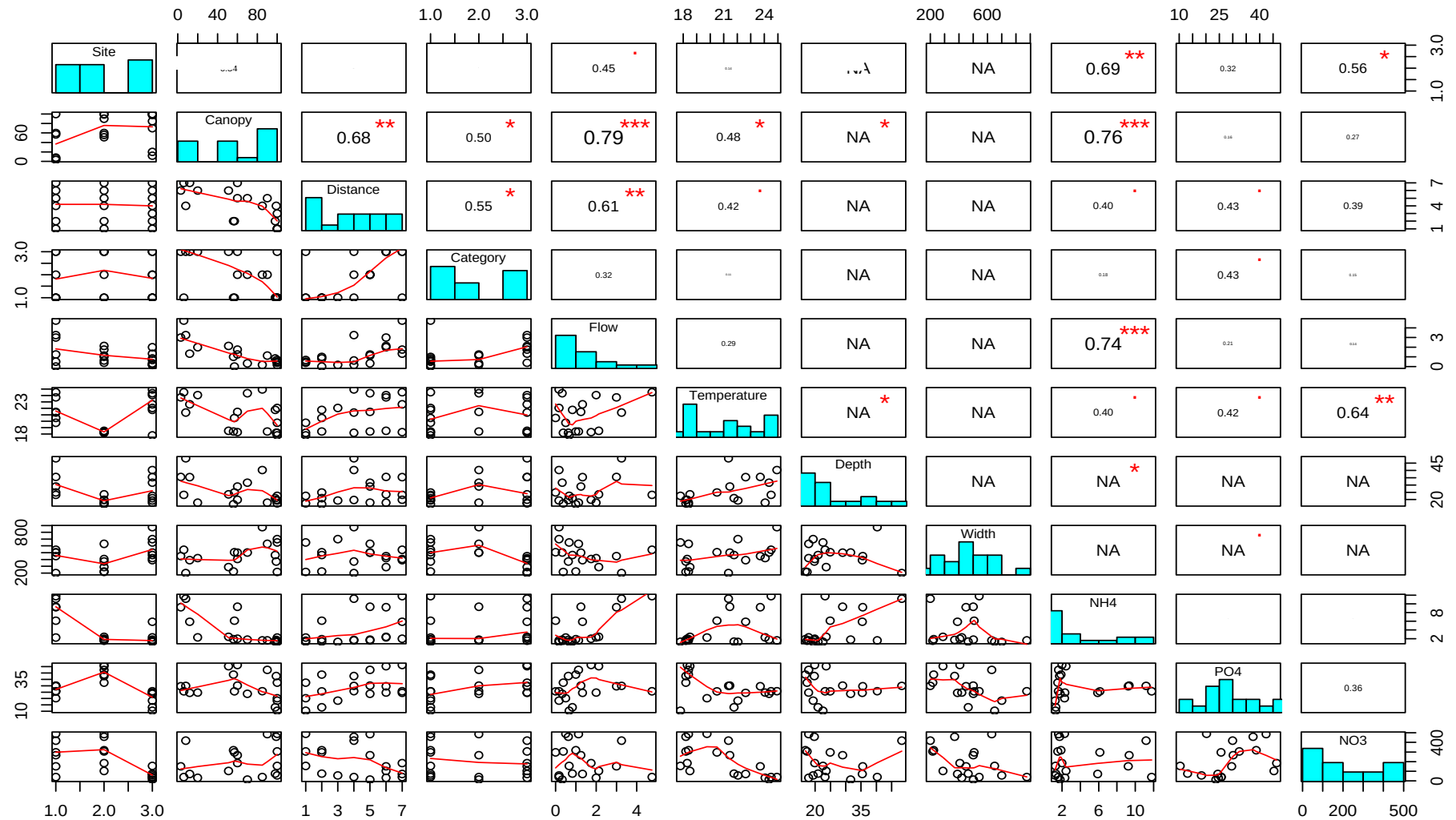
embora os resultados não tenham sido significativos. Já a largura diminui com a perturbação (Tabela 3), embora, também, não tenha sido significativo (STM  $F_{2,4}=1.709$ ,  $p=0.291$ , ANL  $F_{1,4}=1.204$ ,  $p=0.334$  e ITA  $F_{1,4}=4.102$ ,  $p=0.113$ ).

A observação das variáveis químicas mostra que há um aumento da concentração de nutrientes da água em relação à perturbação (Tabela 3). Os sítios perturbados e com perturbação intermediária apresentam concentrações de  $PO_4$  significativamente maiores que os prístinos (para o rio STM,  $F_{2,4}= 10.56$ ,  $p=0.025$ ; não significativo para ANL,  $F_{1,4}=0.001$ ,  $p=0.982$ ; nem para ITA  $F_{1,4}=0.175$ ,  $p=0.7$ ). Em relação à concentração de amônio, também há um aumento com a perturbação, embora não significativo (ANL  $F_{1,4}=5.5$ ,  $p=0.078$ ; ITA  $F_{1,4}=4.01$ ,  $p=0.12$ ; STM  $F_{2,4}=3.02$ ,  $p=0.15$ ).

Os valores médios de todas as variáveis físicas e químicas em cada categoria por rio estão apresentados na tabela 4.



Figura 13 - Análise exploratória dos dados físicos e químicos



Legenda: As relações entre as variáveis estão mostradas em  $R^2$  de Pearson (Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05)

Tabela 3 - Variáveis físicas e químicas nas categorias de uso do solo

| Variáveis                 | Categoria  |            |            |
|---------------------------|------------|------------|------------|
|                           | Pristino   | Interm.    | Perturbado |
| Floresta (%)              | 99.6±0.4   | 76.8±7     | 32.5±7.7   |
| Área Aberta (%)           | 9.1±3.2    | 10.8±3.6   | 94.4±4.1   |
| Correnteza (m/s)          | 0.5±0.1    | 0.6±0.2    | 2.4±0.4    |
| Temperatura (°C)          | 19.9±0.9   | 21.3±1.2   | 22.1±0.8   |
| Profundidade (cm)         | 20±1.1     | 27.2±3.4   | 27.8±3.4   |
| Largura (cm)              | 605±71.5   | 563.9±70.7 | 354±33.9   |
| NH <sub>4</sub> -N (µg/L) | 1.5±0.2    | 3.7±1.3    | 5.9±1.4    |
| PO <sub>4</sub> -P (µg/L) | 18.9±3.8   | 30.9±3.1   | 32.7±2.7   |
| NO <sub>3</sub> (µg/L)    | 216.6±81.2 | 260.1±81.9 | 261.5±57.9 |

Legenda: Valores médios e erro padrão das variáveis físicas e químicas de acordo com as categorias definidas – pristino, perturbação intermediária e perturbado.

Tabela 4 - Variáveis físicas e químicas nos rios estudados

| Variáveis        | Anil     |            |            |        | Itaperiti  |            |           | Santa Maria |            |
|------------------|----------|------------|------------|--------|------------|------------|-----------|-------------|------------|
|                  | Pristino | Interm.    | Perturbado | Prist. | Interm.    | Perturbado | Prist.    | Interm.     | Perturbado |
| Floresta (%)     | 100*     | 58.5±1.5   | 17.3±11.6  | 100*   | 94.5±4.5   | 56±1.9     | 99.3±0.7  | 77.5±7.5    | 16±4       |
| Área Aberta (%)  | 2.9*     | 4±0.13     | 96.7±1.3   | 4.4*   | 4.7±0.5    | 89.4±10.5  | 914.7±0.3 | 16.9±2.1    | 99.8±0     |
| Correnteza (m/s) | 0.5*     | 0.6±0.6    | 3.6±0.4    | 0.4*   | 0.9±0.3    | 1.5±0.3    | 0.4±0.3   | 0.3±0.1     | 1.7±0.3    |
| Temperatura      | 19.8*    | 21±0.5     | 22.5±0.9   | 18.2*  | 18.3±0.1   | 18.4±0.05  | 20.5±1.4  | 24.6±0.3    | 23.3±0.7   |
| Profundidade     | x        | 27±2       | 33.9±5.4   | 17.4*  | 18.8±0.9   | 19.8±1.4   | 21±0.1    | 36±4.3      | 26.6±8.8   |
| Largura (cm)     | x        | 503.3±3.3  | 381.3±74.1 | 216.7* | 500±130    | 301.3±38.3 | 605±71.5  | 688.3±186.7 | 405±15     |
| NH4 (µg/L)       | 2.3*     | 7.7±1.6    | 10.7±0.5   | 1.5*   | 1.7±0.1    | 2.1±0.1    | 2.3±0.02  | 1.7±0.1     | 4.1±1.8    |
| PO4 (µg/L)       | 20.2*    | 27.9±2.3   | 27.9±1.1   | 32.4*  | 40±2.4     | 41.7±2.5   | 14±2.3    | 24.7±1      | 24.5±0.1   |
| NO3 (µg/L)       | 489.5*   | 281.7±14.8 | 190.7±80.4 | 306*   | 472.1±13.4 | 277±87.2   | 95.8±30.5 | 16.6±13.9   | 51.7±19.8  |

Legenda: Valores médios e erro padrão das variáveis físicas e químicas nos três rios estudados de acordo com as categorias definidas - pristino, perturbação intermediária e perturbado (\*indica um dado apenas).

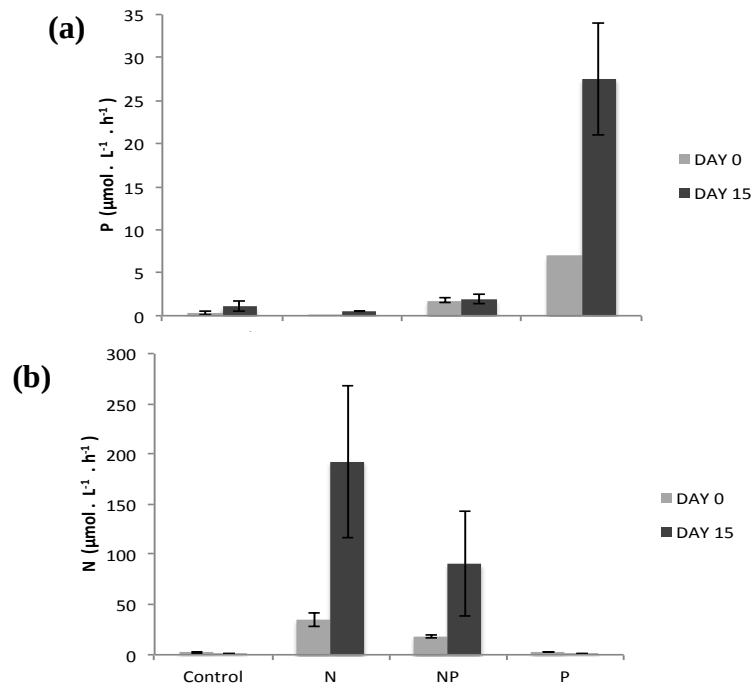
## 4.2 Limitação nutricional

### 4.2.1 Teste de difusão

Em relação ao teste de difusão realizado, a figura 14 retrata os resultados obtidos. Considerando o fosfato, tanto nos dias 0 e 15 de experimento os tratamentos que apresentam maiores taxas de difusão de fosfato foram P ( $7.06 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e  $27.44 \pm 6.52 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , nos dias 0 e 15 respectivamente) e NP ( $1.79 \pm 0.25 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e  $1.92 \pm 0.53 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , nos dias 0 e 15 respectivamente).

Para o nitrato, os tratamentos que apresentam maiores taxas de difusão foram N ( $34.14 \pm 6.7 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e  $191.88 \pm 75.25 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , nos dias 0 e 15 respectivamente) e NP ( $18.27 \pm 1.44 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e  $90.41 \pm 51.82 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , nos dias 0 e 15 respectivamente) (Figura 14b). Considerando o tratamento NP, a razão N:P foi 10.29 no dia 0 de experimento e 47.09 no dia 15 de experimento.

Figura 14 - Gráfico de barras das taxas de difusão



Legenda: Média ( $\pm 1$  SE;  $n = 3$ ; \* indica apenas 1 dado) das taxas de difusão ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) para todos os tratamentos de substratos difusores de nutrientes (Control, N, P e NP) para os dias 0 (cinza claro) e 15 (cinza escuro) de experimento. (a) – Fosfato; (b) - Nitrato.

#### 4.2.2 Substratos Difusores de Nutrientes (NDS)

Foi feita uma ANOVA split-plot modificada para os três rios a fim de acessar se há limitação nutricional nas diferentes categorias de uso do solo. Assumindo as réplicas do status de preservação dentro do rio independentes, a razão F foi calculada utilizando o ‘mean square’ residual no denominador. A partir da análise da tabela 5, pode-se observar que há interação entre o status de preservação da categoria do uso do solo e rio ( $F_{4,40}=5.089$ ,  $p=0.002$ ), entre o tipo de nutriente adicionado nos NDS e rio ( $F_{6,40}=2.547$ ,  $p=0.035$ ) e entre o status de preservação da categoria do uso do solo, nutriente adicionado nos NDS e rio ( $F_{12,40}=2.074$ ,  $p=0.042$ ). Deste modo, as análises foram conduzidas, subsequentemente, para cada rio separado.

Tabela 5 - ANOVA split-plot Substratos Difusores de Nutrientes

|                                    | d.f | Sum Sq | Mean Sq | F-value | P     | Denominator of F-ratio |
|------------------------------------|-----|--------|---------|---------|-------|------------------------|
| Categoria                          | 2   | 7726   | 3863    | 11,765  | 0,021 | “Main-plot” error      |
| Rio                                | 2   | 2620   | 1310    | 3,990   | 0,111 | “Main-plot” error      |
| "Main-plot" error: Categoria x Rio | 4   | 1313   | 328     | 5,089   | 0,002 | Residual               |
| Tratamento                         | 3   | 348    | 116     | 0,389   | 0,762 | “Sub-plot” error       |
| Categoria x Tratamento             | 6   | 416    | 69      | 0,233   | 0,960 | “Sub-plot” error       |
| "Sub-plot" error                   | 18  |        | 298     |         |       |                        |
| Total                              | 35  |        |         |         |       |                        |
| But "sub-plot" error is sum of:    |     |        |         |         |       |                        |
| Tratamento x Rio                   | 6   | 986    | 164     | 2,547   | 0,035 | Residual               |
| Categoria x Tratamento x Rio       | 12  | 1605   | 134     | 2,074   | 0,042 | Residual               |
| Residual                           | 40  | 2581   | 65      |         |       |                        |

Legenda: ANOVA split-plot para media de clorofila *a* para o fator ‘main-plot’ categoria (com três níveis: pristino, perturbação intermediária e perturbado), blocos tratados como rios (com três níveis: ANL, ITA e STM) e o fator ‘sub-plot’ nutrientes (N, P, NP e sem nutrientes) e as interações. Os erros ‘main-plot’ e ‘sub-plot’ estão como identificados por Underwood (1997). Assumimos que as replicas do status de preservação dentro de rios estão independentes umas das outras e usamos o ‘mean square’ residual como denominador da razão F das interações com rios.

##### 4.2.2.1 Santa Maria

Os sítios com perturbação intermediária e perturbados apresentam maior quantidade de clorofila que os pristinos (Figura 15). Não obstante, nos sítios pristinos e com perturbação intermediária não houve destaque de nenhum dos tratamentos de NDS, enquanto que nos

sítios perturbados há maior quantidade de clorofila *a* no tratamento com adição de nitrogênio apenas (Figura 16).

A ANOVA mostrou que há uma interação significativa entre categoria de uso e cobertura do solo e tratamento nutricional ( $F_{6,12}=14.46$ ,  $p<0.001$ ). A natureza desta interação foi explorada através da avaliação de cada efeito individualmente, através de uma série de ANOVAs one-way considerando o efeito dos tratamentos nutricionais entre as categorias (fator fixo) e outra série considerando o efeito de cada um dos diferentes tratamentos nutricionais entre as categorias.

Não há efeitos significativos de nutrientes na quantidade de clorofila em trechos prístinos ( $F_{3,12}=2.82$ ,  $p=0.084$ ) e com perturbação intermediária ( $F_{3,12}=0.75$ ,  $p=0.542$ ). No entanto, há um efeito significativo de nutrientes na quantidade de clorofila em sítios perturbados ( $F_{3,12}=30.41$ ,  $p<0.005$ ). Posteriormente, foi realizado um teste post-hoc de Tukey a fim de se comparar par a par as diferenças médias entre os níveis de nutriente nos trechos perturbados. De acordo com os resultados (Figura 15), o tratamento N é maior que C ( $p=0.0038$ ), P ( $p=0.014$ ) e NP ( $p=0.039$ ); o tratamento NP é maior que C ( $p=0.051$ ) e igual a P ( $p=0.52$ ) e o tratamento P é igual a C ( $p=0.19$ ).

Considerando-se apenas o tratamento controle (sem adição de nutrientes) existe um efeito significativo do status de preservação na quantidade de clorofila ( $F_{2,16}=11.78$ ,  $p<0.001$ ); os resultados do teste post-hoc de Tukey (Figura 15) mostraram que os trechos perturbados apresentam quantidade de clorofila semelhante aos trechos com perturbação intermediária ( $p=0.99$ ) e ambos são maiores que nos trechos prístinos ( $p=0.026$  e  $p=0.024$ , para sítios perturbados e com perturbação intermediária, respectivamente).

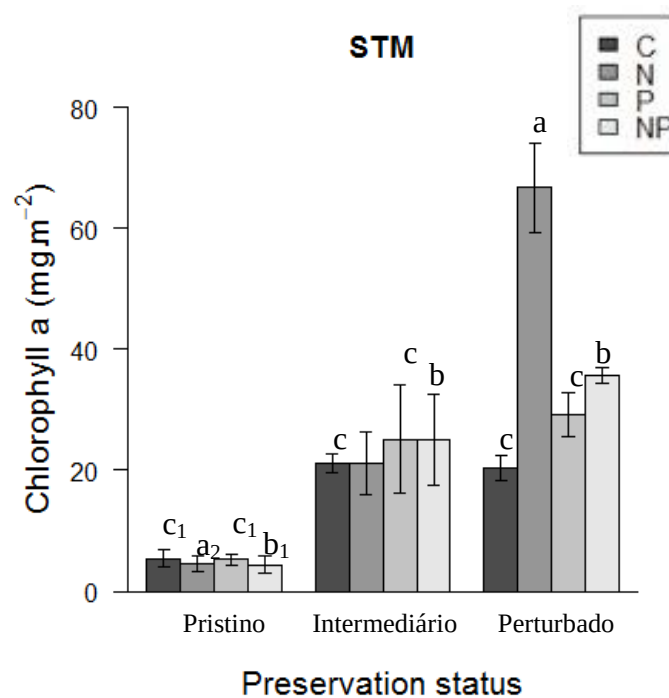
No tratamento com adição de nitrogênio há efeito significativo do status de preservação na quantidade de clorofila ( $F_{2,16}=31.87$ ,  $p<0.001$ ), os resultados do teste post-hoc de Tukey mostraram que os trechos perturbados apresentam maior crescimento de algas perifíticas marginalmente significativo que os pontos com perturbação intermediária ( $p=0.07$ ), que tem crescimento algal significativamente maior que os prístinos ( $p=0.02$ , Figura 16); no tratamento com adição de fósforo há efeito significativo do status de preservação no log<sub>e</sub> clorofila ( $F_{2,16}=15.82$ ,  $p<0.001$ ), e o teste post-hoc de Tukey mostra que os sítios perturbados não são diferentes estatisticamente dos sítios com perturbação intermediária ( $p=0.83$ ), mas ambos são significativamente maiores que os sítios prístinos ( $p=0.01$  e  $p=0.02$ , respectivamente para ambientes perturbados e com perturbação intermediária, Figura 16);

Por fim, no tratamento enriquecido de N+P também houve efeito significativo do status de preservação do rio ( $F_{2,16}=24.00$ ,  $p<0.001$ ) e os resultados do teste de Tukey mostram

que os trechos perturbados e com perturbação intermediária apresentam maior crescimento das algas perifíticas no tratamento NP que os trechos prístinos ( $p=0.01$  e  $p=0.02$ , respectivamente para trechos perturbados e com perturbação intermediária. Figura 15).

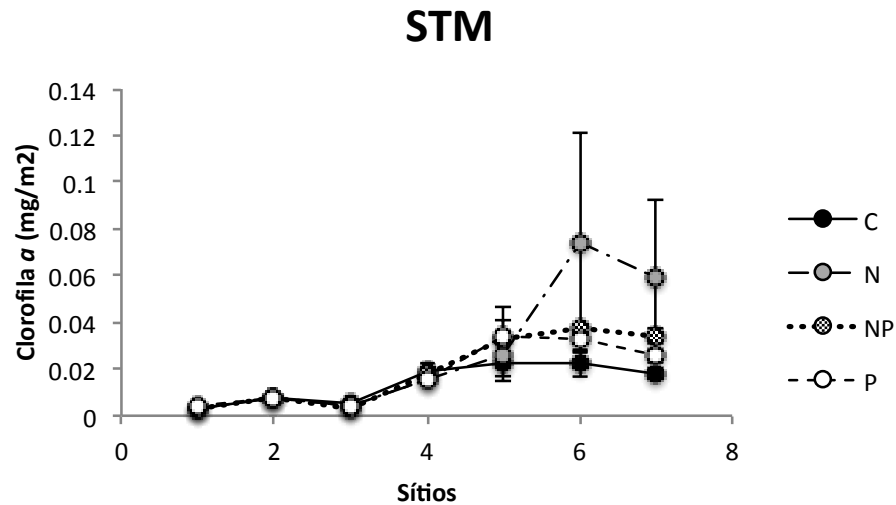
Para o rio Santa Maria (Figura 21) observa-se que nos trechos prístinos o efeito de resposta de clorofila é menor que 1 para N e NP e é ligeiramente maior que 1 para P; já nos pontos com perturbação intermediária o efeito de resposta da clorofila *a* para os três tratamentos, aonde há o enriquecimento de nutrientes, o valor médio é ligeiramente maior que 1. Já nos trechos perturbados, o efeito de resposta de clorofila para os três tratamentos é maior que 1, sendo que o efeito de resposta para N foi o maior de todos.

Figura 15 - Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Santa Maria



Legenda: Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Santa Maria (prístino, perturbação intermediária e perturbado). Em cinza escuro está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio, fósforo e nitrogênio + fósforo. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ . As letras iguais representam ausência de diferença estatística e as diferentes mostram a diferença estatística.

Figura 16 - Clorofila  $a$  ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Santa Maria



Legenda: Clorofila  $a$  ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Santa Maria. Em preto está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio em cinza, nitrogênio + fósforo hachurado e fósforo em branco. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ .

#### 4.2.2.2 Anil

Na figura 17 pode-se observar que há maior quantidade de clorofila nos pontos perturbados em relação aos prístinos e com perturbação intermediária. Também ressalta-se que não há destaque de quantidade de clorofila em nenhum dos tratamentos nos pontos prístinos e com perturbação intermediária, e que nos pontos perturbados há uma quantidade de clorofila  $a$  ligeiramente maior no tratamento com adição de fósforo em relação aos demais.

A Figura 18 mostra a quantidade de clorofila nos quatro tratamentos de NDS ao longo do contínuo do rio Anil. É possível observar um leve aumento da quantidade de clorofila nos tratamentos ao longo do contínuo de rio, havendo uma abrupta diminuição no ponto Anil 5 (apesar de ser considerado como perturbação intermediária, é muito sombreado). Nos pontos perturbados observa-se uma diferenciação dos tratamentos enriquecidos com fósforo em relação aos demais.

Nas análises estatísticas foram consideradas apenas as categorias de perturbação intermediária e perturbado, por alguns motivos: nos pontos perturbados há maior quantidade de clorofila (Figura 17) que nos pontos prístinos e a análise descritiva dos dados não mostra

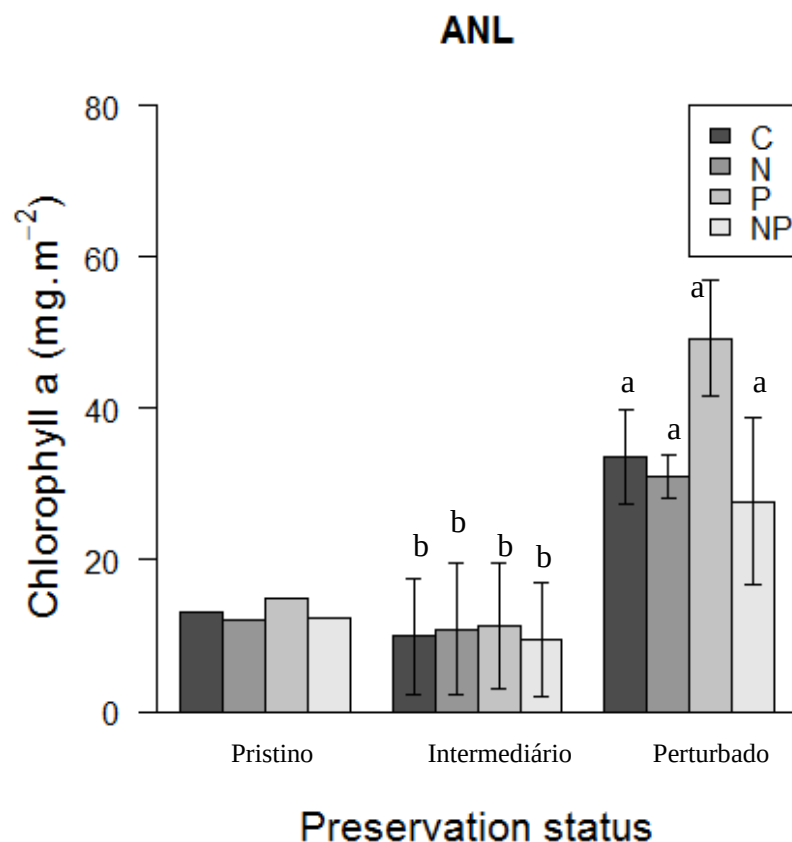


forte evidência de limitação nutricional nos pontos prístinos (Figura 17) e não há réplicas de sítios prístinos no rio Anil.

A análise ANOVA two-way para os resultados de clorofila *a* do rio Anil mostrou que há um efeito significativo de status de preservação na média de clorofila *a* ( $F_{1,3}=13.758$ ,  $p=0.034$ ), mas não há efeito de tratamento nutricional ( $F_{3,9}=1.292$ ,  $p=0.335$ ) nem da interação entre status de preservação de tratamento nutricional na média de clorofila *a* ( $F_{3,9}=1.292$ ,  $p=0.335$ . Figura 17). Trechos perturbados apresentaram maior concentração de clorofila *a* que os de perturbação intermediária e prístinos (Figura 17).

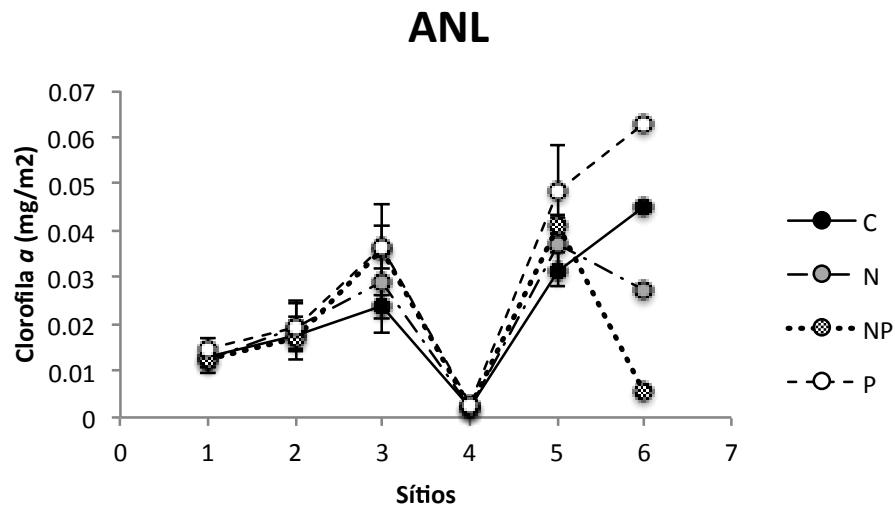
Considerando o efeito de resposta de clorofila *a* dos tratamentos nutricionalmente enriquecidos em relação ao controle no rio Anil (Figura 22), pode-se observar que, na categoria prístino, não tem resposta de clorofila *a* a nenhum dos tratamentos enriquecidos nutricionalmente. Em sítios com perturbação intermediária e perturbados o valor médio de resposta de clorofila *a* aos tratamentos N e NP são maiores que 1, mas não significativos; e para tratamento P, o valor médio de resposta é significativamente maior que 1.

Figura 17 - Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Anil



Legenda: Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Anil (prístino, perturbação intermediária e perturbado) Em cinza escuro está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio, fósforo e nitrogênio + fósforo. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ . As letras iguais representam ausência de diferença estatística e as diferentes mostram a diferença estatística.

Figura 18 - Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Anil.



Legenda: Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Anil. Em preto está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio em cinza, nitrogênio + fósforo hachurado e fósforo em branco. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ .

#### 4.2.2.3 Itaperiti

A Figura 19 mostra que a quantidade de clorofila *a* nos sítios perturbados é ligeiramente maior que nas outras categorias de uso do solo, não havendo destaque de nenhum tratamento de NDS.

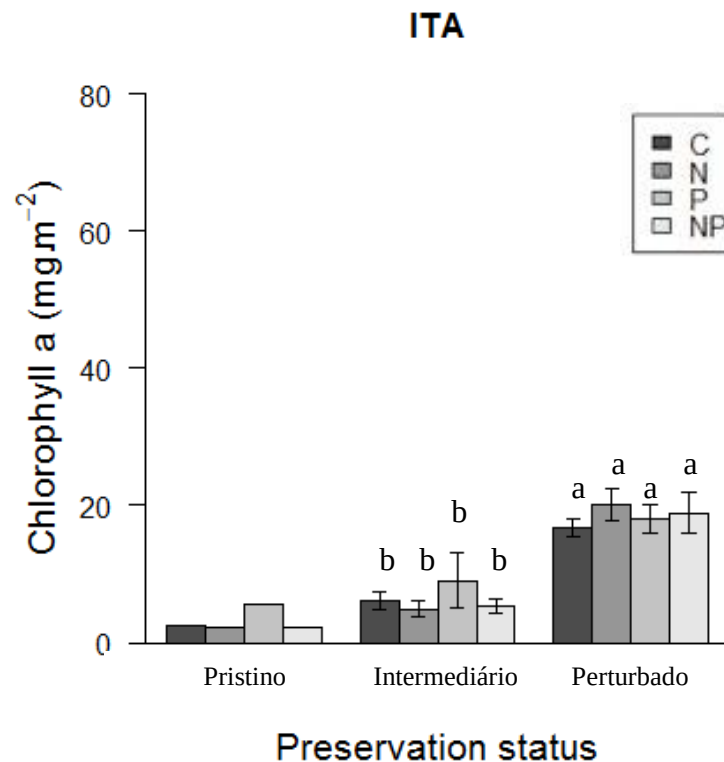
A Figura 20 explicita a quantidade de clorofila dos quatro tratamentos de NDS ao longo do contínuo do rio. O rio Itaperiti é o único rio estudado a apresentar pontos perturbados logo abaixo dos trechos prístinos, seguidos por pontos com perturbação intermediária e, posteriormente, pontos perturbados novamente. Portanto, os dois picos de clorofila condizem com os pontos perturbados (ITA 2, 6 e 7). Os sítios com perturbação intermediária (ITA 4 e 5) apresentam quantidades intermediárias, e os prístinos, os menores valores (Figura 20). No entanto, no rio em questão não há diferenciação entre os tratamentos enriquecidos nutricionalmente, mesmo nos pontos perturbados.

Nas análises estatísticas, foram consideradas apenas as categorias com perturbação intermediária e perturbados pelos mesmos motivos apontados para o rio Anil. Há um efeito significativo de status de preservação na média de clorofila *a* ( $F_{1,3}=60.292$ ,  $p=0.004$ ), mas não há efeito de tratamento nutricional ( $F_{3,9}=0.264$ ,  $p=0.850$ ) nem de interação entre status de

preservação e status nutricional na média de clorofila ( $F_{3,9}=0.649$ ,  $p=0.6030$ . Figura 19). Sítios perturbados apresentaram maior concentração de clorofila *a* que trechos com perturbação intermediária e prístinos (Figura 19).

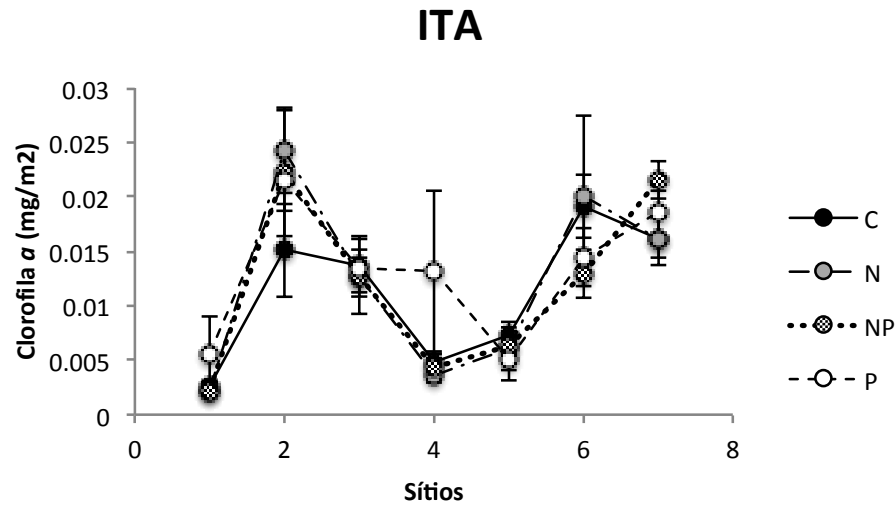
Em relação ao *response ratio*, não há efeito de resposta de clorofila *a* de nenhum dos tratamentos enriquecidos nos pontos com perturbação intermediária e perturbados (Figura 23) – ou o *response ratio* é ligeiramente maior que 1 (como é o caso do tratamento P na categoria com perturbação intermediária e de todos os tratamentos nutricionalmente enriquecidos na categoria perturbado) ou é menor que 1 (como é o caso dos tratamentos N e NP na categoria com perturbação intermediária). Nos trechos prístinos a resposta de clorofila *a* ao tratamento enriquecido com fósforo aparenta ser maior que os demais.

Figura 19 - Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Itaperiti



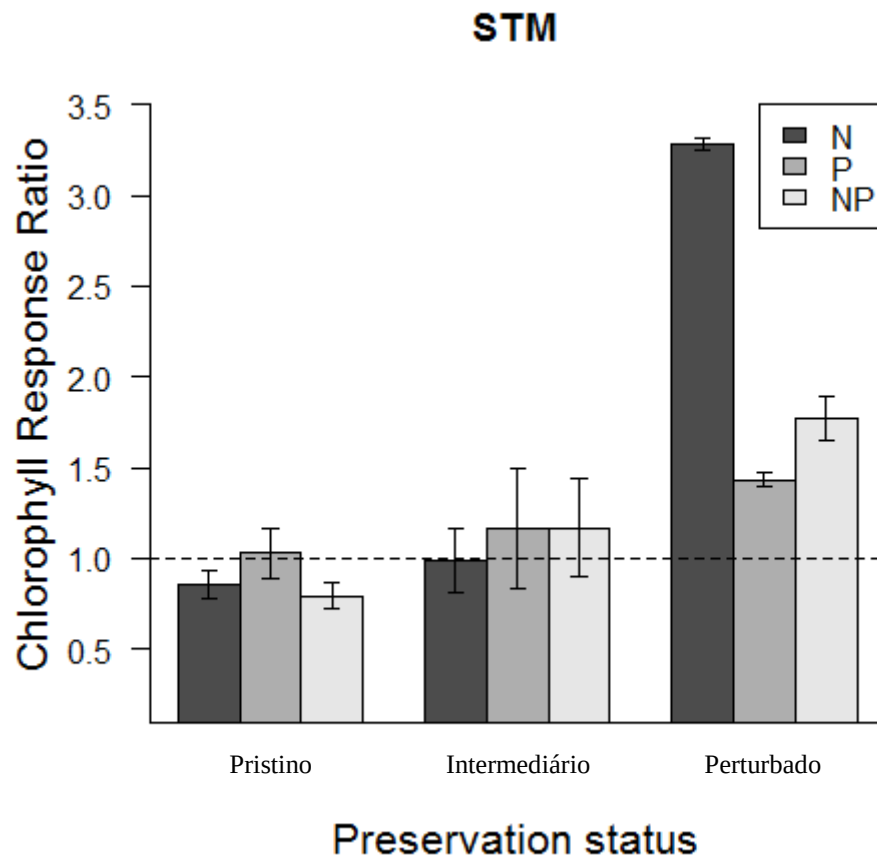
Legenda: Clorofila *a* ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) em cada categoria de uso do solo no rio Itaperiti (prístino, perturbação intermediária e perturbado). Em cinza escuro está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio, fósforo e nitrogênio + fósforo. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ . As letras iguais representam ausência de diferença estatística e as diferentes mostram a diferença estatística.

Figura 20 - Clorofila  $a$  ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Itaperiti



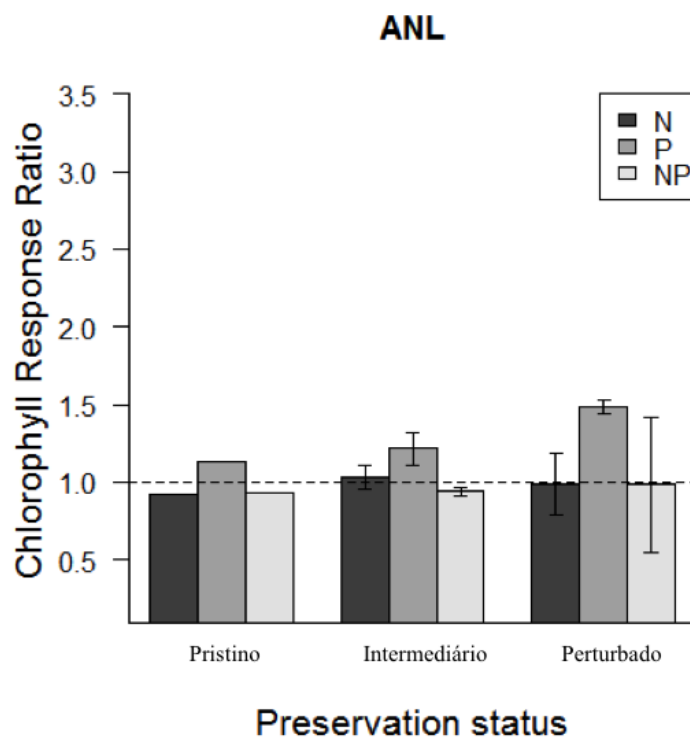
Legenda: Clorofila  $a$  ( $\text{mg.m}^{-2}$ ) ao longo do rio Santa Maria. Em preto está representado o tratamento controle, seguido dos tratamentos nitrogênio em cinza, nitrogênio + fósforo hachurado e fósforo em branco. Barra de erro  $\pm 1\text{SE}$ .

Figura 21 - 'Response ratio' por categoria de uso do solo para o rio Santa Maria



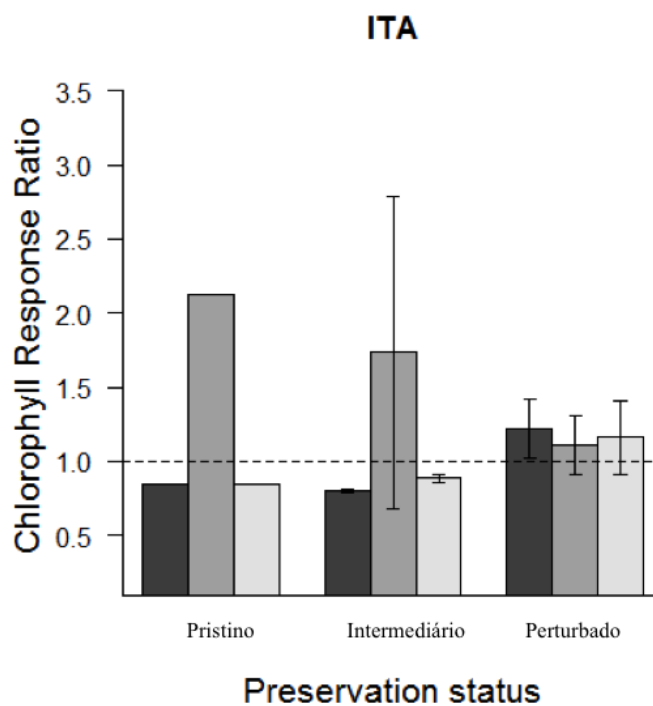
Legenda: *Response ratio* (razão entre o tratamento enriquecido nutricionalmente e o tratamento controle) por categoria de uso do solo para o rio Santa Maria. Barra de erro  $\pm 1\text{SD}$ .

Figura 22 - 'Response ratio' por categoria de uso do solo para o rio Anil



Legenda: *Response ratio* (razão entre o tratamento enriquecido nutricionalmente e o tratamento controle) por categoria de uso do solo para o rio Anil. Barra de erro  $\pm$  1SD.

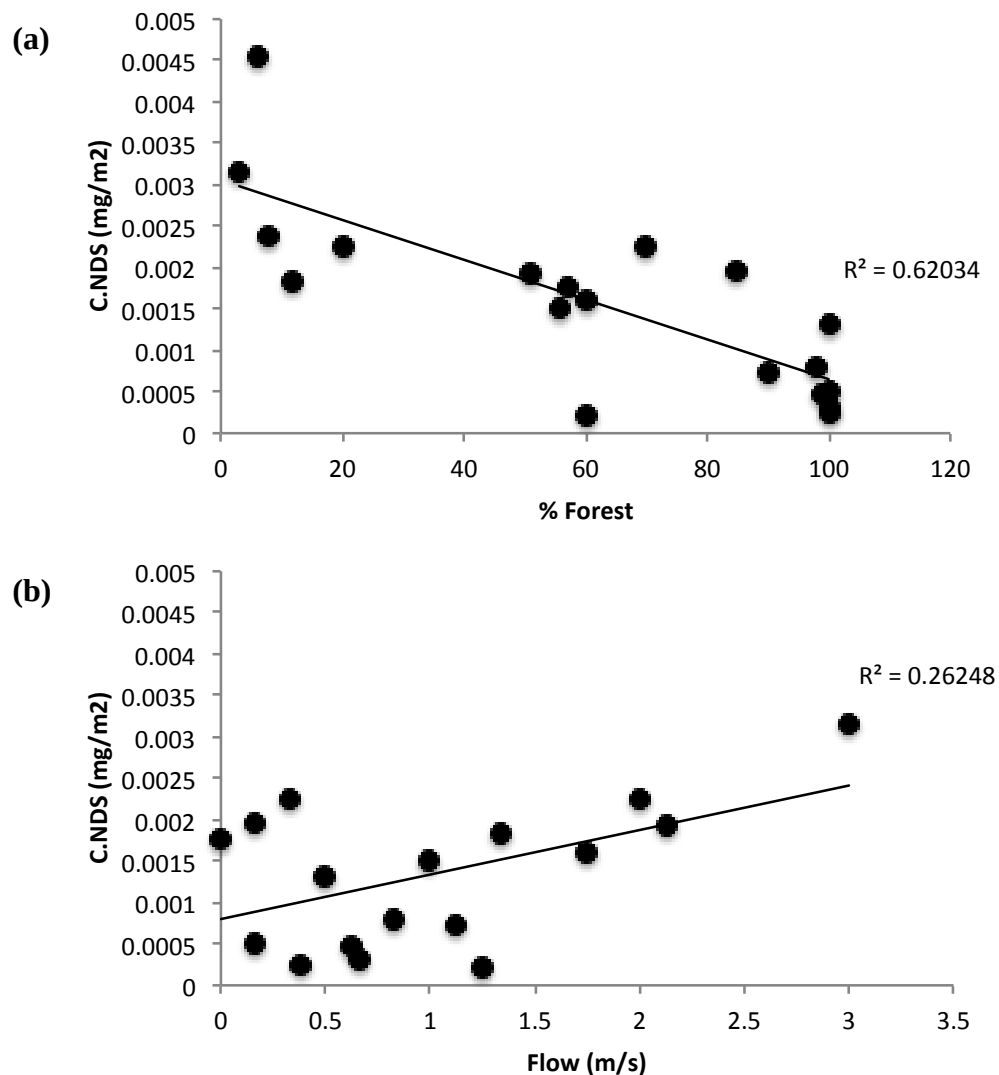
Figura 23 - 'Response ratio' por categoria de uso do solo para o rio Itaperiti

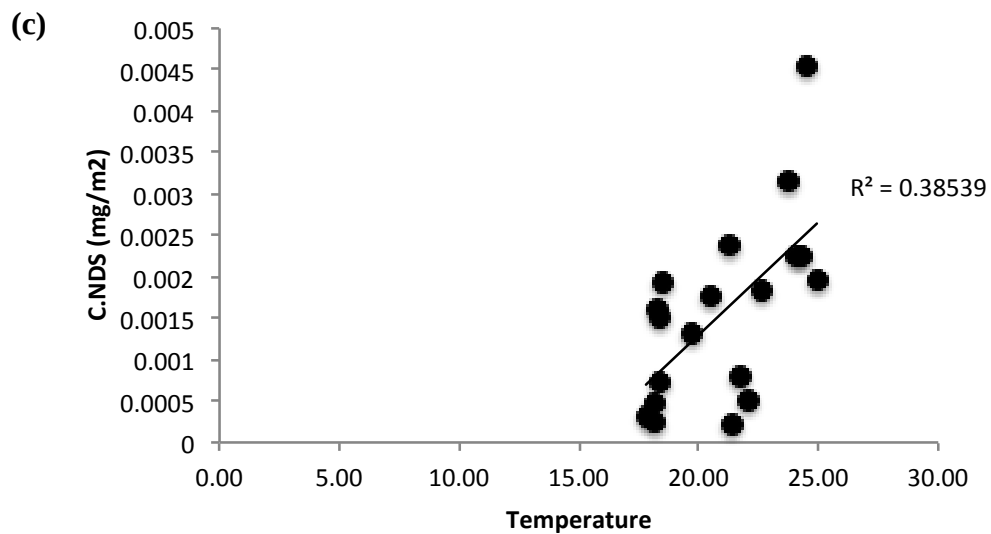


Legenda: *Response ratio* (razão entre o tratamento enriquecido nutricionalmente e o tratamento controle) por categoria de uso do solo para o rio Itaperiti. Barra de erro  $\pm$  1SD.

Posteriormente foram feitas ANCOVAs da concentração de clorofila *a* acessada nos potes sem adição de nutrientes (controle) e rios, utilizando as variáveis físicas e químicas como covariadas. Os resultados significativos estatisticamente estão expostos a seguir: a concentração de clorofila *a* apresentou relação significativamente negativa com a porcentagem de floresta (Figura 24a.  $F_{1,14}=18.43$ ,  $p=0.001$ ; rio  $F_{2,14}=0.54$ ,  $p=0.313$ ; interação  $F_{2,14}=2.4$ ,  $p=0.5$ ) e relação significativamente positiva com a correnteza (Figura 24b.  $F_{1,14}=8.03$ ,  $p=0.013$ ; rio  $F_{2,14}=0.83$ ,  $p=0.46$ ; interação  $F_{2,14}=0.27$ ,  $p=0.77$ ) e a temperatura (Figura 24c.  $F_{1,14}=4.55$ ,  $p=0.05$ ; rio  $F_{2,14}=2.25$ ,  $p=0.14$ ; interação  $F_{2,14}=2.7$ ,  $p=0.1$ ).

Figura 24 - Regressões lineares clorofila *a* potes controle e variáveis ambientais (continua)





Legenda: Regressão entre a quantidade de clorofila *a* acessada nos potes controle e (a) - % de floresta; (b) - correnteza; (c) - temperatura.

### 4.3 Crescimento e acúmulo

#### 4.3.1 Clorofila *a*

Devido a problemas metodológicos de leitura de clorofila do dia 2 de amostragem no rio Santa Maria, as amostras provenientes deste dia foram retiradas da análise. Bem como os pontos ANL 3 e ITA 3, por não apresentarem dados de clorofila *a* de todos os dias de coleta.

Observa-se que no último dia de experimento há maior estoque algal nos sítios perturbados (Figura 25). A partir da análise da ANOVA pode-se perceber que há interação significativa entre Categoria, Rio e Dia ( $F_{8,20}=4.7$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.003$  e  $p=0.002$  – para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente. Tabela 6). Considerando esta interação com “rios”, as análises foram conduzidas para cada rio separadamente.

Tabela 6 - ANOVA repeated measures Clorofila *a*

|                   | d.f | Sum Sq  | Mean Sq | F-value | P             |
|-------------------|-----|---------|---------|---------|---------------|
| Categoria         | 2   | 21.6775 | 10.8388 | 8.1252  | 0.008 **      |
| Rio               | 2   | 0.2110  | 0.1055  | 0.0791  | 0.924522      |
| Categoria:Rio     | 4   | 4.6451  | 1.1613  | 0.8705  | 0.514399      |
| Residuals         | 10  | 13.3397 | 1.3340  |         |               |
| Dia               | 2   | 12.1648 | 6.0824  | 34.0046 | 0.00000037*** |
| Categoria:Dia     | 4   | 1.0055  | 0.2514  | 1.4054  | 0.2682914     |
| Rio:Dia           | 4   | 6.6688  | 1.6672  | 9.3207  | 0.0002021     |
| Categoria:Rio:Dia | 8   | 6.7292  | 0.8412  | 4.7026  | 0.0023403     |
| Residuals         | 20  | 3.5774  | 0.1789  |         |               |

|                   | Greenhouse |               | Huynh-Feldt |                |
|-------------------|------------|---------------|-------------|----------------|
|                   | F-value    | P             | F-value     | P              |
| Categoria         | 8.1252     | 0.01051 *     | 8.1252      | 0.00886 **     |
| Rio               | 0.0791     | 0.8862        | 0.0791      | 0.91168        |
| Categoria:Rio     | 0.8705     | 0.49354       | 0.8705      | 0.50697        |
| Residuals         |            |               |             |                |
| Dia               | 34.0046    | 0.0000016 *** | 34.0046     | 0.00000055 *** |
| Categoria:Dia     | 1.4054     | 0.2702583     | 1.4054      | 0.2692024      |
| Rio:Dia           | 9.3207     | 0.0003937 *** | 9.3207      | 0.0002579 ***  |
| Categoria:Rio:Dia | 4.7026     | 0.0035038     | 4.7026      | 0.0027087      |
| Residuals         | 8.1252     | 0.01051 *     | 8.1252      | 0.00886 **     |

Legenda: ANOVA repeated measures. Clorofila *a* em cada categoria (Pristino, Perturbação Intermediária e Perturbado) ao longo dos dias (2, 8, 15 e 22) nos três rios estudados (Santa Maria, Anil e Itaperiti). Correções de Greenhouse-Geisser e Huynh-Feldt. Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*’ 0.01 ‘\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

No rio Santa Maria não houve efeito de status de preservação ( $F_{2,4}=3.25$ ,  $p=0.14$ ,  $p=0.14$  e  $p=0.14$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), dia ( $F_{2,8}=0.97$ ,  $p=0.42$ ,  $p=0.38$  e  $p=0.41$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente) ou interação entre esses dois fatores ( $F_{4,8}=1.5$ ,  $p=0.29$ ,  $p=0.28$  e  $p=0.29$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente).

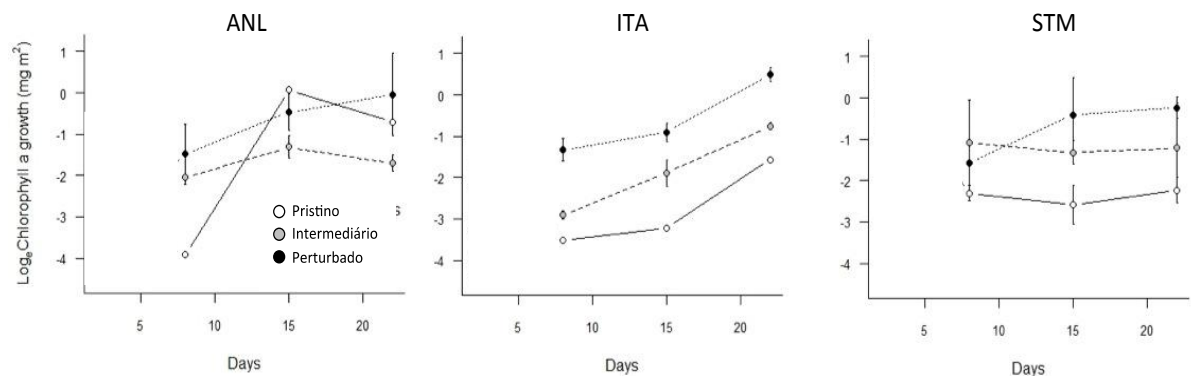
Devido à falta de réplicas da categoria “pristino” no rio Anil, apenas as categorias de perturbação intermediária e perturbado foram consideradas nas análises. Houve efeito da interação entre o status de preservação e dia ( $F_{2,6}=5.27$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0.04$  e  $p=0.03$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente).

Já para o rio Itaperiti, a análise também foi feita entre as categorias de perturbação intermediária e perturbado por conta da falta de réplicas da categoria pristino. Houve efeito



tanto do status de preservação ( $F_{1,3}=14.5$ ,  $p=0.03$ ,  $p=0.03$  e  $p=0.03$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente) quanto do dia de amostragem ( $F_{2,6}=58.7$ ,  $p=0.0001$ ,  $p=0.0001$  e  $p<0.0001$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), mas não houve efeito da interação entre categoria e dia.

Figura 25 - Curva de crescimento clorofila *a* ao longo do tempo



Legenda: Logaritmo natural da Clorofila *a* por rio estudado (ANL = Anil; ITA = Itaperiti; STM = Santa Maria) em cada tipo de categoria de uso do solo.

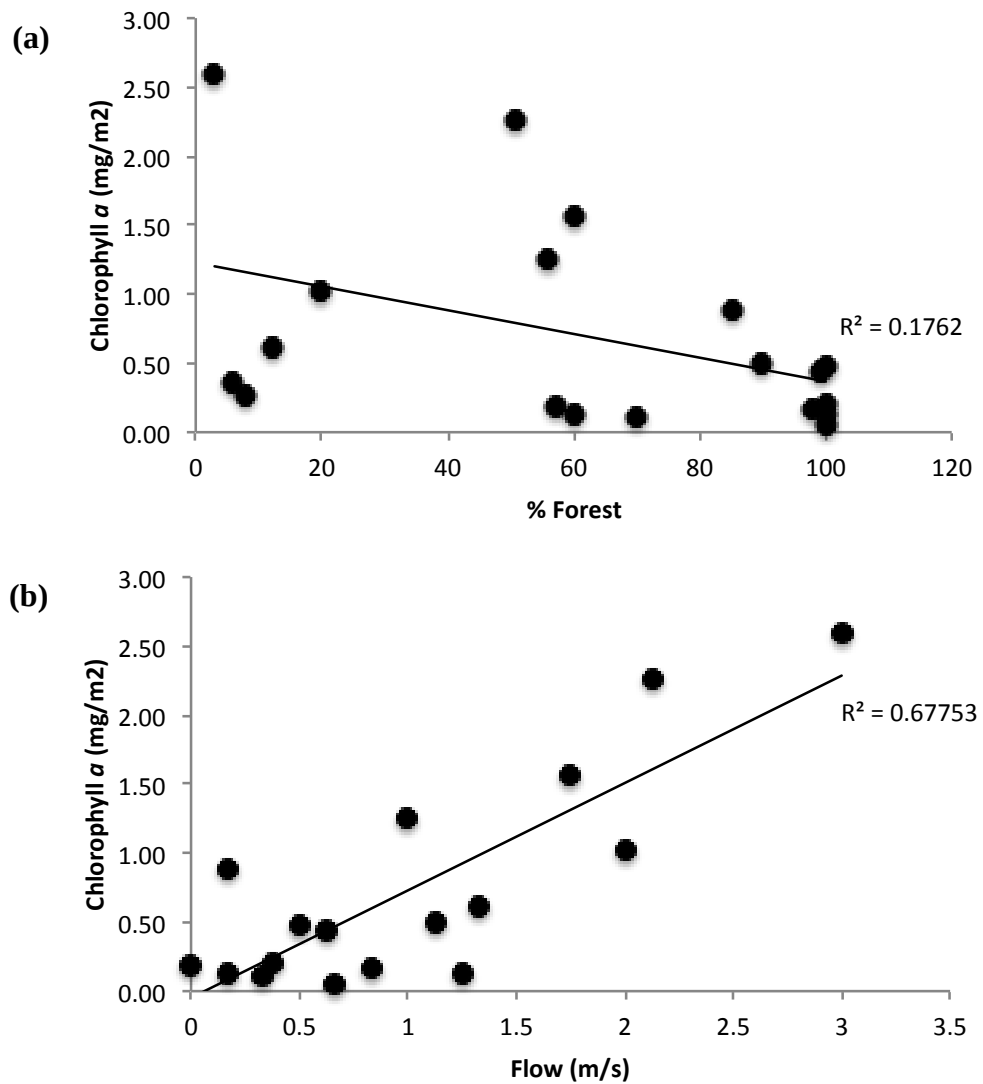
Posteriormente foram feitas ANCOVAs da concentração de clorofila *a* acessada no último dia de experimento e rio, utilizando as variáveis físicas e químicas como covariadas. Os resultados significativos estão expostos a seguir: a concentração de clorofila *a* apresentou relação significativamente negativa com a porcentagem de floresta (Figura 26a.  $F_{1,13}=10.83$ ,  $p=0.006$ ; rio  $F_{2,13}=3.38$ ,  $p=0.07$ ; interação  $F_{2,13}=1.89$ ,  $p=0.19$ ) e relação significativamente positiva com a correnteza (Figura 26b.  $F_{1,13}=6.84$ ,  $p=0.021$ ; rio  $F_{2,13}=0.42$ ,  $p=0.67$ ; interação  $F_{2,13}=2.3$ ,  $p=0.14$ ) e temperatura ( $F_{1,13}=4.64$ ,  $p=0.05$ ; rio  $F_{2,13}=2.07$ ,  $p=0.17$ ; interação  $F_{2,13}=2.18$ ,  $p=0.15$ ).

A concentração de clorofila *a* acessada no último dia de experimento também apresentou relação significativamente positiva com a concentração de amônio na água ( $F_{1,12}=7.68$ ,  $p=0.01$ ; rio  $F_{2,12}=2.42$ ,  $p=0.13$ ; interação  $F_{2,12}=3.97$ ,  $p=0.047$ ). Considerando que houve interação, os efeitos foram analisados para cada rio, separadamente, através de regressões, sendo significativos para o rio ITA (Figura 27a.  $F_{1,4}=64$ ,  $p=0.001$ ; STM  $F_{1,5}=0.74$ ,  $p=0.43$ ; ANL  $F_{1,4}=0.02$ ,  $p=0.9$ ).

Considerando a concentração de clorofila *a* e a quantidade de massa seca, a interação entre rio e massa seca é marginalmente significativa ( $F_{2,13}=3.08$ ,  $p=0.08$ ; DM  $F_{1,13}=0.8$ ,

$p=0.4$ ; rio  $F_{2,13}=0.77$ ,  $p=0.48$ ), e os efeitos foram verificados para cada rio separadamente. A quantidade de clorofila aumentou significativamente com a quantidade de massa seca no rio Itaperiti (Figura 27b.  $F_{1,4}=18.98$ ,  $p=0.012$ ; ANL  $F_{1,4}=0.19$ ,  $p=0.69$ ; STM  $F_{1,5}=1.96$ ,  $p=0.22$ ).

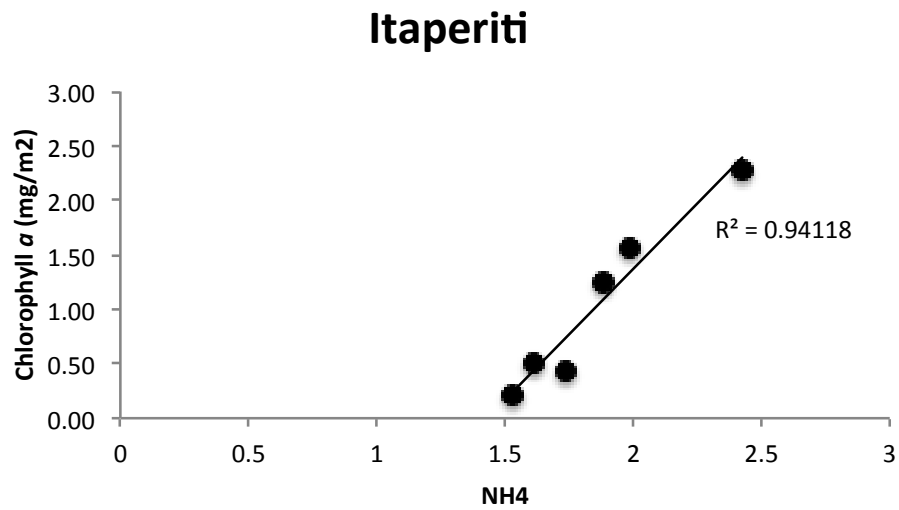
Figura 26 - Regressões entre clorofila *a* e floresta e correnteza



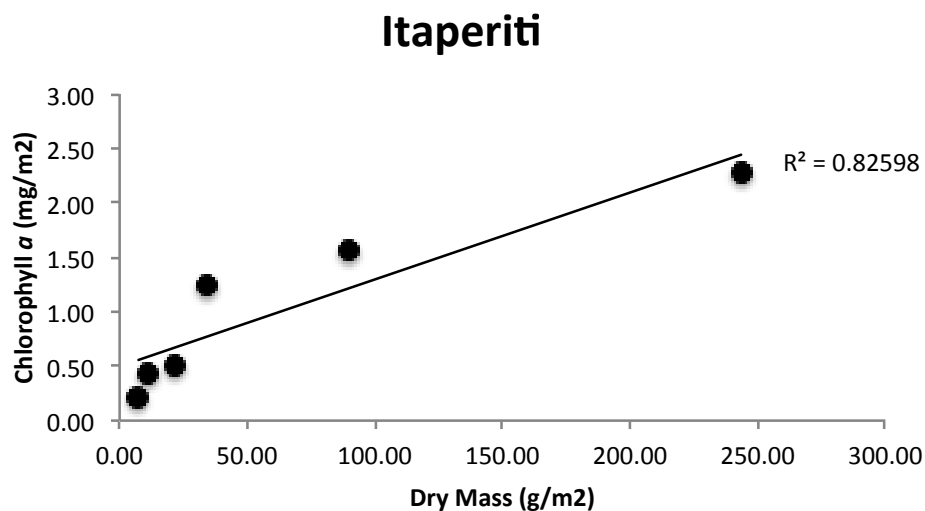
Legenda: Regressão entre a concentração de clorofila *a* e (a) - % floresta e (b) - correnteza.

Figura 27 - Regressões entre clorofila *a* e concentração amônio e massa seca

(a)



(b)



Legenda: Regressão, para o rio Itaperiti, entre a concentração de clorofila *a* e (a) - concentração de amônio; (b) - quantidade de massa seca.

#### 4.3.2 Taxa de Crescimento

Considerando que a interação entre categoria, rio e dia foi significativa ( $F_{8,20}=6.7$ ,  $p=0.002$ , tabela 7), as análises da taxa de crescimento medida através de  $\Delta N/\Delta t$  foram conduzidas para cada rio separadamente.

Tabela 7 - ANOVA repeated measures taxa de crescimento

|                   | d.f | Sum Sq  | Mean Sq | F-value | P             |
|-------------------|-----|---------|---------|---------|---------------|
| Categoria         | 2   | 21.6775 | 10.8388 | 8.1252  | 0.008023 ***  |
| Rio               | 2   | 0.2110  | 0.1055  | 0.0791  | 0.924522      |
| Categoria:Rio     | 4   | 4.6451  | 1.1613  | 0.8705  | 0.514399      |
| Residuals         | 10  | 13.3397 | 1.3340  |         |               |
| Dia               | 2   | 0.1182  | 0.05910 | 0.3304  | 0.7224957     |
| Categoria:Dia     | 4   | 1.0055  | 0.25138 | 1.4054  | 0.2682914     |
| Rio:Dia           | 4   | 6.6688  | 1.66720 | 9.3207  | 0.0002021 *** |
| Categoria:Rio:Dia | 8   | 6.7292  | 0.84115 | 4.7026  | 0.0023403 **  |
| Residuals         | 20  | 3.5774  | 0.17887 |         |               |

Legenda: ANOVA repeated measures.  $\Delta N/\Delta t$  em cada categoria (Pristino, Perturbação Intermediária e Perturbado) ao longo dos dias (8, 15 e 22) nos três rios estudados (Santa Maria, Anil e Itaperiti). Correções de Greenhouse-Geisser e Huynh-Feldt.

#### 4.3.2.1 Santa Maria

Considerando as taxas de crescimento ao longo do tempo para as três categorias de uso do solo os sítios prístinos e de perturbação intermediária tem maior crescimento no dia 8, e os pontos perturbados, no dia 15 de experimento (Figura 28a)

Observando-se as médias das taxas de crescimento de todos os dias para cada categoria de uso e cobertura do solo, os trechos perturbados apresentam maior taxa de crescimento que os de perturbação intermediária e os prístinos.

Através da ANOVA, observa-se que não há efeito de categoria ( $F_{2,4}=3.25$ ,  $p=0.14$ ,  $p=0.15$  e  $p=0.14$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente) e nem dia ( $F_{2,8}=2.77$ ,  $p=0.12$ ,  $p=0.13$  e  $p=0.12$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente) na taxa de crescimento perifítico.

#### 4.3.2.2 Anil

Observando-se as taxas de crescimento ao longo do tempo para as três categorias de uso do solo (Figura 28b), a maior taxa de crescimento registrada para os sítios perturbados foi no dia 22, enquanto que para os sítios prístinos e perturbação intermediária foi no dia 15.

Considerando as médias das taxas de crescimento de todos os dias para cada categoria de uso e cobertura do solo, os trechos perturbados apresentam maior taxa de crescimento que os prístinos e os de perturbação intermediária.

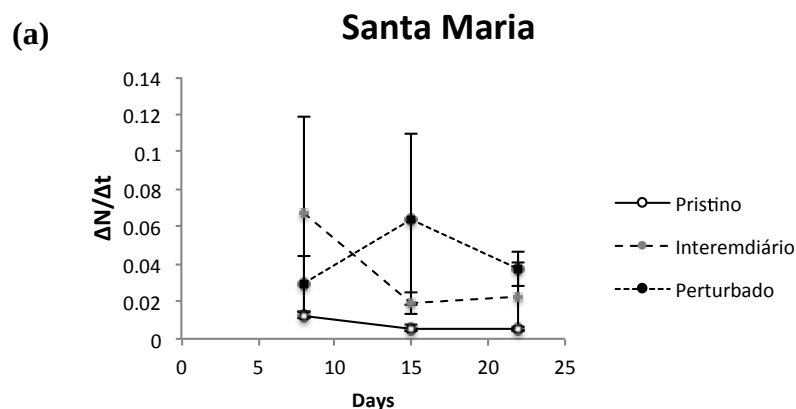
Através da ANOVA, não há efeito significativo de categoria nem dia de experimento, mas observa-se que há interação entre dia e categoria ( $F_{2,6}=5.27$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0.04$  e  $p=0.03$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente).

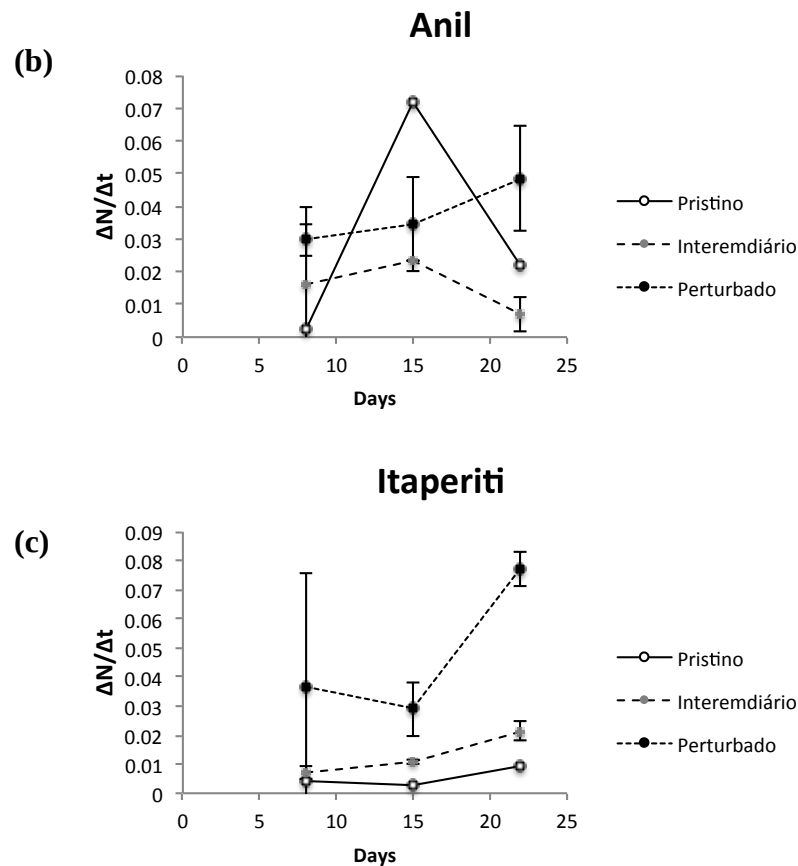
#### 4.3.2.3 Itaperiti

Considerando as taxas de crescimento ao longo do tempo para as três categorias de uso do solo, o sítio prístino apresentou maior taxa de crescimento no dia 15, os trechos de perturbação intermediária e perturbados no dia 22 (Figura 28c).

Através da ANOVA, observa-se que há efeito de dia ( $F_{2,6}=8.2$ ,  $p=0.01$ ,  $p=0.02$  e  $p=0.01$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente) e de categoria ( $F_{1,3}=14.5$ ,  $p=0.03$ ,  $p=0.03$  e  $p=0.03$ , para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), aonde os sítios perturbados apresentam maior taxa de crescimento que os de perturbação intermediária ( $p=0.03$ ) – e prístinos (Figura 28c).

Figura 28 - Taxa de crescimento ao longo do tempo (continua)





Legenda: Taxa de crescimento ( $\Delta N/\Delta t$ ) ao longo do tempo para as três categorias de uso do solo dos rios (a) - Santa Maria; (b) - Anil; (c) - Itaperiti. Média  $\pm$  1 SE.

#### 4.3.3 Massa seca livre de cinzas (MSLC)

A ANOVA mostrou que houve efeito significativo de categoria ( $F_{2,10}=8.6$ ,  $p=0.007$ ,  $p=0.008$  e  $p=0.005$  para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), marginalmente significativo de dia ( $F_{3,30}=2.64$ ,  $p=0.06$ ,  $p=0.076$  e  $p=0.061$  para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), e marginalmente significativo da interação entre rio e dia ( $F_{6,30}=2.29$ ,  $p=0.06$ ). Não houve efeito de rio ( $F_{2,10}=2.09$ ,  $p=0.17$ ), nem da interação entre categoria e rio ( $F_{4,10}=2.07$ ,  $p=0.16$ ) ou categoria e dia ( $F_{6,10}=1.85$ ,  $p=0.12$ ). A natureza das interações significativas foi verificada através das análises de cada rio separadamente.

#### 4.3.3.1 Santa Maria

Nos trechos prístinos o maior acúmulo de MSLC ocorreu no oitavo dia de experimento. Nos sítios com perturbação intermediária, no dia 15. E nos pontos perturbados, no dia 22 de experimento (Figura 29a).

Considerando o rio Santa Maria, há efeito de categoria na MSLC ( $F_{2,4}=6.94$ ,  $p=0.05$ ,  $0.054$  e  $p=0.047$  para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), aonde os sítios com perturbação intermediária apresentaram maior quantidade de MSLC que os demais pontos prístinos ( $p=0.08$ ) e perturbados ( $p=0.06$ ).

#### 4.3.3.2 Anil

Nos trechos prístinos, a maior quantidade de massa seca foi encontrada no dia 15 de experimento; ao passo que nos sítios com perturbação intermediária e perturbados, o dia 22 apresentou maior concentração de massa seca.

Considerando o rio Anil, há efeito da categoria de uso do solo na quantidade de MSLC ( $F_{1,3}=18.7$ ,  $p=0.02$ ,  $p=0.022$  e  $p=0.025$  para as correções de Greenhouse e Huynh-Feldt, respectivamente), sendo os trechos de perturbação intermediária com maior quantidade de massa seca que os perturbados ( $p=0.02$ ), e também os prístinos (Figura 29b).

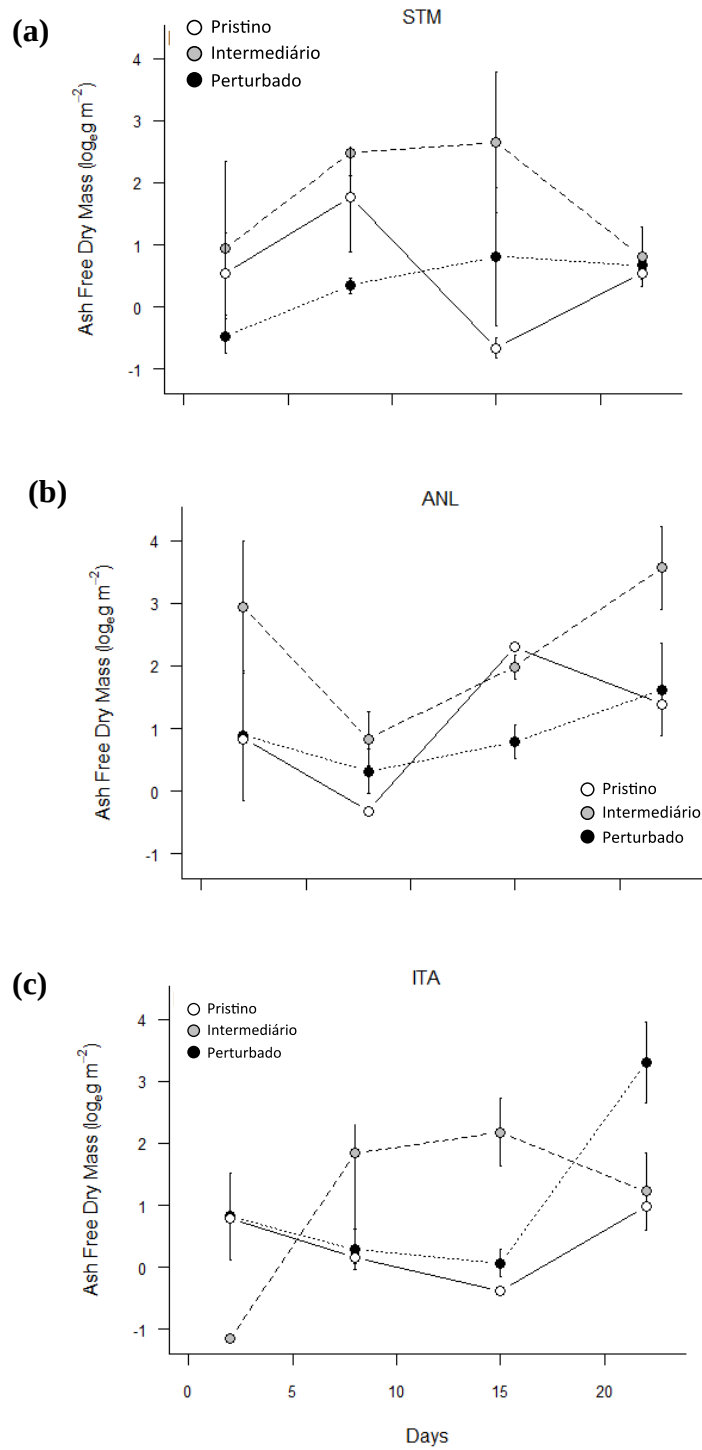
#### 4.3.3.3 Itaperiti

Nos pontos prístinos, observa-se a maior concentração de MSLC no dia 22 de experimento. Nos sítios de perturbação intermediária, no dia 15. E nos perturbados, o dia 22 apresentou maior quantidade de MSLC (grafico 29c).

No rio Itaperiti não há efeito significativo de categoria na quantidade de MSLC ( $F_{1,3}=0.03$ ,  $p=0.87$ ), mas há efeito de dia ( $F_{3,9}=4.2$ ,  $p=0.04$ ) e da interação entre categoria e dia ( $F_{3,9}=5.62$ ,  $p=0.018$ . Figura 29c). Considerando que há interação entre categoria e dia, supõe-

se que os valores aferidos no último dia de experimento sejam estatisticamente diferentes entre si.

Figura 29 - Massa seca livre de cinzas ao longo do tempo



Legenda: Log<sub>e</sub> massa seca livre de cinzas ao longo do tempo para as três categorias de uso do solo dos rios **(a)** - Santa Maria; **(b)** - Anil; **(c)** - Itaperiti. Média  $\pm$  1 SE.



Posteriormente foram feitas ANCOVAs entre a massa seca livre de cinzas e as variáveis físicas e químicas, considerando os rios como fator fixo, e as relações significativas encontradas estão apresentadas a seguir. A quantidade de MSLC aumentou significativamente com a velocidade da correnteza ( $F_{1,12}=6.29$ ,  $p=0.027$ ; rio  $F_{2,12}=7.9$ ,  $p=0.006$ ); considerando que o efeito da interação foi significativo ( $F_{2,12}=9.67$ ,  $p=0.003$ ), foram feitas regressões para cada rio, separadamente, e a quantidade de MSLC aumentou significativamente com a correnteza no rio Itaperiti ( $R^2=0.89$ ,  $F_{1,4}=18.09$ ,  $p=0.01$ ), embora não tenha sido significativo para os rios Anil ( $F_{1,4}=2.159$ ,  $p=0.22$ ) e Santa Maria ( $F_{1,3}=0.38$ ,  $p=0.56$ ). MSLC também aumentou significativamente com a concentração de  $\text{NH}_4$  da água ( $F_{1,13}=12.65$ ,  $p=0.004$ ; rio  $F_{2,13}=6.76$ ,  $p=0.01$ ), considerando que o efeito da interação foi significativo ( $F_{2,13}=7.16$ ,  $p=0.008$ ), foram feitas regressões para cada rio separadamente, e a quantidade de MSLC aumentou com a concentração de  $\text{NH}_4$  no rio Itaperiti ( $R^2=0.82$ ,  $F_{1,4}=32.65$ ,  $p=0.005$ ); embora não tenha sido significativo para os rios Anil ( $F_{1,4}=0.3$ ,  $p=0.62$ ) e Santa Maria ( $F_{1,5}=0.212$ ,  $p=0.66$ ).

Em tempo, também foram feitas ANCOVAs entre a porcentagem de clorofila (razão da clorofila sobre a massa seca livre de cinzas, multiplicado por 100) com os rios como fator fixo e as variáveis físicas e químicas como covariadas. Os resultados significativos estatisticamente estão mostrados a seguir.

A porcentagem de clorofila *a* não apresentou relação significativa estatisticamente com a porcentagem de floresta ( $F_{1,13}=1.42$ ,  $p=0.25$ ), no entanto, houve diferença significativa entre rios ( $F_{2,13}=5.94$ ,  $p=0.015$ ) e marginalmente significativa na interação entre rios e porcentagem de floresta ( $F_{2,13}=3.27$ ,  $p=0.07$ ). Assim, os efeitos foram considerados separadamente para cada rio estudado, e houve efeito negativo significativo entre a porcentagem de clorofila *a* e a porcentagem de floresta para o rio Santa Maria ( $R^2=0.55$ ,  $F_{1,5}=6.23$ ,  $p=0.05$ ); embora não tenha sido significativa para os rios Anil ( $F_{1,4}=0.671$ ,  $p=0.46$ ) e Itaperiti ( $F_{1,4}=0.91$ ,  $p=0.39$ ).

Também, a porcentagem de clorofila *a* apresentou relação marginalmente significativa com a correnteza ( $F_{1,13}=4.05$ ,  $p=0.06$ ; rio  $F_{2,13}=1.44$ ,  $p=0.27$ ), no entanto houve efeito significativo da interação entre rio e correnteza ( $F_{2,13}=7.38$ ,  $p=0.007$ ). Posteriormente foram feitas regressões individuais para cada rio estudado, e a porcentagem de clorofila *a* apresentou relação significativamente positiva no rio Santa Maria ( $R^2=0.4$ ,  $F_{1,5}=8.7$ ,  $p=0.03$ ); e o efeito não foi significativo para os rios Anil ( $F_{1,4}=0.98$ ,  $p=0.38$ ) e Itaperiti ( $F_{1,4}=2.6$ ,  $p=0.18$ ).

#### 4.3.4 Matéria orgânica (MO) e matéria inorgânica (MI)

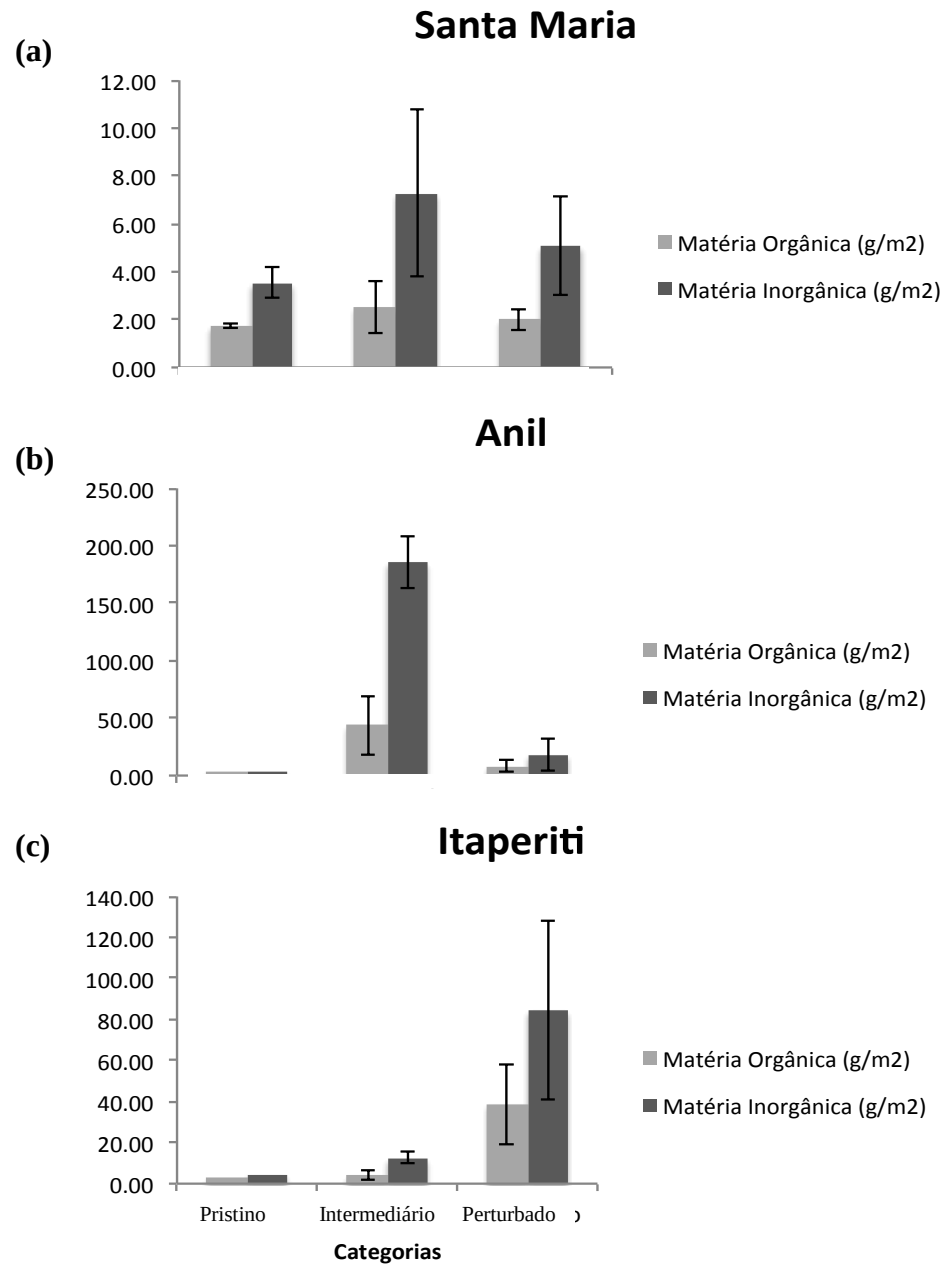
A massa seca compreende tanto a porção orgânica quanto a porção inorgânica do perifíton. Já a massa seca livre de cinzas está relacionada à quantidade de matéria orgânica. A diferença entre a massa seca e a massa seca livre de cinzas corresponde à matéria inorgânica.

Assim, nesta seção os resultados estão apresentados como matéria orgânica (MO) e matéria inorgânica (MI). A Figura 30 mostra a variação da quantidade de matéria orgânica e inorgânica ( $\text{g.m}^{-2}$ ) no último dia de amostragem nas três categorias de uso do solo em cada um dos rios estudados.

Considerando apenas o último dia de amostragem, os trechos com perturbação intermediária apresentaram maior quantidade de matéria orgânica e inorgânica nos rios Anil ( $43.55 \pm 25.41 \text{ g.m}^{-2}$  e  $185.47 \pm 22.59 \text{ g.m}^{-2}$  para matéria orgânica e inorgânica, respectivamente. Figura 29b) e Santa Maria ( $2.52 \pm 1.12 \text{ g.m}^{-2}$  e  $7.26 \pm 3.5 \text{ g.m}^{-2}$  para matéria orgânica e inorgânica, respectivamente. Figura 30a). No entanto, levando-se em consideração o acréscimo da MO e MI em relação ao dia 2 de experimento, o maior acréscimo de MO e MI foi nos sítios perturbados tanto no Anil (acrécimo de 1.77 vezes em matéria orgânica e 4.8 vezes em matéria inorgânica) quanto no Santa Maria (3.08 vezes em MO e 4.05 vezes em MI).

Já para o rio Itaperiti, a maior quantidade de matéria orgânica e inorgânica encontrada foi nos pontos perturbados ( $38.54 \pm 19.36 \text{ g.m}^{-2}$  e  $84.26 \pm 43.26 \text{ g.m}^{-2}$  para matéria orgânica e inorgânica, respectivamente. Figura 30c), embora estes resultados não sejam significativos estatisticamente. O mesmo padrão foi observado para o acréscimo de matéria em relação ao dia 2 de experimento, os sítios perturbados apresentaram maior acréscimo de MO e MI no rio Itaperiti (dia 22 de experimento com 14.75 vezes mais matéria orgânica que o dia 2 e 18.46 vezes mais matéria inorgânica).

Figura 30 - Matéria orgânica e inorgânica em cada categoria de uso do solo



Legenda: Quantidade de matéria orgânica (cinza escuro) e matéria inorgânica (cinza claro), em  $\text{g.m}^{-2}$ , de acordo com a categoria de uso do solo, nos rios (a) Santa Maria, (b) Anil e (c) Itaperiti. Média  $\pm$  1SE.

## 4.4 Composição Taxonômica

### 4.4.1 Grandes grupos

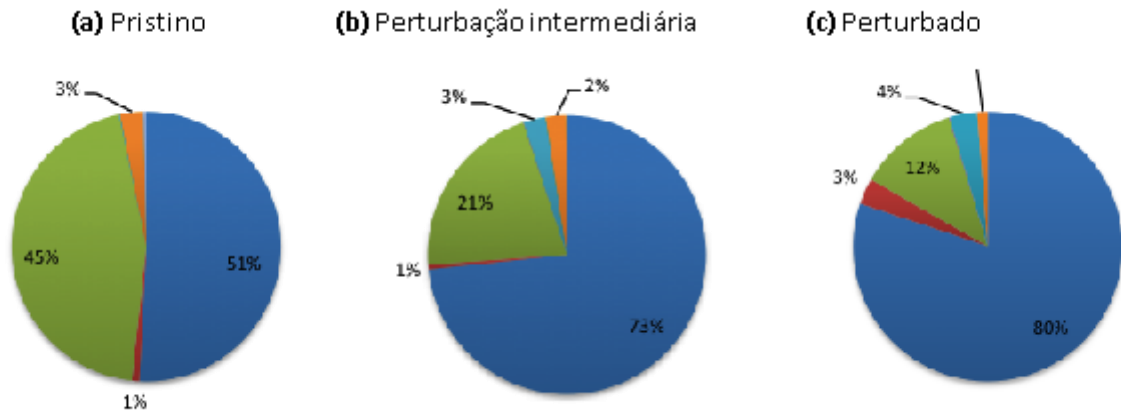
Nos sítios prístinos os grupos dominantes foram as diatomáceas (51%, Figura 31a) e clorófitas (45%, Figura 31a). O grupo protozoa representou 3% do total dos táxons, e zygnemaphycea, 1% (Figura 31a). Apenas um táxon pertencente ao grupo das cianobactérias foi encontrado, com porcentagem não expressiva de 0,1% do total de táxons encontrados.

Nos trechos de perturbação intermediária observou-se um aumento da proporção das diatomáceas (73%, Figura 31b) e uma diminuição da porcentagem de clorófitas (21%, Figura 31b). O grupo protozoa teve sua participação diminuída para 2% e zygnemaphycea permaneceu com 1% do total dos táxons identificados (Figura 31b). Já as cianobactérias aumentaram sua representatividade em 3% nos sítios de perturbação intermediária (Figura 30b).

Nos pontos perturbados a proporção de diatomáceas aumentou ainda mais (80%, Figura 31c), enquanto a porcentagem clorófitas diminuiu (12%, Figura 31c). A representatividade de protozoa diminuiu para 1%, ao passo que a de zygnemaphycea aumentou para 3% (Figura 31c). As cianobactérias representaram 4% dos táxons identificados (Figura 31c), sendo esta a maior representatividade deste grupo em relação às categorias de uso do solo.

Posteriormente foram feitas ANOVAs two-way entre os grandes grupos taxonômicos e as categorias de uso (fator fixo) e rios (fator fixo). Para bacillariophyta, os resultados não foram significativos para categoria ( $F_{2,10}=0.95$ ,  $p=0.42$ ), nem para a interação ( $F_{4,10}=0.7$ ,  $p=0.6$ ), embora tenham sido significativos para rio ( $F_{2,10}=4.4$ ,  $p=0.04$ ). Em relação à zignemafícea, os resultados também não foram significativos (rio  $F_{2,10}=0.02$ ,  $p=0.98$ ; categoria  $F_{2,10}=1.6$ ,  $p=0.25$ ; interação  $F_{4,10}=0.53$ ,  $p=0.7$ ). Para chlorophyta os resultados não foram significativos para categoria ( $F_{2,10}=1.26$ ,  $p=0.32$ ), nem para a interação ( $F_{4,10}=1.91$ ,  $p=0.18$ ), embora tenham sido significativos para rio ( $F_{2,10}=5.83$ ,  $p=0.02$ ). Nem para rhodophyta (rio  $F_{2,10}=0.77$ ,  $p=0.49$ ; categoria  $F_{2,10}=0.2$ ,  $p=0.82$ ; interação  $F_{4,10}=0.2$ ,  $p=0.93$ ), cyanobacteria ( $F_{2,10}=1.22$ ,  $p=0.34$ ; categoria  $F_{2,10}=0.49$ ,  $p=0.62$ ; interação  $F_{4,10}=0.49$ ,  $p=0.74$ ) e protozoa (rio  $F_{2,10}=0.61$ ,  $p=0.56$ ; categoria  $F_{2,10}=1.28$ ,  $p=0.32$ ; interação  $F_{4,10}=1.17$ ,  $p=0.38$ ).

Figura 31 - Porcentagem dos grandes grupos presentes no perifíton em cada categoria do uso do solo



Legenda: Porcentagem dos grandes grupos presentes no perifíton (Bacillariophyta em azul escuro, Zignemaphyceae em vermelho, Chlorophyceae em verde, Rhodophyta em roxo, Cyanobacteria em azul claro, Protozoa em laranja e Zooplankton em azul-médio) em cada categoria do uso do solo. (a) - Trechos prístinos; (b) - trechos de perturbação intermediária; (c) - trechos perturbados.

#### 4.4.2 Gêneros

A partir da identificação até o menor nível taxonômico possível, que foi gênero, os táxons foram ranqueados em ordem decrescente de abundância em cada uma das categorias de uso do solo estudadas (Figura 32).

Nos sítios prístinos, *Microspora* sp. representa 42,2% dos táxons (Figura 32a). Outro grupo representativo nestes pontos foi o de “Diatomáceas Pequenas” (14,7%, Figura 32a), este grupo consiste em pequenos indivíduos que não foram possíveis de serem identificados devido ao seu diminuto tamanho. A partir daí, em ordem decrescente de abundância relativa: *Frustulia* sp. (12,5%), *Pinnularia* sp. (7,5%), *Surirella* sp. (6,4%), *Rhizoclonium* sp. (2,6%), *Amphora* sp. (2,5%), *Nupela* sp. (1,23%) e *Amphipleura* sp. (1%) (Figura 32a).

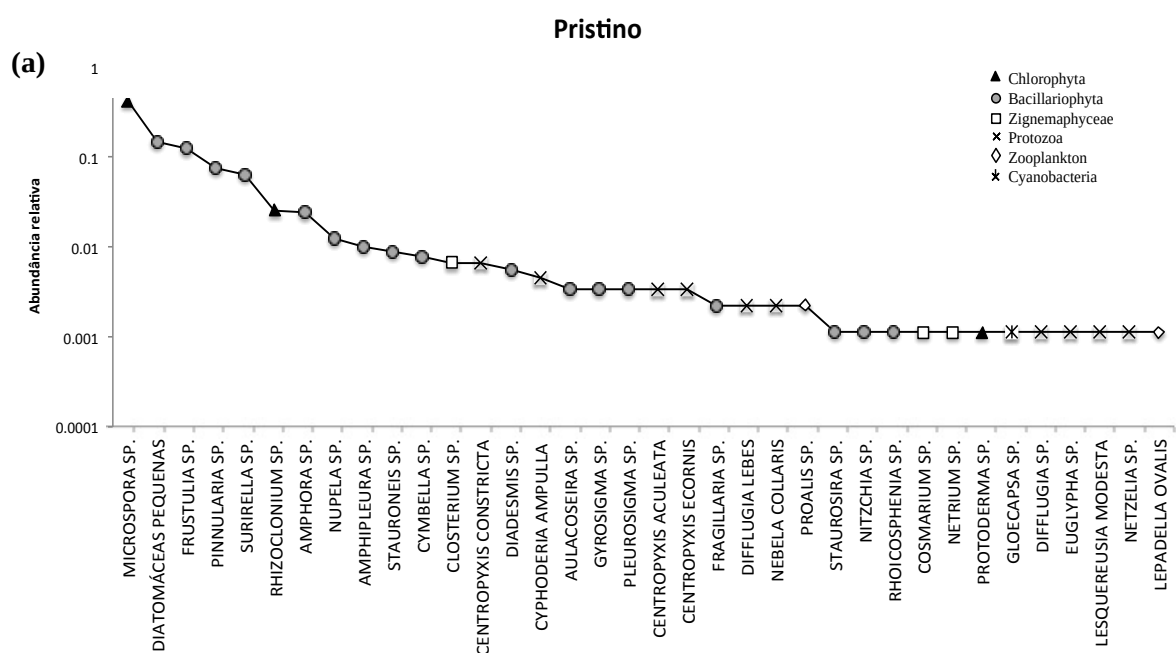
Nos trechos de perturbação intermediária, a ordem dos quatro primeiros táxons permaneceu a mesma, com *Microspora* representando 21% dos táxons, seguida por “Diatomáceas Pequenas” (16,8%), *Frustulia* sp. (9,1%) e *Pinnularia* sp. (8,7%) (Figura 32b). A partir daí, o quinto táxon mais representativo foi *Nupela* sp. (7,7%), seguido por: *Surirella* sp. (6%), *Fragillaria* sp. (5,5%), *Amphipleura* sp. (3,9%), *Cymbella* sp. (3,7%), *Amphora* sp.

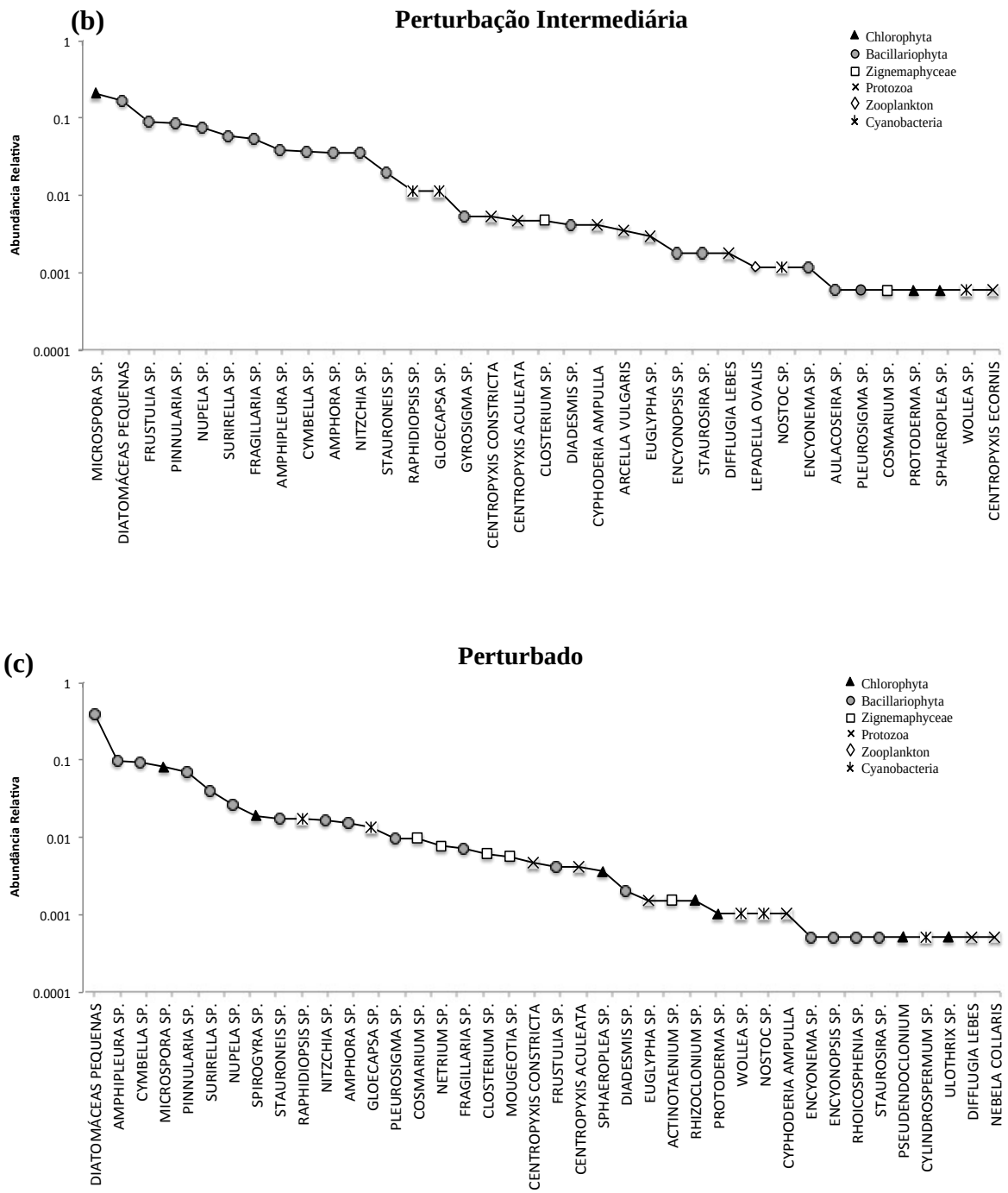
(3,6%), *Nitzschia* sp. (3,6%), *Stauroneis* (2%), *Raphidiopsis* sp. (1,1%) e *Gloecapsa* sp. (1,1%) (Figura 31b).

Já nos pontos perturbados, as “Diatomáceas Pequenas” representaram 39,4% dos táxon, sendo muito mais abundante que o segundo táxon, *Amphipleura* sp, com 9,6% (Figura 32c). Ainda seguindo a ordem decrescente, foram encontrados os táxons: *Cymbella* sp. (9,5%), *Microspora* sp. (8,2%), *Pinnularia* sp. (7%), *Surirella* sp. (4%), *Nupela* sp. (2,7%), *Spirogyra* sp. (1,9%), *Stauroneis* sp. (1,7%), *Raphidiopsis* sp. (1,71%), *Nitzschia* sp. (1,7%), *Amphora* sp. (1,6%) e *Gloecapsa* sp. (1,4%) (Figura 32c).

Não obstante, também foi feita ANCOVA para a abundância dos táxons em relação às variáveis físicas e químicas (covariada), considerando-se os rios estudados (fator fixo). Assim, o gênero *Cymbella* apresentou relação positiva com a porcentagem de área aberta ( $F_{1,13}=6.04$ ,  $p=0.029$ ; rio  $F_{2,13}=0.1$ ,  $p=0.9$ ; interação  $F_{2,13}=1.1$ ,  $p=0.36$ ), *Spirogyra* sp. com correnteza ( $F_{1,13}=5.8$ ,  $p=0.032$ ; rio  $F_{2,13}=0.42$ ,  $p=0.66$ ; interação  $F_{2,13}=3.05$ ,  $p=0.08$ ) e *Frustulia* sp. com fosfato ( $F_{1,13}=6.41$ ,  $p=0.025$ ; rio  $F_{2,13}=7.78$ ,  $p=0.006$ ; interação  $F_{2,13}=6.45$ ,  $p=0.01$ ); como houve interação, os efeitos foram averiguados para cada rio através de regressões, e a relação positiva de *Frustulia* sp. com a concentração de fosfato foi encontrada apenas no rio Anil ( $F_{1,4}=9.27$ ,  $p=0.038$ ; STM  $F_{1,5}=1.46$ ,  $p=0.288$ ; ITA  $F_{1,4}=0.18$ ,  $p=0.7$ ).

Figura 32 - Abundância relativa dos táxons presentes (continua)





#### 4.4.3 Parâmetros de riqueza e diversidade

Os dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade foram considerados para as três categorias de uso do solo (Tabela 8) e para as três categorias dentro dos três rios estudados (Tabela 9). Em relação aos três status de perturbação do uso do solo, os trechos prístinos apresentam menor riqueza ( $16 \pm 2.05$ , Tabela 8), os perturbados tem valores de riqueza intermediários ( $17.57 \pm 2.3$ , Tabela 8), enquanto que os sítios de perturbação intermediária mostraram os maiores valores de riqueza de táxons ( $19 \pm 2.67$ , Tabela 8), embora estes resultados não sejam significativos estatisticamente.

Ainda observando a tabela 8, os pontos prístinos apresentaram maior diversidade, seguidos de perturbação intermediária e perturbados. Como a ANCOVA mostrou que houve interação entre categoria e rios ( $F_{4,10}=4.9$ ,  $p=0.019$ ; rio  $F_{2,10}=2.73$ ,  $p=0.11$ ; categoria  $F_{2,10}=2.17$ ,  $p=0.16$ ), foram feitas ANOVAs entre a diversidade e as categorias de uso e cobertura do solo para os diferentes rios estudados, e o resultado só foi significativo para o rio Santa Maria ( $F_{2,4}=6.44$ ,  $p=0.05$ ; ANL  $F_{1,3}=0.08$ ,  $p=0.8$ ; ITA  $F_{1,3}=3.45$ ,  $p=0.16$ ), aonde os trechos prístinos apresentam maior diversidade, marginalmente significativo, que os de perturbação intermediária e perturbados ( $p=0.062$ ).

Os resultados da ANCOVA entre diversidade e alguns dados físicos e químicos (covariada) dos sítios estudados, de acordo com os rios (fator fixo), mostraram que a diversidade aumentou significativamente com a porcentagem de floresta ( $F_{1,13}=5.67$ ,  $p=0.03$ ); considerando que houve efeito significativo de rio ( $F_{2,13}=7.77$ ,  $p=0.006$ ) e da interação ( $F_{2,13}=5.78$ ,  $p=0.02$ ), foram feitas regressões para cada rio separadamente. Assim, houve relação significativa positiva entre diversidade e porcentagem de floresta para o rio Itaperiti ( $F_{1,4}=6.9$ ,  $p=0.05$ ; ANL  $F_{1,4}=2.46$ ,  $p=0.19$ ; STM  $F_{1,5}=2.4$ ,  $p=0.18$ ).

A diversidade não apresentou relação estatisticamente significativa com a concentração de fosfato na água ( $F_{1,13}=0.07$ ,  $p=0.8$ ; rio  $F_{2,13}=3.3$ ,  $p=0.07$ ), mas houve efeito significativo da interação rio e concentração de fosfato ( $F_{2,13}=2.89$ ,  $p=0.04$ ). Assim, os efeitos foram verificados para cada rio separadamente e foi encontrada relação negativa significativa estatisticamente para o rio Santa Maria ( $R^2=0.55$ .  $F_{1,5}=6.14$ ,  $p=0.05$ ) e significativamente positiva para o Anil ( $R^2=0.87$ .  $F_{1,4}=26.68$ ,  $p=0.007$ ), embora não tenha sido significativo para o rio Itaperiti ( $F_{1,4}=1.16$ ,  $p=0.34$ ).

Em relação à dominância, a tabela 8 mostra que os sítios prístinos tem menor dominância de táxons, seguidos dos pontos de perturbação intermediária e perturbados.



Embora estes resultados não tenham sido significativos estatisticamente ( $F_{2,10}=1.35$ ,  $p=0.3$ ; rio  $F_{2,10}=0.82$ ), a interação entre categoria e rio foi ( $F_{4,10}=3.8$ ,  $p=0.04$ ) e os efeitos foram verificados para cada rio separadamente, não sendo significativo para nenhum rio (STM  $F_{2,4}=2.9$ ,  $p=0.17$ ; ANL  $F_{1,3}=0.82$ ,  $p=0.43$ ; ITA  $F_{1,3}=3.49$ ,  $p=0.16$ ).

Já considerando a equitabilidade, os maior valores encontrados foram nos pontos prístinos (Tabela 8), posteriormente, perturbados (Tabela 8) e de perturbação intermediária (Tabela 8). Tendo em vista que houve interação entre categoria e rios ( $F_{4,10}=5.75$ ,  $p=0.011$ ; rio  $F_{2,10}=0.44$ ,  $p=0.65$ ; categoria  $F_{2,10}=1.9$ ,  $p=0.2$ ), os efeitos foram verificados para cada rio, através de ANOVAs. As únicas diferenças significativas dos valores de equitabilidade entre categorias de uso do solo foram encontradas no rio Santa Maria ( $F_{2,4}=7.726$ ,  $p=0.042$ ; ANL  $F_{1,3}=1.5$ ,  $p=0.31$ ; ITA  $F_{1,3}=3.2$ ,  $p=0.17$ ), aonde os sítios prístinos apresentam maior equitabilidade que os demais ( $p=0.051$ ).

Os dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade, considerados para cada categoria por rio, estão explicitados na tabela 9.

Tabela 8 - Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade nas categorias

| <b>Categoria</b>     | <b>Riqueza</b> | <b>Diversidade de Shannon</b> | <b>Dominância de Simpson</b> | <b>Equitabilidade de Pielou</b> |
|----------------------|----------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| <b>Pristino</b>      | 16±2.05        | 2.17±0.15                     | 0.16±0.03                    | 0.80±0.07                       |
| <b>Intermediário</b> | 19±2.67        | 1.97±0.17                     | 0.22±0.04                    | 0.68±0.03                       |
| <b>Perturbado</b>    | 17.57±2.3      | 1.96±0.12                     | 0.24±0.05                    | 0.70±0.05                       |

Legenda: Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade para as três categorias estudadas. Média ± 1SE.

Tabela 9 – Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade nos rios

| <b>Rio</b> | <b>Categoria</b>     | <b>Riqueza</b> | <b>Diversidade de Shannon</b> | <b>Dominância de Simpson</b> | <b>Equitabilidade de Pielou</b> |
|------------|----------------------|----------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| <b>ANL</b> | <b>Pristino</b>      | 23             | 3.35                          | 0.28                         | 1.72                            |
| <b>ANL</b> | <b>Intermediário</b> | 24±1           | 3.80±0.3                      | 0.17±0.05                    | 2.19±0.08                       |
| <b>ANL</b> | <b>Perturbado</b>    | 17.33±4.1      | 3.62±0.05                     | 0.14±0.01                    | 2.26±0.067                      |
| <b>ITA</b> | <b>Pristino</b>      | 16             | 4.33                          | 0.08                         | 2.67                            |
| <b>ITA</b> | <b>Intermediário</b> | 20.5±5.5       | 3.55±0.2                      | 0.18±0.03                    | 2.13±0.008                      |
| <b>ITA</b> | <b>Perturbado</b>    | 20.33±3.3      | 3.06±0.17                     | 0.34±0.07                    | 1.63±0.07                       |
| <b>STM</b> | <b>Pristino</b>      | 13.67±1.8      | 3.29±0.003                    | 0.16±0.01                    | 2.16±0.04                       |
| <b>STM</b> | <b>Intermediário</b> | 12.5±2.5       | 2.35±0.25                     | 0.32±0.1                     | 1.59±0.05                       |
| <b>STM</b> | <b>Perturbado</b>    | 13.5±0.5       | 2.41±0.05                     | 0.27±0.02                    | 1.72±0.01                       |

Legenda: Dados de riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade para as categorias estudadas em cada rio. Média ± 1SE.

#### 4.4.4 Presença/ausência e abundância

Posteriormente, foi feita uma perManova a fim de identificar as diferenças entre os rios e categorias. De acordo com essa análise, não há diferença entre categorias para presença/ausência de espécies algais ( $F_{2,16}=0.862$ ,  $p=0.559$ ), nem para abundância ( $F_{2,16}=0.862$ ,  $p=0.558$ ), mas há entre os rios ( $F_{2,16}=2.745$ ,  $p=0.026$ ,  $F_{2,16}=2.204$ ,  $p=0.011$ , para presença/ausência e abundância de espécies, respectivamente).

Como a categorização não se mostrou uma boa abordagem nesta questão, as análises também foram feitas considerando mudanças contínuas nas algas conforme há mudanças de pristino a perturbado.

A fim de saber quais variáveis físico químicas estão correlacionadas, a análise de correlação de Pearson mostrou que uma série de variáveis covariam conforme o curso do rio à jusante. Devido aos altos coeficientes de correlação, amônio, correnteza e abertura de canópia não poderiam ser usados no mesmo modelo - embora abertura de canópia, fosfato e nitrato possam (Figura 13).

Assim, a análise perManova foi feita para abertura de canópia, fosfato e nitrato. Considerando a presença/ausência das espécies algais, o único resultado significativo foi para abertura de canópia ( $F_{1,17}=3.27$ ,  $p=0.021$ ). Já para a abundância de espécies algais, a relação significativa estatisticamente foi para fosfato ( $F_{1,17}=2.495$ ,  $p=0.022$ ).

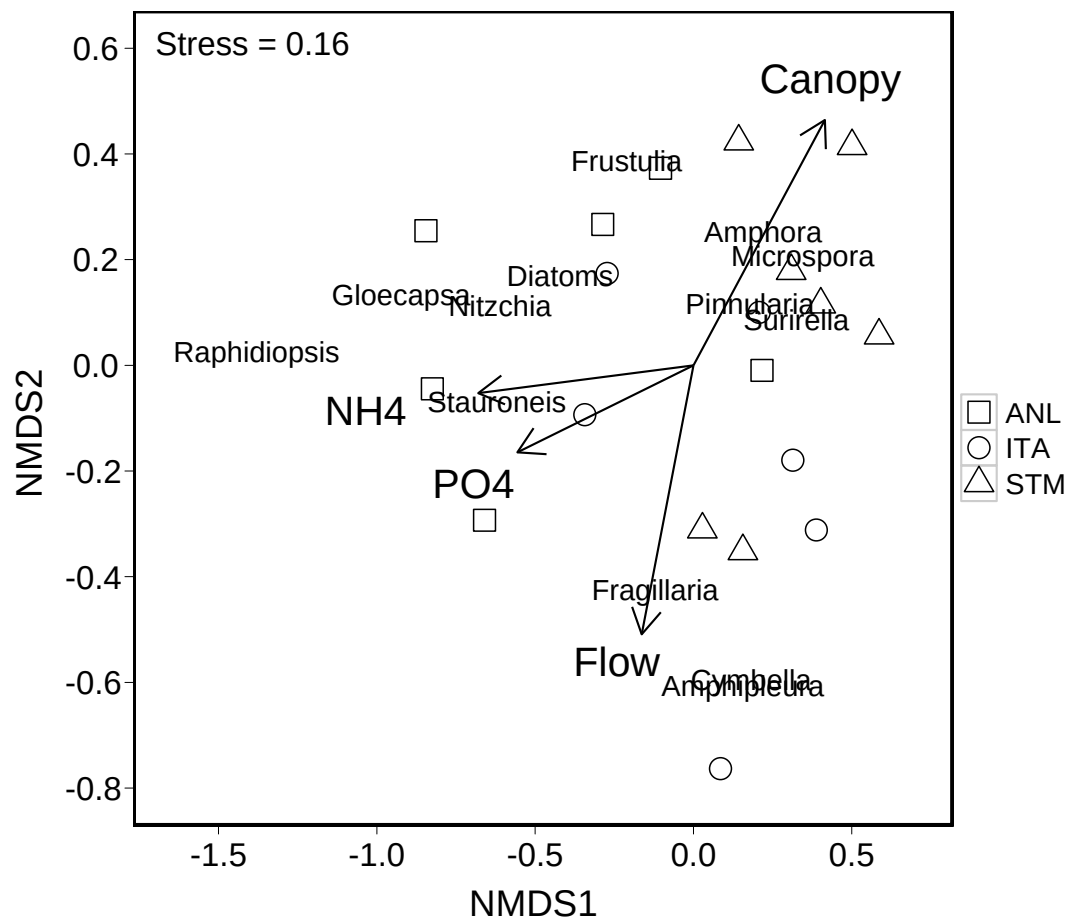
A seguir, foi feita a análise multivariada NMDS. Na tabela 10 estão representados os resultados do “fitting” dos vetores ambientais em relação à abundância algal. A clorófito *Microspora* sp. e as diatomáceas *Amphora* sp., *Pinnularia* e *Surirella* sp. apresentaram forte relação positiva com a canópia (Figura 33). Já as diatomáceas *Cymbella* sp., *Fragilaria* sp. e *Amphipleura* sp. tiveram relação positiva com a correnteza (Figura 33). E a diatomácea *Stauroneis*, com amônio (Figura 33).

Tabela 10 – NMDS. Ordenação da abundância algal com as variáveis ambientais

| Variáveis       | NMDS1  | NMDS   | r2    | P       |
|-----------------|--------|--------|-------|---------|
| Área Aberta     | 0.666  | 0.745  | 0.387 | 0.024 * |
| NH <sub>4</sub> | -0.997 | -0.077 | 0.465 | 0.013 * |
| NO <sub>3</sub> | -0.634 | -0.772 | 0.008 | 0.925   |
| PO <sub>4</sub> | -0.305 | -0.952 | 0.285 | 0.07 .  |
| Temperatura     | -0.935 | 0.353  | 0.258 | 0.805   |
| Correnteza      | -0.959 | -0.283 | 0.336 | 0.037 * |

Legenda: NMDS. Ordenação da abundância algal com os vetores ambientais (área aberta da canópis, amônio, nitrato, fosfato, temperatura e correnteza). Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*’ 0.01 ‘\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Figura 33 - NMDS entre abundância das espécies algais e as variáveis ambientais



Legenda: NMDS entre abundância das espécies algais e os vetores ambientais (abertura da canópis, amônio, fosfato e correnteza).

#### 4.4.5 Lista taxonômica

Por fim, foi feita a lista taxonômica dos táxons identificados. Foram consideradas, para a análise das comunidades perifíticas, 19 amostras, nas quais foram registrados 65 táxons em diferentes categorias taxonômicas (filo, subclasses, classes, infraclasses, ordens, gêneros e espécie) todos apresentados na lista abaixo, organizada de acordo com o ITIS (2014: Integrated Taxonomic Information System / Sistema Integrado de Informação Taxonômica; AlgaeBase - database of information on algae; EOL - Encyclopedia of Life) (Apêndice 1).

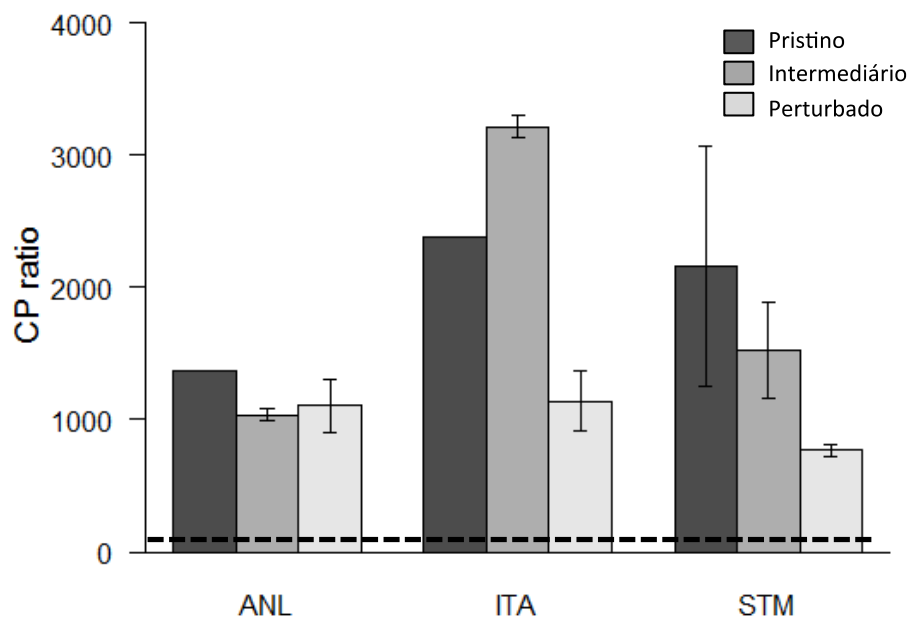
#### 4.5 Estequiometria

Considerando os três rios juntos, e apenas as categorias de perturbação intermediária e perturbado, há efeito de categoria ( $F_{1,8}=14.45$ ,  $p=0.005$ ), rio ( $F_{2,8}=5.58$ ,  $p=0.03$ ) e interação entre ambos ( $F_{2,8}=5.42$ ,  $p=0.03$ ) na razão estequiométrica C:P. A natureza dessa interação foi verificada posteriormente e este efeito significativo foi encontrado apenas para o rio Itaperiti, aonde os trechos de perturbação intermediária apresentam maior razão que os perturbados (Figura 33.  $F_{1,3}=16.938$ ,  $p=0.025$ ; STM  $F_{2,4}=1.82$ ,  $p=0.27$ ; ANL  $F_{1,3}=0.019$ ,  $p=0.9$ ), e também os prístinos (Figura 34).

Já para a razão C:N, há efeito de categoria ( $F_{1,8}=14.12$ ,  $p=0.005$ ), aonde os sítios de perturbação intermediária apresentam razão C:N significativamente maior que os trechos perturbados (e prístinos). Apesar de não existir interação entre categoria e rio ( $F_{2,8}=1.28$ ,  $p=0.3$ ; rio  $F_{2,8}=2.78$ ,  $p=0.12$ ), quando as análises são feitas para cada rio separadamente, fica clara a perda de poder estatístico, e a interpretação é a de que possivelmente há sim interação entre categoria e rio; isso porque o resultado (razão C:N em função das categorias) não é significativo para os rios Anil ( $F_{1,3}=0.019$ ,  $p=0.899$ . Figura 35) e Santa Maria ( $F_{2,4}=1.82$ ,  $p=0.27$ . Figura 35), mas é significativo para o rio Itaperiti ( $F_{1,3}=13.537$ ,  $p=0.034$ . Figura 35).

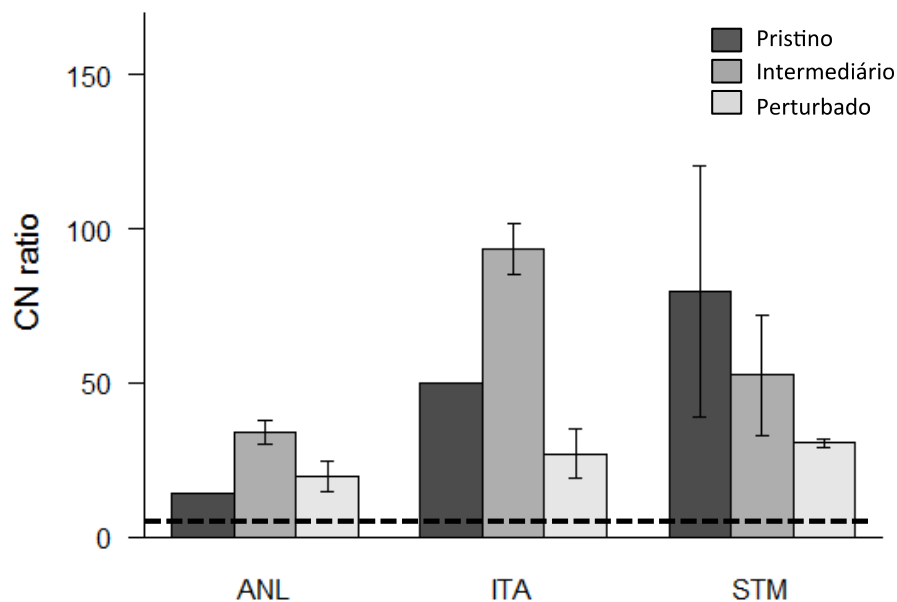
Em relação à razão N:P não há efeito significativo de categoria ( $F_{1,8}=2.19$ ,  $p=0.18$ . Figura 36), nem rio ( $F_{2,8}=2.04$ ,  $p=0.19$ ) e nem interação entre ambos ( $F_{2,8}=1.54$ ,  $p=0.27$ ).

Figura 34 - Razão estequiométrica C:P em relação às categorias de uso do solo



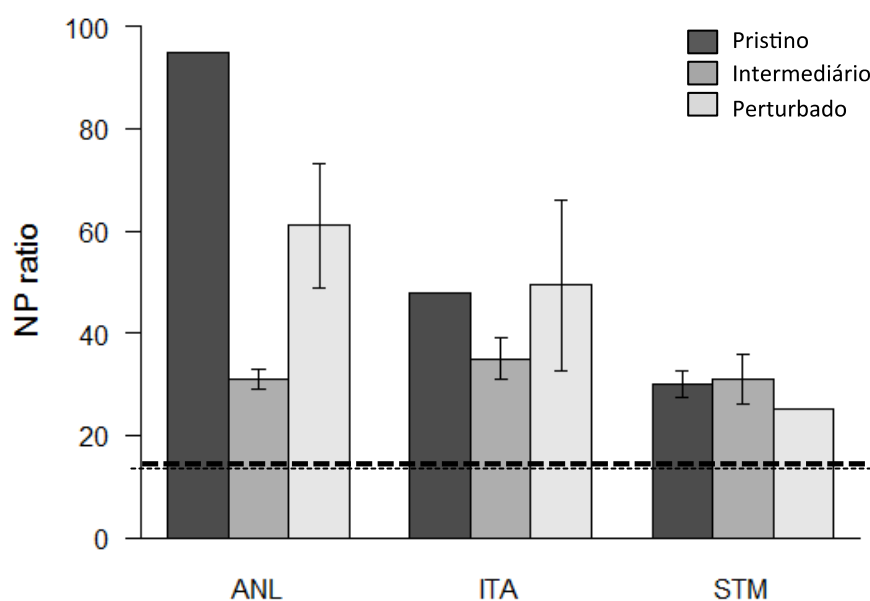
Legenda: Razão estequiométrica C:P em relação às categorias de uso do solo (pristino, perturbação intermediária e perturbado) em cada rio estudado (ANL, ITA e STM). A linha horizontal representa a razão de Redfield C<sub>106</sub>:P<sub>1</sub>.

Figura 35 - Razão estequiométrica C:N em relação às categorias de uso do solo



Legenda: Razão estequiométrica C:N em relação às categorias de uso do solo (pristino, perturbação intermediária e perturbado) em cada rio estudado (ANL, ITA e STM). A linha horizontal representa a razão de Redfield  $C_{106}:N_{16}$ .

Figura 36 - Razão estequiométrica N:P em relação às categorias de uso do solo



Legenda: Razão estequiométrica N:P em relação às categorias de uso do solo (pristino, perturbação intermediária e perturbado) em cada rio estudado (ANL, ITA e STM). A linha horizontal mais espessa representa a razão de Redfield  $N_{16}:P_1$ , ao passo que a linha pontilhada indica a razão  $N_{32}:P_1$  (Kahlert 1998).

Considerando que as categorias de uso do solo não pareceram constituir bons preditores em termos das razões estequiométricas C:N:P, também foram feitas análises a partir de mudanças contínuas ao longo do rio.

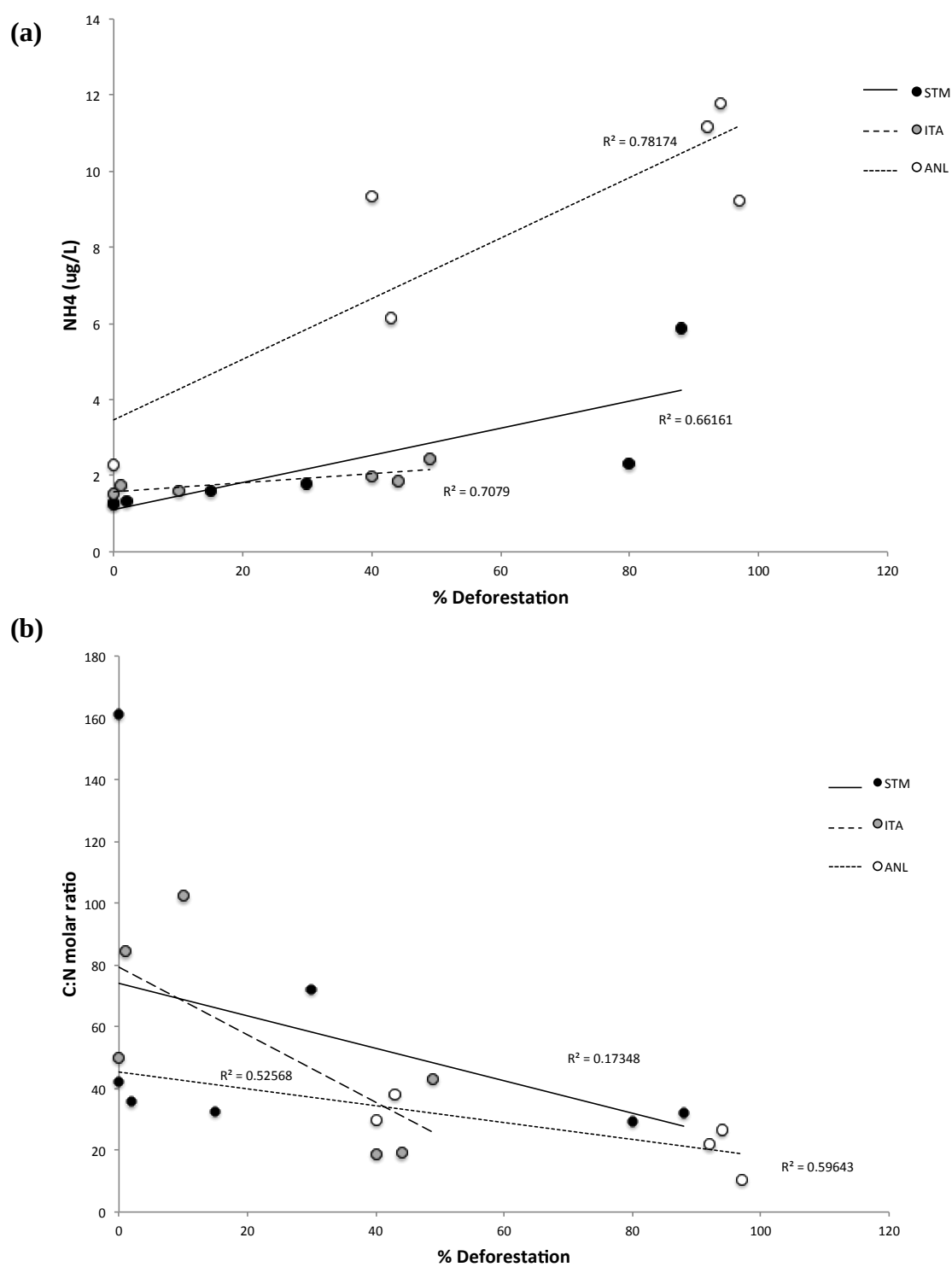
A concentração de amônio aumentou com o desmatamento (Figura 37a.  $R^2=0.66$ ,  $R^2=0.70$  e  $R^2=0.78$ , para os rios Santa Maria, Itaperiti e Anil, respectivamente. Porcentagem de perturbação  $F_{1,15}=12.79$ ,  $p=0.003$ ; rio  $F_{2,15}=3.09$ ,  $p=0.07$ ; interação  $F_{2,15}=2.8$ ,  $p=0.09$ ). Enquanto a razão molar C:N diminuiu - marginalmente significativo - com o desmatamento (Figura 37b.  $F_{1,13}=3.824$ ,  $p=0.07$ ; rio  $F_{2,13}=1.44$ ,  $p=0.27$ ; interação  $F_{2,13}=1$ ,  $p=0.37$ ), com a porcentagem de área aberta, marginalmente significativo ( $F_{1,13}=3.88$ ,  $p=0.07$ ; rio  $F_{2,13}=2.05$ ,  $p=0.17$ ; interação  $F_{2,13}=0.66$ ,  $p=0.53$ ) e com o aumento da concentração de  $NH_4$ , não significativo ( $R^2=0.22$ ,  $R^2=0.52$  e  $R^2=0.59$ , para os rios Santa Maria, Itaperiti e Anil, respectivamente. Figura 37c).

A concentração de fosfato aumentou com o desmatamento (Figura 38a.  $R^2=0.44$ ,  $R^2=0.48$  e  $R^2=0.45$ , para os rios Santa Maria, Itaperiti e Anil, respectivamente. porcentagem de perturbação  $F_{1,15}=7.69$ ,  $p=0.01$ ; rio  $F_{2,15}=16.5$ ,  $p<0.001$ ; interação  $F_{2,15}=0.27$ ,  $p=0.77$ ). A razão molar C:P diminuiu com o desmatamento (Figura 38b.  $F_{1,13}=10.75$ ,  $p=0.006$ ; rio  $F_{2,13}=3.26$ ,  $p=0.07$ ; interação  $F_{2,13}=3.1$ ,  $p=0.08$ ) e a porcentagem de área aberta ( $F_{1,13}=9.39$ ,  $p=0.009$ ; rio  $F_{2,13}=4.8$ ,  $p=0.027$ ; interação  $F_{2,13}=2.71$ ,  $p=0.1$ ). Em relação à concentração de  $PO_4$  nos rios, a razão estequiométrica C:P diminuiu com o aumento da concentração de  $PO_4$  nos rios STM e ANL ( $R^2=0.46$ , e  $R^2=0.58$ , respectivamente. Figura 38c), mas para o rio Itaperiti, não parece haver alguma relação entre estas variáveis (Figura 38c). No entanto estes resultados não foram significativos estatisticamente (rio  $F_{2,13}=0.2$ ,  $p=0.82$ ; fosfato  $F_{1,13}=3.31$ ,  $p=0.09$ ; interação  $F_{2,13}=0.3$ ,  $p=0.75$ ).

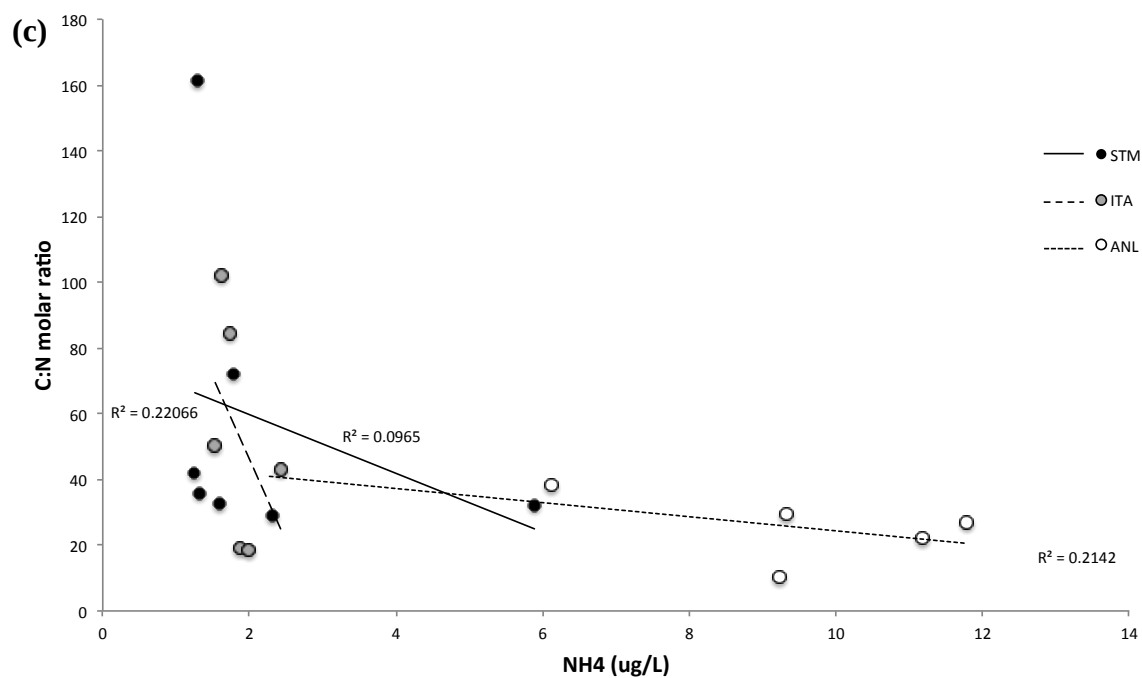
A razão molar N:P diminuiu com o desmatamento nos rios Santa Maria, Itaperiti e Anil ( $R^2=0.37$ ,  $R^2=0.28$  e  $R^2=0.59$ , respectivamente. Figura 39a). Mas estes resultados não foram significativos estatisticamente (rio  $F_{2,13}=1.3$ ,  $p=0.3$ ; porcentagem de perturbação  $F_{1,13}=0.01$ ,  $p=0.9$ ; interação  $F_{2,13}=0.1$ ,  $p=0.9$ ). Considerando as concentrações de nutrientes nos rios ( $\mu g.L^{-1}$ ), a razão molar N:P parece ser melhor explicada através das concentrações de  $PO_4$  que pelas concentrações de  $NH_4$ . Nos rios estudados, a razão N:P diminuiu com o aumento da concentração de fosfato ( $R^2=0.06$ ,  $R^2=0.95$  e  $R^2=0.28$  para os rios STM, ITA e ANL, respectivamente. Figura 39c), embora não significativo estatisticamente (rio  $F_{2,13}=1.85$ ,  $p=0.2$ ; fosfato  $F_{1,13}=0.81$ ,  $p=0.38$ ; interação  $F_{2,13}=1.28$ ,  $p=0.31$ ), ao passo que as relações com amônio são também negativas e não são fortes (Figura 39b) – e, também, não significativas

estatisticamente (rio  $F_{2,13}=2.07$ ,  $\alpha=0.16$ ; amônio  $F_{1,13}=0.11$ ,  $p=0.74$ ; interação  $F_{2,13}=0.08$ ,  $p=0.92$ ).

Figura 37 - Regressões lineares C:N e variáveis ambientais (continua)

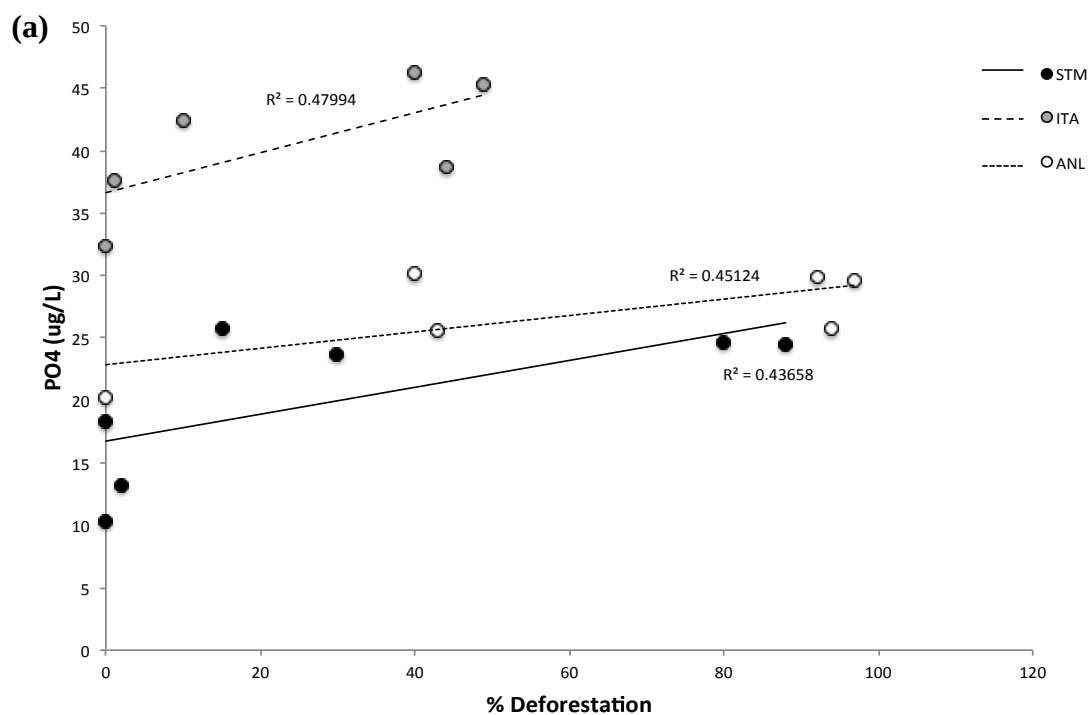


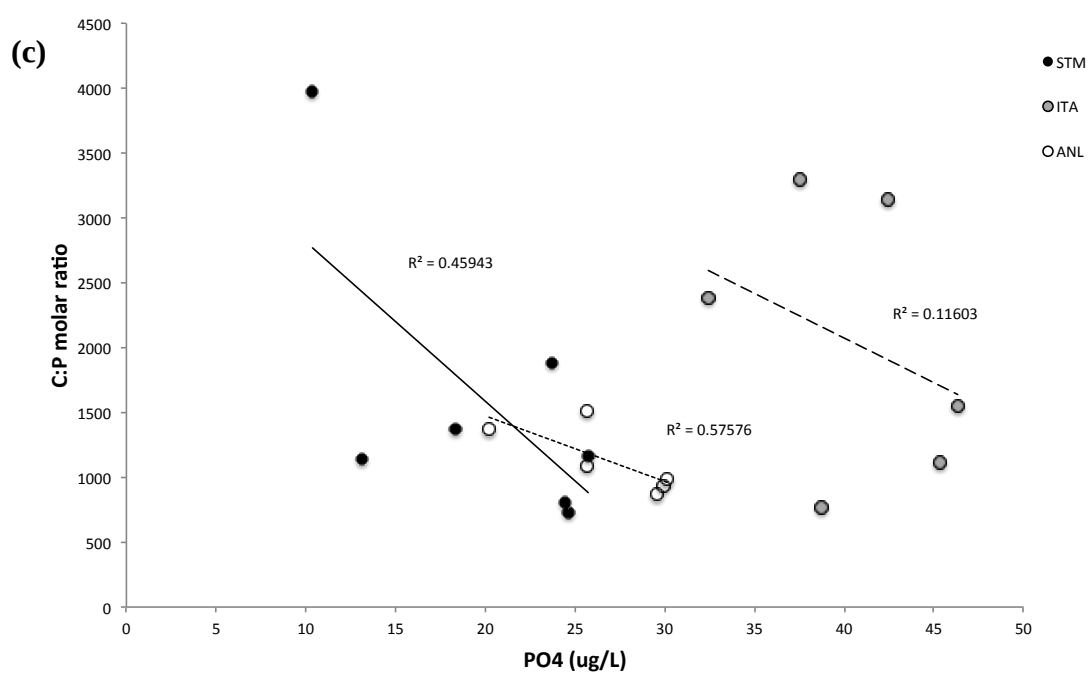
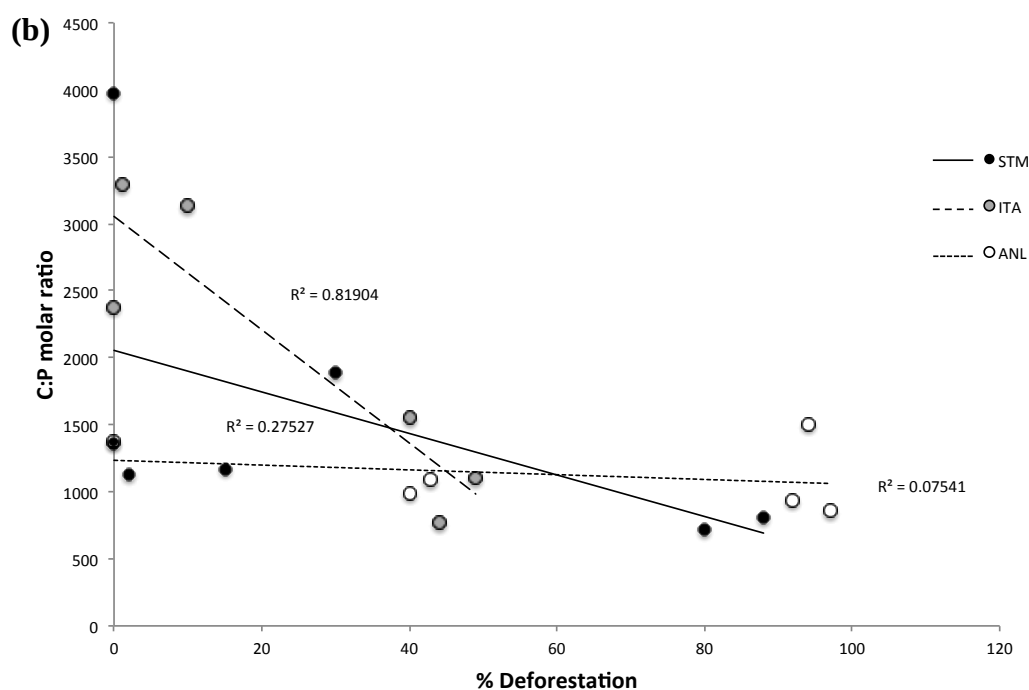




Legenda: (a) - Concentração de  $\text{NH}_4$  em relação à porcentagem de desmatamento; (b) - Razão molar C:N em relação à porcentagem de desmatamento; (c) - Razão Molar C:N em relação à concentração de  $\text{NH}_4$  ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos três rios estudados (STM, ITA e ANL).

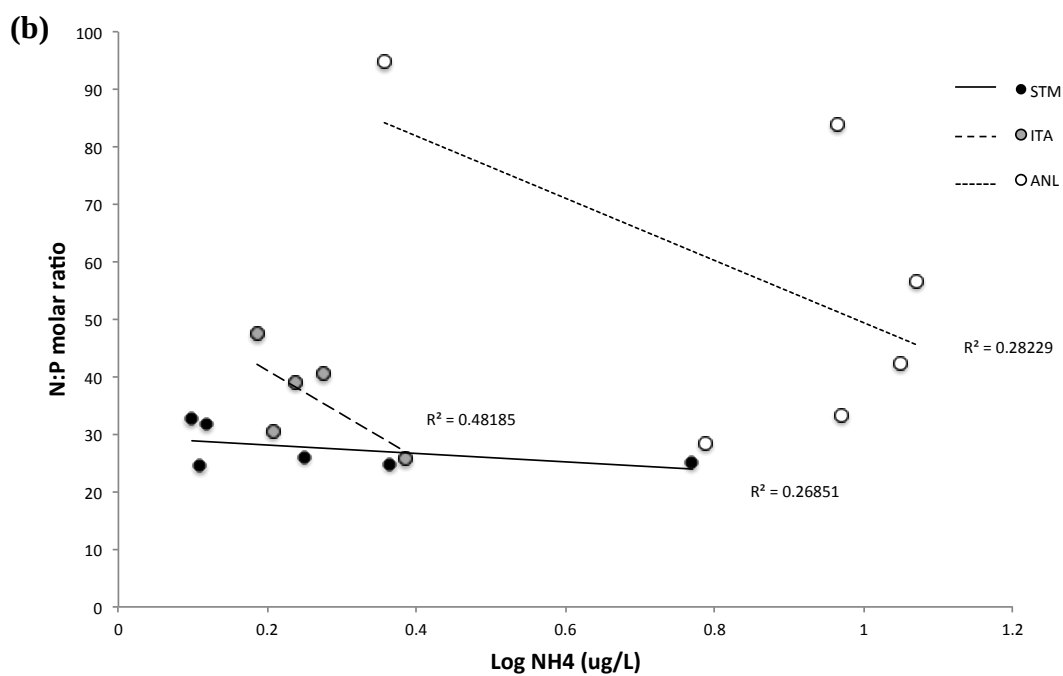
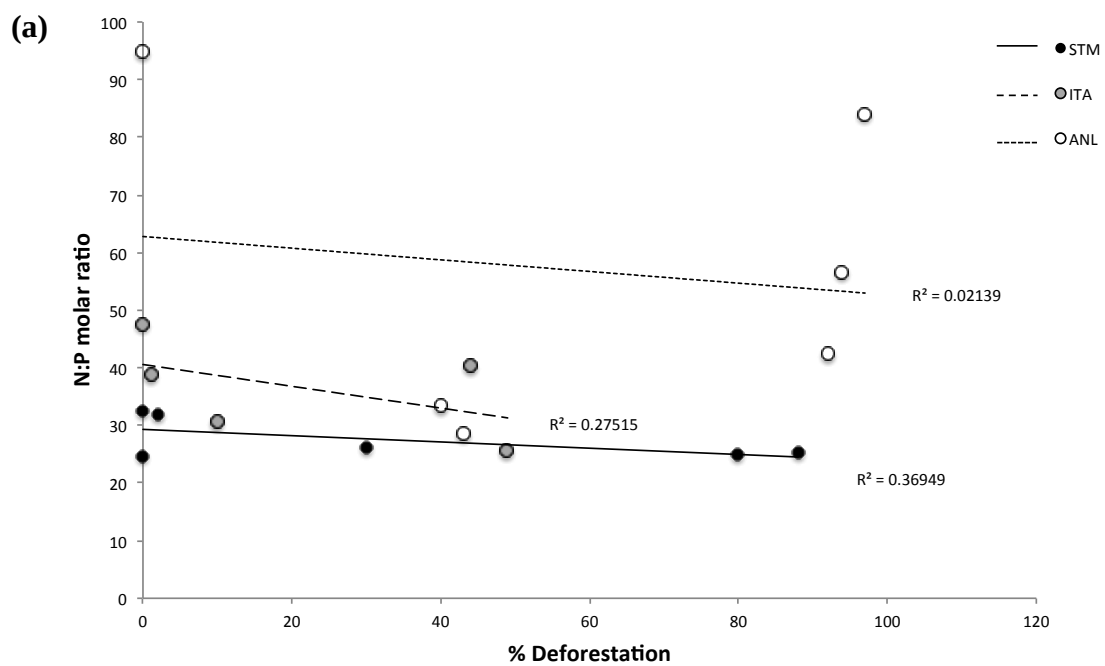
Figura 38 - Regressões lineares C:P e variáveis ambientais

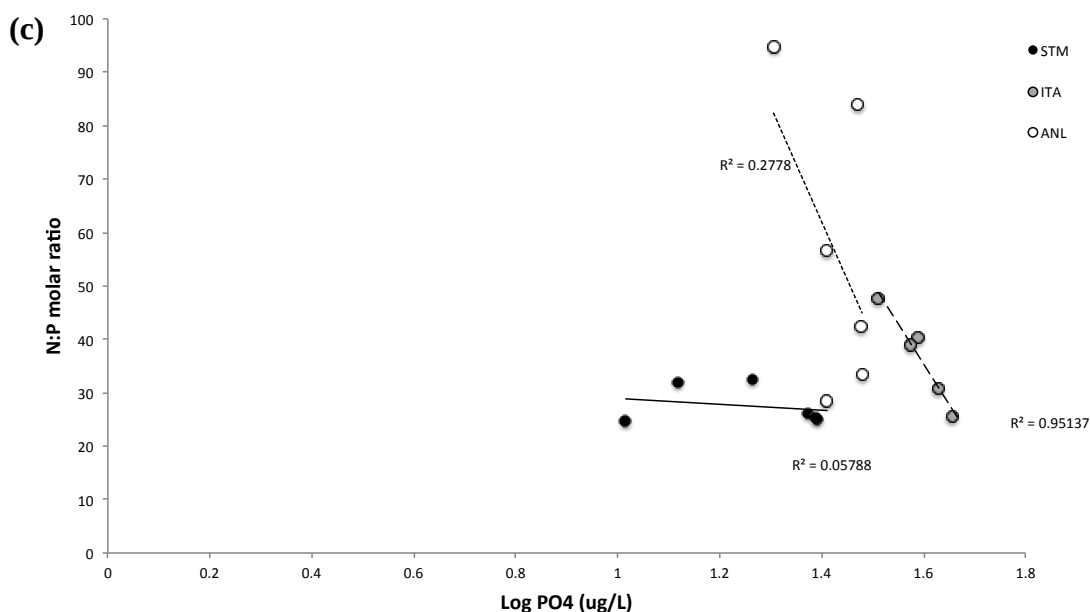




Legenda: **(a)** - Concentração de  $\text{PO}_4$  em relação à porcentagem de desmatamento; **(b)** - Razão molar C:P em relação à porcentagem de desmatamento; **(c)** - Razão molar C:P em relação à concentração de  $\text{PO}_4$  ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos três rios estudados (STM, ITA e ANL).

Figura 39 - Regressões lineares N:P e variáveis ambientais (continua)

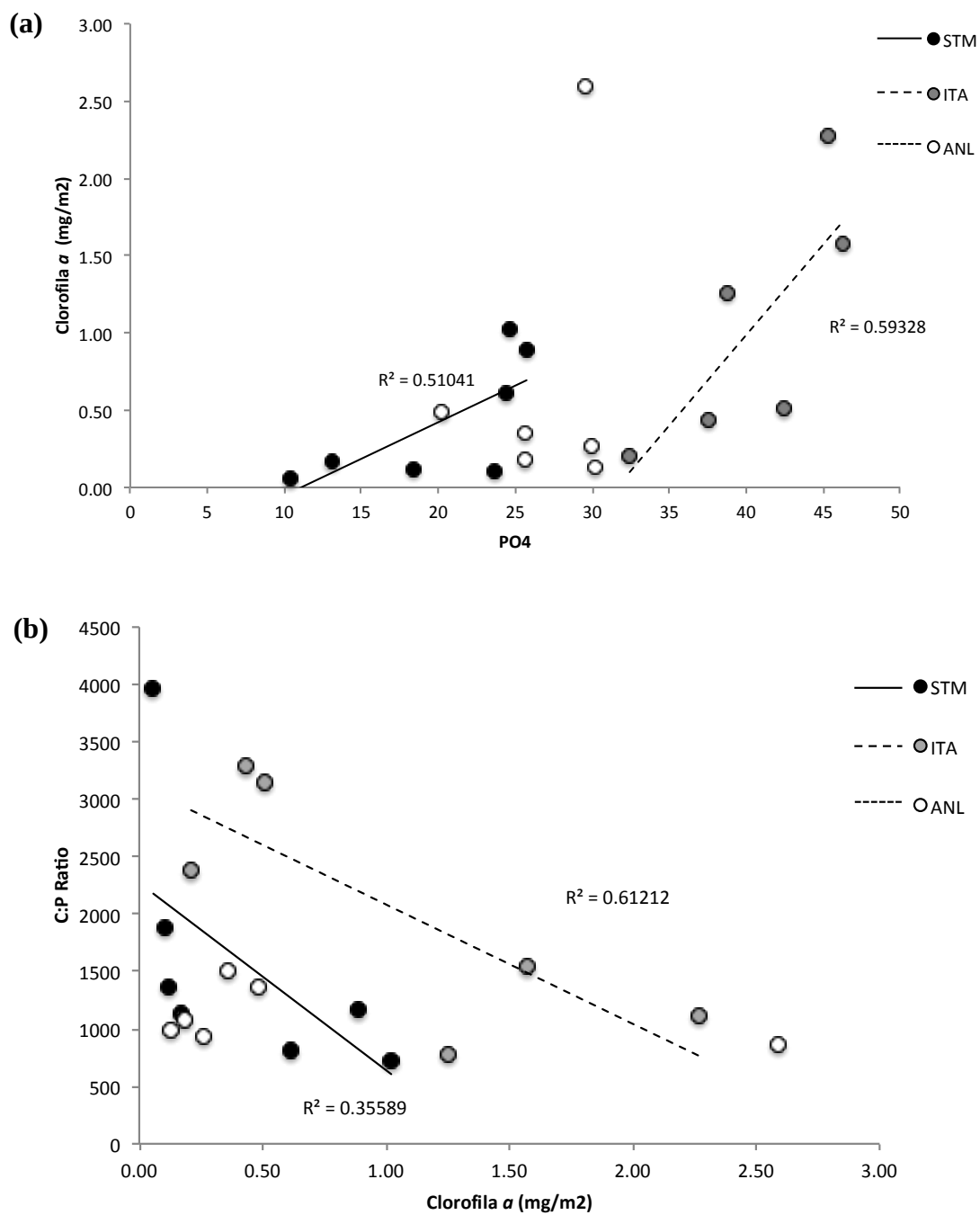




**Legenda:** (a) - Razão molar N:P em relação à porcentagem de desmatamento; (b) - razão Molar N:P em relação à concentração de NH<sub>4</sub> (µg.L<sup>-1</sup>); (c) - razão Molar N:P em relação à concentração de PO<sub>4</sub> (µg.L<sup>-1</sup>) nos três rios estudados (STM, ITA e ANL).

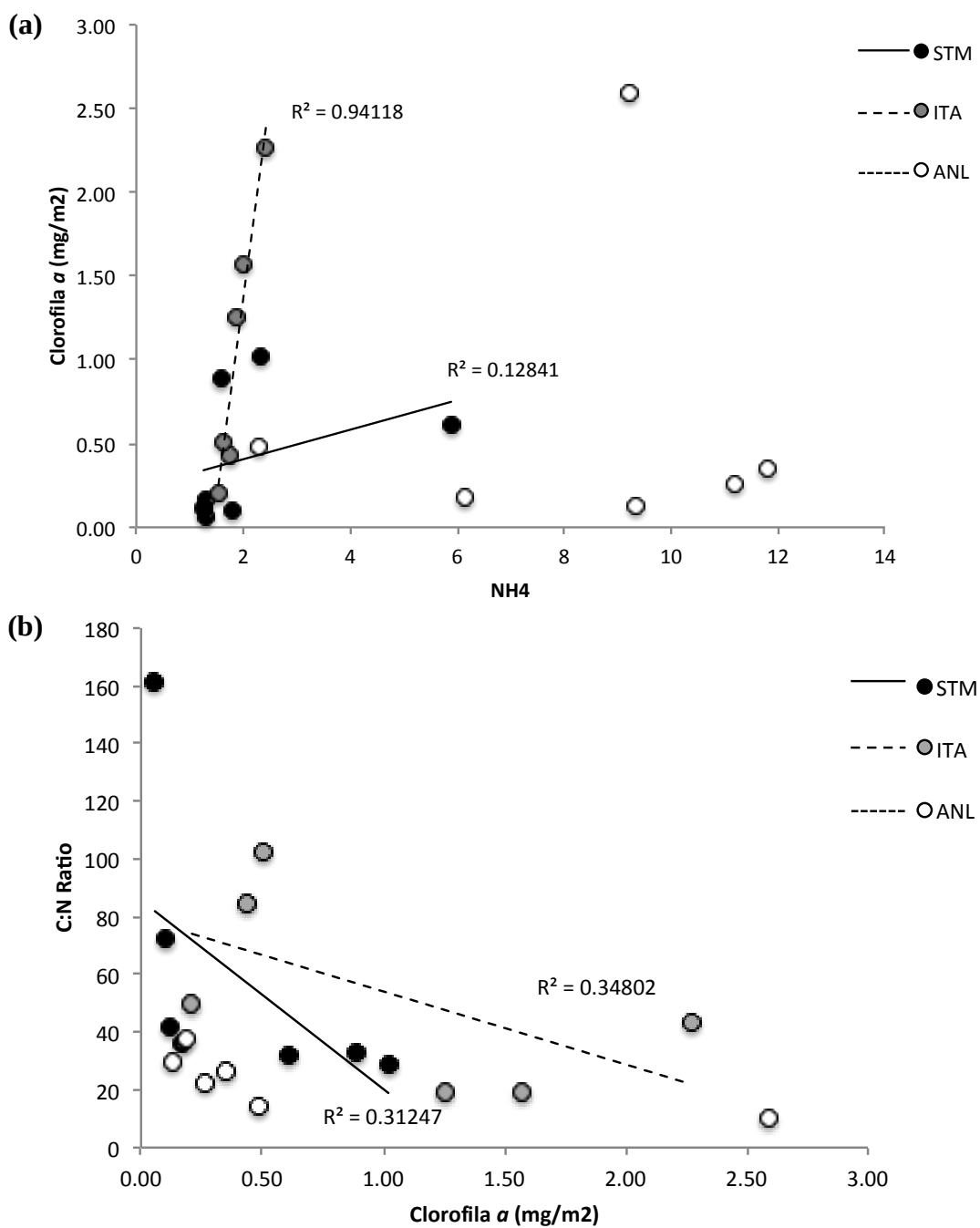
Ainda, regressões adicionais foram feitas comparando-se a biomassa do último dia do experimento de crescimento (clorofila *a* mg.m<sup>-2</sup>) e as concentrações de amônio e fosfato, além de ANCOVAs da qualidade nutricional (C:nutrientes) com a biomassa (covariada), considerando os rios (fator fixo). Assim, a biomassa aumentou com a concentração de fosfato (Figura 40a.  $F_{1,13}=4.28$ ,  $p=0.05$ ; rio  $F_{2,13}=0.78$ ,  $p=0.48$ ; interação  $F_{2,13}=0.47$ ,  $p=0.64$ ), assim como com a concentração de amônio (Figura 41a.  $F_{1,13}=7.35$ ,  $p=0.018$ ; rio  $F_{2,13}=2.34$ ,  $p=0.14$ ; interação  $F_{2,13}=3.47$ ,  $p=0.062$ ). Já as razões C:P (Figura 40b.  $F_{1,13}=9$ ,  $p=0.01$ ; rio  $F_{2,13}=4.55$ ,  $p=0.03$ ; interação  $F_{2,13}=4.26$ ,  $p=0.12$ ) e C:N decresceram com a quantidade de clorofila (Figura 41b.  $F_{1,13}=6.07$ ,  $p=0.028$ ; rio  $F_{2,13}=3.1$ ,  $p=0.08$ ; interação  $F_{2,13}=1.36$ ,  $p=0.29$ ).

Figura 40 - Regressões lineares



Legenda: Regressões lineares. (a) - Clorofila *a* (mg/m<sup>2</sup>) em relação à concentração de PO<sub>4</sub> (µg/L); (b) - Razão molar C:P em relação à clorofila *a* (mg.m<sup>-2</sup>).

Figura 41 - Regressões lineares



Legenda: Regressões lineares. (a) - Clorofila *a* (mg/m<sup>2</sup>) em relação à concentração de NH<sub>4</sub> (µg/L); (b) - Razão molar C:N em relação à clorofila *a* (mg.m<sup>-2</sup>)

## 5 DISCUSSÃO

Os nossos resultados sugerem fortemente que diversas mudanças estruturais e funcionais ocorreram na comunidade perifítica em função do gradiente de perturbação. Especialmente houve um aumento da biomassa perifítica (clorofila *a* e matéria orgânica e inorgânica), aumento da taxa de crescimento, limitação nutricional (enquanto que nos sítios prístinos sombreados, a limitação primária foi por luz), maior qualidade/status nutricional da comunidade, mudança na composição taxonômica e diminuição da diversidade.

Mais detalhadamente:

**(1) NDS** - A comunidade perifítica, nos três rios estudados, é limitada primariamente por luz, à medida que o crescimento do perifíton foi menor nos sítios prístinos sombreados e não houve diferenciação entre o crescimento nos tratamentos nutricionais quando em condições de sombreamento. A limitação de nutrientes foi detectada só nos sítios perturbados, aonde a canópi é mais aberta. Corroborando a hipótese deste estudo. Nos trechos perturbados do rio Santa Maria, a assembleia é limitada por nitrogênio; a diminuição da razão N:P da água sugere que o aumento da concentração de fosfato nestes ambientes poderia ter causado uma limitação por nitrogênio. Nos trechos perturbados do rio Anil a comunidade é limitada por fósforo, já que apresentou maiores *response ratio* para este nutriente. Nestes sítios também foram registradas concentrações maiores de  $\text{NH}_4$  na água, enquanto que as concentrações do  $\text{PO}_4$  não eram diferentes comparados aos outros sítios. Isto poderia indicar assim um aumento na limitação de P. Ambas as situações corroborando a hipótese. O rio Itaperiti, por sua vez, não aparenta ser limitado por nenhum nutriente, possivelmente por ter sido, dentre os três rios estudados, o rio com menores porcentagens de perturbação em termos de desmatamento. A falta de limitação nutricional, mesmo nos sítios perturbados, no rio Itaperiti não corrobora a hipótese original.

**(2) Crescimento** - Os trechos perturbados apresentaram maior biomassa perifítica em termos de clorofila *a* e incremento de MSLC e MS em relação ao dia 2 de experimento; também apresentaram as maiores taxas de crescimento, corroborando a hipótese proposta. Já em relação à quantidade de MSLC e MS no último dia do experimento, os maiores valores foram encontrados nos sítios com perturbação intermediária, o que não está de acordo com o esperado, mas pode ter ocorrido por conta da maior declividade das margens dos rios nos sítios com perturbação intermediária. Além disso, a luminosidade, a correnteza e a temperatura apresentaram estimular a porção autotrófica da comunidade, em detrimento da

heterotrófica, enquanto aumentos na concentração de amônio aparentaram estimular ambas as porções auto e heterotrófica da assembleia.

**(3) Composição taxonômica** - Houve mudanças na composição dos táxons da comunidade perifítica com um aumento de gêneros tolerantes à poluição e/ou à alta incidência luminosa de acordo com o gradiente de perturbação; e, também uma diminuição de gêneros não-tolerantes à poluição no gradiente de perturbação. Ainda, a diversidade e equitabilidade dos gêneros foi maior nos pontos prístinos que nos de perturbação intermediária e perturbados, no Santa Maria e Itaperiti. Corroborando a hipótese proposta. A intensidade luminosa aparenta ter sido determinante na presença dos gêneros da comunidade perifítica, ao passo que a concentração de fosfato parece ter determinado a abundância dos táxons.

**(4) Estequiometria** - A comunidade perifítica não aparentou ser homeostática à medida que ocorreram consideráveis variações nas razões C:N e C:P em concomitância com variações de luz e concentrações de nutrientes na água. Tanto a perturbação local quanto a mais à montante, influenciaram a composição estequiométrica da comunidade, que apresentou menores C:nutrientes com o aumento da concentração de nutrientes dos rios, corroborando a hipótese proposta. Isto sugere, inclusive, o potencial uso da assembleia na remoção de nutrientes em córregos poluídos. A concentração N:P diminuiu com a perturbação, apresentando maior relação com a concentração de fosfato que amônio, indicando a possível maior influência da pecuária da estequiometria perifítica que a agricultura; ainda, este resultado corrobora a hipótese da taxa de crescimento da assembleia, mas não a hipótese do crescimento – como previsto. Em relação à limitação nutricional, no STM a relação forte da razão C:N com amônio sugere uma limitação por N; no Anil, há a indicação de limitação por fósforo à medida que a razão C:P tem relação com  $\text{PO}_4$  e a razão N:P é maior que 32; e o rio Itaperiti não aparenta ser limitado por nenhum dos nutrientes, possivelmente devido ao menor grau de perturbação encontrado neste rio.

### 5.1. Variáveis físicas e químicas

Como o corredor ripário tem sido demonstrado como um importante determinante da ecologia de rios (Shields et al 2003, Naiman Décamps & McClain 2005), tem recebido atenção em particular na sua influência em escala local e à montante (Tormos et al 2014). E o deflorestamento da mata ciliar é comum em áreas urbanas e em terras agrícolas, sendo



identificado, por muitas vezes, como o direcionador do processo de degradação de rios (Walsh 2005).

A correnteza aumentou de acordo com o grau de perturbação. Esta variável também é usada no acesso à qualidade da água em combinação com outros fatores, aonde a mudança da hidrologia pelo impacto, afeta a morfologia do canal e, portanto, a correnteza da água (Clapcott *et al.* 2012). Ainda, os resultados mostraram que a concentração de nutrientes na água, de fato, aumentou conforme o gradiente de perturbação dos rios. Uma série de estudos tem mostrado que o uso e cobertura do solo adjacente aos rios tem uma forte influência na química do rio (Peierls *et al.* 1991, Hunsaker & Levine 1995, Puckett 1995, Howarth *et al.* 1996, Allan *et al.* 1997). À medida que as florestas tamponam a entrada de nutrientes e poluentes nos rios (Lowrance *et al.* 1984, 1997; Mayer *et al.* 2007), a entrada de nutrientes provenientes de terras agrícolas é muito maior que a detectada em florestas (Omernik *et al.* 1981, Johnson *et al.* 1997, Jordan *et al.* 1997, Johnson 2009, Clapcott *et al.* 2012). Assim, os resultados suportam a ideia que as concentrações nutricionais dos corpos hídricos refletem a intensidade do uso do solo ripário (Wagenhoff *et al.* 2011).

Apesar dos padrões físicos terem sido constantes e significativos para todos os rios estudados, os fatores químicos apresentaram algumas diferenças intrínsecas dos rios. O rio Anil, por exemplo, apresentou maior concentração média de amônio, e também foi o único que apresentou concentrações significativamente maiores nos pontos perturbados, seguidos dos com perturbação intermediária e pristino. Já o rio Itaperiti apresentou maior concentração média de fosfato que os demais, enquanto que o rio Santa Maria foi o único a apresentar significativamente maior quantidade de fosfato nos pontos com perturbação intermediária e perturbados que nos trechos prístinos.

Alguns padrões foram observados, embora não tenham apresentado significância estatística. Em relação à temperatura e largura, houve uma diminuição da largura e um aumento da temperatura em conformidade com o grau de perturbação. Estudos indicam que a mata ciliar pode ter grande influência na morfologia do canal do rio, com os pequenos rios tendo canais mais largos nos trechos florestados que nos trechos de pasto (Zimmerman *et al.* 1967, Sweeney 1993, Davies-Colley 1997). Inclusive, a agricultura e a remoção de madeira estão entre os usos que mais provocam o afunilamento de rios pequenos (Johnson 1994, Miller *et al.* 1995). Em tempo, a mata ciliar também tem sido mostrada na moderação da temperatura através do sombreamento (Johnson & Jones 2000, Quinn 2000, Cole and Newton 2013).

## 5.2. Limitação nutricional

### 5.2.1 Teste de difusão

Os resultados do teste de difusão mostraram que, conforme o esperado, os tratamentos enriquecidos com  $\text{NO}_3$  (N e NP) apresentaram maiores taxas de difusão de nitrato e os tratamentos enriquecidos com  $\text{PO}_4$  (P e NP) apresentaram maiores taxas de difusão de fosfato.

As taxas de difusão de N e P e a razão N:P foram menores no dia 0 que no dia 15 de experimento. Este resultado é contrário ao reportado na literatura, aonde há trabalhos que mostram maiores razões N:P nos primeiros dias de difusão (Fermino e Bicudo 2004) e menores valores de difusão de nutrientes ao final do experimento (Fairchild 1985, Fermino e Bicudo 2004, Rugenski 2008 e Capps et al 2011).

O fosfato apresentou os valores de taxa de difusão mais baixos no dia 0 de experimento, tanto em P quanto em NP. Isto pode ter ocorrido devido ao fato que a difusão do fosfato pode ser afetada devido à formação inicial de complexo com agar, reduzindo a sua difusão no começo (Fermino e Bicudo 2004; Fairchild *et al.* 1985). Considerando a difusão do fosfato, no dia 0 o tratamento NP difundiu 3.94 vezes menos que P, enquanto no dia 15, 14.29. A diferença entre os tratamentos P e NP foi mais próximo ao esperado no último dia do teste de difusão de nutrientes, uma vez que no substrato difusor de nutrientes enriquecido com NP foi colocado 16 vezes menos fosfato que no tratamento P. As maiores taxas de difusão de fosfato no tratamento P em relação ao NP é explicado à medida que a taxa de liberação de P aumenta com a concentração inicial de P (Rugenski 2008). As menores taxas de difusão de nitrato no dia 0 que no dia 15, bem como as menores razões N:P, podem ser explicadas por uma possível interação química inicial (adsorção e agentes de complexação) do nitrato com o agar (Mercante e Bianchini-Jr 2000) no experimento inicial de difusão.

No entanto devido às taxas de difusão muito altas no experimento final, neste trabalho supõe-se que tenha havido contaminação no experimento do décimo quinto dia. Considerando que os substratos difusores de nutrientes foram inoculados *in situ* durante esse tempo, o mais plausível é que parte do material aderido aos substratos difusores tenha contaminado o experimento, apesar dos esforços de lavagem do mesmo. De todo o modo, a difusão de nutrientes nos substratos foi verificada.

A variação nos métodos de testes de difusão (água deionizada ou água do rio, reposição da água ou não, câmaras com fluxo ou não, tempo de incubação *in situ* e duração do

tempo de medição da difusão) pode afetar as taxas de difusão (Capps *et al.* 2011). Portanto, há a necessidade de padronização dos métodos, bem como cuidados com a contaminação em especial no teste de difusão após a inoculação dos substratos difusores *in situ*.

### 5.2.2 NDS

A limitação nutricional foi classificada de acordo com Tank e Dodds (2003) e Tank e colaboradores (2006), de modo que o tratamento nutricional que apresentar o maior valor de crescimento perifítico, em termos de clorofila *a*, foi considerado como o nutriente limitante. O estoque perifítico, em termos de concentração de clorofila *a*, está dentro da margem de valores reportados na literatura: estudos iniciais utilizando uma técnica diferente reportaram valores entre 2.1 e 62.2 mg.m<sup>-2</sup> (Matlock 1998, 1999a,b); também, um estudo comparando o crescimento algal em rios com diferentes usos do solo, identificaram valores de 2 a 95 mg.m<sup>-2</sup> (Corkum 1996); já estudos utilizando a mesma técnica, e substrato para crescimento perifítico, encontraram valores entre 1 e 132 mg.m<sup>-2</sup> (Tank & Dodds 2003).

O fato da limitação nutricional não ter sido identificada nos trechos prístinos - em nenhum dos tratamentos de NDS enriquecidos ou controle no rio STM e nem do ANL- sugere que a comunidade perifítica é limitada primariamente por luz, nos trechos sombreados. Esta limitação por luz foi evidenciada em muitos trabalhos na literatura, aonde a comunidade perifítica pode ser primariamente limitada por luz e secundariamente por nutrientes (Lowe *et al.* 1986, Rosemond 1994, Hill 1996, Larned & Santos 2000, Mulholland *et al.* 2001, Bernhardt and Likens 2004, Carey *et al.* 2007, von Schiller *et al.* 2007, Hill and Fanta 2008, Sanches *et al.* 2011, Stephens *et al.* 2012). De modo que, embora a concentração de nutrientes possa afetar a produção primária, a limitação por nutrientes só ocorre se as condições luminosas são favoráveis (Mosisch *et al.* 1999, Johnson *et al.* 2009, Guariento *et al.* 2011).

No rio Santa Maria, a diferenciação entre os tratamentos nutricionais não pôde ser observada nos pontos prístinos e com perturbação intermediária, mas sim nos sítios perturbados. Nestes últimos, o tratamento enriquecido com nitrogênio, apenas, apresentou maior crescimento perifítico que os demais – indicando que os sítios perturbados são limitados por nitrogênio. O mesmo foi evidenciado através da análise do *response ratio*, aonde nos pontos prístinos não houve resposta dos tratamentos enriquecidos nutricionalmente, nos pontos com perturbação intermediária o efeito de resposta foi ligeiramente positivo, e nos

trechos perturbados houve efeito de resposta positivo, tendo o tratamento N apresentado maior resposta que os demais – 3.25 vezes maior crescimento que o controle.

O rio STM apresenta razão N:P na água menor nos pontos perturbados ( $2.28 \pm 0.89$ ) em relação aos prístinos ( $8.04 \pm 3.64$ ). Desse modo, o aumento da concentração de fosfato com o impacto poderia ter causado uma limitação por nitrogênio nestes ambientes – já que o contrário tem sido visto na literatura: aumento de N levando à limitação por P (Biggs and Close 1989, Liess *et al.* 2009a, Liess *et al.* 2012). De fato, a limitação por nitrogênio tem sido detectada em vários rios temperados (Lohman *et al.* 1991, Tank & Dodds 2003, Ludwig *et al.* 2008, Stephens *et al.* 2012) e tropicais (Downing *et al.* 1999, Flecker *et al.* 2002). Sendo o nitrogênio apontado como o nutriente limitante prevalecente em ambientes tropicais, embora diferenças regionais possam afetar a limitação (Downing *et al.* 1999).

Considerando apenas o tratamento controle (sem adição de nutrientes) neste rio, os sítios prístinos apresentaram menores valores de crescimento que os demais. O mesmo padrão foi observado quando se consideram os tratamentos P e NP isoladamente. Já para o tratamento enriquecido de nitrogênio, além dos pontos prístinos apresentarem menores valores de clorofila *a*, há a diferenciação entre os ambientes perturbados e com perturbação intermediária – aonde estes tem menores valores que aqueles. Este resultado é particularmente interessante por evidenciar que os tratamentos controle poderiam ser usados como substratos para o crescimento do perifíton em procedimentos de avaliação de impacto antrópico. E os tratamentos com o nutriente limitante (no caso nitrogênio) são sensíveis, inclusive, às perturbações intermediárias.

No rio Anil não foi possível observar limitação de nenhum nutriente à partir da diferenciação do crescimento perifítico nos NDS. No entanto, considerando-se o *response ratio* dos tratamentos enriquecidos nutricionalmente em relação ao controle, o tratamento P apresentou maior efeito de resposta nos sítios com perturbação intermediária e perturbados, indicando uma possível limitação por fósforo nesses ambientes. A limitação nutricional da comunidade perifítica por fósforo também foi reportada na literatura (Fairchild *et al.* 1985, Pringle & Triska 1991, Pan and Lowe 1994 e Gosh & Gaur 1994), também em rios tropicais (Pringle *et al.* 1986 e Larned & Santos 2000), inclusive no Brasil (Mendes e Barbosa 2002), devido especialmente ao fato do fosfato tender a se ligar à argila e se tornar limitante (Dodds 2002a). Aliás, observações pessoais de alguns pontos impactados do rio Anil, de fato indicam que este rio apresenta substrato de argila em muitos trechos.

Ainda, limitação nutricional por nitrogênio no rio Santa Maria e por fósforo no rio Anil é particularmente interessante ao se observar o tipo de uso do solo predominante em

cada córrego. No Santa Maria, o desmatamento da vegetação ripária é, em grande parte, para a pecuária, enquanto que no Anil é para a agricultura. Considerando que o esterco do gado é rico em fósforo e que os fertilizantes utilizados na agricultura são ricos em nitrogênio (Downing and McCauley 1992, Souza 2007, Kosten *et al.* 2009), a limitação por N no STM pode ter ocorrido devido ao maior enriquecimento de P por conta do gado, ao passo que a limitação por P no ANL pode ter ocorrido devido ao maior enriquecimento de N por conta da agricultura.

Já para o rio Itaperiti, de fato não há limitação nutricional, independente da categoria de uso e cobertura do solo considerada. Outros trabalhos também relatam a ausência de limitação nutricional da comunidade perifítica (Johnson *et al.* 2009). Inclusive, Francoeur (2001) resumiu 237 experimentos de NDS usando a clorofila *a* como resposta e achou que a maioria dos experimentos (43%) não foram limitados nem por nitrogênio nem por fósforo.

No caso do rio Itaperiti, dentre os rios estudados, este é o que apresentou maior porcentagens de floresta e, portanto, menores porcentagens de desmatamento, o que – de acordo com o exposto até então – influencia na ausência de limitação nutricional. Mas, essa falta de resposta autótrofa à adição de nutrientes pode ser associada a outros fatores além da disponibilidade de luz, tais como a influência de invertebrados pastadores e/ou a lavagem do substrato como resultado de altas vazões (Steinman 1996, Biggs and Close 1989). De fato, o enriquecimento nutricional provoca um aumento no status nutricional perifítico (como mostrado nos dados de estequiometria) e da produtividade primária (explicitado no experimento de crescimento), que levaria a um aumento da biomassa de pastadores em vez de um aumento no estoque algal (Feminella and Hawkings 1995), o que é necessário para se acessar o crescimento perifítico. Inclusive, Lourenço-Amorim e colaboradores (2014) mostraram que a resposta das algas perifíticas ao enriquecimento nutricional foi maior na ausência de herbívoros, de modo que estes efeitos top-down podem amortecer a resposta à adição de nutrientes – o que pode ter acontecido no rio Itaperiti.

A luz, em geral, controla o crescimento perifítico (Hill 1996, Mullhollan *et al.* 2001, Bernhardt and Likens 2004) e a resposta aos nutrientes (Hepinstall and Fuller 1994, Larned and Santos 2000, Mosich *et al.* 2001). O uso do solo frequentemente influencia a ambos, luminosidade e disponibilidade de nutrientes, obscurecendo as relações entre os biofilmes autótrofos e as mudanças do uso do solo (Greenwood and Rosemond 2005, von Shiller *et al.* 2007, Johnson *et al.* 2009).

### 5.3. Crescimento e Acúmulo

Os resultados mostram que os trechos perturbados tiveram maior estoque algal que os de perturbação intermediária e prístinos - resultado significativo para o rio Itaperiti; de modo que este aspecto aparenta ter sido sensível às diferenças de trechos com perturbação intermediária e perturbados. Considerando que a concentração de clorofila *a* apresentou relação negativa com a porcentagem de floresta e relação positiva com a correnteza da água e temperatura, a combinação de alta intensidade luminosa, correnteza e temperatura nos sítios perturbados estimulou o maior estoque algal nestes trechos.

A temperatura foi relatada na literatura como fator estimulante à maior biomassa perifítica (Ren *et al.* 2013) à medida que regula reações químicas como fixação de nitrogênio e outras reações enzimáticas (DeNicola 1996, Caissie 2006).

A biomassa perifítica, de fato, é reduzida quando em condições de sombreamento (Davies and Nelson 1994, Rutherford *et al.* 1997, Quinn 2000, Mosisch *et al.* 2001, Sekar 2002, Mallory and Richardson 2005, von Schiller *et al.* 2007, Villeneuve *et al.* 2010, Stephens *et al.* 2012, Kohler *et al.* 2012), independente da concentração nutricional encontrada na água (McCall 2014, Johnson *et al.* 2009), indicando que esta variável física é a principal determinante no acúmulo algal e o principal fator limitante para a produtividade primária (McTammany *et al.* 2007),, como também mostrado nos resultados dos NDS .

Altos valores de biomassa algal são considerados como um sintoma de rios não-saudáveis, à medida que sistemas minimamente impactados tendem a apresentar menores concentrações nutricionais e maior sombreamento pela vegetação ripária, o que limita a biomassa das algas perifíticas (Mosisch *et al.* 1999). De fato, os resultados mostraram que a biomassa algal aumentou proporcionalmente à perturbação, à medida que os sítios com perturbação intermediária apresentaram valores intermediários de biomassa e pontos perturbados, os maiores valores. Estando de acordo com o reportado na literatura (Corkum 1996, McTammany *et al.* 2007).

Já a velocidade da correnteza pode reduzir a biomassa algal através da lavagem do substrato (Biggs and Gerbeaux 1993, Bourassa and Cattaneo 1998) ou aumentá-la através do aumento de transferência de nutrientes para a malha algal (Horner *et al.* 1990, Stevenson 1996, Quinn *et al.* 1997, Davies and Mitrovic 2014). Na verdade, a lavagem superficial proporcionada pela correnteza pode também aumentar o crescimento algal (Stevenson 1984, Grimm and Fisher 1989, Tsai *et al.* 2014) porque as perdas de algas bênticas, como resultado

desse processo, são contrabalançadas com um aumento do crescimento e da fotossíntese (Horner *et al.* 1990, Stevenson 1996). A relação positiva da biomassa algal com a correnteza indica que, nas velocidades encontradas, os efeitos benéficos da correnteza na renovação das camadas de contato sobrepujam os efeitos negativos de atrito (Steinman and McIntire 1986, Ryder 2006, Moulton *et al.* 2009).

A partir da comparação da biomassa algal por clorofila *a* acessada no experimento dos azulejos e a biomassa algal acessada nos potes controle (sem adição de nutrientes) no experimento de NDS, pode-se perceber que ambas as abordagens foram úteis na identificação da perturbação dos ambientes à medida que apresentaram relações negativas com a porcentagem de floresta e positivas com a correnteza. O interessante é que os potes controle de NDS pareceram ser mais eficazes na avaliação do gradiente de perturbação que os azulejos, pois as relações com a porcentagem de floresta foram muito mais estreitas e significativas ( $R^2=0.62$ ,  $p=0.001$ ) que as encontradas nos azulejos ( $R^2=0.17$ ,  $p=0.006$ ). Em tempo, a clorofila *a* acessada nos potes controles de NDS apresentou relação positiva, também, com a temperatura ( $p=0.05$ ), sendo sensível a mais uma variável relacionada ao gradiente de perturbação. De fato, os potes controle de NDS foram apontados na literatura como indicadores das condições ambientais dos córregos (Fellows *et al.* 2006, Udy *et al.* 2006). Talvez os filtros dos NDS, por serem porosos, funcionaram como melhor substrato para a colonização perifítica.

Não obstante os sítios perturbados terem apresentado maior estoque perifítico em termos de clorofila *a*, a comunidade perifítica também apresentou maior taxa de crescimento em relação ao impacto. O aumento da taxa de crescimento relacionado a situações de alta luminosidade também foi encontrado na literatura (Greenwood and Rosemond 2005, McCall 2014).

No rio Santa Maria, os sítios prístinos e de perturbação intermediária foram mais semelhantes entre si em relação à curva de crescimento, tendo uma alta taxa de crescimento inicial no dia 8 e depois o crescimento diminuiu e estabilizou. Já os trechos perturbados apresentaram maior taxa de crescimento no dia 15 de experimento, se assemelhando a uma curva de crescimento logística.

No rio Anil, por sua vez, os pontos prístinos aparentaram ter a curva de crescimento logística, com o maior crescimento no dia 15 de experimento; os sítios com perturbação intermediária aparentaram, ligeiramente, ter tido o mesmo tipo de curva de crescimento que os prístinos; e os trechos perturbados apresentaram uma curva de crescimento semelhante à

exponencial, com o aumento da taxa de crescimento ao longo do tempo, e com o maior valor no último dia de experimento.

No rio Itaperiti as três categorias de uso e cobertura do solo aparentaram seguir a curva de crescimento exponencial – com a maior taxa de crescimento no dia 22 de experimento – embora o padrão tenha sido mais pronunciado nos trechos perturbados.

Assim, considerando o aspecto da taxa de crescimento da comunidade perifítica nos rios STM e ANL, os sítios com perturbação intermediária se assemelharam aos prístinos. Sugerindo que, possivelmente, a perturbação encontrada nestes trechos intermediários ainda não os tenha afastados das condições prístinas, em relação a este aspecto. Já no rio Itaperiti, possivelmente não houve perturbação o suficiente para que tenha ocorrido diferença nas curvas de crescimento – assim como não foi possível observar nenhuma limitação nutricional no rio em questão.

Há de se ponderar que as verdadeiras taxas de crescimento não puderam ser determinadas a partir desses dados uma vez que a colonização e as taxas de perda são desconhecidas (Sand-Jensen 1983, Bothwell and Jasper 1983). No entanto, as estimativas de crescimento aqui apresentadas sugerem que as assembleias perifíticas, nos trechos perturbados, apresentam um maior potencial de recuperação frente à perturbações na comunidade – o que é esperado à medida que a resiliência da comunidade aumenta com o enriquecimento nutricional (Biggs *et al.* 1999).

A biomassa perifítica acessada por massa seca e por massa seca livre de cinzas seguiu o mesmo padrão. Nos rios Santa Maria e Anil, os pontos com perturbação intermediária apresentaram maior quantidade de massa seca, MSLC (matéria orgânica – resultado significativo estatisticamente) e matéria inorgânica que os perturbados e os prístinos. No rio anil, os sítios de perturbação intermediária tinham uma forte inclinação na margem, pois o córrego era afunilado e mais fundo, de acordo com a perturbação, o que pode ter acarretado maior deposição de sedimentos na comunidade perifítica. No entanto, apesar dos trechos com perturbação intermediária terem apresentado os maiores valores de MO e MI, os sítios perturbados mostraram o maior incremento de MO e MI em relação ao segundo dia de experimento.

Já no Itaperiti, os sítios perturbados apresentaram maior biomassa em termos de massa seca, MSLC (MO) e matéria inorgânica que os de perturbação intermediária e os prístinos. O maior valor de MSLC em sítios cujo uso do solo adjacente é de agricultura também foi relatado em outros trabalhos na literatura (McTammany *et al.* 2007), devido ao maior carregamento de sedimentos das margens para o corpo hídrico (Karr and Schlosser 1978,



Waters 1995); ainda, o sombreamento foi relatado por diminuir a massa seca livre de cinzas (MSLC) do biofilme em quatro a cinco vezes (Lowe *et al.* 1986, Hill and Knight 1988, McCall 2014).

Ainda, a falta de correlação significativa da massa seca da comunidade com a maioria das variáveis abióticas pode ter ocorrido, provavelmente, devido à considerável fração inorgânica – constituída basicamente por detritos –, que compõe a comunidade (Martin e Fernandes 2011). Inclusive, o elevado percentual de cinzas na comunidade perifítica é frequentemente registrado, especialmente em ambientes sujeitos à entrada de material alóctone (Fernandes 1998). Tendo em vista apenas o último dia de experimento, o percentual de matéria inorgânica na comunidade perifítica foi, de fato, muito elevado. A menor representação encontrada foi nos trechos prístinos do Anil, aonde corresponde a 47.7% da comunidade, e a maior foi nos sítios com perturbação intermediária deste mesmo rio, correspondendo a 90% do peso seco. No entanto, estes percentuais são mais elevados que os registrados na literatura. Outros estudos relatam uma representatividade de 20% das cinzas no peso seco (Sládeck 1963).

A correnteza teve forte relação com o aumento da quantidade de clorofila *a* ( $p=0.021$ ), apresentou alguma relação com a quantidade de matéria orgânica (apenas no rio ITA,  $p=0.013$ ) e nenhuma relação com a quantidade de massa seca da comunidade perifítica. Considerando o exposto, especula-se que esta variável teve maior influência na porção autotrófica (refletida na quantidade de clorofila *a*) da assembleia que na heterotrófica (refletida na quantidade de MSLC e MS, junto com autótrofos). A intensidade luminosa, refletida na porcentagem de perturbação, e a temperatura, também tiveram influência apenas na porção autótrofa da comunidade perifítica à medida que tiveram relação positiva significativa para a concentração de clorofila *a* ( $p=0.006$  e  $p=0.005$ , respectivamente), e não apresentaram relação com a massa seca e a massa seca livre de cinzas. A questão da correnteza influenciando a porção autótrofa da comunidade perifítica observada em outros estudos (Guasch and Sabater 1995, Villeneuve *et al.* 2010). Todas as três medidas de biomassa perifítica – clorofila, MSLC e MS – apresentaram relação positiva com a concentração de amônio, no rio Itaperiti, sugerindo que esta variável química tem influência em ambas as porções auto e heterotrófica da assembleia.

A porcentagem de clorofila da comunidade é usada como índice da biomassa fotoautótrofa total do perifíton (Steinman *et al.* 2006). Esta variável respondeu significativamente à porcentagem de desmatamento, enquanto que MSLC não. Isto sugere que ou o conteúdo de clorofila dos autótrofos aumentou por unidade de biomassa autótrofa no

gradiente de desmatamento, ou que a razão da biomassa autótrofa/não autótrofa aumentou sem alterar o acúmulo total de biomassa perifítica. De todo o modo, este resultado corrobora o sugerido, anteriormente, de que a luminosidade influencia a porção autótrofa da assembleia, apenas.

#### 5.4. Composição taxonômica

##### 5.4.1 Grandes grupos

Considerando os grandes grupos identificados neste estudo, observou-se que, seguindo o gradiente pristino-perturbação intermediária-perturbado, a porcentagem de diatomáceas aumentou, assim como a de zignematofíceas, zoobentos e cianobactérias; já a porcentagem de clorófitas e protozoa diminuiu.

O aumento da abundância de cianobactérias com a perturbação se deve a uma série de motivos. As cianobactérias toleram maiores temperaturas que os demais grupos (Duncan & Blinn 1989 e DeNicola 1996), valores estes mais altos de acordo com o impacto; e também apresentaram relação positiva com a luminosidade (Duncan & Blinn 1989). Não obstante, o aumento da concentração de fósforo está relacionado a um aumento de cianobactérias (Downing 2001 e McCall 2014). Isto se deve à habilidade de algumas espécies de fixar o nitrogênio (Schindler 1977), constituindo uma vantagem competitiva à medida que elimina a limitação de recursos, permitindo que este grupo responda à um aumento de fósforo (Schindler *et al.* 2008 e Vrede *et al.* 2009).

A quantidade de nitrogênio também aumenta de acordo com o gradiente de perturbação, considerando que as cianobactérias são consideradas boas competidoras em baixas concentrações de nitrogênio (Lewis 1976), isto iria contra o que foi observado. No entanto, em alguns estudos o que controla o aumento das cianobactérias é a alta concentração de fósforo, e não a baixa concentração de nitrogênio (McCall 2014); inclusive, embora a fixação de nitrogênio seja importante, não é o único fator que afeta a dominância de cianobactérias (Ferber *et al.* 2004). Ainda há de se considerar que alguns trabalhos acharam relação positiva entre a abundância de cianobactérias e a concentração de NO<sub>3</sub>-N (Duncan & Blinn 1989).

As algas verdes Zignematofíceas tiveram sua abundância aumentada em função do aumento do gradiente de impacto, onde há maior luminosidade. Isto é devido ao fato dos indivíduos da ordem Zignematales apresentarem requisitos inerentes à alta intensidade luminosa (Lyford and Gregory 1975, Shortreed and Stockner 1983).

Neste estudo, a porcentagem de clorófitas diminuiu de acordo com o impacto, ao passo que a de diatomáceas aumentou. Embora as clorófitas sejam descritas na literatura como melhores competidores por luz que as diatomáceas (Richardson *et al.* 1983, Steinman and McIntire 1987, Langdon 1988, Duncan & Blinn 1989, Poulicková *et al.* 2008), nem sempre elas requerem altas intensidades luminosas para aumentar sua abundância, podendo também ser abundantes em ambientes sombreados (Steinman 1992 e Hill *et al.* 1995); também, é relatado na literatura a diminuição da porcentagem de clorófitas e um aumento de diatomáceas relacionados aos maiores estoques de clorofila (Chételat *et al.* 1999) – tendo sido encontrado neste trabalho relação significativa de diatomáceas com a quantidade de clorofila para os rios STM e ANL.

Além disso, considerando biofilmes que crescem em condições de muita luz (caso dos sítios perturbados), observa-se uma sucessão em três fases iniciada por dominância de algas verdes e seguida por dominância de diatomáceas e, por fim, de cianobactérias (Sekar *et al.* 2002) – a composição taxonômica poderia ter sido determinada na segunda fase de sucessão descrita. Em tempo, em condições de concentrações de nutrientes intermediárias, as diatomáceas perifíticas podem apresentar diversidade elevada (Lobo *et al.* 1995; Jüttner *et al.* 2003, Bere and Tundisi 2011). Por fim, o aumento da abundância de diatomáceas com a perturbação, e conseqüentemente, com o aumento da concentração de fósforo pode ter sido explicado pelo fato deste táxon apresentar maior requerimento de fósforo que as clorófitas (Quigg *et al.* 2003).

#### 5.4.2 Distribuição de abundância dos táxons

As distribuições de abundância de espécies trazem luz aos processos que determinam a diversidade ecológica numa assembléia. Isso vem da premissa que a abundância, até um determinado ponto, reflete o sucesso da competição por recursos limitados. Neste contexto, os gráficos de ranqueamento da abundância de espécies constituem um método eficiente de se

ilustrar mudanças através da sucessão ou de um gradiente de impacto ambiental (Magurran 2004).

Considerando os modelos de distribuição de abundância, os dados mostrados em um gráfico podem dar uma ideia do modelo apropriado, embora seja necessário um ajuste matemático para garantir a certeza do modelo escolhido (Magurran 1988, Krebs 1999). Fazendo uma análise superficial dos gráficos de ranqueamento de espécies, eles se assemelham aos modelos intermediários de série logarítmica e de distribuição logaritmo-normal, aonde a maioria das espécies apresenta abundâncias intermediárias. Ou seja, este padrão “J invertido”, ao qual pertencem os modelos de distribuição log-normal e log-series, caracteriza que espécies tomadas ao acaso tenham uma chance muito pequena de serem dominantes.

Através desta análise superficial, especula-se que nos pontos prístinos, por aparentar ser uma distribuição log-series, a distribuição da abundância das espécies é resultante de espécies chegando num habitat a intervalos de tempos irregulares, antes que a espécie anterior ocupe totalmente a fração de nicho potencial (Magurran 2004); o pequeno número de espécies dominantes e o grande número de espécies raras, previsto pela distribuição log-series, implica que há maior aplicabilidade em situações aonde um ou poucos fatores dominam a ecologia da assembleia (Magurran 2004); por exemplo, este modelo foi o previsto para a abundância da flora em uma floresta de coníferas aonde a luz era um fator limitante (Magurran 1988); situação essa semelhante à encontrada nos trechos prístinos.

Já nos pontos com perturbação intermediária e perturbados, por aparentarem ter maior aproximação à distribuição log-normal, as espécies coexistem em condições de competição parcial, em vez de direta, com adaptações promovendo uma diferenciação de nicho sem uma exclusão competitiva de um habitat (Magurran 2004). Inclusive, as assembleias de diatomáceas são descritas por seguirem esta distribuição (Sugihara 1980). Considerando que a proporção de diatomáceas aumentou consideravelmente em função da perturbação, esta distribuição parece fazer sentido para os sítios mais perturbados.

#### 5.4.3 Gêneros

Considerando a representatividade de cada táxon identificado em função das categorias de uso e cobertura do solo, algumas considerações podem ser feitas. Os sítios

perturbados apresentaram a maior abundância relativa de pequenas diatomáceas. Este grupo caracteriza micro e nanoalgas que não foram identificadas no microscópio devido ao seu diminuto tamanho. Este resultado é contrário ao esperado pela teoria da razão superfície:volume, aonde células com maiores razões (e, portanto, menores volumes em relação à superfície) deveriam ser mais aptas a adquirir os nutrientes em baixas concentrações. Diversos estudos exemplificam a diminuição do nano e picoperifíton em função do estado trófico ambiental (Watson & Kalff 1981, Cattaneo *et al.* 1997, Schallenberg & Burns 2001, Ferragut & Bicudo 2010).

Alguns gêneros tiveram um aumento da abundância relativa no gradiente de impacto. Dentre eles, destacam-se as diatomáceas *Amphipleura* sp., *Cymbella* sp., *Nitzchia* sp. e *Stauroneis* sp., as cianobactérias *Raphidiopsis* sp. e *Gloecapsa* sp., e a zignematofícea *Netrium* sp. Algumas espécies do gênero *Amphipleura* estão descritas como adaptadas a altas concentrações de P e N (Potapova *et al.* 2007); além disso, neste trabalho *Amphipleura* sp. apresentou forte relação positiva com a velocidade de correnteza, podendo ter sido o principal fator para a maior abundância do táxon em questão nos sítios perturbados – com maior correnteza.

*Cymbella* sp., por exemplo, é tolerante à poluição orgânica (Lobo *et al.* 2002), tendo alta resposta ao enriquecimento de nutrientes e sendo adaptada a muitos distúrbios (Passy *et al.* 2007) e a altas intensidades luminosas (Bothwell *et al.* 1993), este último encontrado no trabalho ( $F_{1,13}=6.04$ ,  $p=0.029$ ). Não obstante, o gênero apresentou forte relação positiva com a velocidade de correnteza da água, podendo, junto com a intensidade luminosa, ter sido o principal fator para a maior abundância do táxon nos sítios perturbados.

As espécies do gênero *Nitzchia* estão relacionadas com a tolerância à poluição (Van Dam *et al.* 1994, Krammer e Lange-Bertalot 1988, Lobo 2002, Vercellino 2007) e a altas concentrações de N e P (Potapova *et al.* 2007, Rusanov *et al.* 2012), sendo consideradas indicadores de eutrofização por fósforo (Bellinger *et al.* 2006) e sendo sensíveis à depleção de nutrientes (Franceschini *et al.* 2010); além disso, são encontradas em ambientes não sombreados (Quinn *et al.* 1997). O gênero *Raphidiopsis* é relacionado a ambientes quentes (Padisak *et al.* 2009, Dantas 2010).

No gênero *Stauroneis*, o aumento da abundância com o impacto foi, principalmente, por conta do aumento da concentração de amônio. Este resultado é contraditório uma vez que, na literatura, este táxon está relacionado a ambientes com baixas concentrações de nitrogênio e à boa qualidade da água (Potapova *et al.* 2007, Bere 2011).

A diatomácea *Gyrosigma* sp. apresentou abundância crescente entre pristino e perturbação intermediária, não tendo sido encontrado em trechos perturbados. Apesar de não ter sido encontrada nos trechos mais perturbados, o aumento da abundância do gênero *Gyrosigma* no gradiente pristino-perturbação intermediária corrobora o fato deste gênero estar melhor adaptado à ambientes com altas concentrações de fósforo e nitrogênio (Potapova *et al.* 2007) e com menores graus de sombreamento (Quinn *et al.* 1997).

Outros táxons não foram encontrados em trechos prístinos, mas também tiveram a abundância relativa aumentada no gradiente perturbação intermediária-perturbado, como é o caso da clorófita *Sphareoplea* sp. e da cianobactéria *Wolleea* sp. Já a cianobactéria *Nostoc* sp. não foi encontrada em ambientes prístinos, mas teve abundâncias similares em sítios com perturbação intermediária e perturbados. O aumento de cianobactérias relacionado ao enriquecimento nutricional é reportado na literatura (Downing *et al.* 2001, Poulicková *et al.* 2006); apesar das espécies do gênero *Nostoc* serem relacionadas a baixas concentrações de nitrogênio, por serem fixadoras de nitrogênio (Oliveira *et al.* 2013), ainda assim podem ser encontradas relações positivas entre essas variáveis – sendo considerado um taxa N-tolerante (Yu and Lin 2009).

Ainda, há gêneros que só estiveram presentes nos sítios perturbados, tais como as clorófitas *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp. e *Pseudendoclonium* sp., as zignematofíceas *Mougeotia* sp. e *Actinotaenium* sp. e a cianobactéria *Cylindrospermum* sp.; ou que tiveram maior abundância nos sítios perturbados em relação aos demais, como é o caso da zignematofícea *Cosmarium* sp. e da diatomácea *Pleurosigma* sp. O gênero *Spirogyra* é caracterizado por estar presente em sítios não sombreados (Quinn *et al.* 1997), por dominarem a assembleia perifítica quando há mais fósforo (McCormick and O'Dell 1996) e por serem adaptados a maiores velocidades de correnteza à partir da produção de rizóide, que permite sua fixação no substrato (Hehr 2003) – este último o que foi encontrado neste estudo. *Mougeotia* sp. é descrita como sensível à deficiência de nutrientes (Franceschini *et al.* 2010), tendo maior abundância em ambientes ricos em P (McCormick and O'Dell 1996) e perturbados (Morgan *et al.* 1987); o fato das espécies deste gênero serem tolerantes à deficiência de luz (Franceschini *et al.* 2010), permite que estejam presentes em ambientes mais profundos e misturados (Padisak *et al.* 2009, Dantas 2010).

As espécies do gênero *Cosmarium* estão relacionadas a ambientes mesotróficos e mais profundos (Padisak 2009, Dantas 2010), embora possam tolerar a deficiência nutricional (Franceschini *et al.* 2010). Enquanto o gênero *Pleurosigma* está relacionado a ambientes com altas concentrações de N e P (Potapova *et al.* 2007). O fato do gênero *Ulothrix* ter sido

encontrado apenas em ambientes perturbados condiz com o descrito para este gênero na literatura, aonde foi achado em ambientes perturbados (Morgan *et al.* 1987), até mesmo logo à jusante de uma fonte de efluente (Niyogi *et al.* 1999).

Os gêneros a seguir apresentaram maior abundância nos pontos com perturbação intermediária, em relação aos prístino e perturbados: as diatomáceas *Fragillaria* sp., *Staurosira* sp., *Nupela* sp. e *Pinnularia* sp. As espécies do gênero *Fragillaria* tem maior preferência por condições de baixa luminosidade, suportando menores temperaturas e sendo mais competitivas em ambientes mesotróficos com distúrbios frequente – i.e., baixo estresse e alto distúrbio ambiental (Franceschini *et al.* 2010), sendo comuns em ambientes que receberam alguma quantidade de nutrientes, mas com relativamente pouca velocidade de correnteza (Stelzer and Lamberti 2001, Passy *et al.* 2007); embora os outros parâmetros corroborem a distribuição do gênero, este último parâmetro, em especial, foi o oposto do encontrado neste trabalho, aonde *Fragillaria* sp. apresentou forte relação positiva com a velocidade da correnteza.

Já o gênero *Pinnularia*, apresentou abundância ligeiramente maior nos pontos com perturbação intermediária, mas sendo relativamente constante em todas as categorias de uso e cobertura do solo. De acordo com a literatura, o táxon tem preferência por correnteza (Ghosh and Gaur 1998), sendo característico de ambientes com má qualidade (Van Dam *et al.* 1994, Bere 2011) e encontrado em ambientes não sombreados (Quinn *et al.* 1997) – o que foi o oposto do encontrado no estudo, aonde o táxon em questão apresentou relação positiva com a canópia. No entanto, como algumas espécies de *Pinnularia* são encontradas apenas em ambientes não perturbados e outras, apenas em ambientes perturbados (Morgan *et al.* 1987), a identificação a nível genérico não parece ter sido suficiente para este táxon.

Alguns gêneros apresentaram um decréscimo de abundância entre prístino-perturbação intermediária-perturbado, como as diatomáceas *Surirella* sp., *Frustulia* sp., *Rhoicosphenia* sp. e *Diadsmis* sp. e as clorófitas *Microspora* sp. e *Rhizoclonium* sp. Algumas espécies do gênero *Microspora* são tidas como indicadores de alta qualidade biológica da água (Van Dam *et al.* 1994, Rusanov *et al.* 2012). Algumas espécies do gênero *Frustulia* são descritas como menos tolerantes à poluição (Van Dam *et al.* 1994, Lobo *et al.* 2002, Rusanov *et al.* 2012), tendo maior abundância em ambientes com menores concentrações de N e P (Potapova *et al.* 2007) e não perturbados (Morgan *et al.* 1987) – de fato, a maior abundância de *Frustulia* sp. nos sítios perturbados, neste estudo, ocorreu devido às altas concentrações de fosfato, no rio Anil ( $p=0.038$ )

*Rhoicosphenia* sp. geralmente é associado à abundância de filamentosas (Chételat *et al.* 1999), e é encontrado em ambientes sombreados (Quinn *et al.* 1997). O padrão de abundância do gênero *Surirella* é divergente ao encontrado na literatura, aonde o táxon é descrito com maior abundância de acordo com o aumento da concentração de nutrientes (Passy *et al.* 2007, Potapova *et al.* 2007, Bere and Tundisi 2011), caracterizando sítios eutróficos (Rusanov *et al.* 2012); ainda, a diminuição da abundância no gradiente de impacto de *Surirella* sp. – e *Microspora* sp. – possivelmente ocorreu devido à diminuição da cobertura da canópia, uma vez que ambos os táxons apresentaram relação positiva com a cobertura da canópia. Em tempo, *Rhizoclonium* sp. é descrito como associado ao enriquecimento de nutrientes (Biggs and Price 1987) e dominante em altas intensidades luminosas (Sommer 1996), oposto do encontrado neste estudo, aonde há maior abundância nos trechos prístinos.

A diatomácea *Amphora* sp. apresentou maior abundância nos trechos prístinos em relação aos com perturbação intermediária e perturbados ( $p=0.07$ ), enquanto a diatomácea *Aulacoseira* sp. teve sua abundância diminuída entre prístino-perturbação intermediária, não sendo encontrado em ambientes perturbados. *Amphora* sp. é descrita na literatura como presente em ambientes com poucos nutrientes (Passy *et al.* 2007), condizente com o encontrado no estudo; em tempo, este padrão de *Amphora* sp. ocorreu, possivelmente, por conta da cobertura da canópia, visto que o táxon apresentou forte relação positiva com a canópia. Algumas espécies do gênero *Aulacoseira* são descritas como tolerantes à deficiência de luz (Padisak *et al.* 2009 e Dantas 2010), em conformidade com o encontrado, no entanto também são descritas como mais competitivas em ambientes mesotróficos com distúrbios frequentes (Franceschini *et al.* 2010, Dantas 2010) e indicadoras de ambientes hipereutróficos (Van Dam *et al.* 1994, Rusanov *et al.* 2012), oposto do encontrado.

Alguns outros padrões foram encontrados. Por exemplo: as diatomáceas *Encyonema* sp. e *Encyopnopsis* sp. apresentaram menor abundância em sítios perturbados, em relação aos com perturbação intermediária, não sendo encontrados em prístinos; as espécies desses gêneros são atribuídas a ambientes mais rasos (Padisak *et al.* 2009) e a ambientes com menores concentrações de nitrogênio e fósforo (Potapova *et al.* 2007).

Resumindo, foi possível observar a mudança na composição de gêneros da comunidade perifítica ao longo do gradiente de perturbação. Houve um aumento de táxons tolerantes à poluição nos sítios perturbados (Lobo *et al.* 1995, Jüttner *et al.* 2003), tais como as diatomáceas *Nitzschia* sp., *Cymbella* sp., *Pleurosigma* sp. e *Gyrosigma* sp., as zignematofíceas *Cosmarium* sp. e *Mougeotia* sp. e as clorofíceas *Ulothrix* sp. e *Spirogyra* sp.



Também houve uma diminuição, no gradiente de perturbação, de táxons não tolerantes à poluição, tais como as diatomáceas *Frustulia* sp. e *Amphora* sp. e a clorófita *Microspora*.

O único resultado significativo estatisticamente para a presença/ausência das espécies algais foi a cobertura da canópi e para abundância, foi a concentração de fosfato. Assim, enquanto a intensidade luminosa é o fator dominante para a presença das espécies, a concentração de fosfato determina as suas abundâncias. Outros estudos demonstraram que a concentração de fósforo é um fator ambiental importante para determinar a composição das assembléias algais (Rusanov *et al.* 2012), bem como a densidade dos táxons (Murakami e Rodrigues 2009). Além disso, em experimentos de NDS, o enriquecimento de fósforo é o principal dirigente na estruturação da estrutura de espécies da comunidade perifítica (Ferragut & Bicudo 2009, 2010).

#### 5.4.4 Parâmetros de riqueza e diversidade

Apesar de menos ricos, os trechos prístinos exibiram os menores valores de dominância e os maiores de equitabilidade, sendo, portanto, a categoria de uso e cobertura do solo mais diversa. Os trechos com perturbação intermediária foram os mais ricos, mas tiveram dominância intermediária e a menor equitabilidade, culminando em valores intermediários de diversidade. Já os trechos perturbados apresentaram riqueza intermediária, mas foram os pontos com maior dominância e equitabilidade intermediária, constituindo a categoria de uso e cobertura do solo menos diversa.

Durante muitos anos foi discutido que a redução da diversidade biológica deveria ser um dos primeiros e mais sensíveis sinais de resposta do ecossistema à perturbação (Odum 1985, Rapport *et al.* 1985, Nelson *et al.* 2013), neste estudo, de fato, a diversidade aumentou com a porcentagem de floresta no rio Itaperiti.

Estudos têm demonstrado, também, que a diversidade de espécies perifíticas diminuiu com a poluição (Lobo *et al.* 1995, Juttner *et al.* 2003, DeNicola and Kelly 2014), configurando uma das principais causas para a perda de biodiversidade (Suding *et al.* 2005); os resultados suportam esta idéia para o Santa Maria, aonde a diversidade diminuiu com a concentração de fosfato ( $p=0.056$ ).

Além disso, as espécies perifíticas apresentam uma gama de estratégias para a aquisição de nutrientes e é menos provável que um único nutriente seja limitante em

condições de oligotrofia que de eutrofia (Carrick *et al.* 1988). Assim, a diversidade de táxons deve ser menor em condições eutróficas porque poucas espécies especialistas são capazes de adquirir um único elemento limitante eficientemente (Tilman *et al.* 1982). Não obstante, o aumento da dominância, e a redução da equitabilidade das espécies aparentam ser respostas bem gerais à fertilização, que vem sendo observadas em diversos ecossistemas (Hillebrand *et al.* 2007, Nelson *et al.* 2013).

O aumento da riqueza de espécies nos sítios perturbados e com perturbação intermediária aparenta ser contraditório, embora outros estudos tenham observado o mesmo padrão (Morgan 1987, Griffith *et al.* 2002) também em relação à intensidade luminosa – maior riqueza de espécies perifíticas em ambientes com mais luz (Sekar *et al.* 2002). Isto pode ter ocorrido, possivelmente, devido à camada de biofilme mais grossa com o impacto (maior crescimento) e, dentro desta camada, há gradientes de depleção de nutrientes e atenuação da intensidade luminosa (Stevenson *et al.* 1996). A criação de novos habitats permite a acomodação de diferentes espécies com a forma de crescimento mais apropriada, já que diferentes espécies com diferentes razões superfície/volume também diferem na absorção de nutrientes e na taxa fotossintética (Steinman *et al.* 1992).

## 5.5. Estequiometria

As razões estequiométricas C:N:P não foram diferentes estatisticamente para as categorias estudadas, à exceção do rio Itaperiti – aonde as razões C:N e C:P foram maiores nos sítios com perturbação intermediária que nos demais sítios.

Já em relação à porcentagem de perturbação e de área aberta, nos rios Santa Maria e Itaperiti, as razões C:N e C:P diminuíram – indicando que a perturbação considerada em ambas as escalas, local e um pouco mais à montante, influencia na composição estequiométrica da comunidade perifítica. Também, as concentrações de amônio e fosfato do rio tiveram relação inversamente proporcional com as razões C:N e C:P, respectivamente (i.e. maiores concentrações de nutrientes, menores razões C:nutrientes).

Apesar da hipótese de luz : nutrientes atestar maiores razões C:nutrientes em maiores intensidades luminosas, ela só é válida em ambientes aonde as concentrações dos nutrientes são constantes (Stern *et al.* 1997). Os resultados mostraram que apesar da intensidade luminosa aumentar de acordo com o impacto, também aumentam as concentrações de

nutrientes e, portanto, a hipótese de luz : nutrientes não mais poderia ser aplicada neste estudo. Outros estudos mostram que a hipótese luz:nutrientes é aplicada em baixas concentrações de fósforo, aonde o conteúdo de P no perifíton diminui com o aumento da luminosidade; no entanto, o efeito da luminosidade no conteúdo de P do perifíton não foi significativo em altas concentrações de fósforo (Fanta *et al.* 2010).

As comunidades perifíticas apresentam consideráveis variações nas razões C:N e C:P (Cross *et al.* 2005), demonstrando que essas assembléias não são estritamente homeostáticas (Elser *et al.* 2000, Sterner and Elser 2002). Assim, neste estudo as razões C:nutrientes decresceram com as concentrações de nutrientes na água, o que é explicado pelo fato destas razões serem, sim, relacionadas com a concentração de N e P nos corpos hídricos, aonde o aumento das concentrações de N e P dos corpos hídricos provoca uma diminuição nas razões C:N e C:P (Stelzer e Lamberti 2001, von Schiller *et al.* 2007, Guariento *et al.* 2011, Martin e Fernandes 2011, Liess *et al.* 2012, Kohler *et al.* 2012).

No caso da razão C:N, a mesma diminuiu em função do aumento da concentração de amônio nos rios. As concentrações celulares de nitrogênio aumentam nas comunidades perifíticas situadas em trechos com uso intensivo de agricultura (Biggs *et al.* 1995), o que corrobora os resultados encontrados. No Santa Maria, a relação aparenta não ser linear, havendo uma forte relação negativa com a concentração de amônio até a concentração de  $2.4 \mu\text{g.L}^{-1}$ , a partir da qual a comunidade aparenta atingir um limiar de saturação. Isto pode ter ocorrido devido ao fato do amônio, um íon positivo, ser de fácil absorção pelos produtores primários (Conway 1977, McCarthy 1981), havendo uma alta afinidade por baixas concentrações de amônio (Reuter *et al.* 1986). A relação entre a diminuição da razão C:N com o aumento da concentração de nitrogênio na água pode indicar uma limitação de nitrogênio nos sistemas (Liess *et al.* 2012).

A razão C:P aparenta ser linear ao se considerar os rios STM e ANL. Isto sugere que a comunidade perifítica ainda não atingiu um limiar de saturação para o P. Para o Anil, os resultados são particularmente interessantes à medida que os pontos perturbados aparentam ser limitados por fósforo, o que também é sugerido à partir da forte relação linear ( $R^2=0.58$ ) entre o conteúdo de P da biomassa perifítica e a concentração de fosfato dos rios. Já para o Itaperiti, a falta de padrão na relação C:P e  $\text{PO}_4$  somado aos altos valores deste nutriente no rio, indicam uma possível falta de limitação por fósforo e limitação por algum outro fator.

A assembleia perifítica pode ser usada para a remoção de nutrientes de córregos poluídos, à medida que o status trófico dos rios melhora com a adição do perifíton (Vymazal 1988). A relação entre o aumento do status nutricional da biomassa perifítica de acordo com a

concentração dos nutrientes na água corrobora esta importante função da comunidade, sugerindo que a concentração de fósforo nos corpos d'água poderia ser prontamente prevista pelo conteúdo de fósforo da comunidade perifítica (Fanta *et al.* 2010). Embora o efeito da luminosidade possa afetar a relação do conteúdo de P da comunidade e da concentração de P da água, este efeito aparenta ser limitado a concentrações relativamente baixas de fósforo (Fanta *et al.* 2010); de modo que, com o impacto, o acesso à composição estequiométrica perifítica se revela uma boa ferramenta na avaliação do estado trófico de rios. As relações de ambas as razões C:N e C:P com o grau de perturbação parecem ser não-lineares, com uma forte relação aparentemente linear até 45% de perturbação, sendo amortecida posteriormente.

Neste estudo, também, foi observado que a biomassa perifítica aumentou com as concentrações de nutrientes e as razões C:nutrientes da comunidade diminuíram com o aumento da biomassa. Os resultados condizem com a literatura, aonde, conforme a carga nutricional nos corpos d'água cresce, as concentrações de nutrientes – N e P - na comunidade perifítica (status nutricional perifítico) também cresce, resultando, por fim, em uma maior biomassa perifítica (Hillebrand and Kahlert 2001, Frost *et al.* 2002). Assim, quanto maior a concentração de nutrientes na água, maior a biomassa perifítica, bem como maior também é qualidade do status nutricional da comunidade.

Já a razão N:P diminuiu com a perturbação, sendo mais fortemente relacionada à concentração de fosfato nos corpos hídricos que de amônio. As altas razões N:P em trechos prístinos ocorre porque estes recebem nitrogênio e fósforo de fontes naturais não perturbadas, que exportam muito menos P que N (Downing & McCauley 1992). Além disso, estudos indicam que assembleias perifíticas em ecossistemas aquáticos localizados próximos ao uso do solo adjacente para agricultura tendem a apresentar razões N:P mais altas devido à utilização de fertilizantes com altas concentrações de nitrogênio e baixas concentrações de fósforo (Downing & McCauley 1992, Souza 2007 e Kosten *et al.* 2009). Já quando localizados próximos à pecuária apresentam razões N:P mais baixas, devido ao estrume do gado ser mais rico em P que os outros nutrientes (Downing & McCauley 1992, Kosten *et al.* 2009 e Silva 2012). Considerando, neste estudo, as menores razões N:P de acordo com a perturbação, o uso do solo adjacente por pecuária parece ter sido o mais influente. Há de se considerar também que existe a possibilidade de, no período que o estudo foi realizado, as plantações não estariam sendo fertilizadas e, portanto, não poderia exercer grande influência na estequiometria perifítica.

Outro aspecto que poderia explicar as menores razões N:P com a porcentagem de perturbação é a questão da hipótese da taxa de crescimento na estequiometria. Segundo esta

hipótese, há maiores concentrações de fósforo nas células dos organismos perifíticos sob situações de intenso crescimento por conta da maior quantidade de RNA, que apresenta baixa razão N:P (Elser *et al.* 1996, Sterner and Elser 2002, Hill and Fanta 2008). Considerando que o crescimento da comunidade perifítica foi maior com a perturbação, a hipótese da taxa de crescimento parece outra explicação viável para os resultados. A dominância de diatomáceas nos sítios perturbados corrobora esta questão à medida que a maioria das diatomáceas apresentam altas taxas de crescimento (Sekar *et al.* 2002). Em tempo, as diatomáceas são tidas por terem maior requerimento de fósforo que as clorofitas (Quigg *et al.* 2003), de modo que contribuem mais para o maior conteúdo de P da comunidade (e, portanto, menores razões C:P).

Não obstante, é encontrado na literatura um limiar de N:P maior que 32 indicando possível limitação por fósforo (Kahlert 1998), nesse sentido, o Anil seria limitado por fósforo, o que condiz com os resultados encontrados no experimento de NDS analisados pelo *response ratio*; o Santa Maria não seria limitado por fósforo, o que ainda está de acordo com os resultados de NDS, que demonstram que os sítios perturbados do STM são limitados por N; já para o Itaperiti, indicaria uma leve limitação por fósforo, no entanto, considerando as evidências expostas em relação à falta de padrão da relação C:P e  $\text{PO}_4$  (e as altas concentrações de fosfato neste rio), de fato este rio não apresenta nenhum tipo de limitação nutricional – como explicitado nos resultados de NDS.

## CONCLUSÃO

Este trabalho foi desenvolvido tendo-se em vista que a identificação dos mecanismos que traduzem perturbação em mudanças estruturais e funcionais é fundamental para o desenvolvimento de um quadro conceitual de bacias hidrográficas para a exploração ecológica (Burcher *et al.* 2007).

Muitos aspectos foram diferentes entre os rios estudados. A resposta da comunidade perifítica ao gradiente de perturbação é de difícil previsão por conta da interação de diversos fatores, em especial em ambientes perturbados. Frequentemente é difícil separar os efeitos dos nutrientes de outras variáveis ambientais (Mainstone and Parr 2002), tais como herbivoria, luminosidade e correnteza (Stevenson *et al.* 1996). Apesar de algumas diferenças entre os rios, alguns padrões gerais foram encontrados neste estudo; no gradiente de perturbação foi observado um aumento da biomassa perifítica, bem como da taxa de crescimento, também a presença de limitação nutricional (enquanto que nos trechos prístinos sombreados a limitação primária foi por luz), melhor qualidade/status nutricional da comunidade, mudança na composição taxonômica e diminuição da diversidade do perifíton.

Em termos de limitação nutricional, os trechos perturbados do rio Santa Maria aparentaram ser limitados por nitrogênio através das análises dos dados de NDS e, também, devido à forte relação da razão C:N da comunidade com a concentração de amônio da água. Os resultados indicam, ainda, uma possível limitação por fósforo nos sítios perturbados do rio Anil, devido ao maior valor de *response ratio* de clorofila *a* ao tratamento enriquecido com fósforo, além das evidências estequiométricas (razão N:P maior que 32) e da forte relação da razão C:P na comunidade com a concentração de fósforo na água. Já o rio Itaperiti não mostrou limitação nutricional alguma. Também foi sugerido que o tratamento enriquecido com o nutriente limitante aparentou ser sensível às perturbações intermediárias do sistema, funcionando como um bom indicador às perturbações provocadas por ações antrópicas; também os potes controle funcionaram como bons indicadores de perturbação.

Embora os nutrientes sejam frequentemente citados como os principais fatores que controlam o crescimento perifítico, uma série de outros fatores também afetam a cinética e estrutura da assembleia. Os resultados sugerem que os efeitos das zonas ripárias na disponibilidade de luz, embora pouco considerado pelos gestores, podem ser tão importantes quanto a carga nutricional no controle dos efeitos da eutrofização por atividades antrópicas, como visto em outros trabalhos (Welch *et al.* 1992, Kahlert and Pettersson 2002, von Schiller

*et al.* 2007, Wagenhoff *et al.* 2011). Inclusive, todos os rios estudados aparentaram ser limitados primariamente por luz.

Os resultados mostraram, também, que o desbalanço estequiométrico deve ser levado em consideração nos estudos de rios alterados por ações antrópicas à medida que a assembleia perifítica mostrou um alto potencial de retenção dos nutrientes da água, sendo plástica em relação à sua composição estequiométrica em função da concentração de nutrientes na água – em especial o fosfato. De modo que as comunidades perifíticas apresentaram maior status/qualidade nutricional em função do aumento da perturbação e, por consequência, da concentração de nutrientes disponível. O conteúdo nutricional do perifíton tem sido considerado na avaliação do estado trófico de rios (Kahlert 1998, Biggs 2000) e, em teoria, representa a integração da história do fornecimento de nutrientes para as algas (Biggs 2000).

O crescimento da assembleia perifítica – em termos de clorofila *a*, da taxa de crescimento e do incremento da quantidade de MSLC e MS em relação ao dia 2 de experimento - foi maior com o aumento da perturbação. Em termos da taxa e curva de crescimento, o método não foi sensível às perturbações intermediárias, à medida que estes sítios apresentaram curvas de crescimento semelhantes às dos trechos prístinos. Já em relação às medidas de biomassa do perifíton, houve sensibilidade às perturbações intermediárias. Ainda, a luminosidade, correnteza e temperatura aparentaram estimular a porção autotrófica da comunidade, em detrimento da heterotrófica; enquanto que a concentração de amônio estimulou ambos os grupos da assembleia.

As alterações na composição e abundância relativa das assembleias de diatomáceas foram associadas à tolerância e preferência ecológica dos gêneros, havendo, no gradiente de perturbação estudado, um aumento de gêneros tolerantes à poluição, e diminuição de gêneros não tolerantes. O aumento da abundância de cianobactérias nos corpos hídricos poderia ter implicações importantes na qualidade da água e dos recursos hídricos e abastecimento da água, bem como afetar a recreação, a integridade do ecossistema e a saúde humana e animal devido à toxicidade das florações deste grupo (Downing *et al.* 2001).

A distribuição da abundância das espécies aparentou ser semelhante à log-series nos pontos prístinos, condizente com ambientes aonde um ou poucos fatores dominam a ecologia da assembleia (Magurran 2004), como a luz, por exemplo; enquanto nos sítios de perturbação intermediária e perturbados a distribuição se assemelha à log-normal, aonde as espécies coexistem em condições de competição parcial (Magurran 2004). A diversidade e equitabilidade dos táxons diminuiu em função da perturbação. E, ainda, a intensidade

luminosa aparenta ter sido determinante na presença dos gêneros da comunidade perifítica, ao passo que a concentração de fósforo parece ter determinado a abundância dos táxons.



**APÊNDICE A – Lista taxonômica**

---

**REINO CHROMISTA****DIVISÃO BACILLARIOPHYTA****CLASSE BACILLARIOPHYCEAE**

Diatomácea sp.

Diatomácea sp.1

Diatomáceas sp.2

Diatomácea sp.3

Diatomácea sp.4

Diatomácea sp.5

Diatomácea sp.6

Diatomácea sp.7

Diatomácea sp.8

**ORDEM AULACOSEIRALES****Família Aulacoseiraceae**

Gênero Aulacoseira

*Aulacoseira* sp.

**ORDEM BACILLARIALES****Família Bacillariaceae**

Gênero Nitzchia

*Nitzchia* sp.

**ORDEM NAVICULALES****Família Amphipleuraceae**

Gênero Amphipleura

*Amphipleura* sp.

Gênero Frustulia

*Frustulia* sp.

### **Família Diadesmidaceae**

Gênero Diadesmis

*Diadesmis* sp.

### **Família Naviculaceae**

Gênero Nupela

*Nupela* sp.

### **Família Pleurosigmataceae**

Gênero Gyrosigma

*Gyrosigma* sp.

Gênero Pleurosigma

*Pleurosigma* sp.

### **Família Pinnulariaceae**

Gênero Pinnularia

*Pinnularia* sp.

### **Família Stauroneidaceae**

Gênero Stauroneis

*Stauroneis* sp.

## **ORDEM THALASSIOPHYSALES**

### **Família Catenulaceae**

Gênero Amphora

*Amphora* sp.

## **ORDEM CYMBELLALES**

### **Família Cymbellaceae**

Gênero *Cymbella*

*Cymbella* sp.

Gênero *Encyonema*

*Encyonema* sp.

Gênero *Encyonopsis*

*Encyonopsis* sp.

**Família Rhoicospheniaceae**

Gênero *Rhoicosphenia*

*Rhoicosphenia* sp.

**ORDEM FRAGILARIALES**

**Família Fragilariaceae**

Gênero *Fragilaria*

*Fragilaria* sp.

Gênero *Staurosira*

*Staurosira* sp.

**ORDEM SURIRELLALES**

**Família Surirellaceae**

Gênero *Surirella*

*Surirella* sp.

---

**REINO PLANTAE**

**DIVISÃO CHAROPHYTA**

**CLASSE CONJUGOPHYCEAE**

**ORDEM ZYGNEMATALES**

**Família Desmidiaceae**

Gênero *Actinotaenium*

*Actinotaenium* sp.

Gênero *Closterium*

*Closterium* sp.

Gênero *Cosmarium*

*Cosmarium* sp.

**Família Zygnemataceae**

Gênero *Mougeotia*

*Mougeotia* sp.

Gênero *Spirogyra*

*Spirogyra* sp.

**Família Mesotaeniaceae**

Gênero *Netrium*

*Netrium* sp.

**DIVISÃO CHLOROPHYTA**

Clorófita sp.

Alga filamentosa sp.

Alga filamentosa sp.1

Alga filamentosa sp.2

Alga delgada sp.

**CLASSE CHLOROPHYCEAE**

**ORDEM CHAETOPHORALES**

**Família Chaetophoraceae**

Gênero *Protoderma*

*Protoderma* sp.

**ORDEM MICROSPORALE**

**Família Microsporaceae**

Gênero *Microspora*

*Microspora* sp.

**ORDEM SHAEROPLEALES**

**Família Sphaeropleaceae**

Gênero *Sphaeroplea*

*Sphaeroplea* sp.

**CLASSE ULVOPHYCEAE**

**ORDEM CLADOPHORALES****Família Cladophoraceae**

Gênero Rhizoclonium

*Rhizoclonium* sp.

**Família Chaetophoraceae**

Gênero Pseudendoclonium

*Pseudendoclonium* sp.

**ORDEM ULOTRICHALES****Família Ulotrichaceae**

Gênero Ulothrix

*Ulothrix* sp.

**DIVISÃO RHODOPHYTA****CLASSE BANGIOPHYCEAE****ORDEM BANGIALES****Família Bangiaceae**

Gênero Bangia

*Bangia* sp.

---

**REINO BACTERIA**

Cianobactéria sp.

**FILO CYANOBACTERIA****CLASSE CYANOPHYCEAE****ORDEM CHROOCOCCALES****Família Microcystaceae**

Gênero Gleocapsa

*Gleocapsa* sp.

**ORDEM NOSTOCALES****Família Nostocaceae**

Gênero Wollea

*Wollea* sp.

Família Nostocaceae

Gênero Nostoc

*Nostoc* sp.

Gênero *Cylindrospermum*

*Cylindrospermum* sp.

**Família Rivulariaceae**

Gênero *Raphidiopsis*

*Raphidiopsis* sp.

---

## **REINO PROTOZOA**

### **FILO PROTOZOA**

#### **SUBFILO SARCODINA**

#### **SUPERCLASSE RHIZOPODA**

#### **CLASSE LOBOSA**

#### **ORDEM ARCELLINIDA**

##### **Família Arcellidae**

Gênero *Arcella*

*Arcella vulgaris*

##### **Família Centropyxidae**

Gênero *Centropyxis*

*Centropyxis aculeata*

*Centropyxis constricta*

*Centropyxis ecornis*

##### **Família Diffugiidae**

Gênero *Diffugia*

*Diffugia lebes*

*Diffugia* sp.

#### **CLASSE FILOSIA**

#### **ORDEM ACONCHULINIDA**

#### **SUBORDEM GROMIINA**

**Família Cyphoderiidae**

Gênero Cyphoderia

*Cyphoderia ampulla*

**Família Euglyphidae**

Gênero Euglypha

*Euglypha* sp.

**CLASSE TUBULINEA****ORDEM ARCELLINIDA****SUBORDEM DIFFLUGIINA****Família Difflogiidae**

Gênero Netzelia

*Netzelia* sp.

**Família Lesquereusiidae**

Gênero Lesquereusia

*Lesquereusia modesta*

**Família Nebelidae**

Gênero Nebela

*Nebela collaris*

**FILO CILIOPHORA**

Ciliado sp.

---

**REINO ANIMALIA****FILO ROTIFERA****CLASSE EURORATORIA****ORDEM PLOIMA****Família Lepadellidae**

*Lepadella ovalis* sp.

**Família Proalidae**

*Proales* sp.



## REFERÊNCIAS

- Ab'Saber, A. N., J. G. Tundisi, L. Forneris, M. C. Marino, O. Rocha, T. Matsumura-Tundisi, Y. S. Novelli, Y. S. Vouno e S. Watanabe. 1997. Glossário de ecologia. Em AB'SABER et al (Eds). Academia de Ciências do Estado de São Paulo, FAPESP, CNPq, 2 ed. São Paulo, 325p.
- Ab'Saber, A. N. 2001. O suporte geo-ecológico das florestas beiradeiras (ciliares). Em RODRIGUES, R. R. e H. F. LEITÃO FILHO (Eds). Matas ciliares: conservação e recuperação. Edusp, FAPESP.
- Arrigo, K. R. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*, 437: 349-355.
- Allan J.D., D. L. Erickson and J. Fray. 1997. The influence of catchment land use on stream integrity across multiple spatial scales. *Freshwater Biology*, 37:149-161.
- Allen, N. S. & A. E. Hershey, 1996. Seasonal changes in chlorophyll a response to nutrient amendments in a North Shore tributary of Lake Superior. *Journal of North American Benthological Society* 15(2):170-178.
- Algaerte, V. M., C. Moresco, L. Rodrigues, 2006. Algas do perifíton de distintos ambientes na planície de inundação do alto rio Paraná. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, Maringa 28(3):243-251.
- ANA. 2003. Plano Nacional de Recursos Hídricos. Agência Nacional de Águas, Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos <http://www.ana.gov.br/pnrh/index.htm>>
- ANA. 2009. Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil. Brasília. 204 p.
- American Public Health Association (APHA), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: Including Bottom Sediments and Sludges, 20th edn. American Public Health Association, New York.
- Avelar, S., R. Zah, C. Tavares-Correa, 2009. Linking socioeconomic classes and land cover data in Lima, Peru: assessment through the application of remote sensing and GIS. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*. 11:27-37.
- Barreto, L. V., F. M. Barros, P. Bonomo, F. A. Rocha e J. S. Amorim. 2013. Eutrofização em rios brasileiros. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, 9(16): 2165.
- Begon, M., J. L. Harper & C. R. Townsend, 2007. *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. 4 Ed, Artmed, Porto Alegre.
- Bellinger, B. J. Cocquyt, C. & O'Reilly, C. M. 2006. Benthic diatoms as indicators of eutrophication in tropical streams. *Hydrobiologia*, 573(1):75-87.

- Bere, T. and J. G. Tundisi. 2011. Influence os land-use patterns on benthic diatom communities and water quality in the tropical Monjolinho hydrological basin São Carlos- SP, Brazil. *Water SA*, 37(1): 93-102.
- Berman-Frank, I., Z. Dubinsky. 1999. Balanced growth in aquatic plants: myth or reality? *BioScience*, 49:29-37.
- Bernhardt, E.S., and Likens, G.E. 2004. Controls on periphyton biomass in heterotrophic streams. *Freshw. Biol.* 49(1): 14–27.
- Bernot, M. J., Tank, J. L., Royer, T. V., & David, M. B. 2006. Nutrient uptake in streams draining agricultural catchments of the midwestern United States. *Freshwater Biology*, 51(3), 499-509.
- Bicudo, C. E., N. A. Menezes, 1996. Biodiversity in Brazil: a first approach. In BICUDO, C. E., N. A. MENEZES (Eds). *Generos de algas continentais do Brasil*. São Paulo, CNPq. 326p.
- Bicudo, C. (2006). *Cyanophyceae/Cyanobacteria* - capitulo 5. In BICUDO, C. E., N. A. MENEZES (Eds). *Generos de algas continentais do Brasil*. São Paulo, CNPq. 326p
- Biggs, B. J., & Price, G. M. 1987. A survey of filamentous algal proliferations in New Zealand rivers. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 21(2): 175-191.
- Biggs, B.J.F., and Close, M.E. 1989. Periphyton biomass dynamics in gravel bed rivers — the relative effects of flows and nutrients. *Freshw. Biol.* 22(2): 209–231.
- Biggs, B. J. F., and Gerbeaux, P. 1993. Periphyton development in relation to macro-scale (geology) and micro-scale (velocity) limiters in two gravel-bed rivers, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 27: 39–53.
- Biggs, B. J. F., D. G. Goring, and V. I. Nikora. 1998. Subsidy and stress responses of stream periphyton to gradients in water velocity as a function of community growth form. *Journal of Phycology* 34:598–607.
- Biggs, B. J., Tuchman, N. C., Lowe, R. L., & Stevenson, R. J. 1999. Resource stress alters hydrological disturbance effects in a stream periphyton community. *Oikos*, 95-108.
- Biggs, B. J. F. 2000. Eutrophication of streams and rivers: Dissolved nutrient-chlorophyll relationships for benthic algae. *Journal of the North American Benthological Society*, 19, 17-31.
- Borchardt, M. A. 1996. Nutrients. In Stevenson, R. J., M. L. Bothwell and R. L. Lowe (Eds). *Algal Ecology*. Academic Press. 752p.
- Boston, H. L. & W. R. Hill. 1991. Photosynthesis-light relations of stream periphyton communities. *Limnology and Oceanografy* 36:644-656.
- Bothwell, M. L., & Jasper, S. 1983. A light and dark trough methodology for measuring rates of lotic periphyton settlement and net growth. In *Periphyton of Freshwater Ecosystems* (pp. 253-265). Springer Netherlands.

- Bothwell, M. L., Sherbot, D., Roberge, A. C., & Daley, R. J. 1993. Influence of natural ultraviolet radiation on lotic periphytic diatom community growth, biomass accrual, and species composition: short- term versus long- term effects. *Journal of Phycology*, 29(1): 24-35.
- Bourassa, N., and Cattaneo, A. 1998. Control of periphyton in Laurentian streams (Quebec). *Journal of the North American Benthological Society* 17: 420–429.
- Bowler, D. E., Mant, R., Orr, H., Hannah, D. M. and Pullin, A. S. 2012. What are the effects of wooded riparian zones on stream temperature? *Environmental Evidence*, 1: 1-9.
- Brito, E. F., T. P. Moulton, M. L. De Souza & S. E. Bunn. 2006. Stable isotope analysis indicates microalgae as the predominant food source of fauna in a coastal forest stream, south-east Brazil. *Austral Ecology* 31(5): 623-633
- Brookshire, E. N. J., S. Gerber, D. N. L. Menge & L. O. Hedin. 2012. Large losses of inorganic nitrogen from tropical rainforests suggest a lack of nitrogen limitation. *Ecology Letters* 15: 9-16.
- Brown, G. G., W. A. Maher, R. H. Norris & J. Mathieu. 2001. Problems with the use of terracotta clay saucers as phosphorus-diffusing substrata to assess nutrient limitation of epilithic algae. *Freshwater Biology* 46: 623-632.
- Bunn, S. E., P. M. Davies & T. D. Mosisch. 1999. Ecosystem measures of river health and their response to riparian and catchment degradation. *Freshwater Biology* 41: 333-345.
- Burliga, A. L., A. Schwarzbald. 2013. Perifiton: diversidade taxonômica e morfológica. In SCHWARZBOLD, A., A. L. BURLIGA, L. C. TORGAN (Orgs). *Ecologia do perifiton*. São Carlos, RiMa Editora, 1-6.
- Caissie, D. 2006. The thermal regime of rivers: A review. *Freshwater Biology*, 51, 1389-1406.
- Capps, K. A., M. T. Booth, S. M. Collins, M. A. Davison, J. M. Moslemi, R. W. El-Sabaawi, J. L. Simonis & A. S. Flecker. 2011. Nutrient diffusing substrata: a field comparison of commonly used methods to assess nutrient limitation. *Journal of the North American Benthological Society* 30(2): 522-532.
- Carey, R. O., Vellidis, G., Lowrance, R., & Pringle, C. M. 2007. Do Nutrients Limit Algal Periphyton in Small Blackwater Coastal Plain Streams? *Journal of American Water Resources Association*. 43(5): 1183-1193.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharples, A. N. and Smith, V. H. 1998. Non-point pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8: 559-568.
- Carrick, H. J., R. L. Lowe, and J. T. Rotenberry. 1988. Guilds of benthic algae along nutrient gradients: relationships to algal community diversity. *Journal of the North American Benthological Society* 7:117–128.

Casatti, L. 2010. Alterações no código florestal brasileiro: impactos potenciais sobre a ictiofauna. *Biota Neotropica*, 10(4):31-34.

Cattaneo, A., S. Ghuittorini, V. Vendegna. 1975. The development of benthonic phytocenosis on artificial substrates in Ticino River. *Oecologia*, 19:315-327.

Cattaneo, A., Kerimian, T., Roberge, M., & Marty, J. 1997. Periphyton distribution and abundance on substrata of different size along a gradient of stream trophic de Montréal. *Hydrobiologia*, 354: 101-110.

Cerrao, G. C., V. Moschini-Carlos, M. J. Santos, O. Rigolin. 1991. O efeito do enriquecimento artificial sobre a biomassa do perifiton em tanques artificiais na represa do Lobo ("Broa"). *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, 51:71-78.

Chetelat, J., Pick, F. R., Morin, A., & Hamilton, P. B. 1999. Periphyton biomass and community composition in rivers of different nutrient status. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56(4): 560-569.

Clapcott, Joanne E., Kevin J. Collier, Russell G. Death, E. O. Goodwin, J. S. Harding, David Kelly, J. R. Leathwick, and Roger G. Young. 2012. "Quantifying relationships between land-use gradients and structural and functional indicators of stream ecological integrity." *Freshwater Biology* 57(1): 74-90.

Colman, R. L., A. Lazemby. 1970. Factors affecting the response of tropical and temperate grasses to fertilizer nitrogen. In *Proceedings of the 11th International Grassland Conference*. St. Lucia, University of Queensland Press, 393-397.

Conway, H. L. 1977. Interactions of inorganic nitrogen in the uptake and assimilation by marine phytoplankton. *Mar. Biol.* 39: 221-232.

Cooke, W. N. B. 1956. Colonization of artificial bare areas by microorganisms. *The Botanical Review*, 22(9):613-638.

Corkum, L. D. 1996. Responses of chlorophyll-a, organic matter, and macroinvertebrates to nutrient additions in rivers flowing through agricultural and forested land. *Archiv für Hydrobiologie* 136:391-411.

Cross, W. F., J. P. Benstead, P. C. Frost & S. A. Thomas. 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: recent progress and perspectives. *Freshwater Biology* 50: 1895–1912.

Cunha, S. B. 2003. Canais fluviais e a questão ambiental. In CUNHA, CB., A. J. T. GUERRA (Eds). *A questão ambiental: diferentes abordagens*. Bertrand Brasil, Rio de Janeiro, 218-238.

Cunico, A. M. 2010. Efeitos da urbanização sobre a estrutura das assembleias de peixes em córregos urbanos neotropicais. Tese, Universidade Estadual de Maringá.

Dantas, E. W. 2010. Ecologia da comunidade de algas planctônicas em reservatórios e Pernambuco (Nordeste, Brasil). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Tese de Doutorado.

Davies-Colley, R. J. 1997. Stream channels are narrower in pasture than in forest. *New Zealand Journal Marine Freshwater Research* 31(5): 599–608.

Davies, P.E., Nelson, M. 1994. Relationships between riparian buffer widths and the effects of logging on stream habitat, invertebrate community composition and fish abundance. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 45: 1289–1305.

Davies, P. M., S. E. Bunn & S. K. Hamilton. 2008. Primary production in tropical streams and rivers. In DUDGEON, D. (ed) *Tropical stream ecology*. Academic Press, London, 316.

Davies, A. W. and S. M. Mitrovic. 2014. Benthic algal biomass and assemblage changes following environmental flow releases and unregulated tributary flows downstream of a major storage. *Marine and Freshwater Research*, 65:1059-1071.

Davis, J. M., A. D. Rosemond, S. L. Eggert, W. F. Cross & J. B. Wallace. 2010. Nutrient enrichment differentially affects body sizes of primary consumers and predators in a detritus-based stream. *Limnology and Oceanography* 55(6):2305-2316.

DeNicola, D. M. 1996. Periphyton responses to temperature at different ecological levels. In STEVENSON, R. J., M. L. BOTHWELL, R. L. LOWE (Eds). *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. San Diego, Academic Press, 150-176.

DeNicola, D. And M. Kelly. 2014. Role of periphyton in ecological assessment of lakes. *Freshwater Science*, 32(2): 619-638.

Dickman, E. M., M. J. Vanni, and M. J. Horgan. 2006. Interactive effects of light and nutrients on phytoplankton stoichiometry. *Oecologia* 149:676-689.

Dickman, E. M., Newell, J. M., González, M. J. and Vanni, M. J. 2008. Light, nutrients, and food-chain length constrain planktonic energy transfer efficiency across multiple trophic levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 18408-18412.

Dodds, W. K., 2002a. *Freshwater Ecology. Concepts and Environmental Applications*. Academic Press.

Dodds, W. K., 2002b. Nutrient use and reminalization. In Dodds, W. K. (ed) *Freshwater ecology: concepts and environmental applications*. Academic Press, San Diego, California, 569.

Dodds, W. K., 2003. The role of periphyton in phosphorous retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39:840-849

Downing, J. A., Mccauley, E. 1992. The nitrogen:phosphorus relationship in lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 37:936-945.

Downing, J. A., M. McClain, R. Twilley, J. M. Melack, J. Elser, N. N. Rabalais, W. M. Lewis, R. E. Turner, J. Corredor, D. Soto, A. Yanez-Arancibia, J. A. Kopaska & R. W. Howarth. 1999. The impact of accelerating land-use change on the N-cycle os tropical aquatic ecosystems: current conditions and projected changes. *Biogeochemistry* 46:109-148.

- Downing, J. A., Watson, S. B. and McCauley, E. 2001. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58: 1905-1908.
- Dubé, M. G., J. M. Culp. 1996. Growth responses of periphyton and chironomids exposed to biologically treated bleached kraft pulp mill effluents. *Water Sci. Technol.*, 35:339-345.
- Dudgeon, D. 1988. The influence of riparian vegetation on macroinvertebrate community structure in four Hong Kong streams. *Journal of Zoology* 216:609-627.
- Düpont, A., E. A. Lobo, A. B. Costa, M. Schuch. 2007. Avaliação da qualidade da água do arroio do Couto, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. *Caderno de Pesquisa. Série Biologia (UNISC)*, 19:20-31.
- Duncan, S. W., & Blinn, D. W. 1989. Importance of physical variables on the seasonal dynamics of epilithic algae in a highly shaded canyon stream. *Journal of Phycology*, 25(3):455-461.
- Elrifi, I. R., D. H. Turpin. 1985. Steady-state luxury consumption and the concept of optimum nutrient ratios: a study with phosphate and nitrate limited *Selenastrum minutum* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 21:592-602.
- Elser, J. J., D. R. Dobberfuhl, N. A. MacKay & J. H. Schampel. 1996. Organism size, life history, and N:P stoichiometry. *Bioscience* 49: 674–684.
- Elser, J. J., W. F. Fagan, R. F. Denno, D. R. Dobberfuhl, A. Folarin, A. Huberty, S. Interlandi, S. S. Kilham, E. McCauley, K. L. Schulz, E. H. Siemann & R. W. Sterner, 2000. Nutritional constraints in terrestrial and freshwater food webs. *Nature* 408: 578–580.
- Fairchild, G.W., R. L. Lowe and W. B. Richardson. 1985. Algal periphyton growth on nutrient-diffusing substrates: an in situ bioassay. *Ecology*, New York, 66(2):465-472.
- Faithfull, C. L., Wenzel, A., Vrede, T. and Bergström, A. K. 2011. Testing the light:nutrient hypothesis in an oligotrophic boreal lake. *Ecosphere*, 2: 121-115.
- Falkowski, P.G. 2000. Rationalizing elemental ratios in unicellular algae. *J. Phycol.*, 36:3-6.
- Fanta, S. E., W. R. Hill, T. B. Smith & B. J. Roberts. 2010. Applying the light: nutrient hypothesis to stream periphyton. *Freshwater Biology*, 55(5), 931-940.
- Fellows, C. S., J. E. Clapcott, J. W. Udy, S. E. Bunn, M. J. Smith, B. D. Harch & P. M. Davies. 2006. Benthic metabolism as an indicator of stream ecosystem health. *Hydrobiologia*, 572(1): 71-87.
- Feminella, J. W., & Hawkins, C. P. 1995. Interactions between stream herbivores and periphyton: a quantitative analysis of past experiments. *Journal of the North American Benthological Society*, 14(4): 465-509.
- Ferber, L. R., Levine, S. N., Lini, A. and Livingston, G. P. 2004. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? *Freshwater Biology*, 49: 690-708.

Fermino, F. S., bicudo, D., & Mercante, C. 2004. Substrato difusor de nutrientes (SDN): avaliação do método em laboratório para experimentos in situ com perifíton. *Acta Scientiarum*, 26: 273-280.

Fernandes, V. O. 2005. Perifíton: conceitos e aplicações da limnologia à engenharia. In ROLAND, F., D. CESAR, M. MARINHO (Eds). *Lições de limnologia*. São Carlos, RiMa Editora, 351-370.

Ferragut, C., D. C. Bicudo, I. S. Vercellino. 2009. Amostragem e medidas de estrutura da comunidade perifítica. In SCHWARZBOLD, A., A. L. BURLIGA, L. C. TORGAN (Orgs). *Ecologia do perifíton*. São Carlos, RiMa Editora: 157-178.

Ferragut, C., D. C. Bicudo. 2010. Periphytic algal community adaptative strategies in N and P enriched experiments in tropical oligotrophic reservoir. *Hydrobiologia*, 646:295-309.

Ferreira, C. P. 2010. Estrutura da ictiofauna e integridade biótica de riachos em fragmentos florestais remanescentes no noroeste paulista. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto.

Finlay, J. C., J. M. Hood, M. P. Limm, M. E. Power, J. D. Schade & J. R. Welter, 2011. Light-mediated thresholds in stream-water nutrient composition in a river network. *Ecology* 92(1): 140-150.

Flecker, A. S., B. W. Taylor, E. S. Bernhardt, J. M. Hood, W. K. Cornwell, S. R. Cassatt, M. J. Vanni, and N. S. Altman. 2002. "Interactions between herbivorous fishes and limiting nutrients in a tropical stream ecosystem." *Ecology* 83(7): 1831-1844.

Flemming, H. C. 1995. Sorption sites in biofilms. *Water Sci. Technol.*, 32:27-33.

Franceschini, I. 2010. Considerações finais. In FRANCESCHINI, I., A. L. BURLIGA, B. REVIERS, J. F. PRADO, S. H. RÉZIG (Eds). *Algas, uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica*. Porto Alegre, Artmed, 285-293.

Francoeur, S. N., B. J. F. Biggs, R. A. Smith, R. L. Lowe. 1999. Nutrient limitation of algal biomass accrual in streams: seasonal patterns and a comparison of methods. *Journal of the North American Benthological Society*, 18(2):242-260.

Francoeur, S. N.. 2001. Meta-analysis of lotic nutrient amendment experiments: detecting and quantifying subtle responses. *Journal of the North American Benthological Society* 20: 358–368.

Frithsen, J. B., A. F. Hollan. 1990. Benthic communities as indicators os ecosystem condition. In MACKENZIE, D. H., D. E. HYATT, V. J. McDONALD (Eds). *Ecological indicators*. London, Chapman & Hall, 459-460.

Frost, P. C., Stelzer, R. S., Lamberti, G. A., & Elser, J. J. 2002. Ecological stoichiometry of trophic interactions in the benthos: understanding the role of C: N: P ratios in lentic and lotic habitats. *Journal of the North American Benthological Society*, 21(4): 515-528.

- Galli, C. S. D. S. Abe. 2010. Disponibilidade, poluição e eutrofização das águas. In BICUDO, C. E. M., J. G. TUNDISI, M. C. B. SCHEUENSTUHL. Águas do Brasil, análises estratégicas. São Paulo, Instituto de Botânica.
- Geider, R. J., H. L. MacIntyre, and T. M. Kana. 1998. A dynamic regulatory model of phytoplanktonic acclimation to light, nutrients, and temperature. *Limnology and Oceanography* 43:679-694.
- Ghosh, M., & Gaur, J. P. 1994. Algal periphyton of an unshaded stream in relation to in situ nutrient enrichment and current velocity. *Aquatic Botany*, 47(2), 185-189.
- Ghosh, M. & J. P. Gaur, 1998. Current velocity and the establishment of stream algal periphyton communities. *Aquatic Botany* 60:1-10.
- Gold, A. J. and Sims, J. T. 2005. Eutrophication. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 486-494.
- Green, M. & J. Finlay. 2010. Patterns of hydrologic control over stream water total nitrogen to total phosphorus ratios. *Biogeochemistry* 99(1):15-30.
- Greenwood, J.L., and Rosemond, A.D. 2005. Periphyton response to long-term nutrient enrichment in a shaded headwater stream. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62(9): 2033–2045.
- Grimm, N. B., and Fisher, S. G. 1989. Stability of periphyton and macroinvertebrates to disturbance by flash floods in a desert stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 8: 293–307.
- Grimm, N. B., S. H. Faeth, N. E. Golubiewski, C. L. Redman, L. Wu, X. Bai, J. M. Biggs. 2008. Global change and the ecology of cities. *Science*, 319:756-760.
- Guariento, R. D., Carneiro, L. S., Caliman, A., Bozelli, R. L., & Esteves, F. A. 2011. How light and nutrients affect the relationship between autotrophic and heterotrophic biomass in a tropical black water periphyton community. *Aquatic Ecology*, 45(4): 561-569.
- Guasch, H. and S. Sabater. 1995. Seasonal-variations in photosynthesis irradiance responses by biofilms in Mediterranean streams. *J Phycol* 31:727–735.
- Griffith, M. B., Hill, B. H., Herlihy, A. T., & Kaufmann, P. R. 2002. Multivariate analysis of periphyton assemblages in relation to environmental gradients in colorado rocky mountain streams. *Journal of Phycology*, 38(1):83-95.
- Hall, S. R., Leibold, M. A., Lytle, D. A. and Smith, V. H. 2004. Stoichiometry and planktonic grazer composition over gradients of light, nutrients and predation risk. *Ecology*, 85:2291-2301.
- Hall, S. R., Leibold, M. A., Lytle, D. A. and Smith, V. H. 2007. Grazers, producer stoichiometry and the light: nutrient hypothesis revisited. *Ecology*, 88: 1142-1152.



- Harpole, W. S., J. T. Ngai, E. E. Cleland, E. W. Seabloom, E. T. Borer, M. E. S. Bracken, J. J. Elser, D. S. Gruner, H. Hillebrand, J. B. Shurin & J. E. Smith. 2011. Nutrient co-limitation of primary producer communities. *Ecology Letters* 14(9):852-862.
- Havens, K. E., T. L. East, S.-J. Hwang, A. J. Rodusky, B. Sharfstein & A. D. Steinman. 1999. Algal responses to experimental nutrient addition in the littoral community of a subtropical lake. *Freshwater Biology* 42(2):329-344.
- Haygarth, P. M. and Sharpley, A. N. 2000. Terminology for phosphorus transfer. *Journal of Environmental Quality*, 29:10-15.
- Healey, F. P., L. L. Hendzel. 1979. Indicators of phosphorus and nitrogen deficiency in lake phytoplankton. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science*, 37:442-543.
- Hecky, L. E. & P. Kilham. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology and Oceanography* 33(4):796-822.
- Hehr, J. and R. G. Sheath. 2003. *Freshwater Algae of North America: ecology and classification*. Aquatic Ecology.
- Hepinstall, J.A., and Fuller, R.L. 1994. Periphyton reactions to different light and nutrient levels and the response of bacteria to these manipulations. *Arch. Hydrobiol.* 131(2): 161–173.
- Hermany, G., E. A. Lobo, A. Schwarzbald, M. A. Oliveira. 2006. Ecology of the epilithic diatom community in a low-order stream system of the Guaíba hidrographical region: subsidies to the environmental monitoring of southern brazilian aquatic systems. *São Paulo, Acta Limnologica Brasiliensia*, 18:9-27.
- Hill, W.R., Ryon, M.G. & Schilling, E.M. 1995. Light limitation in a stream ecosystem – responses by primary producers and consumers. *Ecology*, 76: 1297–1309.
- Hill, W.R. 1996. Effects of light. In *Algal ecology*. Edited by R.J. Stevenson, M.L. Bothwell, and R.L. Lowe. Academic Press, San Diego, California. pp. 121–149.
- Hill, W. R., and S. E. Fanta. 2008. Phosphorus and light colimit periphyton growth at subsaturating irradiances. *Freshwater Biology* 53:215-225.
- Hill, B. H., F. H. McCormick, B. C. Harvey, S. L. Johnson, M. L. Warren & C. M. Elonen. 2010. Microbial enzyme activity, nutrient uptake and nutrient limitation in forested streams. *Freshwater Biology* 55:1005-1019.
- Hill, W. R. and Knight, A. W. 1988. Nutrient and light limitation of algae in two Northern California streams *Journal of Phycology*, 24: 125-132.
- Hillebrand, H., & Kahlert, M. 2001. Effect of grazing and nutrient supply on periphyton biomass and nutrient stoichiometry in habitats of different productivity. *Limnology and Oceanography*, 46(8): 1881-1898.

Hillebrand H., de Montpellier G. & Liess A. 2004. Effects of macrograzers and light on periphyton stoichiometry. *Oikos*, 106, 93–104.

Hillebrand, H., D. S. Gruner, E. T. Borer, M. E. S. Bracken, E. E. Cleland, J. J. Elser, W. S. Harpole, J. T. Ngai, E. W. Seabloom, J. B. Shurin, and J. E. Smith. 2007. Consumer versus resource control of producer diversity depends on ecosystem type and producer community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104:10904–10909.

HMSO. 1983. The Determination of Chlorophyll-a in Aquatic Environments. HMSO Publications, London.

Hoagland, K. D., S. C. Roemer, J. R. Rosowski. 1982. Colonization and community structure of two periphyton assemblages, with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae). *Am. J. Bot.* 69:188–213.

Hooda, P. S., Edwards, A. C., Anderson, H. A. and Miller, A. 2000. A review of water quality concerns in livestock farming areas. *Science of the Total Environment*, 250: 143–167.

Horner, R. R., Welch, E. B., Seeley, M. R., and Jacoby, J. M. (1990). Responses of periphyton to changes in current velocity, suspended sediment and phosphorus concentration. *Freshwater Biology* 24:215–232.

House, W. A. 2003. Geochemical cycling of phosphorus in rivers. *Applied Geochemistry*, 18: 739–748

Howarth R. W., G. Billen, D. Swaney, A. Townsend, N. Jaworski, K. Lajtha, F. Berendse, J. Freney, V. Kudeyarov, P. Murdoch and Z. Shao-Liang. 1996. Regional nitrogen budgets and riverine N and P fluxed for the drainages to the North Atlantic Ocean. Natural and human influence. *Biogeochemistry*, 35: 75–139.

Huggins K., Frenette J.J. & Arts M.T. 2004. Nutritional quality of biofilms with respect to light regime in Lake Saint-Pierre (Quebec, Canada). *Freshwater Biology*, 49, 945–959.

Hunsaker C.T. and D. A. Levine. 1995. Hierarchical approaches to the study of water quality in rivers. *Bioscience*, 45: 193–203.

Jaeger, K. M., C. Johansson, U. Kuntz, H. Lehmann. 1997. Sub-cellular element analysis of a cyanobacterium (*Nostoc* sp.) in symbiosis with *Gunnera manicata* by EDI and EELS. *Bot. Acta*, 110:151–157.

Jarvie, H. P., Neal, C. and Withers, P. J. A. 2006. Sewage-effluent phosphorus: A greater risk to river eutrophication than agricultural phosphorus? *Science of the Total Environment*, 360:246–253.

Johnson, W. C., 1994. Woodland expansion in the Platte River, Nebraska: patterns and causes. *Ecological Monographs* 64: 45–84.

Johnson, L. B., C. Richards, G. E. Host and J. W. Arthur. 1997. Landscape influence on water chemistry in Midwestern stream ecosystems. *Freshwater Biology* 37(1): 193–218.

- Johnson S.L. & Jones J.A. 2000. Stream temperature responses to forest harvest and debris flows in western Cascades, Oregon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: 30–39.
- Johnson, L. T., Tank, J. L. and Dodds, W. K. 2009. The influence of land use on stream biofilm nutrient limitation across eight North American ecoregions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66: 1081-1094.
- Jordan T. E. and D. E. Weller. 1997. Landscape influences on water chemistry in Midwestern stream ecosystems. *Freshwater Biology*, 37: 193-208.
- Julio-Junior, H. F., S. M. Thomaz, A. A. Agostinho, J. D. Latini. 2005. Distribuição e caracterização dos reservatórios. In RODRIGUES, L., S. M. THOMAZ, A. A. AGOSTINHO, L. C. GOMES (Eds). *Biocenoses em reservatórios: padrões espaciais e temporais*. São Carlos, RiMa Editora:1-16.
- Jüttner, I.; Sharma, S.; Dahal, B. M.; Ormerod, S. J.; Chimonides, P. J.; Cox, E. J. 2003. Diatoms as indicators of stream quality in the Kathmandu Valley and Middle Hills of Nepal and India. *Freshwater Biology*, 48:2065-2084.
- Kahlert, M. 1998. C:N:P ratios of freshwater benthic algae. *Archiv Fur Hydrobiologie* 51:105–114.
- Kahlert M. & Pettersson K. 2002. The impact of substrate and lake trophy on the biomass and nutrient status of benthic algae. *Hydrobiologia*, 489: 161–169.
- Karr, J. R. and I. J. Schlosser. 1978. Water resources and the land-water interface. *Science* 201:229-234.
- Kelly, M. G., C. J. Penny, and B. A. Whitton. 1995. Comparative performance of benthic diatom indices used to assess river water quality. *Hydrobiologia* 302:179–188.
- Kelly, M. G., Juggins, S., Guthrie, R., Pritchard, S., Jamieson, J., Rippey, B., Hirst, H. and Yallop, M. 2008. Assessment of ecological status in UK rivers using diatoms. *Freshwater Biology*, 53: 403-422.
- Kim, J. H., C. M. Choi, S. B. Kim, S. K. Kwun. 2009. Water quality monitoring and multivariate statistical analysis for rural streams in South Korea. *Paddy Water Environ.*, 7:197-208.
- King, L., P. Barker, and R. I. Jones. 2000. Epilithic algal communities and their relationship to environmental variables in lakes of the English Lake District. *Freshwater Biology* 45: 425–442.
- Kohler, T. J. 2010. Influence of canopy cover, nutrients and season on stoichiometric variation of epilithon in neotropical streams. Major thesis on Natural Resources Sciences. University of Nebraska.

- Kohler, T. J., J. N. Murdock, K. B. Gido, and W. K. Dodds. 2011. Nutrient loading and grazing by the minnow *Phoxinus erythrogaster* shift periphyton abundance and stoichiometry in mesocosms. *Freshwater Biology*, 56: 1133–1146.
- Kohler, T. J., T. N. Heatherley II, R. W. El-Sabaawi, E. Zandonà, M. C. Marschall, A. S. Flecker, C. M. Pringle, D. N. Reznick and S. A. Thomas. 2012. Flow, nutrients, and light availability influence Neotropical epilithon biomass and stoichiometry. *Freshwater Science*, 31(4):1019-1034.
- Kosten, S.; Huszar, V.L.M.; Mazzeo, N.; Scheffer, M.; Sternberg, L.S.L.; Jeppesen, E. 2009. Lake and watershed characteristics rather than climate influence nutrient limitation in shallow lakes. *Ecological Applications*, 19(7):1791-1804.
- Krammer, K.; Lange-Bertalot, H. 1988. Bacillariophyceae: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: ETTL, H.; GERLOFF, J.; HEYNIG, H; MOLLENHAUER, C. Subbwassertflora von Mitteleuropa. Stuttgart e New York: G. Fischer, 2(2):1988. 596.
- Krebs, C. J. 1999. *ecological Methodology*. 2. ed. New York: Benjamin/ Cummings, 620 p.
- Lamberti, G. A., J. W. Feminella & C. M. Pringle. 2006. Primary Producer-Consumer Interactions. In F. Hauer, G. L. (ed) *Methods in Stream Ecology*. Academic Press.
- Landry, D., S. Dousset, F. Andreux. 2004. Laboratory leaching studies of oryzalin and diuron through three undisturbed vineyard soil columns. *Chemosphere*, 54:734-742.
- Langdon, C. 1988. On the causes of interspecific differences on the growth-irradiance relationship for phytoplankton. II. A general review. *L. Plankton Res.*, 10: 1291-1312.
- Larned, S.T., and Santos, S.R. 2000. Light- and nutrient-limited periphyton in low order streams of Oahu, Hawaii. *Hydrobiologia*, 432(1/3): 101–111.
- Lavoie, I., P. J. Dillon, and S. Campeau. 2009. The effect of excluding diatom taxa and reducing taxonomic resolution on multivariate analyses and stream bioassessment. *Ecological Indicators* 9:213–225.
- Lenane, R. 2012. Keeping rivers cool: Getting ready for climate change by creating riparian shade. Bristol: Environment Agency.
- Lewis, W. M. 1976. Surface / volume ratio: Implications for phytoplankton morphology. *Science*, 192, 885-887.
- Lewis, W. M., 2008. Physical and chemical features of tropical flowing waters. In D, D. (ed) *Tropical stream ecology*. Academic Press, London, 316.
- Liebig, J. V., 1840. *Chemistry in its application to agriculture and physiology*.
- Liess, A., S. Drakare, and M. Kahlert. 2009a. Atmospheric nitrogen-deposition may intensify phosphorus limitation of shallow epilithic periphyton in unproductive lakes. *Freshwater Biology* 54:1759–1773

- Liess, A., A. Le Gros, A. Wagenhoff, A. R. Townsend and C. D. Matthaei. 2012. Landuse intensity in stream catchments affects the benthic food web: consequences for nutrient supply, periphyton C:nutrient ratios and invertebrate richness and abundance. *Freshwater science*, 31(3): 813-824.
- Lobo, E. A., L. C. Torgan. 1988. Análise de estrutura da comunidade de diatomáceas (Bacillariophyceae) em duas estações do sistema Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, Feira de Santana, 1(2):103-119.
- Lobo, E. A., K. Katoh, Y. Aruga. 1995. Response of epilithic diatom assemblages to water pollution in rivers in the Tokyo Metropolitan área. *Oxford, Freshwater Biology*, 34(1):191-204.
- Lobo, E. A., V. L. M. Callegaro, M. A. Oliveira, S. F. Salomini, N. S. Schule, K. Asai. 1996. Pollution tolerant diatoms from lotic systems in the Jacui Basin, Rio Grande do Sul, Brazil. *Iheringia: série botânica*, 47:45-72.
- Lobo, E. A., V. L. Callegaro, G. Hermany, D. Bes, C. E., M. A. Wetzel, Oliveira. 2004a. Use of epilithic diatoms as bioindicator from lotic systems in Southern Brazil, with special emphasis on eutrophication. *Acta Limnologica Brasiliensia*, São Paulo, São Paulo, 16(1)-25-40.
- Lobo, E. A., V. L. Callegaro, G. Hermany, L. Ector. 2004b. Review of the use of microalgae in South America for monitoring rivers, with special reference to diatoms. *Vie et Milieu, Banyuls-sur-Mer*, 54(2/3):105-114.
- Lobo, E. A., V. L. Callegaro, M. A. Wetzel, G. Hermany, D. Bes. 2004c. Water quality study of Condor and Capivara streams, Porto Alegre municipal district, RS, Brazil, using epilithic diatoms biocenoses as bioindicators. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 33(2):77-93.
- Lobo, E. A., S. E. Salomini, O. Rocha, V. L. Callegaro. 2006. Epilithic diatoms as indicadores of water quality in the Gravataí river, Rio Grande do Sul, Brazil. *Hydrobiologia*, 559:233-246.
- Loeb, S. L. 1992. An ecological context for biological monitoring. In LOEB, S. L., A. SPACIE (Eds). *Biological monitoring of aquatic systems*. Boca Raton, Lewis Publishers, 3-7.
- Lohman, K., Jones, J.R., and Baysinger-Daniel, C. 1991. Experimental evidence for nitrogen limitation in a northern Ozark stream. *J. North Am. Benthol. Soc.* 10: 14–23.
- Lourenço- Amorim, C., Neres- Lima, V., Moulton, T. P., Sasada- Sato, C. Y., Oliveira- Cunha, P., & Zandonà, E. (2014). Control of periphyton standing crop in an Atlantic Forest stream: the relative roles of nutrients, grazers and predators. *Freshwater Biology*, 59(11), 2365-2373.
- Lowe, R. L., Golladay, S. W. and Jackson, R. W. 1986. Periphyton response to nutrient manipulation in streams draining clearcut and forested watersheds. *Journal of the North American Benthological Society*, 5, 221-229.

- Lowe, R. L. & Y. Pan, 1996. Benthic algal communities as biological monitors. In STEVENSON, R. J., M. L. BOTHWELL & R. L. LOWE (eds) *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, USA.
- Lowrance R.R., Todd R.L. Jr, Fail J., Hendrickson J.O., Leonard R. & Asmussen L. 1984 Riparian forests as nutrient filters in agricultural watersheds. *BioScience*, 34: 374–377.
- Ludwig, A., Matlock, M., Haggard, B. E., Matlock, M., & Cummings, E. 2008. Identification and evaluation of nutrient limitation on periphyton growth in headwater streams in the Pawnee Nation, Oklahoma. *Ecological Engineering*, 32(2):178-186.
- Lyford, J. H. and S. V. Gregoy. 1975. The dynamics and structure of periphyton communities in three Cascade Mountain streams. *Vernh. – Int. Ver. Theor. Andew. Limnol.* 19: 1610-1616.
- Mainstone, C. P. and Parr, W. 2002. Phosphorus in rivers - ecology and management. *Science of the Total Environment*, 282: 25-47.
- Magurran, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. New Jersey: Princeton University Press, 179p.
- Magurran, A. E. 2004. *Measuring diversity*. Blackwell publishing. 256 p.
- Mallory, M. A., & Richardson, J. S. 2005. Complex interactions of light, nutrients and consumer density in a stream periphyton–grazer (tailed frog tadpoles) system. *Journal of Animal Ecology*, 74(6): 1020-1028.
- Martinelli, L. A., L. D. Coletta, E. C. Ravagnani, P. B. Camargo, J. P. H. B. Ometto, S. Filoso & R. L. Victoria, 2010. Dissolved nitrogen in Rivers: comparing pristine and impacted regions of Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 70(3):709-722.
- Martins, F. C. O., & de Oliveira Fernandes, V. (2011). Biomassa e composição elementar (C, N e P) da comunidade perifítica em diferentes gradientes fluviais tropical (alto rio Santa Maria da Vitória, Espírito Santo, Brasil). *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 15(1): 11-18.
- Matlock, M. D., Matlock, M. E., Storm, D. E., Smolen, M. D., & Henley, W. J. (1998). Limiting nutrient determination in lotic ecosystems using a quantitative nutrient enrichment periphytometer. *Journal of the American Water Resources Association*, 34 (5): 1141-1147.
- Matlock, M.D., D.E. Storm, M.D. Smolen, and M.E. Matlock, 1999a. Determining the Lotic Ecosystem Nutrient and Trophic Status of Three Streams in Eastern Oklahoma Over Two Seasons. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 2:115-127.
- Matlock, M.D., D.E. Storm, M.D. Smolen, M.E. Matlock, A.M.S. McFarland, and L.M. Hauck, 1999b. Development and Application of a Lotic Ecosystem Trophic Status Index. *Transactions of the ASAE* 42:651-656.
- Mayer P.M., Reynolds S.K. Jr, Mccutchen M.D. & Canfield T.J. 2007. Meta-analysis of nitrogen removal in riparian buffers. *Journal of Environment Quality*, 36: 1172–1180.

McArthur, K. J., J. Roygard & M. Clark, 2010. Understanding variations in the limiting nitrogen and phosphorus status of rivers in the Manawatu-Wanganui Region, New Zealand. *Journal of Hydrology* 49(1):15-33.

McCall, S. J. 2014 .Investigating the effects of nutrient concentration and light intensity on benthic biofilm development and phytoplankton growth in UK rivers. Tese de doutorado. University of Portsmouth.

McCarthy, J. J. 1981. Uptake of major nutrients by estuarine plants, p. 139-164. Zn B. J. Ncilson and L. E. Cronin [eds.], *Estuaries and nutrients*. Humana. MCCOMB,

McCormick, P. V., M. B. O'Dell. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society*, Schaumburg, 15(4):450-468.

McCormick, P.V., R. J. Stevenson. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *Journal of Phycology*, 34:726-733.

McTammany, M. E., Benfield, E. F., & Webster, J. R. 2007. Recovery of stream ecosystem metabolism from historical agriculture. *Journal of the North American Benthological Society*, 26(3), 532-545.

Mendes, R., & Barbosa, F. 2002. Efeito do enriquecimento in situ sobre a biomassa da comunidade perifítica de um córrego de altitude da Serra do Cipó (MG). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 14(2):77-86.

Mercante, C.T.J.; Bianchini JR., I. 2000. A method for investigating the heterotrophic assimilation of ammonium and nitrate through planktonic organisms. *Acta Scientiarum*, Maringá, 22(2):337-341.

Miller, J. R., T. T. Schulz, N. T. Hobbs, K. R. Wilson, D. L. Schrupp and W. L. Baker, 1995. Flood regimes and landscape structure: changes in a riparian zone following shifts in stream dynamics. *Biological Conservation* 72: 371–379.

Miyashita, S., T. Miyazaki. 1992. Seasonal changes in neutral sugars and amino acids of particulare matter in Lake Nakanuma, Japan. *Hydrobiologia*, 245:95-104.

Moe, S. J. 2005. Recent advances in ecological stoichiometry: insights for population and community ecology. *OIKOS* 109:29-39.

Moresco, C, L. Rodrigues. 2013. O perifiton como bioindicados em rios. In SCHWARZBOLD, A., A. L. BURLIGA, L. C. TORGAN (Orgs). *Ecologia do perifiton*. São Carlos, RiMa Editora, 147-156.

Morgan. M. D. 1987. Impact of nutrient enrichment and alkalization on periphyton communities in the New Jersey Pine Barrens. *Hydrobiologia*, 144:123-241.

Moschini-Carlos, V. Dinâmica e estrutura da comunidade perifítica (substratos artificial e natural) na zona de desembocadura do Rio Paranapanema, Represa de Jurumirim – SP. 1996. 173f. Tese (Doutor em Ciências) –Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1996.

- Mosisch T.D., Bunn S.E., Davies P.M. & Marshall C.J. (1999) Effects of shade and nutrient manipulation on periphyton growth in a subtropical stream. *Aquatic Botany*, 64:167-177.
- Mosisch, T.D., Bunn, S.E., and Davies, P.M. 2001. The relative importance of shading and nutrients on algal production in subtropical streams. *Freshw. Biol.* 46(9): 1269–1278.
- Moulton, T. P., M. L. de Souza, R. M. L. Silveira & F. A. M. Krsulovic, 2004. Effects of ephemeropterans and shrimps on periphyton and sediments in a coastal stream (Atlantic forest, Rio de Janeiro, Brazil). *Journal of the North American Benthological Society* 23(4):868-881.
- Moulton, T. P., Souza, M. L., Walter, T. L., & Krsulovic, F. A. 2009. Patterns of periphyton chlorophyll and dry mass in a neotropical stream: a cheap and rapid analysis using a hand-held fluorometer. *Marine and Freshwater Research*, 60(3):224-233.
- Mulholland, P.J., Fellows, C.S., Tank, J.L., Grimm, N.B., Webster, J.R., Hamilton, S.K., Marti, E., Ashkenas, L., Bowden, W.B., Dodds, W.K., McDowell, W.H., Paul, M.J., and Peterson, B.J. 2001. Inter-biome comparison of factors controlling stream metabolism. *Freshw. Biol.* 46(11): 1503–1517.
- Murakami, E. A., L. Rodrigues. 2009. Resposta das algas perifíticas às alterações de temperatura e ao enriquecimento artificial de nutrientes em curto período de tempo. *Maringá, Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 31(3):273-284.
- Murphy, J. and J. P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36.
- Nelson, C. E., Bennett, D. M., & Cardinale, B. J. 2013. Consistency and sensitivity of stream periphyton community structural and functional responses to nutrient enrichment. *Ecological Applications*, 23(1): 159-173.
- Newbold, J. D., 1992. Cycles and spirals of nutrients. In CALOW, P. & G. E. PETTS (eds) *The rivers handbook: hydrological and ecological principles*. Blackwell Scientific Publishing, Oxford.
- Niyogi, D. K., McKnight, D. M. & Lewis, W. M. Jr. 1999. Influences of water and substrate quality for periphyton in a montane stream affected by acid mine drainage. *Limnol. Oceanogr.* 44:804–809.
- Odum, E. P. 1985. Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience* 35:419–422.
- Oliveira, E. C., & Qi, Y. 2003. Decadal changes in a polluted bay as seen from its seaweed flora: the case of Santos Bay in Brazil. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 32(6), 403-405.
- Omernik, J. M., A. R. Abernathy and L. M. Male. 1981. Stream nutrient levels and proximity of agricultural and forest land to streams: some relationships. *Journal of Soil and Water Conservation* 36: 227–231.



ONU. 2003. Urban and rural arear. Bew York: United Nations publications (ST/ESA/SER.A/231), Sales E.04.XIII.4. Disponível em: [http://www.un.org/esa/population/publications/wup2003/2003urban\\_rural.htm](http://www.un.org/esa/population/publications/wup2003/2003urban_rural.htm)>.

Padisák, J., Crossetti, L. O., & Naselli-Flores, L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621(1), 1-19.

Parsons, T. R., Y. Maita & C. M. Lalli. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater Analysis. Pergamon Press, Oxford.

Passy, S. I. 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* 86:171–178.  
Peierls B. L., N. F. Caraco, M. L. Pace and J. Cole. 1991. Human influence on river nitrgoen. *Nature*, 350: 386-387.

Pereira, P. S.; Fernandes, L. A. C.; Oliveira, J. L. M.; Baptista, D. F. 2012 Avaliação da integridade ecológica de rios em áreas do zoneamento ecológico econômico do complexo hidrográfico Guapiaçu-Macacu, RJ, Brasil. *Ambi-Agua*, Taubaté, v. 7, n. 1, p. 157-168.

Petts, G., J. Heathcote, D. Martin. 2002. Urban rivers, our inheritance and future. London, IWA publishing and environmental agency.

Potapova, M., and D. F. Charles. 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States. *Ecological Indicators* 7:48–70.

Pouličková, A.; Kitner, M.; Hašler, P. Vertical distribution of attached algae in shallow fishponds of different trophic status. *Biologia*, Bratislava, n. 61, v.1, p. 1-9, 2006.

Poulicková, A., P. Hasler, M. Lysávká and B. Spears. 2008. The ecology os freshwater epipellic algae: and update. *Phycologia*, 47(5): 437-450.

Power, M. E., 1992. Top-Down and Bottom-up Forces in Food Webs - Do Plants Have Primacy? *Ecology* 73(3):733-746.

Pretty, J. N., Mason, C. F., Nedwell, D. B., Hine, R. E., Leaf, S. and Dils, R. 2002. Environmental costs of freshwater eutrophication in England and Wales. *Environmental Science and Technology*, 37: 201-208.

Pringle, C. M., P. Paabyhansen, P. D. Vaux & C. R. Goldman, 1986. Insitu Nutrient Assays of Periphyton Growth in a Lowland Costa-Rican Stream. *Hydrobiologia* 134(3):207-213.

Pringle, C. M., & Triska, F. J. 1991. Effects of geothermal groundwater on nutrient dynamics of a lowland Costa Rican stream. *Ecology*: 951-965.

Pringle, C. M. & F. J. Triska, 2006. Effects of nutrient enrichment on periphyton. In HAUER, F. R. & G. A. LAMBERTI (eds) *Methods in stream ecology*. Academic Press, California, 877.

Prisha, M. 1994. Bioavailability of pulp and paper mill effluent phosphorus. *Water Sci. Technol.*, 29:93-103.

Puckett L. 1995. Identifying the major sources of nutrient water pollution. *Environmental Science and Technology*, 29: 408-414.

Qin P., C. M. Mayer, K. L. Schulz & M. E. Ritchie. 2007. Ecological stoichiometry in benthic food webs: effect of light and nutrients on periphyton food quantity and quality in lakes. *Limnology and Oceanography*, 52, 1728– 1734.

Quigg A., Z. V. Finkel, A. J. Irwin, Y. Rosenthal, T. Y. Ho, J. R. Reinfelder, O. Schofield, F. M. M. Morel & P. G. Falkowski. 2003. The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, 425, 291–294.

Quinn, J. M., Cooper, A. B., Stroud, M. J., & Burrell, G. P. 1997. Shade effects on stream periphyton and invertebrates: an experiment in streamside channels. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 31(5): 665-683.

Quinn J.M. 2000. Effects of pastoral development in New Zealand Stream Invertebrates: Ecology and Implications for Management. ed KJ Collier, MJ Winterbourn: 208-229. Christchurch, NZ: Caxton.

Rapport, D. J., H. A. Regier, and T. C. Hutchinson. 1985. Ecosystem behavior under stress. *American Naturalist* 125:617–640.

Raunio, J., and J. Soininen. 2007. A practical and sensitive approach to large river periphyton monitoring: comparative performance of methods and taxonomic levels. *Boreal Environment Research* 12:55–63.

Redfield, A. C. 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In DANIEL, R. J., (Ed). *James Johnstone Memorial Volume*. Liverpool, U. K., Liverpool University Press.

Redfield, A. C., B. H. Ketchum, F. A. Richards. 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. In HILL, M. N. (Ed). *Comparative and Descriptive Oceanography*. New York, Wiley.

Ren, Z., Z. Jiang and Q. Cai. 2013. Longitudinal patterns of periphyton biomass in Qinghai-Tibetan Plateau streams: an indicator of pasture degradation? *Quaternary International* 313-314: 92-99.

Reuner, J. E., S. L. Loeb and C. R. Goldman. 1986. Inorganic nitrogen uptake by epilithic periphyton in a N-deficient lake. *Limnol. Oceanogr.* 31 (1): 149-160.

Reynolds, C. S. and Davies, P. S. 2001. Sources and bioavailability of phosphorus fractions in freshwaters: A British perspective. *Biological Reviews*, 76: 27-64.

Richardson, K., J. Beardall and J. A. Raven. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytol.*, 93: 157-191.

Rimet, F., and A. Bouchez. 2012. Biomonitoring river diatoms: implications of taxonomic resolution. *Ecological Indicators* 15:92–99.

Rio de Janeiro (Estado). Lei Estadual nº 4018 de 05 de dezembro de 2002. Cria a área de proteção ambiental da bacia do rio macacu e determina providências para a defesa da qualidade da água. Disponível em: <<http://www.inea.rj.gov.br/legislacao/docs/4018.pdf>>

Ritchie, R. J., 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89:27-41.

Rodrigues, L., D. C. Bicudo. 2001. Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradiente of the upper Paraná river floodplain. *Rev. Brasil. Bot.* 24:235-248.

Rodrigues, L., D. C. Bicudo, V. Moschini-Carlos. 2003. O papel do perifíton em áreas alagáveis e nos diagnósticos ambientais. In THOMAZ, S. M., L. M. BINI (Eds). *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá, Editora da Universidade Estadual de Maringá, 211-229.

Roemer, S. C., Hoagland, K. D., & Rosowski, J. R. (1984). Development of a freshwater periphyton community as influenced by diatom mucilages. *Canadian Journal of Botany*, 62(9), 1799-1813.

Rosemond, A. D., P. J. Mulholland & J. W. Elwood, 1993. Top-Down and Bottom-up Control of Stream Periphyton - Effects of Nutrients and Herbivores. *Ecology* 74(4):1264-1280.

Rosemond, A.D. 1994. Multiple factors limit seasonal variation in periphyton in a forest stream. *J. North Am. Benthol. Soc.* 13: 333–344.

Round, F. E., R. M. Crawford, D. G. Mann. 1990. *the diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge, University Press, 747p.

Rusanov, A. G., Stanislavskaya, E. V., & Ács, É. 2012. Periphytic algal assemblages along environmental gradients in the rivers of the Lake Ladoga basin, Northwestern Russia: implication for the water quality assessment. *Hydrobiologia*, 695(1): 305-327.

Ruttner, F., 1963. *Fundamentals of Limnology*. University of Toronto press, Toronto.

Rutherford, J.C., Blackett, S., Blackett, C., Saito, L., Davies-Colley, R.J., 1997. Predicting the effects of shade on stream temperature. *NZ J. Mar. Freshwater Res.* 31, 707–721.

Rugenski, A. T., A. M. Marcarelli, H. A. Bechtold, and R. S. Inouye. 2008. Effects of temperature and concentration on nutrient release rates from nutrient diffusing substrates. *Journal of the North American Benthological Society* 27:52–57.

Ryder, D. S., Watts, R. J., Nye, E., and Burns, A. (2006). Can flow velocity regulate epixylic biofilm structure in a regulated floodplain river? *Marine and Freshwater Research* 57, 29–36.

Salomoni, S. E., O. Rocha, V. L. Callegaro, E. A. Lobo. 2006. Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Gravataí river, Rio Grande do Sul, Brazil. *Hydrobiologia*, 559:233-246.

Sanches, L. F., Guariento, R. D., Caliman, A., Bozelli, R. L., & Esteves, F. A. (2011). Effects of nutrients and light on periphytic biomass and nutrient stoichiometry in a tropical black-water aquatic ecosystem. *Hydrobiologia*, 669(1), 35-44.

Sand-Jensen, K. 1983. Photosynthetic carbon sources of stream macrophytes. *Folkestone, Journal of Experimental Botany*, 34(2):198-210.

Santos, T. R., Ferragut, C., & Bicudo, C. E. M. (2013). Does macrophyte architecture influence periphyton? Relationships among, periphyton assemblage structure and its nutrient (C, N, P) status. *Hydrobiologia*, 714(1), 71-83.

Schneck, E., L. Torgan, A. Schwarzbald. 2007. Epilithic diatom community in a high altitude stream impacted by fish farming in Southern Brazil. *Acta Limnol. Bras.*, 19:341-355.

Schneck, F. 2013. Tendências e lacunas dos estudos sobre perifíton de ambientes aquáticos continentais do Brasil: análise censuária. In SCHWARZBOLD, A., A. L. BURLIGA, L. C. TORGAN (Orgs). *Ecologia do perifíton*. São Carlos, RiMa Editora, 7-22.

Schallenberg, M., & W Burns, C. (2001). Tests of autotrophic picoplankton as early indicators of nutrient enrichment in an ultra- oligotrophic lake. *Freshwater Biology*, 46(1), 27-37.

Scheer, H., 1991. *Chlorophylls*. CRC Press, Boca Raton.

Schindler, David W., R. E. Hecky, D. L. Findlay, M. P. Stainton, B. R. Parker, M. J. Paterson, K. G. Beaty, M. Lyng, and S. E. M. Kasian. 2008. "Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(32): 11254-11258.

Schwarzbald, A., A. L. Burliga and L. C. Torgan. 2013. *Ecologia do perifíton*. São Carlos: RiMa Editora, 2013. 413p

Scrimgeour, G. J., and P. A. Chambers. 1997. Development and application of a nutrient-diffusing bioassay for large rivers. *Freshwater Biology* 38:221–231.

Secretaria do Meio Ambiente (Estado de São Paulo) e Banco Mundial. 2010. Estudos comparados em dez microbacias do estado de São Paulo com a finalidade de implementar metodologias de conservação. IIEGA, 150p.

Sekar R, K. V. K. Nair, V. N. R. Rao and V. P. Venugopalan. 2002. Nutrient dynamics and successional changes in a lentic freshwater biofilm. *Freshw Biol* 47:1893–1907

Shannon, C. E. & W. Weaver. *The mathematical theory of communication*. Urbana. Univ. Illinois Press. 1963. 173p.

Sharapova, T. A. 2010. Abiotic and biotic factors affecting zooperiphyton development in a waterflow of a cooling water pool. *New York, Contemporary Problems of Ecology*, 3(4):495-497.

Shortreed, K. S., J. G. Stockner. 1983. Periphyton biomass and species composition in a costal rainforest stream in British Columbia: effects of environmental changes caused by logging. *Can. L. Fish. Aquat. Sci.*, 40: 1887-1895.

Silva, A. M. G. 2012. Relações entre paisagens ambientais (mata atlântica e pastagens) e a biogeoquímica de C, N e P em águas superficiais na bacia do rio Imbé-Lagoa de Cima, RJ. Rio de Janeiro, 2012. 80p. Dissertação (Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Sládeček, V. & Sládečková, A. 1963. Relation between wet weight and dry weight of the periphyton: *Limnology and Oceanography* 8 (2): 309 – 311.

Small, G. E., AND C. M. Pringle. 2010. Deviation from strict homeostasis across multiple trophic levels in an invertebrate consumer assemblage exposed to high chronic phosphorus enrichment in a Neotropical stream. *Oecologia (Berlin)*, 162:581–590.

Smith, V. H. 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environmental Science and Pollution Research*, 10, 126-139.

Sommer, U. 1996. Nutrient competition experiments with periphyton from the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 140: 161-167.

Souza, M. G. M. 2002. Variação da comunidade de diatomáceas epilíticas ao longo de um rio impactado no município de São Carlos-SP e sua relação com variáveis físicas e químicas. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos (Tese, Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), 168p.

Souza, J. S. Variação sazonal da hidroquímica na saída da bacia do rio Paraíba do Sul, Campos dos Goytacazes, RJ ao longo de 2005. Rio de Janeiro, 2007. 49p. Monografia - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Steinman, A. D., and McIntire, C. D. 1986. Effects of current velocity and light energy on the structure of periphyton assemblages in laboratory streams. *Journal of Phycology* 22: 352–361.

Steinman, A. D.; McINTIRE, C. D. 1987. Effects of irradiance on the community structure and biomass of algal assemblages in laboratory streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Ottawa, 44:1640-1648.

Steinman, A. D. 1992. Does an increase in irradiance influence periphyton in a heavily-grazed woodland stream? *Oecologia*, 91: 163-170.

Steinman, A.D. 1996. Effects of grazers on freshwater benthic algae. In *Algal ecology*. Edited by R.J. Stevenson, M.L. Bothwell, and R.L. Lowe. Academic Press, San Diego, California. pp. 341–374.

Steinman, A. D., G. A. Lamberti & P. R. Leavitt. 2006. Biomass and pigments of benthic algae. In HAUER, F. R. & G. A. LAMBERTI (eds) *Methods in stream ecology*. Academic Press, California, 877.

- Stelzer, R. S., and G. A. Lamberti. 2001. Effects of N:P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community, biomass, and elemental composition. *Limnology and Oceanography* 46:356–367.
- Stephens, S. H., Brasher, A. M., & Smith, C. M. 2012. Response of an algal assemblage to nutrient enrichment and shading in a Hawaiian stream. *Hydrobiologia*, 683(1), 135-150.
- Sterner, R. W. & D. O. Hessen. 1994. Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:1-29.
- Sterner, R. W., J. J. Elser, E. J. Fee, S. J. Guildford, and T. H. Chrzanowski. 1997. The light:nutrient ratio in lakes: the balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *The American Naturalist* 150:663-684.
- Sterner, R. W., J. J. Elser. 2002. *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. New Jersey, Princeton University Press. 439p.
- Stevenson, R. J. 1984. How currents on different sides of substrates in streams affect mechanisms of benthic algal accumulation. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 69, 241–262.
- Stevenson, R. J. 1996. The stimulation of drag and current. In ‘Algal Ecology – Freshwater Benthic Ecosystems’. (Eds R. J. Stevenson, M. L. Bothwell and R. L. Lowe.) pp. 321–340. (Academic Press: San Diego, CA.)
- Stevenson, J.R, S. Sabater. 2010. Understanding effects of global change on river ecosystems: Science to suport policy in a changing world. *Hydrobiologia*, 657:3-18.
- Strickland, J. D. H. & T. R. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Suding, K. N., S. L. Collins, L. Gough, C. Clark, E. E. Cleland, K. L. Gross, D. G. Milchunas, and S. Pennings. 2005. Functional- and abundance-based mechanisms explain diversity loss due to N fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102:4387–4392.
- Sugihara, G. 1980. Minimal Community Structure: An Explanation of Species Abundance Patterns. *The American Naturalist*, 116(6):770-787.
- Sweeney B.W. 1993. Effects of streamside vegetation on macroinvertebrate communities of White Clay Creek in eastern North America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 144: 291-340.
- Tank, J. L., & Dodds, W. K. (2003). Nutrient limitation of epilithic and epixylic biofilms in ten North American streams. *Freshwater Biology*, 48(6), 1031-1049.
- Tank, J. L., M. C. B. M. C & E. J. Rosi-Marshall, 2006. Nitrogen limitation and uptake. . In Hauer, F. R. & G. A. Lamberti (eds) *Methods in stream ecology*. Elsevier, New York, 213–238.

- Taylor, B. W., C. F. Keep, R. O. Hall Jr, B. J. Koch, L. M. Tronstad, A. S. Flecker & A. J. Ulseth. 2007. Improving the fluorometric ammonium method: matrix effects, background fluorescence, and standard additions. *Journal of the North American Benthological Society*, 26(2): 167-177.
- Templer, P., G. Lovett, K. Weathers, S. Findlay & T. E. Dawson, 2005. Influence of Tree Species on Forest Nitrogen Retention in the Catskill Mountains, New York, USA. *Ecosystems* 8(1):1-16 doi:10.1007/s10021-004-0230-8.
- Tilman, D., S. S. Kilham, and P. Kilham. 1982. Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:349–372.
- Tormos T., K. V. Looy, B. Villeneuve, P. Kosuth and Y. Souchon. 2014. High resolution land cover data improve understanding of mechanistic linkages with stream integrity. *Freshwater Biology*, 59(8):1721-1734.
- Towsend, C. R., M. Begon, J. P. Harper. 2010. *Fundamentos em ecologia*. 3 ed. Porto Alegre, Artmed. 576p.
- Tsai, J. W., Chuang, Y. L., Wu, Z. Y., Kuo, M. H., and Lin, H. J. (2014). The effects of storm-induced events on the seasonal dynamics of epilithic algal biomass in subtropical mountain streams. *Marine and Freshwater Research* 65, 25–38.
- Tuchman, N. C. 1996. The role of heterotrophy in algae. In STEVENSON, R. J., M. L. BOTHWELL, R. L. LOWE (Eds). *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. San Diego, Academic Press, 299-319.
- Tuji, A. 2000. The effect of irradiance on the growth of different forms of freshwater diatoms: implications for succession in attached diatom communities. New York, *Journal of Phycology*, 36(4):659-661.
- Tundisi, J. G., T. Matsumura-Tundisi. 2008. *Limnologia*. São Paulo: Oficina de Textos. 631p.
- Udy, J. W., Fellows, C. S., Bartkow, M. E., Bunn, S. E., Clapcott, J. E., & Harch, B. D. (2006). Measures of nutrient processes as indicators of stream ecosystem health. *Hydrobiologia*, 572(1): 89-102.
- Urabe, J. and Sterner, R. W. 1996. Regulation of herbivore growth by the balance of light and nutrients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 8465-8469.
- Urabe, J., Kyle, M., Makino, W., Yoshida, T., Andersen, T. and Elser, J. J. 2002. Reduced light increases herbivore production due to stoichiometric effects of light / nutrient balance. *Ecology*, 83, 619-627.
- Vadeboncoeur, Y., M. J. Vander Zanden & D. M. Lodge. 2002. Putting the lake back together: Reintegrating benthic pathways into lake food web models. *Bioscience* 52(1):44-54.
- Van Dam, H., A. Mertens & J. Sinkeldam. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117–133.



- Vercellino, I. S., D. C. Bicudo. 2006. sucessão da comunidade de algas perifíticas em reservatório oligotrófico tropical (São Paulo, Brasil): comparação entre período seco e chuvoso. *Rev. Bras. Bot.*, 29(3):363-377.
- Vercellino, I. S. 2007. Respostas do perifíton aos pulsos de enriquecimento em níveis crescentes de fósforo e nitrogênio em represa tropical mesotrófica (Lago das Ninféias, São Paulo) (Doctoral dissertation, Universidade Estadual Paulista).
- Villeneuve, A., Montuelle, B., Bouchez, A. 2010. Influence of slight differences in environmental conditions (light, hydrodynamics) on the structure and function of periphyton. *Aquat. Sci.* 72, 33–44
- von Schiller, D., Martin, E., Riera, J.L., and Sabater, F. 2007. Effects of nutrients and light on periphyton biomass and nitrogen uptake in Mediterranean streams with contrasting land uses. *Freshw. Biol.* 52(5): 891–906.
- Vrede, T., Ballantyne, A., Mille-Lindblom, C., Algesten, G., Gudas, C., Lindahl, S. and Brunberg, A. K. 2009. Effects of N : P loading ratios on phytoplankton community composition, primary production and N fixation in a eutrophic lake. *Freshwater Biology*, 54, 331-344.
- Vymazal, J. 1988. The use of periphyton communities for nutrient removal from polluted streams. *Hydrobiologia*, 166(3): 225-237.
- Wagenhoff, A., C. R. Townsend, N. Phillips, and C. D. Matthaei. 2011. Subsidy-stress and multiple-stressor effects along gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients in a regional set of streams and rivers. *Freshwater Biology* 56:1916–1936.
- Walsh C.J., Roy A.H., Feminella J.W., Cottingham P.D., Groffman P.D. & Morgan R.P. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 706– 723.
- Wallace, J. B., J. R. Webster & W. R. Woodall. 1977. The role of filter feeders in flowing water. *Archives in Hydrobiologie* 79:506-532.
- Wantzen, K. M., A. Ramírez, and K. O. Winemiller. 2006. New vistas in neotropical stream ecology – preface. *Journal of the North American Benthological Society* 25:61-65.
- Waters, T. F. (1995). Sediment in streams: sources, biological effects, and control. American Fisheries Society monograph (USA).
- Watson, S., & Kalff, J. 1981. Relationships between nannoplankton and lake trophic status. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(8): 960-967.
- Webster, J. R. 1975. Interpretation of invertebrate drift in streams. *Ecology* 46:327-334.
- Webster, J. R. & B. C. Patten. 1979. Effects of watershed perturbation on stream potassium and calcium dynamics. *Ecological Monographs* 49:51-72.



Welch, E. B., Quinn, J. M. and Hickey, C. W. 1992. Periphyton biomass related to point-source nutrient enrichment in seven New Zealand streams. *Water Research*, 26: 669-675.

Wetzel, R. G. 1983. Recommendation for future research on periphyton. In WETZEL, R. G. (ed) *Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague, Dr. W. Junk publishers.

Wetzel, R. G. 1996. Benthic algal and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. In STEVENSON, R. J., M. L. BOTHWELL & R. L. LOWE (eds) *Algal Ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, New York.

Wetzel, R. G. 2001. *Limnology*. Academic Press, New York.

Whitehead, P. G., Johnes, P. J. and Butterfield, D. 2002. Steady state and dynamic modelling of nitrogen in the River Kennet: impacts of land use change since the 1930s. *Science of the Total Environment*, 282: 417-434.

Whitton, B. A., E. Rott, G. Friedrich. 1991. Use of algae for monitoring rivers II. Innsbruck: Studentenförderungs-Ges.m.b.H. 193p.

Winterbourn, M. J., 1990. Interactions among nutrients, algae and invertebrates in a New Zealand mountain stream. *Freshwater Biology* 23:463-474.

Withers, P. J. A. and Jarvie, H. P. 2008. Delivery and cycling of phosphorus in rivers: A review. *Science of the Total Environment*, 400, 379-395.

Wu, J. T. 1999. A generic index of diatom assemblages as bioindicator of pollution in the Keelung River of Taiwan. *Hydrobiologia* 397:79-87.

Yu, S. F., & Lin, H. J. 2009. Effects of agriculture on the abundance and community structure of epilithic algae in mountain streams of subtropical Taiwan. *Botanical Studies*, 50(1): 73-87.  
Zanini, H. L. H. T. Caracterização limnológica e microbiológica do córrego rico que abastece Jaboticabal (SP). Jaboticabal, 75 f. 2009. Tese (doutorado em microbiologia agropecuária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

Zimmerman, C. J., Goodlet, C. & Comer, G. H. 1967 in *Symposium on River Morphology* (Int. Assoc. Hydrol. Sci.), pp. 255-275.