



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

Fausto Machado da Silva

**Estoque e variação de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio em  
perifíton, material particulado e algas em gradiente de impacto antropogênico  
no sistema hidrográfico de Guapi-Macacu, RJ.**

Rio de Janeiro

2009

Fausto Machado da Silva

**Estoque e variação de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio em perifiton, material particulado e algas em gradiente de impacto antropogênico no sistema hidrográfico de Guapi-Macacu, RJ.**



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.

Orientador: Prof. Dr. Timothy Peter Moulton

Rio de Janeiro

2009

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

S586 Silva, Fausto Machado da.

Estoque e variação de isótopos de carbono e de nitrogênio em perifiton, material particulado e algas em gradiente de impacto antropogênico no sistema hidrográfico Gaupi-Macacu, RJ/ Fausto Machado da Silva. – 2009.

78f. : Il.

Orientador: Timothy Peter Moulton.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Ecologia aquática – Teses. 2. Carbono - Isótopos – Teses. 3. Bacias hidrográficas – Rio de Janeiro (Estado) – Teses. I. Moulton, Timothy Peter. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 574.5

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação.

---

Assinatura

---

Data

Fausto Machado da Silva

**Estoque e variação de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio em perifiton, material particulado e algas em gradiente de impacto antropogênico no sistema hidrográfico de Guapi-Macacu, RJ.**

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.

Aprovado em 17 de fevereiro de 2009.

Orientador: Prof. Dr. Timothy Peter Moulton  
Instituto de Biologia – UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Heitor Evangelista da Silva  
Instituto de Biologia – UERJ

---

Prof. Dr. Kenny Tanizaki Fonseca  
Instituto de Geociências – UFF

---

Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla  
Instituto de Biologia – UFRJ

Rio de Janeiro  
2009

## **AGRADECIMENTOS**

A meu orientador Dr. Timothy Peter Moulton pela amizade e por todo o apoio técnico e científico.

Aos meus colegas do Laboratório de Rios e Córregos que me acompanharam durante a iniciação científica e durante o mestrado: Dr. Marcelo Souza, Felipe Krsulovic, Ernesto Brito, Andrea Oliveira, Dr. Pedro Moraes, Cristiano Y. Sato, Rafael Lima, Eduardo Silva Júnior, Daniella Proença, Gustavo Ferreira, Ricardo Freitas e especialmente Vinicius Neres de Lima por todo o apoio e amizade desde a graduação.

Aos colegas da Fundação Oswaldo Cruz do projeto integrado especialmente Dr. Darcilio Baptista, Riccardo Mugnai e Renata Bley Oliveira.

À Rosário Braga pelo auxílio na identificação das algas.

Aos meus colegas do Departamento de Ecologia, à secretaria, direção e coordenação da Pós-Graduação em Ecologia e Evolução.

Aos meus familiares: minha mãe Maria Angélica, meu pai José Roberto, meu avô José, meu irmão Vitor e a Thaís por todo apoio e carinho.

Ao Nicholas, à família de Cristiano Sato e ao Gustavo e Renata pelas casas de campo.

Ao Laboratório do CENA/USP pelas análises de espectrometria.  
Ao CNPq pela bolsa de mestrado Edital CT – Hidro 040 e ao Instituto BioAtlântica pelo financiamento do projeto.

A Revisora Dra. Sonia Barbosa e aos membros da Banca Examinadora.

Aos meus amigos do Lorena por todas as discussões filosóficas.

## RESUMO

SILVA, Fausto Machado da. *Estoque e variação de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio em perifíton, material particulado e algas em gradiente de impacto antropogênico no sistema hidrográfico de Guapi-Macacu, RJ*. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

O presente trabalho teve o objetivo testar se a composição isotópica de carbono e nitrogênio ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) do perifíton, do material orgânico particulado e das algas filamentosas acompanha o gradiente de impacto antropogênico presente na Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu, no estado do Rio de Janeiro. O gradiente de impacto nesta área é formado pelo desmatamento da vegetação ripária, atividades agropecuárias e urbanização. Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos componentes estudados não acompanharam o impacto presente nas microbacias dos pontos estudados. Apenas o  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton e das algas filamentosas acompanharam o impacto. Seus valores aumentam com o aumento do impacto mostrando que assimilam o material proveniente de fontes antropogênicas como esgoto e fertilizantes. O  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton mostrou-se muito sensível às mudanças da paisagem do entorno do rio presentes na região. Assim, a composição isotópica do nitrogênio do perifíton pode ser uma importante ferramenta para aplicação de monitoramento e recuperação da integridade de sistemas aquáticos da região.

Palavras-chave: Uso da Terra. Rios (Riachos ou Córregos). Isótopos Estáveis. Carbono. Nitrogênio. Perifíton. Algas. Matéria Orgânica.

## ABSTRACT

We investigate if isotopic composition of streams' system components can respond to anthropogenic alterations in a river landscape. In recent years environmental managers have sought biomonitoring tools that reflect ecosystem functioning as well as correlating sensitively with impacts. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen relate to food webs and nutrient cycling as well as to potential sources of pollution. In this study we tested if the stable isotopic composition of carbon and nitrogen ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of periphyton, fine particulate organic matter and filamentous algae responded to anthropogenic impacts in the Hydrologic Basin of Guapi-Macacu, close to Rio de Janeiro city, Brazil. The anthropogenic impacts were riparian deforestation, agriculture, pasture and urban occupation. We quantified these using satellite imagery and measurement of water chemistry. The  $\delta^{13}\text{C}$  values of periphyton, FPOM and algae did not respond to anthropogenic alteration.  $\delta^{15}\text{N}$  values of periphyton and of filamentous algae increased with landscape alteration. This is probably because these components assimilate enriched anthropogenic inputs such as sewage and fertilizers.  $\delta^{15}\text{N}$  of periphyton was very sensitive to small changes in landuse and was linearly related to percent alteration. We suggest that it can be a powerful tool for monitoring and restoration programs of this region.

Keywords: Landuse. Stream (River). Stable Isotopes. Carbon. Nitrogen. Periphyton. Algae. Organic Matter.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% – per cento

‰ – per mil

$^{12}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$  – Isótopos Estáveis de Carbono

$^{14}\text{N}$  e  $^{15}\text{N}$  – Isótopos Estáveis de Nitrogênio

AFDM – Matéria Orgânica Livre de Cinzas  
("Ash free dry mass")

BHGM – Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu

C – Carbono

CD – Carbono Dissolvido

CLA – Clorofila a

g – grama (unidade de massa)

h – hora

IA – Índice autotrófico (AFDM/CLA)

IMP – Impacto total da microbacia

k – quilo ( $10^3$ )

L – Litro

m – metro (unidade de comprimento)

m – mili ( $10^{-3}$ )

MIBA – Microbacia

MOG – Matéria Orgânica Grosseira

MOPF – Matéria Orgânica Particulada Fina

N – Nitrogênio

°C – Grau Celsius

RUR – Área da microbacia com impacto rural

URB – Área da microbacia com impacto urbano

VEG – Área da microbacia com vegetação

$\delta^{13}\text{C}$  – Razão de isótopos estáveis de carbono

$\delta^{15}\text{N}$  – Razão de isótopos estáveis de nitrogênio

$\mu$  – micro ( $10^{-6}$ )



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Mapa de Localização da Bacia Hidroráfica Guapi-Macacu (BHGM).....	29
Figura 2 -	Mapa de Localização das Unidades de Conservação adjacentes a BHGM.....	30
Figura 3 -	Mapa de 1:225.000 da BHGM. Fonte: IBGE.....	30
Figura 4 -	Rede Hídrica da BHGM e os 25 riachos amostrados.....	31
Figura 5 -	Modelo Conceitual de Impactos Antropogênicos na BHGM.....	31
Figura 6 -	Modelo da metodologia para calcular as áreas das microbacias de cada sítio amostral .....	32
Figura 7 -	Modelo conceitual do fluxo de material proveniente do sistema terrestre que é incorporado pelas compartimentos do sistema aquático .....	32
Figura 8 -	Fotografia do amostrador e do material de filtragem.....	35
Tabela 1 -	Valores das áreas da microbacias e os respectivos valores das áreas de uso do solo em km <sup>2</sup> de cada sítio de amostragem.....	37
Tabela 2 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em <i>per mil</i> (‰) e de CLA (Clorofila a), AFDM (matéria orgânica sem cinzas), DM (matéria seca) em mg/m <sup>2</sup> e IA (índice autotrófico=AFDM/CLA) do perifíton da BHGM.....	38
Figura 9 -	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ do perifíton de cada sítio amostral da	

	BHGM agrupados por categoria de impacto <i>a priori</i> .....	39
Tabela 3 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em <i>per mil</i> (‰) e de AFDM (matéria orgânica sem cinzas), DM (matéria seca) e Cinzas em mg/m <sup>2</sup> .....	40
Figura 10	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ do MOPF de cada sítio amostral da HGM agrupados por categoria de impacto <i>a priori</i> .....	41
Tabela 4 -	Identificação dos táxons das algas filamentosas encontradas em 19 dos 25 riachos amostrados na BHGM e seus respectivos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ .....	42
Figura 11 -	Histograma de contagem dos táxons presentes em 19 dos 25 riachos amostrados na BHGM.....	44
Figura 12 -	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ das médias das algas filamentosas de cada sítio amostral da BHGM agrupados por grupo.....	44
Figura 13 -	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ das médias das algas filamentosas de cada sítio amostral da BHGM agrupados por superclasse.....	45
Figura 14 -	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ das médias das algas filamentosas de cada sítio amostral da BHGM agrupados por gênero.....	45
Figura 15 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em <i>per mil</i> (‰) das algas filamentosas agrupadas por sítio amostral da BHGM.....	46
Figura 16 -	Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\delta^{15}\text{N}$ das médias das algas filamentosas de cada sítio amostral da BHGM agrupados por categoria de	

impacto <i>a priori</i> .....	46
Figura 17 - Gráficos de densidade de pontos da variável independente e das variáveis respostas testadas. Dados crus e transformados.....	48
Figura 18 - Gráfico de $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}*(-1))$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ do perifiton da BHGM.....	50
Figura 19 - Gráfico de $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ do perifiton da BHGM. Comparação entre a regressão linear e a logarítmica.....	50
Figura 20 - Gráfico de $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ do perifiton da BHGM. Separação em dois intervalos.....	51
Figura 21 - Gráfico de $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}*(-1))$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ do MOPF da BHGM.....	52
Figura 22 - Gráfico de $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N}+1)$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ do MOPF da BHGM.	52
Figura 23 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ das algas filamentosas (médias para cada sítio amostral) da BHGM.....	54
Figura 24 - Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$ x $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ das algas filamentosas (médias para cada sítio amostral) da BHGM.....	54
Figura 25 - Resumo dos valores do modelo conceitual (Fig.7) do fluxo de material incorporado nos compartimentos ecológicos estudados.	62

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	<b>Impactos em Sistemas Lóticos</b> .....	14
1.2	<b>Isótopos Estáveis em Pesquisas Básicas e Aplicadas</b> .....	17
1.3	<b>Os Componentes Ecológicos Escolhidos</b> .....	24
1.4	<b>Objetivos e Hipóteses</b> .....	26
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
2.1	<b>Área de Estudo</b> .....	28
2.2	<b>Coleta de Dados</b> .....	33
2.2.1	<u>Dados Geográficos</u> .....	33
2.2.2	<u>Coleta de Perifíton</u> .....	33
2.2.3	<u>Coleta de MOPF</u> .....	34
2.2.4	<u>Coleta de Algas Filamentosas</u> .....	35
2.3	<b>Análise de Dados</b> .....	35
3	<b>RESULTADOS</b> .....	37
3.1	<b>Dados Descritivos</b> .....	37
3.1.1	<u>Geografia</u> .....	37
3.1.2	<u>Perifíton</u> .....	38
3.1.3	<u>MOPF</u> .....	39
3.1.4	<u>Algas Filamentosas</u> .....	41
3.2	<b>Testes Estatísticos</b> .....	47
3.2.1	<u>Tratamento de Dados</u> .....	47
3.2.2	<u>Perifíton</u> .....	49
3.2.3	<u>MOPF</u> .....	51
3.2.4	<u>Algas Filamentosas</u> .....	53
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	56
4.1	<b>Perifíton</b> .....	56
4.2	<b>MOPF</b> .....	58
4.3	<b>Algas Filamentosas</b> .....	59
4.4	<b>Uso da Ferramenta e Pesquisas Futuras</b> .....	62
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	65
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	66

<b>APÊNDICE A</b> - Exemplo das fotografias aéreas utilizadas para o cálculo da microbacia e dos diferentes usos do solo.....	74
<b>APÊNDICE B</b> – Fotos de alguns Sítios Amostrais .....	75
<b>APÊNDICE C</b> – Fotos Microscopia Óptica.....	77

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Impactos em Sistemas Lóticos

Para analisar os efeitos gerados por atividades humanas em um determinado ecossistema aquático deve-se, primeiramente, delimitar a área de um corpo hídrico, como uma bacia hidrográfica. A bacia hidrográfica é formada pela área do relevo que drena a água para uma rede contínua de córregos que se encontram antes de desembocar no mar. Nesta área, há a presença de uma vegetação que interage com o sistema aquático por meio do fluxo de materiais. Estes materiais produzidos no ambiente terrestre entram no sistema aquático devido às ações da gravidade, vento e chuva. Estes podem ser utilizados pelos organismos aquáticos e também são carregados pela água até desembocar no mar ou outro corpo de água.

Quando tomamos como referência a rede hídrica, esta vegetação é chamada de vegetação ripária. Seu estado de conservação é extremamente importante para a integridade e o funcionamento dos sistemas aquáticos que por ela permeiam. Em outras palavras, impactos ambientais que transformam a paisagem da vegetação ripária também transformam o ecossistema aquático dependente dela.

A retirada da vegetação ripária tem implicações diretas na entrada de materiais, na forma e na estrutura de rios e córregos. Após a retirada da vegetação, diminui a entrada de material orgânico grosseiro particulado e dissolvido (Bilby 1981; Findlay *et al.* 2001; Paul & Meyer 2001). Sua ausência também aumenta a erosão lateral do solo e, por conseguinte, ocorre o alargamento do canal do rio. Esta erosão gera sedimentação de areia, silte e argila. Em consequência disso, ocorre o soterramento de rochas e troncos, o que implica na perda da heterogeneidade de habitats, além de mudanças no fluxo hídrico. Estas alterações acabam por influenciar comunidades de macroinvertebrados (Sponseller *et al.*, 2001), peixes (Kennard *et al.* 2006) e na distribuição de produtores aquáticos (Biggs 1996; Hill *et al.* 2000). Em suma, a retirada da vegetação ripária resulta em alterações na composição de toda a biota aquática (Richards *et al.*, 1996; Bunn; Arthington, 2002).

A estrutura do canal pode ser transformada não só pela retirada da vegetação ripária, mas também por outros tipos de atividades de construção civil. A construção de uma barragem, o desvio do curso do rio ou sua canalização são exemplos de mudanças abruptas na estrutura do canal. Estas podem causar a interrupção da

continuidade do ambiente para espécies migratórias como peixes, crustáceos e moluscos (Kareiva *et al.*, 2000; Freeman *et al.*, 2003; Greathouse *et al.*, 2006).

Normalmente, a descontinuidade do rio diminui a possibilidade de uso de habitats de espécies potamódromas<sup>1</sup> em geral. Um efeito mais grave ocorre para espécies anfídromas<sup>2</sup>. Por exemplo, peixes da família Salmonidae vivem a maior parte de sua vida adulta no mar e sobem o rio para completar seu ciclo reprodutivo. Depois do nascimento, os alevinos exploram fontes alimentares do rio e emigram para o mar quando se tornam adultos. O inverso acontece com camarões catádromos. Estes passam sua vida adulta em toda a extensão da água doce do rio. No período reprodutivo, as fêmeas lançam seus ovos na água e estes são carregados até a água salobra de estuários. Lá os ovos eclodem e os filhotes se alimentam das fontes de carbono estuarinas e, durante seu desenvolvimento ontogenético, sobem e colonizam as partes mais altas da bacia hidrográfica. Resumindo, a perda de continuidade hídrica dificulta o estabelecimento de populações de espécies migratórias em geral, principalmente quando se trata de espécies que dependem da ligação da água doce com a água salgada para seu desenvolvimento (Kareiva *et al.*, 2000; Freeman *et al.*, 2003; Greathouse *et al.*, 2006).

Além das mudanças estruturais geradas pela retirada da vegetação ripária e pela construção de anteparos físicos, a presença humana gera outras transformações da paisagem do entorno do rio, que acabam por alterar o funcionamento dos sistemas aquáticos lóticos. No caso do estabelecimento de áreas rurais, ocorre a introdução de novas espécies vegetais, principalmente de gramíneas e plantas de cultivo agrícola.

As plantas de cultivo geralmente recebem fertilizantes para aumentar a produção agrícola. Estes fertilizantes são ricos em nutrientes (como compostos nitrogenados) que devido à ação da água da chuva e da gravidade escoam diretamente para corpos hídricos, ou, ainda, percolam o solo chegando ao sistema aquático através da água hiporreica. Adicionalmente a isso, estas áreas também são utilizadas para o cultivo de animais, como na pecuária extensiva e também há a ocupação familiar.

Fertilizantes e excrementos de animais – incluindo o homem – acabam por aumentar a entrada de nutrientes nos sistemas aquáticos. Este quadro, somado à entrada de luz pela ausência de cobertura vegetal, aumenta a produção primária dos

produtores aquáticos, sobretudo em sistemas oligotróficos, como são os córregos tropicais da região da Mata Atlântica. Isto acarreta na mudança do funcionamento do sistema, podendo até causar eutrofização (Smith *et al.*, 1999).

Existem muitas técnicas para se investigar a integridade de um sistema aquático e os efeitos causados por impactos antropogênicos, como a transformação da paisagem terrestre do entorno do rio. Dentre elas, encontramos as clássicas medições físico-químicas (Smith *et al.*, 1996; Drizo *et al.*, 1999), que são interessantes para averiguar o estado da água, ou seja, se é potável, se contém algum químico específico (como um metal pesado) que coloca em risco a saúde humana, entre outras questões. Porém, esta técnica não é eficiente para indicar alterações biológicas dos ecossistemas aquáticos.

As alterações biológicas podem ocorrer em diferentes níveis hierárquicos da ecologia. Estes níveis hierárquicos são representados por parâmetros populacionais, de comunidades e parâmetros funcionais de ecossistemas. Alguns trabalhos tiveram o objetivo de investigar populações e utilizaram espécies indicadoras, por representarem alguma característica interessante ou por acumularem poluentes (Whitton; Kelly, 1995; Costanzo *et al.*, 2000; Costanzo *et al.*, 2005). Outros trabalhos dão ênfase na composição de espécies de comunidades aquáticas (Buss *et al.*, 2002; Cao *et al.*, 2002; Braun, 2005), que podem ser descritas por índices bióticos de integridade (Hill *et al.*, 2000; Baptista *et al.*, 2007). Geralmente esses trabalhos mostram de forma elegante a mudança de padrões vinculados a populações específicas, ou a interação destas em comunidades, o que acaba por modificar o funcionamento do ecossistema em questão. Assim, estes podem dar um “diagnóstico” da saúde do ecossistema que está sobre estresse causado pelas atividades antropogênicas. Por fim, há a medição direta de parâmetros funcionais que respondem de maneira mais objetiva a questão da integridade ou saúde do ecossistema, tais como metabolismo (Bunn *et al.*, 1999; Young; Hurryn, 1999; Fellows *et al.*, 2006), decomposição (Gessner; Chauvet, 2002; Gulis *et al.*, 2006), estoque de massa (Hill *et al.*, 2000), ciclagem de nutrientes (Valiela *et al.*, 1997; Udy *et al.*, 2006) e estrutura de teias tróficas (Singer; Battin, 2007).

Investigar a questão “saúde” ou integridade do ecossistema não é uma tarefa tão fácil quanto analisar a qualidade da água para consumo humano. Esta última já apresenta parâmetros físico-químicos e biológicos (como coliformes fecais) pré-estabelecidos. Porém, para investigar a qualidade do ecossistema como um todo,



tomando por base a integridade biológica, é necessária uma abordagem multidisciplinar. Desta forma, podemos garantir que o problema será analisado desde a escala molecular até a geográfica, passando por diferentes ramos da ciência. Neste contexto, encontra-se a ecologia que é capaz de investigar o sistema em diferentes níveis hierárquicos. Em outras palavras, uma boa inferência sobre a magnitude de um impacto ambiental deve explorar a complementaridade dessas técnicas a fim de analisar todos os níveis hierárquicos do sistema.

Este presente trabalho tem o objetivo de investigar como é alterada a composição de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na transformação da paisagem terrestre, devido ao desmatamento, agricultura, pastagem e ocupação humana. Esta investigação tem implicações para o entendimento dos ciclos biogeoquímicos que pertencem ao nível hierárquico de ecossistema.

## 1.2 Isótopos estáveis em pesquisas básicas e aplicadas

A análise de isótopos estáveis é uma técnica que pode identificar alterações antropogênicas em sistemas aquáticos, sobretudo no nível de ecossistema. Isótopos são elementos químicos de mesmo número atômico, ou seja, o mesmo número de prótons e elétrons. Isto quer dizer que apresentam a mesma característica química (possibilidade de ligações), porém com diferente número de massa.

O elemento químico carbono (C) apresenta número atômico igual a 6, o que significa que tem 6 prótons em seu núcleo. Seus isótopos são  $^{12}\text{C}$  (6 nêutrons),  $^{13}\text{C}$  (7 nêutrons) e  $^{14}\text{C}$  (8 nêutrons). Este último não é estável e apresenta decaimento por emissão de partículas de núcleos radioativos. O isótopo estável “leve” ( $^{12}\text{C}$ ) é o mais abundante e representa 98,89% de todo o carbono de nosso planeta, enquanto que o “pesado” ( $^{13}\text{C}$ ) representa apenas 1,11%. A quantidade do isótopo radioativo é desprezível quando comparada à quantidade dos isótopos estáveis.

O elemento químico nitrogênio (N) apresenta o número atômico 7, o que significa que apresenta 7 prótons em seu núcleo. Seus isótopos são  $^{14}\text{N}$  (7 nêutrons),  $^{15}\text{N}$  (8 nêutrons) e  $^{16}\text{N}$  (9 nêutrons). Este último também não é estável e apresenta decaimento radioativo. O isótopo estável “leve” ( $^{14}\text{N}$ ) é mais abundante e representa 99,64% do nitrogênio de nosso planeta, enquanto que o “pesado” ( $^{15}\text{N}$ )

representa apenas 0,36%. A quantidade do isótopo radioativo do nitrogênio também é desprezível, quando comparada com a quantidade de seus isótopos estáveis.

A matéria em geral é formada por ambos os isótopos estáveis, tanto o leve quanto o pesado. Em ecologia e em outras ciências, o interesse vem exatamente em saber em que proporção, ou melhor, qual a razão isotópica (isótopo pesado/isótopo leve) que uma amostra é composta segundo um padrão internacional. A denotação utilizada para razão isotópica é  $\delta$  (delta minúsculo do alfabeto grego) para simbolizar razão isotópica em relação ao padrão internacional e essas razões isotópicas ( $\delta$ ) são calculadas segundo a equação a seguir:

$$\delta^a X (\text{‰}) = [ ( {}^aX / {}^bX_{(\text{amostra})} / {}^aX / {}^bX_{(\text{padrão})} ) - 1 ] * 1000 \quad (1)$$

O cálculo da razão isotópica segundo o padrão internacional é realizado através da equação (1) em que temos **X** simbolizando o elemento químico genérico, **a** o número de massa do isótopo pesado e **b** o número de massa do isótopo leve. A amostra é multiplicada por 1000 pelo fato das diferenças entre amostras e o padrão serem muito pequenas (na ordem de  $10^{-3}$ ). Então a unidade de  $\delta$  é em *per mil* com o símbolo ‰. Ou seja, 10‰ de diferença entre a amostra e o padrão significa 1% de diferença.

As proporções isotópicas são medidas por espectrometria de massa. O material a ser analisado deve ser seco e triturado. Na análise, faz-se a combustão do material e ocorre a separação física dos elementos quando submetidos a um campo elétrico em função das diferentes composições atômicas. O padrão utilizado para carbono é uma amostra de rocha Pee Dee Belamnite que apresenta  $\delta^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) igual a 0,011180‰ e apresenta 98,8944% de  $^{12}\text{C}$  e 1,1056% de  $^{13}\text{C}$ . Já o padrão para nitrogênio é o ar atmosférico o qual apresenta  $\delta^{15}\text{N}$  ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) igual a 0,0036765‰ e apresenta 99,63370% de  $^{14}\text{N}$  e 0,36630% de  $^{15}\text{N}$ .

Em meados da década de 70, Brian Fry descobriu ao acaso o potencial do uso de isótopos estáveis de carbono em estudos ecológicos (Fry 2006). Ele descreve que testando o espectrômetro de massa, obteve resultados que diferenciavam o valor da razão isotópica de carbono em tecidos de herbívoros comedores de grama e de herbívoros generalistas (Fry *et al.* 1978). Este resultado

ocorreu pelo fato deste sistema ser composto por produtores de fotossíntese C3 e C4. Então, ele constatou que o herbívoro generalista fazia a mistura das duas fontes enquanto que o especialista apresentava a mesma razão isotópica de seu recurso.

Isto é possível porque plantas C3 e C4 apresentam razões isotópicas diferenciadas devido ao diferente fracionamento realizado nas duas maneiras de se fixar o carbono atmosférico. Então, a grande façanha de Fry e seus colaboradores foi perceber que os consumidores acompanham as razões isotópicas de suas fontes de matéria e energia, com apenas um fracionamento positivo de 1‰, devido a maior taxa de excreção do gás carbônico formado pelo  $^{12}\text{C}$ . Ou seja, o fracionamento dos consumidores acontece em apenas uma unidade da razão isotópica, obtendo valor mais positivo que suas fontes. Em relação ao nitrogênio, o fracionamento ocorrido no metabolismo dos consumidores é maior, cerca de 3‰, devido ao fracionamento ocorrido na formação de compostos nitrogenados que são excretados. Em outras palavras, na formação de compostos nitrogenados, como amônia e uréia, há uma formação maior dessas moléculas com o isótopo  $^{14}\text{N}$  e os consumidores acabam por ser 3 unidades de  $\delta^{15}\text{N}$  mais positivos que suas fontes alimentares (Peterson; Fry, 1987; Post, 2002; Fry, 2006).

Esta constatação mostra que esta técnica tem a capacidade de identificar a natural abundância de isótopos estáveis em diferentes materiais. Assim, podemos evidenciar as diferentes fontes alimentares para consumidores, o fracionamento físico e químico que ocorre na incorporação preferencial de isótopos em vias bioquímicas do metabolismo de seres vivos e, ainda, o fracionamento ou mistura dos isótopos em materiais não relacionados com organismos vivos.

Plantas C3 e C4 têm  $\delta^{13}\text{C}$  diferentes devido ao fracionamento isotópico do ar atmosférico que tem um valor médio de -8‰ (Fry, 2006). Em ambas as fotossínteses há um fracionamento devido ao fato do  $^{12}\text{C}$  ser mais facilmente assimilado. Este fracionamento se inicia na passagem do  $\text{CO}_2$  pelo estômato que é em média de 4‰ e termina nas vias bioquímicas dos dois tipos de fotossíntese (Farquhar *et al.* 1989).

Na fotossíntese C3 a redução do carbono atmosférico ocorre formando um composto orgânico de 3 carbonos. A maior parte do fracionamento do carbono que ocorre nestes vegetais ocorre na fixação do carbono que é feita pela enzima Rubisco (ribulose bifosfato carboxilase oxigenase). Esta combina o dióxido de carbono atmosférico com ribulose 1,5 bifosfato formando 2 moléculas de fosfoglicerato (PGA) no ciclo de Calvin. Esta via bioquímica tem um fracionamento

estimado de 27‰ e, ao fazer as correções das proporções celulares, as plantas C3 assumem um valor de  $\delta^{13}\text{C}$  em média de -28‰. Já nas plantas C4, a fixação do carbono é realizada pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase que combina o  $\text{CO}_2$  atmosférico com a fosfoenolpiruvato (PEP) formando oxalacetato. Esta fixação ocorre com um menor fracionamento que é estimado em 5,7‰ e, ao fazer as correções das proporções celulares, as plantas C4 assumem um valor de  $\delta^{13}\text{C}$  em média de -13‰ (Farquhar, 1983; Farquhar *et al.*, 1989; Fry, 2006). As plantas aquáticas não seguem este padrão tendo uma variância maior (France 1995) talvez por apresentarem diferentes taxas fotossintéticas e estarem sujeitas ao efeito de borda existente entre as células e a água (Keeley; Sandquist, 1992), o que pode ocorrer em algas também (Finlay *et al.* 1999).

Geralmente as plantas não fazem nenhum fracionamento isotópico de nitrogênio e assimilam a mesma  $\delta^{15}\text{N}$  dos compostos nitrogenados absorvidos (Handley; Raven, 1992; Evans *et al.*, 1996; Dawson *et al.*, 2002). As questões sobre o fracionamento de  $\delta^{15}\text{N}$  relacionado à fisiologia das plantas ainda não é bem compreendida e estão sendo estudadas (Dawson *et al.*, 2002). O fracionamento isotópico ocorre na fixação do nutriente que é catalisada por enzimas. No caso da assimilação de  $\text{NH}_4^+$  a enzima é a glutamina sintetase e do  $\text{NO}_3^-$  é a nitrato redutase (Handley; Raven, 1992; Raven *et al.*, 2001). Estas enzimas parecem fazer um fracionamento aumentando  $\delta^{15}\text{N}$ , ou seja, incorporam mais  $^{15}\text{N}$  (Yoneyama; Kaneko 1989; Yoneyama *et al.*, 2001). Porém, estes trabalhos são de experimentos laboratoriais em altas concentrações de compostos nitrogenados, o que não ocorre em sistemas naturais (Evans *et al.*, 1996). Mais ainda, o fato do aumento do fracionamento ser correlacionado com o aumento da concentração de nutrientes corrobora o argumento que em sistemas naturais as plantas tem a mesma  $\delta^{15}\text{N}$  das fontes absorvidas (Mariotti *et al.*, 1982; Yoneyama; Kaneko, 1989; Evans *et al.*, 1996; Yoneyama *et al.*, 2001). Isto indica que em sistemas naturais as plantas buscam ao máximo a otimização da incorporação de átomos de nitrogênio dos compostos nitrogenados absorvidos que geralmente são limitantes ao crescimento da planta. Alguns trabalhos mostram que plantas podem ter a mesma variação de  $\delta^{15}\text{N}$  que dos compostos nitrogenados, ou seja, entre -10‰ a +20‰ (Ehleringer; Rundel, 1988 apud Evans *et al.*, 1996; Handley; Raven, 1992), porém temos a maioria das plantas com valores de  $\delta^{15}\text{N}$  variando entre 0 e +5‰ (Evans, *et al.* 1996). Estes resultados indicam que o fracionamento de  $\delta^{15}\text{N}$  realizado pelas plantas ainda não é bem

compreendido e pode estar relacionado à variação microclimática, produção de exudatos e associação com bactérias como é discutido por Dawson e colaboradores (2002).

Dessa maneira, é possível identificar se novas fontes de carbono e nitrogênio introduzidas pelas atividades humanas são incorporadas ao sistema. Cabe dizer também que esta técnica é mais interessante que as técnicas clássicas de análise de aparatos bucais ou de análise de conteúdo estomacal. A descrição morfológica do aparato bucal identifica fontes que o animal poderia ingerir, o que traz dificuldades em identificar qual delas é a principal, sobretudo nos casos de consumidores mais generalistas. Mais ainda, a análise de conteúdo estomacal identifica a refeição específica ingerida antes da coleta, o que poderia ser ao acaso. Isto aumenta o erro que pode ser solucionado com mais coletas e mais identificações de conteúdos estomacais. Porém, isto leva mais tempo e geralmente não é fácil, principalmente quando se trata de um animal que tritura o alimento antes da ingestão. Por sua vez, a análise de isótopos estáveis identifica diretamente a fonte que o animal assimilou em seu metabolismo e que foi importante para a formação de seus tecidos (Peterson; Fry, 1987; Clapcott; Bunn, 2003; Mantel *et al.*, 2004; Fry, 2006), inclusive em diferentes estágios ontogenéticos (Bilby *et al.*, 1996).

Alguns trabalhos utilizam a abundância natural de isótopos estáveis de nitrogênio para identificar a incorporação de material proveniente de esgoto e fertilizantes em organismos aquáticos (Mulholland *et al.*, 2000; Lake *et al.*, 2001; Costanzo *et al.*, 2003; Cole *et al.*, 2004; Bunn; Hadwen, 2005). Isto é possível porque os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em compostos nitrogenados de sistemas preservados são mais baixos que os de esgoto e de fertilizantes. Os valores naturais variam de +2 a +8‰ enquanto que os de esgoto variam de +10 a + 22‰ (Kreitler; Browning, 1983; Costanzo *et al.*, 2001; Cole *et al.*, 2004; Ulseth; Hershey, 2005). Já fertilizantes podem ser industriais fabricados com nitrogênio atmosférico que possuem valores próximos a zero ou de origem de fezes e restos de animais que são próximos ao esgoto doméstico (Costanzo *et al.*, 2001). Este nitrogênio pode entrar nas cadeias tróficas pela ingestão direta de matéria orgânica particulada ou indiretamente pela ingestão de produtores aquáticos os quais incorporam rapidamente esta  $\delta^{15}\text{N}$  enriquecida (Costanzo *et al.*, 2000; DeBruyn; Rasmussen, 2002; Costanzo *et al.*, 2003; Bunn ; Hadwen, 2005; Costanzo *et al.*, 2005).

Existem muitos trabalhos de ecologia básica que utilizam isótopos estáveis para investigar a contribuição de diferentes materiais para as teias tróficas, tanto em ecologia terrestre (Angerbjörn *et al.* 1994) quanto aquática (Bilby *et al.*, 1996; Lau *et al.*, 2008). Por exemplo, vários autores constataram a importância de algas como principal fonte de matéria energia para teias tróficas em sistemas aquáticos (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Hamilton *et al.*, 1992; Brito *et al.*, 2006). Esta constatação não era esperada porque a biomassa desses produtores é pequena quando comparada à biomassa de fragmentos vegetais provenientes da vegetação ripária (Brito *et al.* 2006). E mais ainda, esses resultados contestam o modelo de funcionamento de rios mais influente na ecologia de sistemas lóticos, o chamado *River Continuum Concept* (RCC) de Vannote e colaboradores (1980) (Thorp; DeLong, 1994; Thorp *et al.*, 1998; Brito *et al.*, 2006).

O RCC é baseado em uma dinâmica de “*quasi*”-*equilibrium* entre o sistema terrestre e aquático numa progressiva entrada de matéria e energia que é utilizada pela fauna aquática ocorrendo um aumento da entropia no material processado (Vannote *et al.* 1980). Desta maneira, eles formularam a hipótese de que as populações das espécies se dispersam e se organizam de forma a acompanhar as mudanças físicas e estruturais, acompanhando a matéria e a energia que flui no sistema (Cummins; Klug, 1979; Vannote *et al.*, 1980). Este modelo descreve que as cabeceiras e rios de baixas ordens têm a produção autóctone (algas e plantas aquáticas) inibidas por sombreamento da cobertura de dossel da vegetação ripária. Desta forma, o sistema é heterotrófico e a principal fonte de matéria orgânica para as teias tróficas é de produção alóctone, isto é, do material vegetal oriundo da mata ciliar. No segundo trecho do rio, formado por rios de 4ª a 6ª ordens, o sistema é autotrófico e é mantido pelos produtores aquáticos e pelo material vindo à montante. Rios acima de 6ª ordem são bem maiores e contém muito material em suspensão, o que inibe a produção autóctone, e os rios seriam mantidos mais uma vez pelo material alóctone. Existem muitos estudos que corroboram este modelo, inclusive trabalhos que usaram análise de isótopos estáveis (Bilby *et al.* 1996; Doucett *et al.*, 1996). Entretanto, cada vez surgem mais trabalhos que não corroboram este modelo, principalmente em estudos de rios tropicais que utilizam a análise de isótopos estáveis em teias tróficas (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Hamilton *et al.*, 1992; Thorp *et al.*, 1998; March; Pringle, 2003; Mantel *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2006)

A técnica de análise de isótopos estáveis permitiu identificar padrões diferentes em córregos tropicais. Alguns estudos evidenciam o papel de algas bentônicas como a principal fonte de matéria e energia para teias tróficas das cabeceiras (March; Pringle 2003; Mantel *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2006), contestando o primeiro terço do modelo. Em relação às partes mais baixas do rio (terceiro terço do modelo), existem muitas evidências que também mostram a importância de produtores aquáticos autóctones nestes sistemas (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Hamilton *et al.*, 1992; Forsberg *et al.*, 1993; Thorp *et al.*, 1998).

Além de pesquisas básicas em ecologia, os quais são importantes para inferências aplicadas como manejo e conservação, existem estudos ecológicos aplicados que utilizam a técnica de análise de isótopos estáveis. Esta possibilita identificar se novas fontes de carbono e nitrogênio introduzidas pelas atividades humanas são incorporadas ao sistema.

Em relação a carbono, atividades antropogênicas introduzem plantas de metabolismo C4 que não eram presentes na vegetação ripária. Este material vegetal entra no rio como o material orgânico grosseiro (MOG), material particulado fino (MOPF) e dissolvido (CD). O MOG, o MOPF e o CD provenientes dessas plantas podem ser respirados por consumo ou decomposição e, posteriormente, incorporados pela fotossíntese dos produtores aquáticos. Alguns pesquisadores já investigaram a entrada do carbono de plantas C4 em teias tróficas aquáticas na presença de grama marinha (Kitting *et al.* 1984), em planícies de inundação (Hamilton *et al.* 1992), em cultivo de cana de açúcar (Bunn *et al.*, 1997) e na presença de gramíneas na floresta de eucalipto (Clapcott; Bunn 2003).

Em relação ao nitrogênio, alguns trabalhos utilizam a abundância natural de seus isótopos estáveis para identificar a incorporação de material vindo de esgoto e fertilizantes em organismos aquáticos (Mulholland *et al.*, 2000; Lake *et al.*, 2001; Cole *et al.*, 2004), principalmente em algas que incorporam rapidamente a nova fonte de compostos nitrogenados (Costanzo *et al.*, 2000; Costanzo *et al.*, 2001; DeBruyn; Rasmussen 2002; Bunn; Hadwen 2005). Isto é possível porque os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em compostos nitrogenados de sistemas preservados são mais baixos que os de esgoto e fertilizantes animais (Kreitler; Browning, 1983; Costanzo *et al.*, 2001; DeBruyn; Rasmussen 2002; Ulseth; Hershey, 2005).

Em suma, a técnica de análise de isótopos estáveis é uma ferramenta robusta para se entender o fluxo de materiais, o que é de extrema importância para

pesquisas de teias tróficas e ciclos biogeoquímicos. Esta também é uma ferramenta promissora para monitoramento de sistemas alterados por ações antropogênicas. Esta permite reconhecer se novos compostos orgânicos ou inorgânicos introduzidos por atividades humanas, são incorporados aos sistemas naturais. Esta abordagem é relativamente nova e muito importante porque identifica mudanças diretas de parâmetros ecossistêmicos e este trabalho pretende investigar variações na composição isotópica de estoques de carbono e nitrogênio em compartimentos do ecossistema como algas filamentosas, perifíton e MOPF.

### 1.3 Os Compartimentos (ou Componentes) do Ecossistema Estudados

Os compartimentos do sistema em questão escolhidos, para testar se  $\delta^{13}\text{C}$  ou  $\delta^{15}\text{N}$  acompanham o gradiente de impacto, foram o perifíton, o material particulado fino (MOPF) e algas filamentosas. As algas filamentosas são as encontradas separadas da matriz perifítica e que podem ser reconhecidas a olho nu. Podemos dizer que elas formam uma pequena biomassa de produtores e são menos abundantes que as algas perifíticas. Estas, por sua vez, são importantes para a produtividade primária do sistema e são recursos alimentares para alguns consumidores. São usadas na identificação, monitoramento e retirada de poluentes de corpos hídricos. Seu uso como indicadores de impacto deve-se ao fato de suas  $\delta^{15}\text{N}$  responderem rapidamente à adição de nutrientes oriundos de esgoto (Martinelli *et al.*, 1999; DeBruyn; Rasmussen, 2002; Detweiler, 2005; Ulseth; Hershey, 2005). Além disso, o  $\delta^{13}\text{C}$  de algas também pode responder à adição de plantas C4 (Clapcott; Bunn 2003). As algas podem assimilar o carbono dissolvido vindo da respiração de consumidores e decompositores destas plantas. O modelo conceitual dessa transformação será discutido na discussão final do trabalho.

Perifíton é formado por algas, bactérias, fungos e detritos misturados em uma matriz polissacarídica (Roemer *et al.*, 1984). Dessa maneira, o modelo de estoque de matéria orgânica do perifíton recebe contribuição por esses diferentes componentes biológicos (Frost *et al.*, 2005). A contribuição das algas ocorre através da assimilação dos nutrientes incorporados e por fotossíntese (Hecky; Kilham, 1988; Biggs, 1996b; Costanzo *et al.*, 2000). O carbono e o nitrogênio incorporados pelas



algas perifíticas seguem relativamente o mesmo padrão das algas filamentosas. As bactérias incorporam carbono pela decomposição de matéria orgânica e assimilação de nutrientes (Enríquez *et al.*, 1993; Sandler; Kalff, 1993; Hall, 1995; Farjalla *et al.*, 2002; Amado *et al.*, 2006; Farjalla *et al.*, 2006), e os detritos pela incorporação física de materiais particulados carregados pela água (Findlay *et al.*, 1990; Enríquez *et al.*, 1993). A saída de material desta matriz pode ocorrer pelo estresse físico causado pela correnteza e pela ação de pastadores (Moulton *et al.*, 2004).

O maior estoque de carbono de sistemas aquáticos é representado pelo carbono não associado a elementos vivos. Este é dividido em classes de tamanho. O MOG é formado por folhas, galhos, troncos e fragmentos acima de 1mm. O MOPF tem dimensões entre 1mm e 0,5  $\mu\text{m}$ . Por fim, CD é o carbono dissolvido que contribui com o maior estoque de carbono (Allan; Castillo 2007). É relativamente mais fácil se obter amostras quantitativas e qualitativas de MOPF pela simples filtragem da água. MOPF é formado tanto pelo material grosseiro e particulado vegetal oriundo da mata ciliar (Tockner *et al.*, 1999; Allan; Castillo, 2007) quanto pelo material autóctone produzido e dentro do sistema hídrico (Thorp *et al.*, 2006).

Perifíton e o material orgânico particulado fino (MOPF) são dois componentes muito importantes como recurso alimentar de consumidores aquáticos (Doucett *et al.*, 1996; Thorp *et al.*, 1998; Yam; Dudgeon, 2005; Thorp *et al.*, 2006; Lau *et al.*, 2008). Estes estocam carbono em toda a extensão do sistema desde a nascente até a foz. A ubiquidade destes componentes ecológicos é uma característica de extrema relevância quando pensamos em parâmetros ecológicos para indicar impactos em ecossistemas. Em outras palavras, o fato do perifíton e do MOPF existirem em toda a extensão da bacia hidrográfica constitui uma característica importante para classificá-los como boas ferramentas para a identificação de impactos quando comparados a espécies que podem ser dependentes de particularidades do ambiente em questão. A ausência de uma espécie em um local impactado pode não estar relacionada com o impacto em si, mas com interações ecológicas ali existentes. Adicionalmente a isso, esperamos a alteração da composição do estoque de carbono e nitrogênio nesses compartimentos do ecossistema na presença de impactos antropogênicos, os quais podem alterar a entrada, o acúmulo ou a saída da matéria orgânica nestes.

Enfim, estes elementos foram escolhidos primeiramente por serem recursos importantes para consumidores aquáticos, por estarem presentes em toda a

extensão da bacia hidrográfica e por apresentarem uma dinâmica de estoque de isótopos de carbono e nitrogênio que deve ser alterada pela retirada da vegetação ripária (e conseqüente adição de plantas C4), pela adição de adubo e de esgoto direto sem tratamento prévio.

#### 1.4 Objetivo e Hipóteses

Sistemas de rios e córregos podem ser alterados por diferentes usos do solo da bacia hidrográfica e a saúde destes sistemas pode ser identificada por diversos parâmetros ecológicos. O presente trabalho tem como objetivo investigar, através da abundância natural de isótopos estáveis, as mudanças no estoque de carbono e nitrogênio em perifíton, MOPF e algas filamentosas geradas por impactos antropogênicos na rede hidrográfica do rio Guapi-Macacu.

Em outras palavras, um dos objetivos deste trabalho foi descrever variações no estoque de biomassa de perifíton e MOPF, bem como descrever as espécies de algas filamentosas encontradas no gradiente de impacto desta região. O objetivo principal foi de testar se o gradiente de impacto da bacia hidrográfica Guapi-Macacu causa alterações na composição isotópica de carbono e nitrogênio ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) nos compartimentos do ecossistema como perifíton, algas filamentosas e MOPF de acordo com o modelo conceitual da figura 7.

Em relação ao aumento do impacto, há a adição de carbono de plantas C4, que contem valores mais altos de  $\delta^{13}\text{C}$  e há a adição também de fezes de animais e de esgoto doméstico, que contém valores altos de  $\delta^{15}\text{N}$  quando comparadas a outras fontes naturais. Então, em relação ao grau de impacto desta bacia levantei as seguintes hipóteses:

1.  $\delta^{13}\text{C}$  do perifíton aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia, se distanciando dos valores de plantas C3;
2.  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia;

3.  $\delta^{13}\text{C}$  do MOPF aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia, se distanciando dos valores de plantas C3;
4.  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia;
5.  $\delta^{13}\text{C}$  das algas filamentosas aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia, se distanciando dos valores de plantas C3;
6.  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas aumenta com o aumento da percentagem de impacto (%IMP) de sua microbacia.

Estas 6 hipóteses, em conjunto, formam uma hipótese geral que o valor da razão isotópica de carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ) aumenta proporcionalmente com o grau de impacto da bacia hidrográfica.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo

Este trabalho foi realizado em 25 sítios amostrais formados por 25 segmentos de riachos com extensão de 40m na bacia hidrográfica do Rio Guapi-Macacu durante os meses de fevereiro e março de 2007. Esta bacia está localizada no estado do Rio de Janeiro entre as coordenadas 43° 03' 33,323"W/ 22° 41' 55,193"S (699407/7488252 UTM fuso 23 Córrego Alegre) e 42° 33' 3,015"W / 22° 21' 3,343"S (725205/7526124 UTM fuso 23 Córrego Alegre) (Figura 1). Possui aproximadamente 1260 km<sup>2</sup> de área e 204,5 km de perímetro. Sua área é limitada ao norte e noroeste, pela serra dos Órgãos, a nordeste, pela serra de Macaé de Cima, a leste, pela serra da Botija e de Monte Azul e, ao Sul, pela serra do Sambe dos Garcias (Figura 2). Seu relevo chega a altitude máxima de 2000 m, porém os pontos mais a montante não passaram de 800 m de altitude. O relevo pertence ao Escudo Atlântico da Plataforma Sul-Americana e é formado por rochas de composição granito-gnáissica de idade pré-cambriana, rochas intrusivas alcalinas e básicas mesozóicas e sedimentos coluviais, marinhos e fluviais de idade cenozóica (RADAMBRASIL 1983). A pluviosidade na região atinge 2.300 mm anuais, com maior concentração entre os meses de janeiro e março e menor em julho e agosto.

Os principais municípios em que essa bacia se encontra é o Município de Guapimirim e de Cachoeiras de Macacu. Guapimirim contém 44.692 habitantes em uma área de 361 km<sup>2</sup> e Cachoeiras de Macacu 53.067 habitantes em uma área de 956 km<sup>2</sup>. Estes números resultam numa densidade demográfica relativamente baixa de 74 hab/km<sup>2</sup>, quando comparada aos demais municípios do Rio de Janeiro (IBGE 2007). A população e conseqüentemente o impacto são concentrados nas partes mais baixas da bacia hidrográfica (Figura 3) como é representado no modelo conceitual de impacto (Figura 5).

A rede coletora de esgoto do município de Guapimirim abrange 21,8% dos domicílios. Esta é dividida em 47% de fossa séptica, 12,3% fossa rudimentar, 15,9% ligados a uma vala e 2,4% lançados diretamente na rede hídrica. A rede coletora do município de Cachoeiras de Macacu abrange 46,8% dos domicílios. Esta é dividida em 18,3% de fossa séptica, 19,8% fossa rudimentar, 7,4% ligados a uma vala e 7,2% lançados diretamente na rede hídrica (TRE/RJ 2003, 2004).

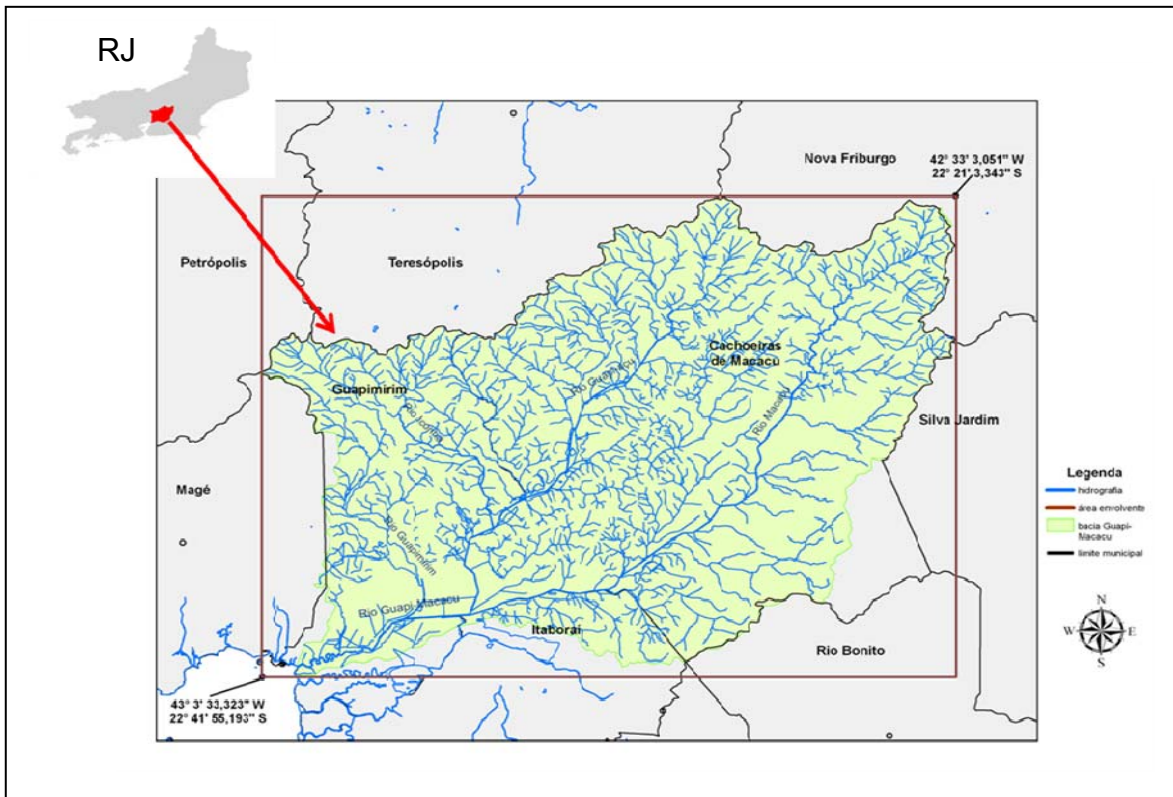


Figura 1 - Mapa de localização da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu. Escala de 1:225000.

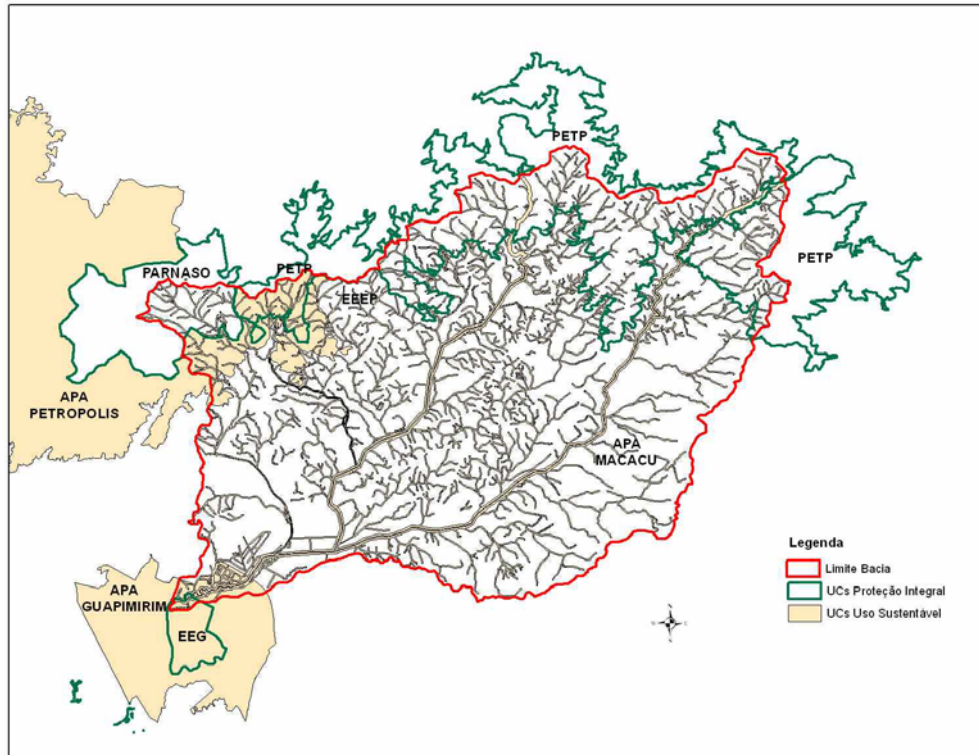


Figura 2 - Mapa com a localização das unidades de Conservação adjacentes a Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu. Escala de 1:225000.

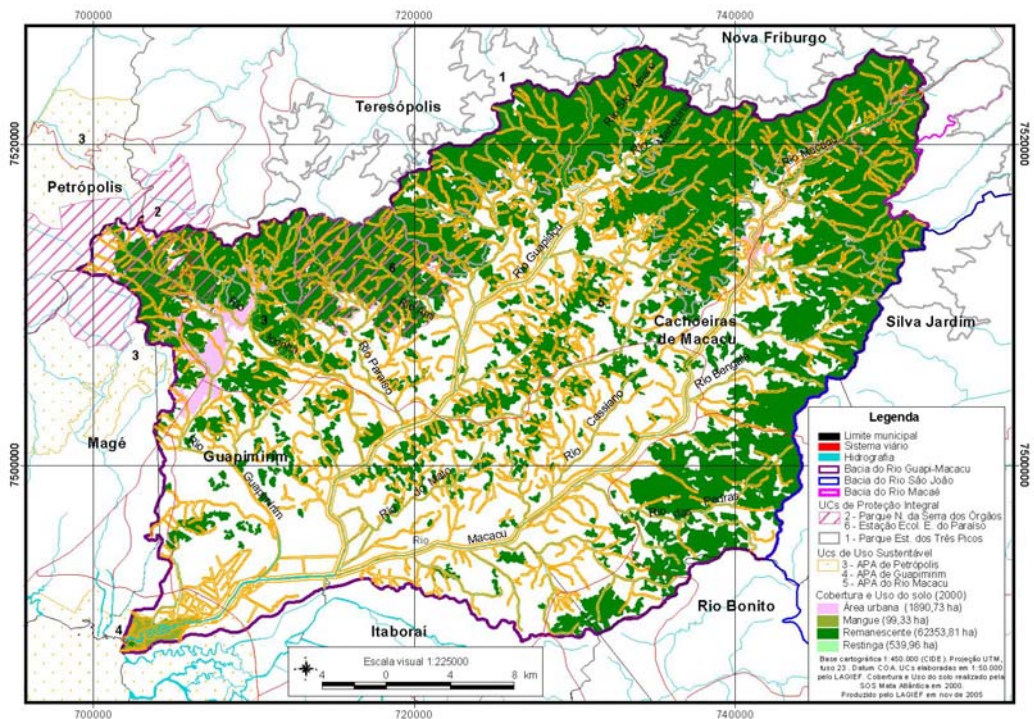


Figura 3 - Mapa da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu. Fonte: IBGE/DSG. Mostrando a concentração dos rios de maior cobertura vegetal são os riachos de pequenas ordens (Área Verde). A população se concentra nas partes baixas da bacia (Área Branca). Escala de 1:225000.

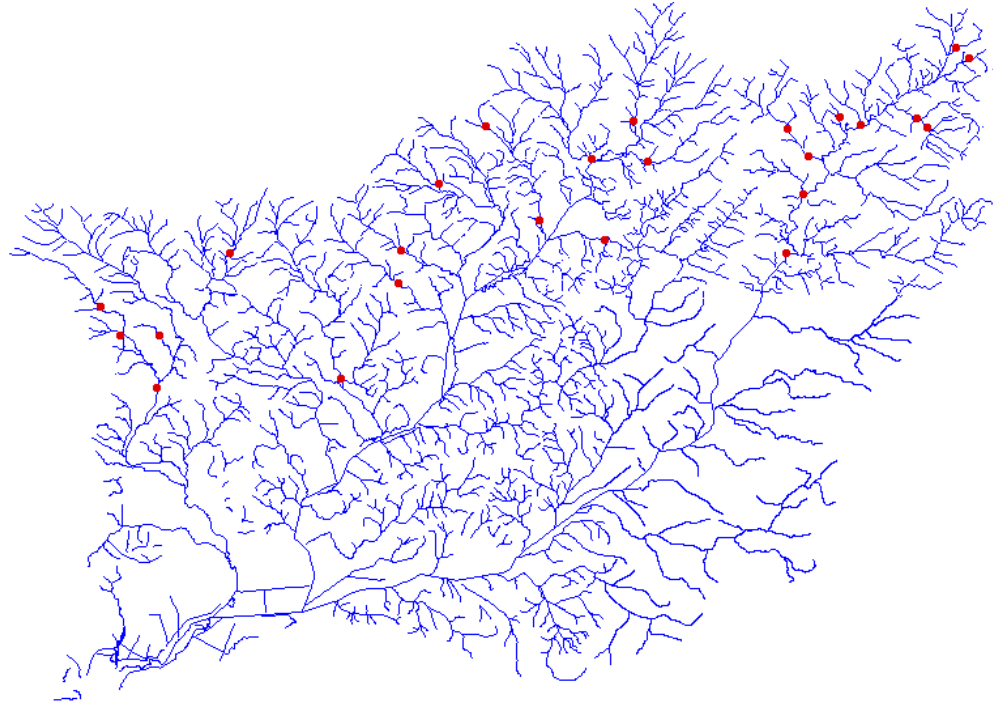


Figura 4 - Rede Hídrica da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu e os 25 pontos amostrados estão marcados pelos pontos vermelhos. Escala: 1:225000.

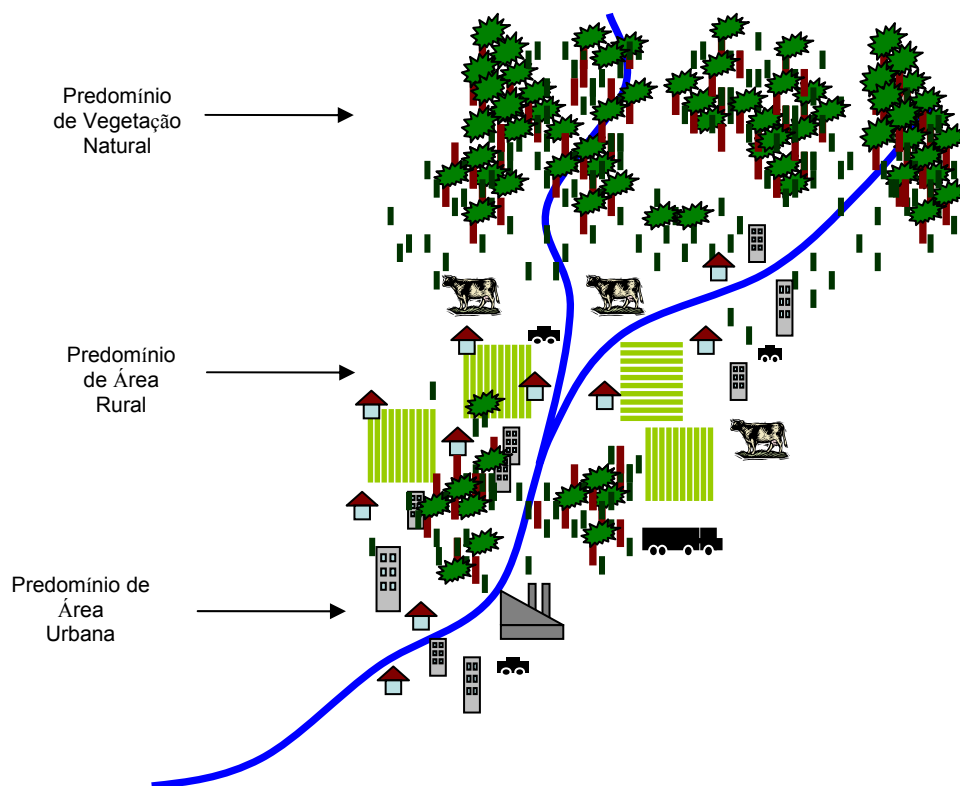


Figura 5 - Modelo conceitual de impactos antropogênicos na bacia do rio Guapi-Macacu. Notamos que rio abaixo há maior interferência de atividades humanas.

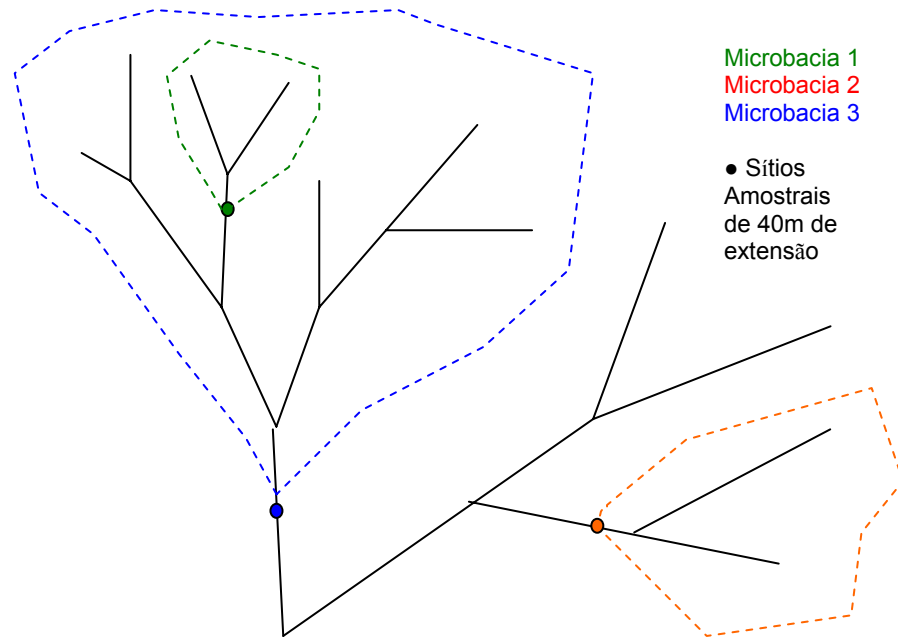


Figura 6 - Modelo da metodologia de cálculo da área das microbacias. No exemplo temos 3 microbacias hipotéticas. Em algumas delas houve sobreposição como é mostrada a sobreposição da microbacia 1 e da 3. Em cada microbacia foi calculada a área total, a área de vegetação natural, área rural e área urbana.

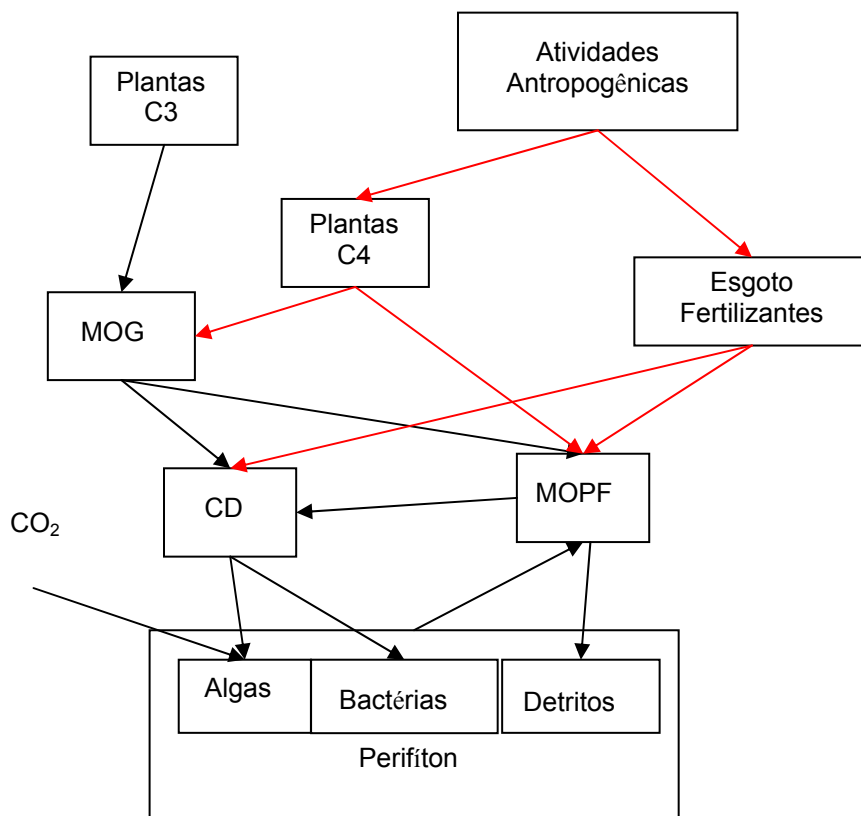


Figura 7 - Modelo conceitual do fluxo de matéria vindo de fontes externas ao sistema aquático e sua incorporação no perifiton via MOG (Matéria Orgânica Grossa), MOPF (Material Orgânico Particulado Fino) e CD (Carbono Dissolvido). As setas em vermelho mostram a interferência de atividades antropogênicas no sistema aquático.



## 2.2 Coleta de Dados

### 2.2.1 Dados Geográficos

O desenho amostral escolhido foi para a comparação dos riachos presentes na bacia hidrográfica, de acordo com o mapa de 1:225.000. Dessa forma, os sítios amostrais escolhidos são independentes entre si por não pertencerem ao mesmo seguimento de rio (Figura 4). Para cada sítio de amostragem foi calculada a microbacia de acordo com o modelo da figura 6.

As áreas das microbacias referentes aos pontos de coleta e suas áreas de impacto foram calculadas pelo conjunto de fotografias aéreas na escala de 1:10.000 provenientes do Plano de Manejo do Parque Estadual dos Três Picos (PETP) de projeção UTM, fuso 23 datum SAD 69 do ano de 2003 e da AMPLA Distribuidora de energias SA de projeção UTM, fuso 23 datum SAD 69 do ano de 2000. Os dados encontram-se na Tabela 1.

Para cada microbacia a área total foi calculada junto com as áreas de impacto rural, urbano e total. Depois de calcular as áreas, ordenei as percentagens de impacto de forma crescente. A pré-classificação na tabela 1 foi feita antes da amostragem para o planejamento do projeto e no momento da amostragem, mas sem nenhuma métrica. Para o planejamento foi utilizada a base topográfica segundo as folhas IBGE/DSG na escala de 1:50.000 (Figura 3), que foram reduzidas a 1:225.000 para o tamanho de folha A4 deste presente documento. Os pontos foram classificados em A, B e C que seriam respectivamente pontos de referência, pontos intermediários e impactados. A pré-classificação foi boa, pois não há a mistura dos pontos impactados (pré-classificação C na tabela 1) destas categorias no ordenamento a partir do cálculo de percentagem de impacto na escala de 1:10.000. Depois disso, classifiquei os pontos em duas categorias de integridade ecológica (bom e ruim) que seriam de acordo com fato de ser agradável ou não de se entrar na água para o trabalho.

### 2.2.2 Coleta de Perifíton

Em cada sítio amostral foram selecionados aleatoriamente 5 rochas. O amostrador utilizado foi construído segundo o modelo de Loeb (1981). Este é

formado por um desentupidor de pia, uma seringa de alimentação de 60 mL e uma escova acoplada como na figura 8. Dessa maneira o amostrador permite que cada rocha seja raspada com uma área delimitada pelo desentupidor e o material é sugado por uma seringa de 60 mL a fim de obter valores em  $\text{mg}/\text{m}^2$ . As amostras foram misturadas e homogeneizadas para a filtração realizada no laboratório e uma alíquota era tirada para leitura da clorofila a (CLA) e turbidez (TRB) por fluorimetria com o Aquafluor 8000 (Turner Designes) e depois era fixada com formol 4% em um ependorff de 2 mL para ficar como exemplar de testemunho.

A solução foi filtrada (Figura 8) em dois filtros de sílica (Whatman GF/D) pré-queimados a  $500^\circ\text{C}$  para termos a certeza que o filtro não tivesse nenhum resíduo de carbono. Depois disso, e ambos eram secados por 24h em uma estufa a  $60^\circ\text{C}$ . Após a secagem os filtros eram pesados em balança de precisão  $10^{-4}\text{g}$  e tinham diferentes finalidades. O primeiro filtro foi queimado em um forno Muflo a  $500^\circ\text{C}$  por 1h e depois foi pesado em balança de precisão de  $10^{-4}\text{g}$  para calcularmos a matéria orgânica total sem cinzas (AFDM) em  $\text{mg}/\text{m}^2$ . Enquanto que o segundo foi devidamente embalado para a espectrometria de massa realizada no Laboratório CENA/USP a fim de discriminar a proporção de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

### 2.2.3 Coleta de MOPF

A amostragem de MOPF foi relativamente simples. Filtramos água *in situ* com o auxílio de um Becker, proveta de 1L com precisão de 10mL, bomba de sucção manual e suporte de filtração (Figura 8). A água foi filtrada até o filtro começar a criar resistência a fim de obter o máximo de coleta de material sem prejudicar a integridade do filtro. Assim como no perifíton, a filtração foi realizada duas vezes. Os filtros foram pré-secos ainda em campo por sucção e depois no laboratório secamos a  $60^\circ$  por 24h. Os filtros de MOPF tiveram a mesma finalidade metodológica que os de perifíton. O primeiro foi usado para o cálculo do AFDM que nesse caso a unidade é em  $\text{mg}/\text{L}$  pelo fato do MOPF encontra-se suspenso pela ação do empuxo da água e não sobre uma superfície como o perifíton. O segundo foi devidamente embalado e também encaminhado para o Laboratório CENA/USP.

#### 2.2.4 Coleta de Algas Filamentosas

As algas filamentosas foram amostradas manualmente com o auxílio de pinças. Elas foram colocadas em 2 frascos tipo “Eppendorf” de 2mL, com diferentes finalidades. O primeiro eppendorf foi colocado numa estufa a 60°C por 24h. Após a secagem o material foi devidamente triturado e embalado para a espectrometria de massa a ser realizada no Laboratório CENA/USP. O segundo eppendorf foi para a fixação da alga em formol a 4%. Depois disso, estas foram identificadas no laboratório com o auxílio de microscópio óptico no nível de superclasse e gênero de acordo com (Bicudo; Menezes, 2006).



Figura 8 - Fotografia do amostrador de Perifiton (Loeb 1981) e material de filtragem formado pelo suporte e bomba de sucção junto com os filtros de sílica.

### 2.3 **Análise de Dados**

Os dados utilizados são contínuos e os testes estatísticos utilizados foram regressões lineares e não-lineares.

Os modelos das regressões são:

Modelo Linear

$$y = a \cdot x + c$$

Modelo Não-linear Logarítmico

$$y = a \cdot x^b$$

Modelo Não-linear Quadrático

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

Modelo Não-linear Exponencial

$$y = a^{x^b} + c$$

Nestes modelos a variável preditiva  $x$  representa a percentagem de impacto que foi representado por  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$ . As variáveis respostas testadas foram os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  dos componentes ecológicos descritos anteriormente: Perifíton, MOPF e das algas filamentosas. Alguns destes sofreram transformações também como serão discutidas no de tratamento de dados (Figura 7). A constante  $c$  indica o valor de  $y$  na ausência de impacto, ou seja, quando  $x$  é igual a 0. O único modelo sem constante é o logarítmico pela própria propriedade de sua função que não começa no valor de  $x=0$ .

A correção utilizada devido as múltiplas comparações foi a correção de Dunn-Sidák, pois estas foram pensadas *a priori*, antes do experimento (Sokal & Rohlf 1995). Esta correção calcula o índice de significância pelo modelo de  $1 - (1 - \alpha)^{1/k}$ . No qual  $\alpha$  é o índice de significância escolhido para apenas uma comparação e  $k$  é o número de comparações. Dessa maneira, o  $\alpha$  escolhido foi de 0,05 que corrigido para seis comparações equivale a 0,0085. Por fim, a análise dos dados foi realizada com o programa estatístico Systat 11 e com o auxílio do Poptools/Excel 2003.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Dados descritivos

##### 3.1.1 Geografia

O resumo dos dados Geográficos encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores das áreas das microbacias e os respectivos valores das áreas de uso do solo em km<sup>2</sup> de cada sítio de amostragem.

Sítio	Pré Class	Pós Class	MIBA	VEG	RUR	URB	IMP	%Veg	%Rur	%Urb	%Imp
SQ	A	Bom	0,6612	0,6612	0,0000	0,0000	0,0000	100,0	0,0	0,0	0,0
MO	A	Bom	5,4371	5,4366	0,0000	0,0004	0,0004	100,0	0,0	0,0	0,0
DI	A	Bom	0,9624	0,9614	0,0010	0,0000	0,0010	99,9	0,1	0,0	0,1
AL	A	Bom	6,5374	6,5132	0,0242	0,0000	0,0242	99,6	0,4	0,0	0,4
CC	B	Bom	10,7759	10,6789	0,0928	0,0042	0,0970	99,1	0,9	0,0	0,9
CF	A	Bom	7,1873	7,1139	0,0336	0,0398	0,0734	99,0	0,5	0,6	1,0
MC	A	Bom	1,4936	1,4738	0,0000	0,0197	0,0197	98,7	0,0	1,3	1,3
MA	A	Bom	16,8376	16,6029	0,2347	0,0000	0,2347	98,6	1,4	0,0	1,4
CL	B	Bom	9,2799	9,1440	0,1359	0,0000	0,1359	98,5	1,5	0,0	1,5
GT	B	Bom	30,5962	29,8166	0,7796	0,0000	0,7796	97,5	2,5	0,0	2,5
PR	A	Bom	2,1450	2,0583	0,0866	0,0000	0,0866	96,0	4,0	0,0	4,0
BM	B	Bom	2,9477	2,7951	0,0405	0,1121	0,1526	94,8	1,4	3,8	5,2
JU	B	Bom	10,9744	9,9808	0,9936	0,0000	0,9936	90,9	9,1	0,0	9,1
TI	B	Bom	1,6464	1,4952	0,1511	0,0000	0,1511	90,8	9,2	0,0	9,2
RE	B	Bom	14,1041	12,6769	1,3357	0,0915	1,4273	89,9	9,5	0,6	10,1
PL	A	Bom	1,8511	1,6623	0,1592	0,0297	0,1889	89,8	8,6	1,6	10,2
MR	C	Ruim	12,6505	10,4796	2,1293	0,0416	2,1709	82,8	16,8	0,3	17,2
CO	C	Ruim	2,6637	2,1744	0,0000	0,4892	0,4892	81,6	0,0	18,4	18,4
CE	C	Ruim	148,3045	118,8855	23,7510	5,6679	29,4190	80,2	16,0	3,8	19,8
KL	C	Ruim	90,7479	71,9689	7,7533	11,0257	18,7790	79,3	8,5	12,1	20,7
PA	C	Ruim	29,8775	22,3692	7,3888	0,1195	7,5084	74,9	24,7	0,4	25,1
RI	C	Ruim	7,6912	5,4611	2,2140	0,0160	2,2300	71,0	28,8	0,2	29,0
ES	C	Ruim	16,3438	10,2646	5,9208	0,1584	6,0792	62,8	36,2	1,0	37,2
DB	C	Ruim	46,7523	26,9610	20,1438	0,5537	20,6975	57,7	43,1	1,2	44,3
VE	C	Ruim	1,4275	0,1656	0,2486	1,0132	1,2619	11,6	17,4	71,0	88,4

Legenda: As categorias dadas *a priori* (pré-classificação) A – pontos de referência, B – pontos intermediários e C – pontos impactados e *a posteriori* (pós-classificação) Bom e Ruim. MIBA significa microbacia em km<sup>2</sup>. VEG área de cada microbacia com vegetação natural, RUR e URB são as áreas de impacto rural da e urbano de cada microbacia e IMP é o somatório de RUR e URB, todos em km<sup>2</sup>. %Veg, %Rur, %Urb e %Imp são as percentagens de cada área dentro de sua respectiva microbacia

### 3.1.2 Perifíton

Os valores de média, desvio padrão, valores de mínimo e máximo de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , Clorofila a (CLA), matéria orgânica sem cinzas (AFDM), matéria seca (DM) e índice autotrófico (IA= AFDM/CLA) estão resumidos na tabela 2.

Tabela 2 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , CLA, AFDM, DM e IA do perifíton da Bacia Hidrográfica do Rio Guapi-Macacus. As unidades de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  são em *per mil*. A unidade de CLA, AFDM e DM é  $\text{mg/m}^2$ . AI tem grandeza adimensional.

Sítio	CLA ( $\text{mg/m}^2$ )	AFDMp ( $\text{mg/m}^2$ )	DM ( $\text{mg/m}^2$ )	AI	$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	$\Delta^{13}\text{C}(\text{‰})$
SQ	5,5	2193,1	7384,7	396,3	.	.
MO	3,0	1702,0	1996,8	561,4	.	.
DI	9,8	1057,1	694,5	107,8	0,71	-21,92
AL	23,0	20093,5	183998,2	871,8	0,96	-13,26
CC	4,8	503,4	11006,1	105,4	1,31	-19,66
CF	19,5	4303,8	15792,9	220,9	1,53	-23,54
MC	3,0	684,9	2413,1	228,4	2,17	-18,19
MA	21,3	6580,6	20382,2	308,2	2,33	-25,42
CL	19,6	2468,7	15706,6	126,2	2,54	-24,95
GT	5,6	1509,1	6440,1	267,7	2,67	-24,99
PR	13,9	3217,9	13981,1	232,2	2,93	-21,71
BM	8,9	36217,3	1222,6	4050,0	3,02	-21,59
JU	8,0	3469,3	5460,4	433,5	3,05	-25,55
TI	30,5	12839,1	77701,7	420,5	3,08	-25,18
RE	6,7	996,3	109638,5	148,7	3,24	-21,24
PL	13,0	4812,2	22097,0	369,3	3,62	-26,38
MR	2,7	1704,0	6710,5	632,7	3,65	-23,56
CO	12,3	2376,0	8650,6	192,6	3,73	-24,28
CE	6,0	5678,0	2633,1	944,0	4,06	-22,13
KL	6,3	3582,7	18142,9	567,7	4,72	-21,19
PA	3,6	2057,2	6868,8	571,9	4,83	-19,29
RI	15,4	1951,2	2488,0	126,5	5,72	-26,36
ES	10,3	11344,3	61641,4	1104,0	5,73	-24,80
DB	7,6	12191,6	117823,4	1604,3	6,90	-23,90
VE	41,3	2881,6	27995,2	69,8	11,17	-26,51
Media	12,1	5856,6	29954,8	586,5	3,6	-22,90
D. Pad.	9,3	7736,6	44859,9	792,7	2,3	6,90
Valor Mín	2,7	503,4	694,5	69,8	0,7	-26,5
Valor Máx	41,3	36217,3	183998,2	4050,0	11,2	-13,3

O gráfico entre  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  dos valores de perifíton agrupados pelas categorias *a priori* já mostra que o  $\delta^{15}\text{N}$  é um bom preditor de impacto, pois existe uma separação bem marcante entre os pontos impactados, intermediários e de referência. Os maiores valores são dos pontos com maior área de impacto como é evidenciado pela linha vertical colorida (Figura 9).

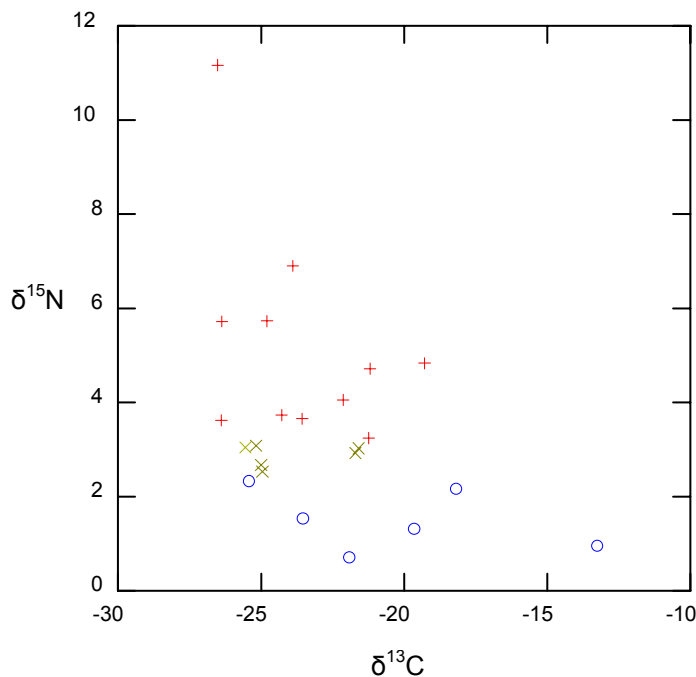


Figura 9 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) do perifíton em 23 riachos da bacia hidrográfica do rio Guapi-Macacus. Legenda: pontos de referência (o), intermediários (x) e impactados (+), segundo a classificação *a priori*.

### 3.1.3 Matéria Orgânica Particulada Fina (MOPF)

Os valores de média, desvio padrão, valores de mínimo e máximo de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , AFDM, Cinzas e DM estão resumidos na tabela 3. O gráfico dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  contra os de  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF agrupados pela pré-classificação não mostra um padrão como o do perifíton, mostrando que esses parâmetros não adéquam a esta classificação (Figura 10).

Tabela 3 - Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , AFDM, Cinzas e DM para MOPF. As razões isotópicas são em ‰ e os materiais estão em mg/L.

Sítio	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	AFDMp (mg/L)	Cinzas (mg/L)	DM (mg/L)
SQ	4,59	-28,09	0,9889	2,2222	3,2111
MO	6,29	-24,92	2,3333	7,8000	10,1333
DI	.	.	0,3938	0,3263	0,7201
AL	2,87	-27,04	0,8300	0,4100	1,2400
CC	.	.	0,1769	0,1577	0,3346
CF	2,03	-24,29	0,6357	0,3071	0,9429
MC	2,48	-27,98	0,4267	0,2533	0,6800
MA	-0,39	-18,46	0,9800	1,2300	2,2100
CL	3,99	-28,76	0,7444	0,5518	1,2963
GT	3,18	-28,68	0,5500	0,3125	0,8625
PR	4,11	-27,70	1,1286	1,8429	2,9714
BM	2,41	-21,13	1,8276	3,5517	5,3793
JU	2,79	-29,39	1,1111	0,6778	1,7889
TI	6,29	-25,15	6,1600	31,1200	37,2800
RE	4,80	-27,08	0,8654	1,6538	2,5192
PL	3,77	-28,25	1,1000	1,2800	2,3800
MR	4,73	-19,24	2,8000	6,3667	9,1667
CO	4,08	-22,22	1,1333	2,0133	3,1467
CE	.	.	0,5727	0,9182	1,4909
KL	6,37	-22,78	0,6462	1,2308	1,8769
PA	3,46	-26,53	0,6561	1,1746	1,8307
RI	4,99	-27,89	0,8250	2,0750	2,9000
ES	3,44	-28,49	0,9600	1,6100	2,5700
DB	5,20	-22,80	4,7143	15,2143	19,9286
VE	.	.	1,6735	5,1837	6,8571
Media	3,9	-25,6	1,4	3,6	4,9
D. Pad.	2,0	9,9	1,3	6,5	7,8
Valor Mín	-0,4	-29,4	0,2	0,2	0,3
Valor Máx	6,4	-18,5	6,2	31,1	37,3



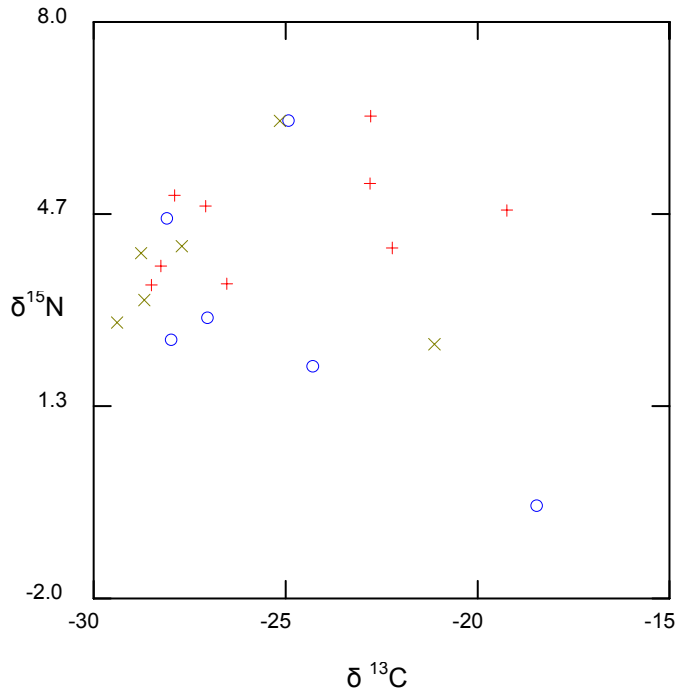


Figura 10 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) do MOPF em 21 riachos da bacia hidrográfica do rio Guapi-Macacus. Legenda: pontos de referência (○), intermediários (x) e impactados (+), segundo a classificação *a priori*

#### 3.1.4 Algas filamentosas

Após a identificação dos táxons estes foram classificados nos respectivos grandes grupos. A superclasse Cyanophyceae foi classificada em alga azul, Rhodophyceae em vermelha e Zignemaphyceae, Oedogoniophyceae, Chlorophyceae foram classificadas em algas verdes. O grupo mais presente na área amostrada foi o das algas verdes com 24 espécimes, seguido pelas azuis com 15 e em menor número as algas vermelhas com quatro. A identificação dos táxons e os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  de cada alga filamentosa e da média de cada sítio estão na tabela 4. Os gêneros mais abundantes foram *Phormidium* Kützing *ex* Gomont, 1982 (12 espécimes), *Oedogonium* Link *ex* Hirn, 1900 e *Spirogyra* Link, 1820 (ambos com 8 espécimes) como está indicado no histograma de contagem (Figura 11). Aparentemente, as razões isotópicas de carbono e nitrogênio não tiveram relação com o grupo de algas (Figura 12), nem com a superclasse (Figura 13) e nem com o gênero (Figura 14).

Essas evidências sugerem que não existe relação entre  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  das algas encontradas com seus grupos taxonômicos. Outro fato que reforça a idéia que estes dependem do meio em que a algas se encontram, é o agrupamento dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em relação ao sítio de coleta (Figura 15). Seguindo este raciocínio, fizemos o gráfico das médias dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  das algas de cada sítio amostral e agrupamos pela referência *a priori*, neste gráfico percebe-se que os valores mais altos de  $\delta^{15}\text{N}$  pertencem aos pontos impactados e intermediários (Figura 16).

Tabela 4 - Identificação dos táxons das algas filamentosas encontradas e os respectivos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰).

Sítio	Alga	Superclasse*	Identificação	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
SQ	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	2,1	-27,6
SQ	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	4,7	-25,3
SQ	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	2,6	-22,7
SQ	Média	.	.	3,1	-25,2
MO	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	1	-22,3
MO	Vermelha	Rhodophyceae	<i>Batrachospermum</i> sp.	1,7	-42,8
MO	Vermelha	Rhodophyceae	<i>Batrachospermum</i> sp.	1,6	-42,2
MO	Média	.	.	1,4	-35,7
DI	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	2,6	-24,5
DI	Vermelha	Rhodophyceae	<i>Batrachospermum</i> sp.	3,1	-38,0
DI	Média	.	.	2,8	-31,3
AL	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	2,3	-11,7
AL	Verde	Zignemaphyceae	<i>Desmidium</i> sp.	4,4	-26,7
AL	Média	.	.	3,3	-19,2
CC	Azul	Cyanophyceae	<i>Tyconema</i> sp.	0,8	-31,6
CC	Azul	Cyanophyceae	<i>Nostoc</i> sp.	1,1	-24,1
CC	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	2,6	-16,6
CC	Verde	Bacillariophyta	Detritos, Diatomáceas e Chlorophyceas	5,8	-26,3
CC	Média	.	.	2,6	-24,6
MA	Verde	Zignemaphyceae	<i>Desmidium</i> sp.	1,6	-27,2
MA	Verde	Zignemaphyceae	<i>Desmidium</i> sp.	5,1	-28,1
MA	Média	.	.	3,3	-27,6
CL	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	-1,8	-21,1
CL	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	5,2	-26,6
CL	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	1,9	-21,3
CL	Média	.	.	1,8	-23,0
BM	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	7,1	-14,1
BM	Verde	Clorophyceae	Clorophyceae	3,1	-11,2
BM	Verde	Zignemaphyceae	<i>Desmidium</i> sp.	1,6	-25,2
BM	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	1,3	-23,2
BM	Média	.	.	3,3	-18,4
JU	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	1,9	-12,8
JU	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	5,0	-26,5
JU	Média	.	.	3,5	-19,7

<b>Sítio</b>	<b>Alga</b>	<b>Superclasse*</b>	<b>Identificação</b>	<b><math>\delta^{15}\text{N}</math></b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math></b>
TI	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	3,1	-13,4
TI	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	2,9	-16,2
TI	Média	.	.	3,0	-14,8
RE	Verde	Clorophyceae	Clorophyceae	3,0	-8,4
RE	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	3,7	-16,5
RE	Média	.	.	3,3	-12,5
PL	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	2,9	-19,6
CO	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	6,7	-21,9
CO	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	7,2	-21,6
CO	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	7,6	-21,3
CO	Média	.	.	7,2	-21,6
CE	Azul	Cyanophyceae	<i>Tyconema</i> sp.	9,1	-21,1
KL	Azul	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i> sp.	2,2	-21,8
KL	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	-2,8	-27,2
KL	Média	.	.	-0,3	-24,5
PA	Azul	Cyanophyceae	<i>Oscillatoria</i> sp.	8,2	-29,1
PA	Verde	Clorophyceae	<i>Trentepohlia</i> sp.	8,6	-30,9
PA	Média	.	.	8,4	-30
RI	Verde	Oedogoniophyceae	<i>Oedogonium</i> sp.	3,6	-10,5
RI	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	3,4	-17,1
RI	Média	.	.	3,5	-13,8
ES	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	5,3	-35,5
ES	Vermelha	Rhodophyceae	Rhodophyceae	5,3	-34,2
ES	Média	.	.	5,3	-34,8
VE	Verde	Zignemaphyceae	<i>Spirogyra</i> sp.	-3,0	-32,5
Média				3,4	-23,6
Desv.					
Pad				2,5	7,7
Valor					
Mín				-3,0	-42,8
Valor					
Max				9,1	-8,4

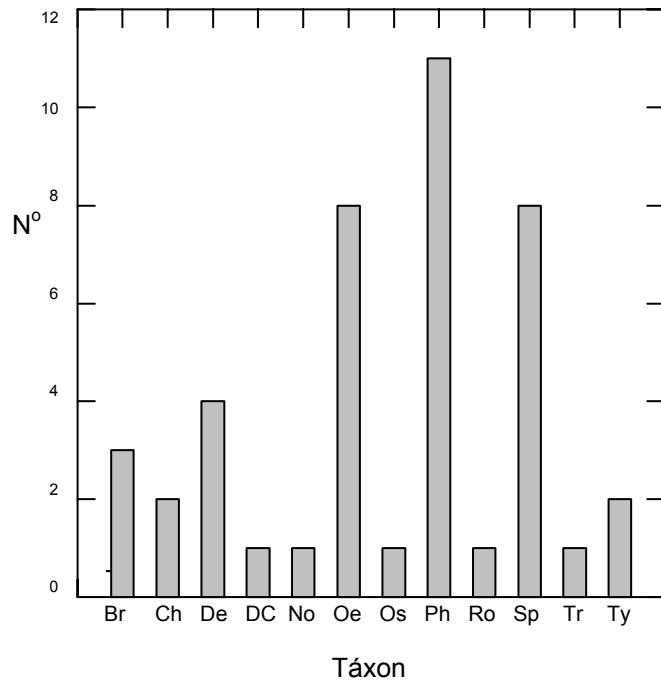


Figura 11 - Contagem dos táxons das algas presentes em 19 dos 25 riachos amostrados da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu.

Legenda: Br – *Batrachospermum*, Ch – Chlorophyta, De – *Desmidium*, DC – Diatomaceae, Chlorophyta e Detritos, No – *Nostoc*, Oe – *Oedogonium*, Os – *Oscillatoria*, Ph – *Phormidium*, Ro – Rhodophyceae, Sp – *Spyrogira*, Tr – *Trentepohlia*, Ty - *Tyconema*

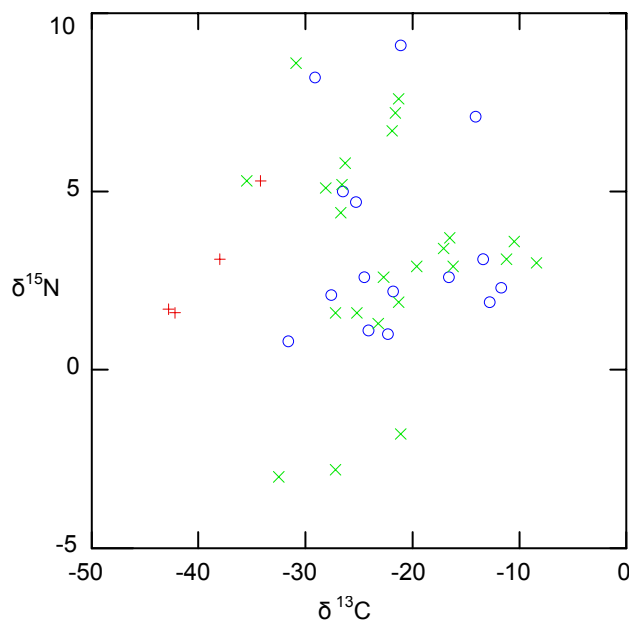


Figura 12 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) de 43 espécimes de algas filamentosas. As algas filamentosas foram encontradas apenas em 19 riachos dos 25 amostrados na bacia hidrográfica do rio Guapi-Macacus. Legenda: Algas Azuis (o), Verdes (x) e Vermelhas (+).

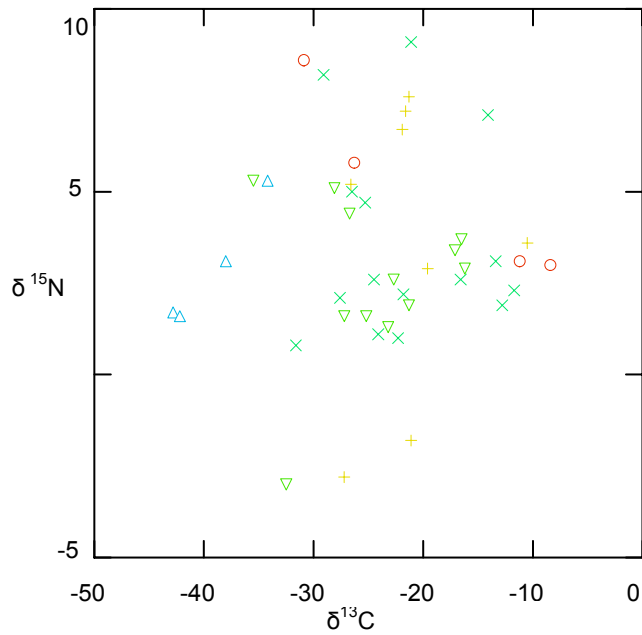


Figura 13 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) de das Superclasses de 43 algas filamentosas em 19 riachos da bacia hidrográfica do rio Guapi-Macacús.  
 Legenda: Chlorophyceae (○), Cyanophyceae (x), Oedogoniophyceae (+), Rhodophyceae (Δ) e Zignemaphyceae ( ).

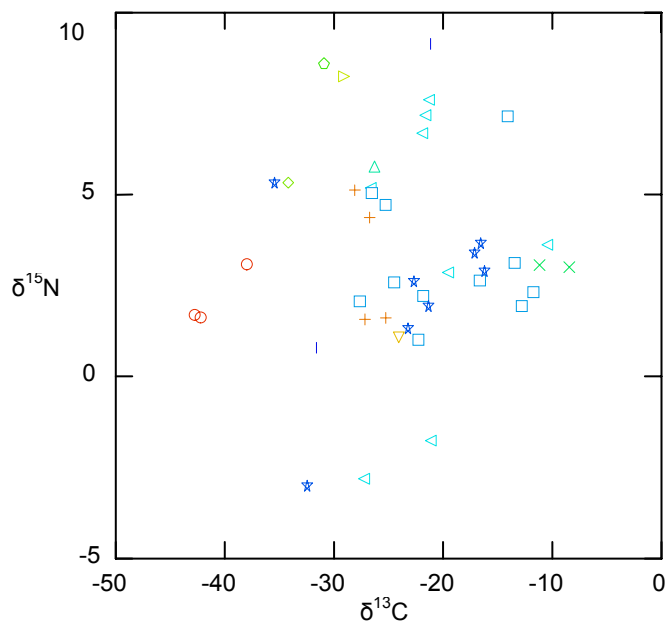


Figura 14 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) dos gêneros de 43 algas filamentosas em 19 riachos da bacia hidrográfica do rio Guapi-Macacús.  
 Legenda: *Batrachospermum* (○), Chlorophyta (x), *Desmidium* (+), Detrito com Diatomaceae e Chlorophyta (Δ), *Nostoc* ( ), *Oedogonium* ( ), *Oscillatoria* ( ), *Phormidium* (□), Rodophyta (◇), *Spirogyra* (□), *Trentepohlia* (△), *Tyconema* (i).

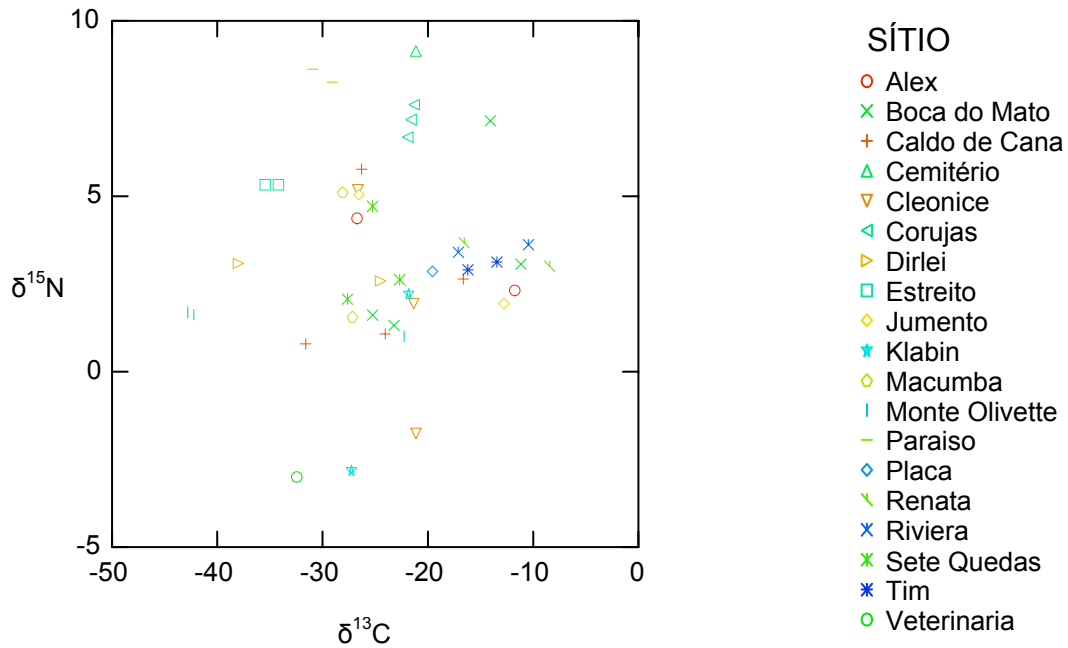


Figura 15 - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em *per mil* (‰) das algas filamentosas agrupadas por sítio amostral. Legenda à direita do gráfico. Existe uma maior proximidade em relação aos sítios amostrados que em relação aos agrupamentos taxonômicos.

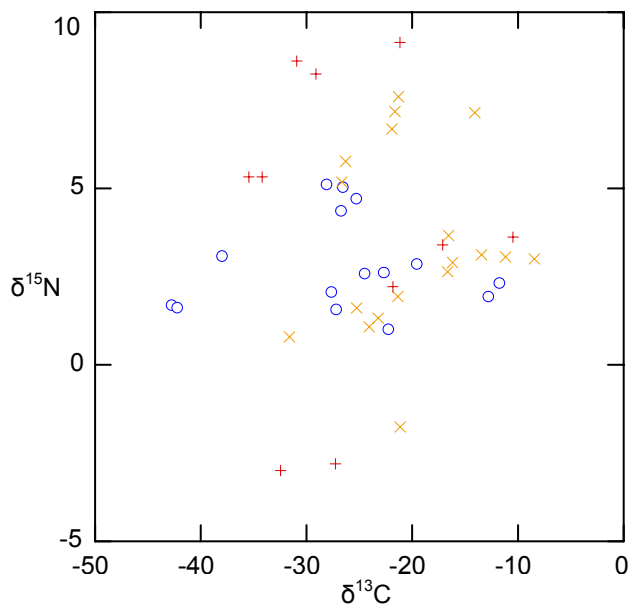


Figura 16 - Média dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas em *per mil* (‰). Dos 25 riachos apenas 19 apresentaram espécimes de algas. Os sítios foram agrupados pela classificação *a priori*.  
 Legenda: Sítios de Referência (○), Intermediários (×) e Impactados (+).

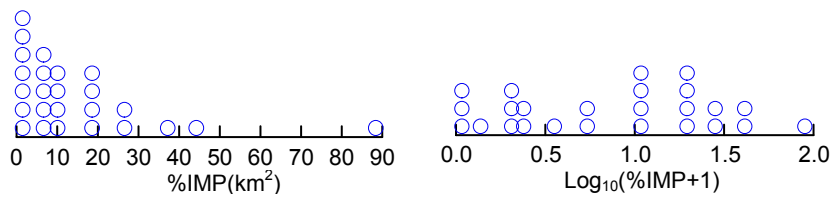
## 3.2 Testes estatísticos

### 3.2.1 Tratamento de Dados

Foi calculada a porcentagem de impacto presente em cada microbacia (%IMP) (Figura 6) para testar quais parâmetros acompanham o gradiente de impacto. Estes valores compõem a variável independente do modelo estatístico. Para isso, foram somadas as áreas de impacto rural e urbano (RUR+URB=IMP). O resultado foi dividido pela área total da microbacia (MIBA) de cada sítio amostral e para obter os valores de impacto em porcentagem (%) este resultado foi multiplicado por 100. A área total de impacto não foi utilizada como descritor de impacto para que não houvesse efeito do tamanho da microbacia (que influenciaria no modelo testado). A distribuição do gradiente de impacto foi desigual, sendo a maior frequência foi dos valores de menor porcentagem. Então, os dados de porcentagem foram transformados para  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)$  para obtenção da tendência central e variância equivalente dos resíduos. A unidade somada à porcentagem de impacto foi necessária porque o ponto SQ tem %IMP=0. Esta foi a variável independente de todo o trabalho.

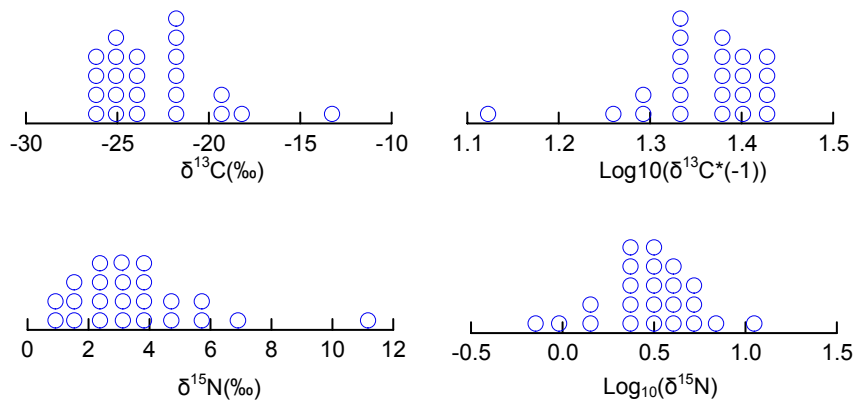
As variáveis respostas (dependência testada) dos modelos foram os valores das razões isotópicas de carbono e nitrogênio de cada sítio amostral. As transformações dos dados foram necessárias para obter a variância mais homogênea dos resíduos e inclusive obter tendência central (premissas da regressão) (Gotelli 2004). No caso das algas filamentosas, foi feita a média dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  para cada sítio amostral. Esses valores já apresentavam tendência central e não houve necessidade do tratamento destes dados. Para perifíton, foi feita a transformação dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  para  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}*(-1))$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  para  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ . A mudança de sinal foi necessária para  $\delta^{13}\text{C}$  porque seus valores são negativos. No caso do MOPF,  $\delta^{13}\text{C}$  também foi transformado em  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}*(-1))$  e o  $\delta^{15}\text{N}$  foi transformado em  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N}+1)$  porque o ponto MA apresentou um valor de -0,39‰. A distribuição dos dados crus e dos dados transformados encontra-se na Figura 17.

### Variável Dependente

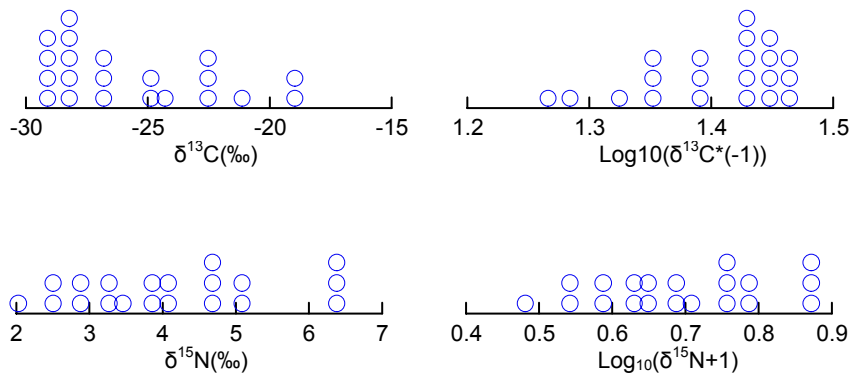


### Variáveis Resposta

#### Perifíton



#### FPOM



#### Algas Filamentosas

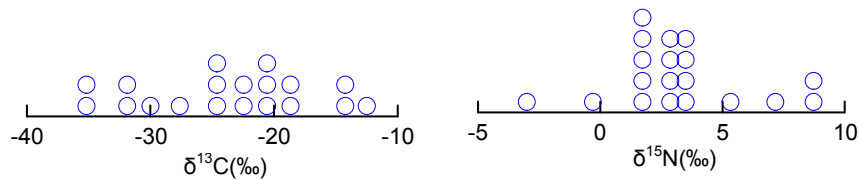


Figura 17 - Gráficos de densidade de pontos das variáveis testadas lado a lado com a densidade de pontos das variáveis transformadas para o teste. Todos os valores foram logaritimizados com exceção de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas.



### 3.2.2 Perifíton

O modelo estatístico pensado *a priori* foi o da regressão simples entre a variável independente ( $x = \text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$ ) e as variáveis resposta (dependências testadas)  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  e  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ . O resultado inicialmente foi significativo para o  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  ( $r^2 = 0,183$  e  $p = 0,042$ ). Porém, o ponto referente ao sítio DI era fora de padrão e puxava a função que justifica o valor baixo de  $r^2$ . Na ausência de DI o modelo não foi significativo ( $r^2 = 0,091$  e  $p = 0,173$ ). Este resultado mostra que  $\delta^{13}\text{C}$  não é dependente da porcentagem de impacto na bacia do rio Guapi-Macacu dentro do intervalo de confiança estabelecido (Figura 18).

Para o  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ , a regressão linear foi altamente significativa ( $r^2 = 0,886$  e  $p < 0,001$ ) (Figura 19). Este modelo apresenta uma inclinação de 0,471 e uma constante de  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N}) = 0,048$ , que significa um valor de  $\delta^{15}\text{N} = 1,12\%$  para perifíton na ausência de impacto. Porém, a disposição dos pontos desta função sugere uma relação não linear entre  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$  e  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$ . A regressão não-linear de modelo  $y = a \cdot x^b$  se ajustou melhor aos dados tendo maior coeficiente de Pearson ( $r^2 \text{ cru} = 0,997$  e  $r^2 \text{ ajustado} = 0,901$ ) (Figura 20). Os coeficientes foram  $a = 0,538$  ( $dp = 0,044$ ) e  $b = 0,803$  ( $dp = 0,184$ ). Ao dividir esta função em dois intervalos, antes e depois do ponto de inflexão, percebemos duas tendências. O ponto de inflexão observado fica entre o ponto do sítio do CL ( $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1) = 0,392$  equivalente a  $\% \text{IMP} = 1,465$ ) e do GT ( $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1) = 0,550$  equivalente a  $\% \text{IMP} = 2,548$ ). Dessa forma, a regressão dos 7 pontos de menor porcentagem de impacto foi altamente significativa ( $r^2 = 0,961$  e  $p < 0,001$ ) com inclinação de 1,533 e constante igual ao valor de -0,238, que significa um valor de  $\delta^{15}\text{N} = 0,578\%$  para perifíton na ausência de impacto na bacia do rio Guapi-Macacu. A segunda parte da função também foi linearmente significativa ( $r^2 = 0,879$  e  $p < 0,001$ ) com uma inclinação menor de 0,422 (Figura 20).

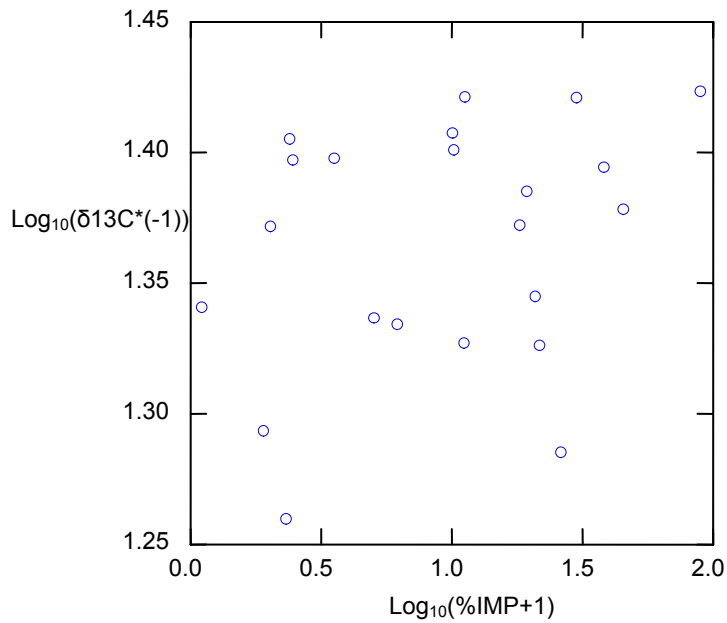


Figura 18 - Valores de  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}*(-1))$  do perifiton em relação a  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ .

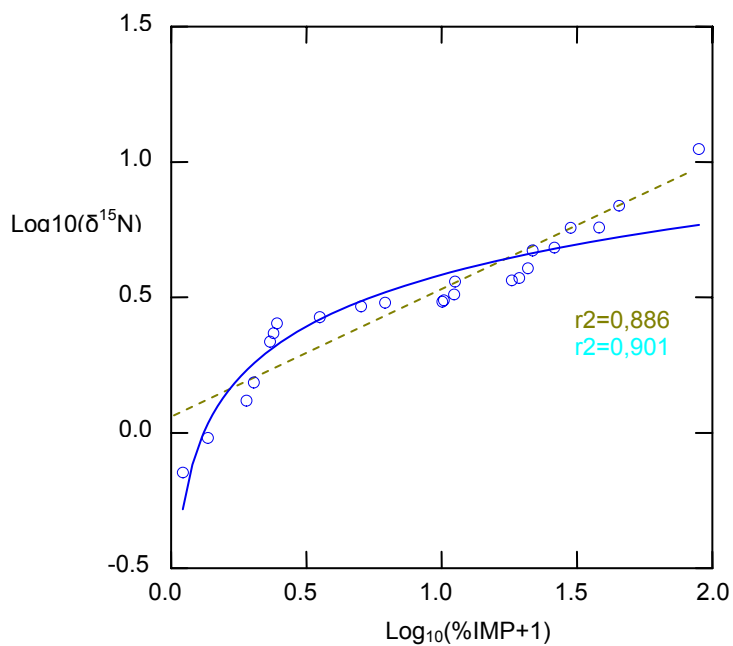


Figura 19 - Comparação entre a regressão linear e a logarítmica dos valores de  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  do perifiton em relação a  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ . A relação logarítmica de modelo  $y=a*x^b$  está representada pela curva azul e apresenta um  $r^2$  mais alto que a relação linear  $y=a*x+c$  representada pela linha tracejada amarela.

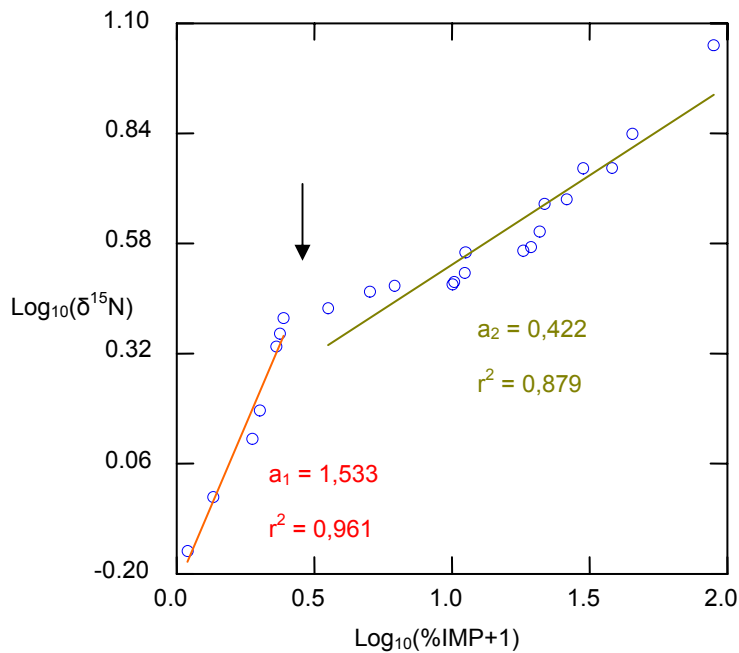


Figura 20 - Interpretação da relação não-linear entre  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  em relação a  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)$ . Os intervalos foram separados pelo ponto de inflexão indicado no gráfico pela seta. Nota-se que o valor de  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)=0,4$  equivalente a  $\%IMP=1,5\%$  separa o comportamento da função. Antes desse ponto o coeficiente de inclinação equivale a  $a_1=1,533$  e depois a  $a_2=0,422$ .

### 3.2.3 MOPF

A regressão linear entre  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  e  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)$  não foi significativa ( $r^2=0,014$  e  $p=0,612$ ). Em relação à  $\delta^{15}\text{N}$ , o sítio do MA foi retirado porque tinha grande influencia no modelo. A regressão linear entre  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  e  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)$  também não foi significativa ( $r^2=0,074$  e  $p=0,247$ ). A disposição dos valores de  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  e de  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  contra os valores de  $\text{Log}_{10}(\%IMP+1)$  não mostra relação entre essas variáveis (Figuras 21 e 22).

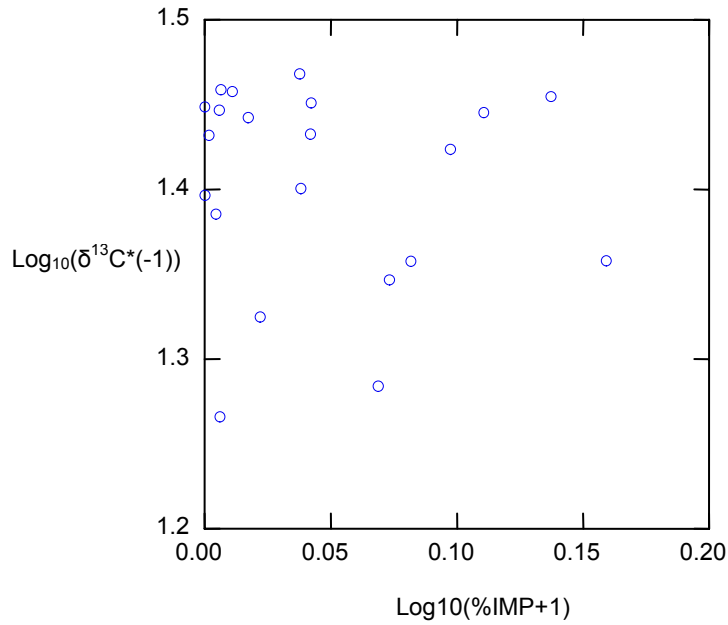


Figura 21 - Valores de  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  contra  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ . A disposição dos pontos não sugere nenhuma relação de dependência entre esta variável resposta e a variável independente que descreve impacto da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu.

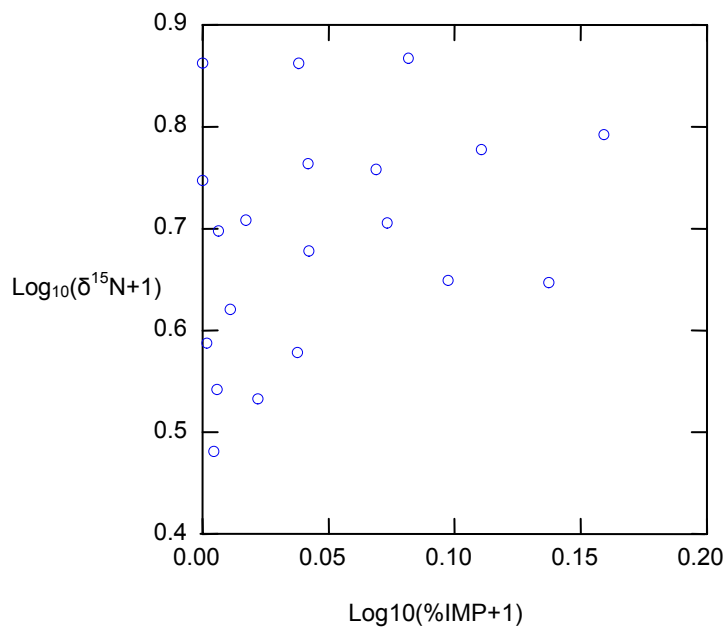


Figura 22 - Valores de  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N}^*+1)$  do MOPF contra  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ . A disposição dos pontos sugere uma relação de dependência entre esta variável resposta a variável independente na Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu. Porém, esta relação não fora encontrada.

### 3.2.4 Algas Filamentosas

A disposição dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  das algas filamentosas contra o  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  sugere uma relação descrita por uma função quadrática de modelo  $y=a*x^2+b*x+c$  com concavidade voltada para baixo ( $r^2(\text{ajustado})=0,467$ ) (Figura 23). Os valores dos coeficientes encontrados pela estimativa da função por iteração foram:  $a= -14,806$  ( $dp=8,487$ ),  $b=26,037$  ( $dp=14,913$ ) e  $c= -29,985$  ( $dp=5,525$ ). O valor de  $c$  mostra a estimativa do valor de  $\delta^{13}\text{C}$  na ausência de impacto. O vértice da função apresentou valor de  $\delta^{13}\text{C}= -18,538\text{‰}$  e o valor de  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)=0,879$  que representa 6,573% de área impactada.

A regressão linear do  $\delta^{15}\text{N}$  contra o  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  inicialmente não foi significativa ( $r^2=0,012$  e  $p=0,659$ ). Porém, os sítios KL e VE apresentaram valores fora do padrão, principalmente o VE. Com apenas a retirada de VE o modelo foi significativo, mas apresentou pouca precisão ( $r^2=0,220$  e  $p=0,049$ ). Com a retirada de ambos, o modelo foi melhor ( $r^2=0,419$  e  $p=0,005$ ) (Figura 24).

Com a retirada destes dois sítios a disposição dos pontos sugere que a relação pode ser não-linear. A regressão não-linear de modelo exponencial  $y=a^{x^b}+c$  foi ligeiramente melhor que a linear ( $r^2 \text{ cru}=0,878$  e  $r^2 \text{ ajustado}=0,454$ ). O valor dos coeficientes estimados foi:  $a=1,01$ ,  $b=108,01$  ( $dp= 32,13$ ) e  $c=1,30$  ( $dp=1,26$ ). O valor de  $c$  representa o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  na ausência de impacto.

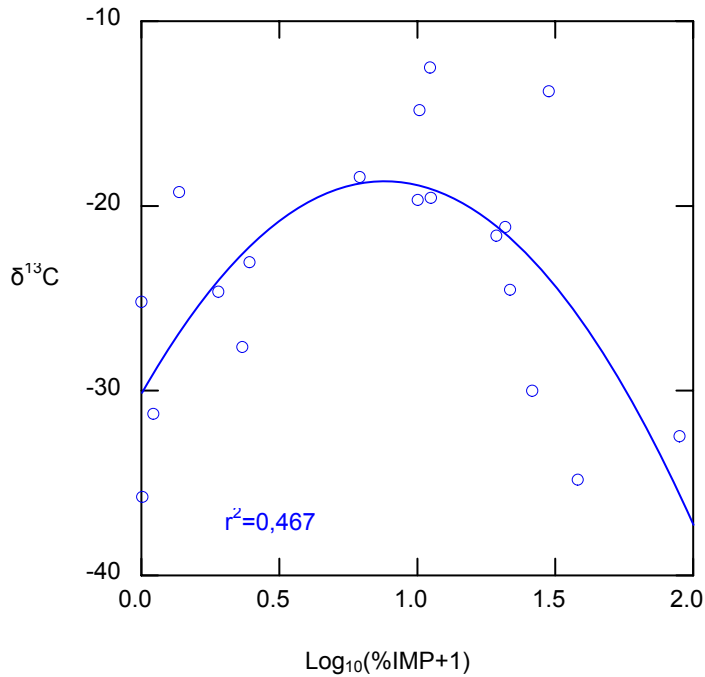


Figura 23 - Regressão não-linear entre  $\delta^{13}\text{C}$  das algas filamentosas e  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  da Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu.

Legenda: O modelo utilizado foi uma função quadrática  $y=a*x^2+b*x+c$ . O vértice da curva que representa a mudança da variação de  $\delta^{13}\text{C}$  equivale a  $\delta^{13}\text{C}=-18,53$  e  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)=0,87$  que tem impacto equivalente a 6,58%. O valor de  $c$  equivale a  $\delta^{13}\text{C}$  na ausência de impacto que é  $-29,985$ .

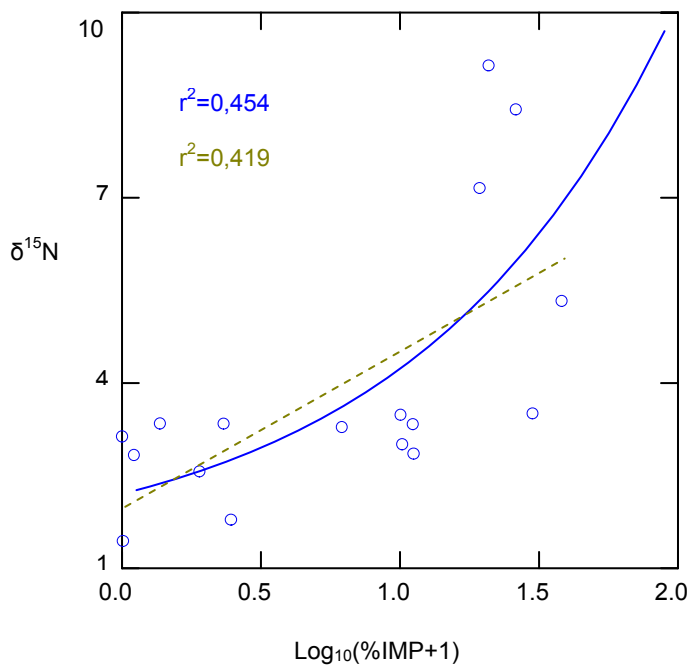


Figura 24 - Comparação das regressões. Regressão não-linear entre  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas e  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  na Bacia Hidrográfica Guapi-Macacu.

Legenda: O modelo exponencial representado pela linha azul explica melhor o modelo linear representado pela linha tracejada amarela (maior  $r^2$  mostrado no gráfico). O modelo utilizado foi uma função exponencial  $y=a^{x+b}+c$ . O valor de  $c$  representa o  $\delta^{15}\text{N}$  na ausência de impacto e equivale a 1,29. Não foram incluídos neste gráfico os pontos referentes aos sítios KL e VE os quais ficam fora da escala do modelo.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Perifíton

A disposição dos dados de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C} * (-1))$  do perifíton não demonstram dependência deste parâmetro em relação ao gradiente de impacto no teste utilizado (Figura 18), o que refuta a hipótese 1. Este resultado sugere que a assimilação do carbono vindo de plantas C4 não é representativo no perifíton. O que corrobora a literatura, pois é dito que o carbono oriundo de plantas C4 é menos lábil e normalmente não é incorporado pelos organismos aquáticos (Clapcott; Bunn, 2003). Mas na verdade, não podemos discriminar qual componente do perifíton assimila os altos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes das plantas C4, pois sua composição é heterogênea e a assimilação de um componente do sistema pode ser mascarada pela outra.

No caso de  $\delta^{15}\text{N}$ , o  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  foi significativamente dependente de  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$  tanto na regressão linear pensada *a priori* quanto na regressão não-linear logarítmica pensada *a posteriori*, o que corrobora com a hipótese 2 (Figura 19). O modelo não-linear ( $r^2=0,901$ ) explicou melhor a dispersão dos dados do que o modelo linear ( $r^2=0,886$ ). O modelo logarítmico se ajusta melhor aos dados e não negligencia o grande crescimento inicial que ocorre na função – como podemos perceber nas figuras 19 e 20. A separação em dois intervalos permitiu uma melhor interpretação da função que muda no ponto indicado pela seta (Figura 20). Este ponto é equivalente a  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}=0,4)$  que significa 1,5% de impacto nas microbacias estudadas. A regressão linear de cada intervalo mostrou que no primeiro intervalo ( $a_1=1,533$ ) o  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  aumenta em função de  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$  3 vezes mais que no segundo intervalo ( $a_2=0,422$ ). Este grande aumento inicial se deve pela rápida incorporação dos compostos nitrogenados ricos em  $^{15}\text{N}$  provenientes de fontes antropogênicas, visto que sistemas oligotróficos de águas claras geralmente têm o nitrogênio como nutriente limitante para os produtores – como nos riachos de Mata Atlântica presentes na bacia hidrográfica em questão. Porém, a partir de certa percentagem de impacto – que este trabalho sugere ser 1,5% – aumentam as concentrações de compostos nitrogenados numa proporção maior do que o perifíton é capaz de assimilar. Então há o desvio da inclinação para o eixo x que é representado pelo grau de impacto, ou seja, a inclinação diminui. Em



100% de impacto o modelo linear e o logarítmico apontam os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  respectivamente +9,81‰ e +8,71‰ e esses valores são semelhantes aos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de esgoto já publicados (Kreitler & Browning 1983; Costanzo *et al.* 2001; DeBruyn & Rasmussen 2002; Detweiler 2005; Ulseth & Hershey 2005). Os modelos não apresentam uma assíntota horizontal, ou seja, no  $\lim_{x \rightarrow \infty} f(x) = +\infty$ , e isto representa bem os dados encontrados que não tendem a um valor constante em  $y$ , ou seja, o  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N})$  aumenta mesmo nos valores mais altos de  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$ .

Ainda não se sabe até quando o  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton poderia aumentar, principalmente porque este é formado por componentes biológicos diferentes. Por exemplo, experimentos sugerem que produtores tendem a acumular o  $^{14}\text{N}$  fazendo o fracionamento de suas fontes nitrogenadas quando há condições de excesso de nitrogênio (Yoneyama & Kaneko 1989; Evans *et al.* 1996; Yoneyama *et al.* 2001). Então não é esperado que as algas não possam assimilar mais  $^{15}\text{N}$  do que as fontes oriundas de esgoto e fertilizantes. Porém, as bactérias podem acumular mais o  $^{15}\text{N}$  devido à desnitrificação. Esta produz nitrogênio atmosférico ( $\text{N}_2$ ) que é rico em  $^{14}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N} = 0\text{‰}$ ) e sua volatilização faz o  $\delta^{15}\text{N}$  das bactérias ser mais alto. Porém, o  $\text{N}_2$  produzido poderia ser incorporado pelas algas azuis heterocitadas<sup>3</sup> e poderia manter o  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton num equilíbrio dinâmico.

Com este resultado, a inferência do limite máximo de acúmulo de  $^{15}\text{N}$  do perifíton é dificultada, ou seja, em que momento haveria o fracionamento preferencial do isótopo “leve”. No sistema estudado o valor máximo de  $\delta^{15}\text{N}$  fica em torno de 9‰, que é um valor semelhante aos de esgoto de trabalhos anteriores, sobretudo no Rio de Janeiro (Detweiler 2005). Mas não sabemos se ocorre ou não algum fracionamento de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Para finalizar, experimentos em condições controladas de laboratório poderiam solucionar as lacunas existentes no conhecimento da incorporação de isótopos em perifíton. Nestes experimentos poderiam ser estudadas as espécies de algas e bactérias que formam a matriz polissacarídica nos sistemas dos rios estudados a fim de discriminar a assimilação de cada componente do perifíton e compor as interrogações do modelo de fluxo da Figura 24.

---

<sup>3</sup> Heterócitos são células diferenciadas das demais do filamento, especializadas em absorver  $\text{N}_2$ .

## 4.2 MOPF

A disposição dos dados de  $\text{Log}_{10}(\delta^{13}\text{C}^*(-1))$  não demonstram dependência deste parâmetro em relação ao gradiente de impacto  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$ . O que refuta a hipótese 3 (Figura 21). Este resultado não era esperado pelo fato do MOG e MOPF provenientes de plantas C4 entrar no sistema pela ação da chuva e gravidade. Porém, a biomassa do material de plantas C4 pode ser bem inferior à biomassa de plantas C3 de toda a bacia. Ou seja, o MOPF do local que sofrera desmatamento pode ser composto em sua maior parte pelo MOPF vindo a montante que o terrestre que entra lateralmente. Adicionalmente a isso, o MOPF também é composto pelo material autóctone (grande parte por perifíton e seus consumidores) e nos lugares de impacto por esgoto doméstico. Ambos têm  $\delta^{13}\text{C}$  por volta de  $-23\text{‰}$  (Martinelli *et al.*, 1999; Detweiler, 2005; Ulseth; Hershey, 2005). Em outras palavras, o MOPF está sendo formado por vários materiais e não obtém a assinatura das plantas C4.

No caso de  $\text{Log}_{10}(\delta^{15}\text{N}+1)$ , a disposição dos dados não mostra sua dependência em relação a  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  (Figura 22). Este resultado não era esperado, pois o esgoto doméstico contribui com o material particulado em suspensão na medida em que aumenta o impacto de cada microbacia. Porém, o material coletado pode ser a sobra do que já fora assimilado por bactérias, algas e os consumidores. Ou ainda, grande parte deste material pode estar dissolvida ou decantada e não é coletada na filtragem.

Apesar do resultado não significativo, quando olhamos para a figura 22, notamos que há uma tendência de aumento que pode ter sido atrapalhada pelo delineamento amostral. Em outras palavras, o  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF não acompanhou o impacto pelo fato do MOPF ser influenciado também por fontes locais. Por exemplo, uma casa próxima pode influenciar o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de um local onde a bacia é quase totalmente preservada, o que justificaria os altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF nos sítios de pouco impacto. O que não necessariamente influenciaria o perifíton e nem as algas filamentosas que receberiam esta influência diluída, enquanto o MOPF é coletado por filtragem e a diluição não faz diferença para seu resultado. Além disso, este componente é formado pelo material menos lábil e o material mais lábil oriundo de fontes antropogênicas já tenha sido dissolvido (que forma o estoque de Carbono Dissolvido) e/ou incorporado pelos organismos.

### 4.3 Algas Filamentosas

A disposição dos dados de  $\delta^{13}\text{C}$  em relação ao  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)$  sugere uma função quadrática de modelo  $y=a*x^2+b*x+c$  (Figura 23). A regressão não-linear obteve um  $r^2=0,467$  que é relativamente baixo. A constante  $c= -29,985\text{‰}$  ( $dp=5,525$ ) é o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  na ausência de impacto. Este valor mostra que o carbono assimilado pela alga na ausência de impacto seria o carbono dissolvido proveniente da entrada de fontes de plantas C3. Segundo a função, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  chegariam ao valor máximo (vértice da curva) de  $-18,538\text{‰}$  em  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP}+1)= 0,87$  que é equivalente a 6,57% de impacto. Porém, os valores mais altos encontrados foram dos sítios RE ( $-12,5\text{‰}$ ) e TI ( $-14,8\text{‰}$ ) que apresentam bastante impacto rural e pouco urbano (no caso de TI nenhum), enquanto que os pontos de maior impacto apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  semelhantes aos pontos sem impacto. Este aumento e posterior declínio da função acabaram por gerar a ausência de uma relação linear. Isto ocorreu pelo fato do gradiente de impacto incorporar tanto o impacto rural quanto o urbano. O impacto rural acrescenta ao sistema aquático valores muito altos de  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes das gramíneas, porém o esgoto doméstico tem um valor mais baixo de  $\delta^{13}\text{C}$  que é em média  $-23\text{‰}$  (Martinelli *et al.*, 1999; Detweiler, 2005; Ulseth; Hershey, 2005). Esta média é formada por fontes de valores altos e baixos, que atrapalham na relação do acréscimo do carbono de alto  $\delta^{13}\text{C}$  oriundo de plantas C4, como descrito na hipótese 5 deste trabalho.

Desta forma, acredito que esta hipótese foi refutada pelo fato dos pontos sofrerem a ação de diferentes impactos e talvez pelas algas não estarem sobre as mesmas condições de velocidade de correnteza que também é um fator que interfere nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Finlay *et al.*, 1999; Finlay, 2004; Rasmussen; Trudeau, 2007). Para perseguir esta questão devemos fazer um trabalho com um delineamento para impacto rural e outro para urbano, selecionando algas em presença de mesma correnteza para diminuir os erros do modelo.

Algas parecem acompanhar o ambiente em que se encontram porque assimilam o carbono dissolvido na água para a fotossíntese (Rounick ; James 1984; Goericke; Fry, 1994; Doucett *et al.*, 1996; Hill; Middleton, 2006). A interferência da velocidade de correnteza acontece devido à influência do efeito de borda gerado na lâmina d'água proximal as células dos produtores aquáticos (Keeley; Sandquist, 1992). Em condições de remanso a lâmina d'água próxima a célula não é renovada

e se torna hipotônica. Desta maneira, o carbono dissolvido se torna limitante a fotossíntese e o máximo de íons de carbono é absorvido. Em contrapartida, produtores em águas correntes têm esta lâmina d'água renovada continuamente, ou seja, os íons de carbono não são limitantes a fotossíntese. Por isso, a alga faz o fracionamento preferencial dos íons formados por  $^{12}\text{C}$  devido à maior facilidade de absorção em relação ao  $^{13}\text{C}$ . Assim, estas se tornam mais negativas que algas de remanso (Finlay *et al.*, 1999; Finlay, 2004; Rasmussen; Trudeau, 2007). Por fim, o número de pesquisas neste tema ainda é limitado e outros fatores podem influenciar no fracionamento do carbono dissolvido como a geometria celular (Popp *et al.*, 1998) e a influência do gás carbônico atmosférico. Por isso temos uma grande variância de  $\delta^{13}\text{C}$  de algas em sistemas límnicos e marinhos (France 1995).

Já a  $\delta^{15}\text{N}$  apresentou dependência em relação ao  $\text{Log}_{10}(\% \text{IMP} + 1)$ , mesmo após a correção para múltiplas comparações (total de 6) ( $p = 0,005 < 0,008$ ) (Figura 24). Mas para esse resultado é necessário a retirada de pelo menos um dos pontos que estão fora do padrão (outliers), o KL e o VE. Tanto a retirada de VE (ponto de valor mais fora do padrão) quanto a retirada de KL foram pensadas *a posteriori*, pelo fato de seus valores serem intrigantes. Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  foram negativos, o que foi totalmente inesperado para pontos onde havia tanto esgoto. Estes dois pontos são muito próximos, totalmente urbanizados, sendo os únicos pontos amostrados em que o rio tinha sido canalizado com concreto. Isto poderia implicar na desestruturação de características naturais do sistema. Adicionalmente a isso, o ponto do KL apresenta uma indústria de papel que provavelmente despeja químicos que estariam presentes apenas neste local. Existe a possibilidade de erro na espectrometria, mas essa possibilidade para o ponto do KL é pequena porque neste foram encontradas 3 algas de valores de -2,8, -0,3 e 2,2 os quais são relativamente próximos entre si.

O modelo apresentou pouca precisão principalmente devido aos pontos de maior impacto que apresentam mais erros em relação à média (Figura 24). A regressão não-linear de modelo exponencial  $y = a^{x^b} + c$  foi escolhida porque incorpora os altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  pertencente aos pontos de maior percentagem de impacto. Podemos ver no gráfico que a relação não-linear ( $r^2 = 0,454$ ) têm maior coeficiente de Pearson que o linear ( $r^2 = 0,419$ ). Na não-linear a constante  $c$  é igual a 1,299 que equivalente ao valor de  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas na ausência de impacto. Este valor é mais condizente do que o da constante do modelo linear  $y = a \cdot x + c$  ( $c = 2,02$ ).

O fato de precisar retirar os dois pontos fora de padrão e a baixa precisão do modelo seriam motivos para refutar a hipótese 6, porém prefiro acreditar na dependência do  $\delta^{15}\text{N}$  em relação ao aumento do impacto, principalmente para evitar o erro do tipo 2 (Magnusson ; Mourão 2005). Este erro poderia cercear projetos que poderiam usar o  $\delta^{15}\text{N}$  de algas filamentosas como indicadores. E isto não é interessante, pois existe a lógica de aumento de  $\delta^{15}\text{N}$  em relação ao impacto e resultados que indicam este fenômeno na literatura (Costanzo *et al.* 2000; Costanzo *et al.* 2001; DeBruyn ; Rasmussen 2002; Costanzo *et al.* , 2003; Cole *et al.* 2004; Bunn; Hadwen 2005; Costanzo *et al.*, 2005). Além disso, as fontes de erros do experimento poderiam ser contornadas e o teste poderia ser outro.

Provavelmente as algas não fazem qualquer fracionamento isotópico de nitrogênio. Mas esta afirmação só poderia ser corroborada com experimentos controlados com acréscimo de compostos nitrogenados. No caso de os produtores terrestres assimilam a mesma  $\delta^{15}\text{N}$  dos compostos nitrogenados absorvidos (Handley ; Raven 1992; Evans *et al.* 1996; Dawson *et al.*, 2002). As questões sobre o fracionamento de  $\delta^{15}\text{N}$  são relacionados à anatomia e fisiologia das plantas que ainda não é bem compreendida (Dawson *et al.*, 2002). Geralmente o fracionamento isotópico ocorre na fixação do nutriente que é catalizada por enzimas. No caso da assimilação de  $\text{NH}_4^+$  a enzima é a glutamina sintetase e do  $\text{NO}_3^-$  é a nitrato redutase (Handley; Raven, 1992; Raven *et al.*, 2001). Estas enzimas parecem fazer um fracionamento no sentido de aumentar o  $\delta^{15}\text{N}$ , ou seja, incorporam mais  $^{15}\text{N}$  em condições de excesso deste nutriente (Yoneyama; Kaneko 1989; Evans *et al.* 1996; Yoneyama *et al.* 2001). Por fim, se as razões isotópicas de algas filamentosas acompanham impactos antropogênicos ou não, são necessários mais trabalhos na região com diferentes delineamentos, em diferentes escalas e principalmente que diferenciem os tipos de impactos.

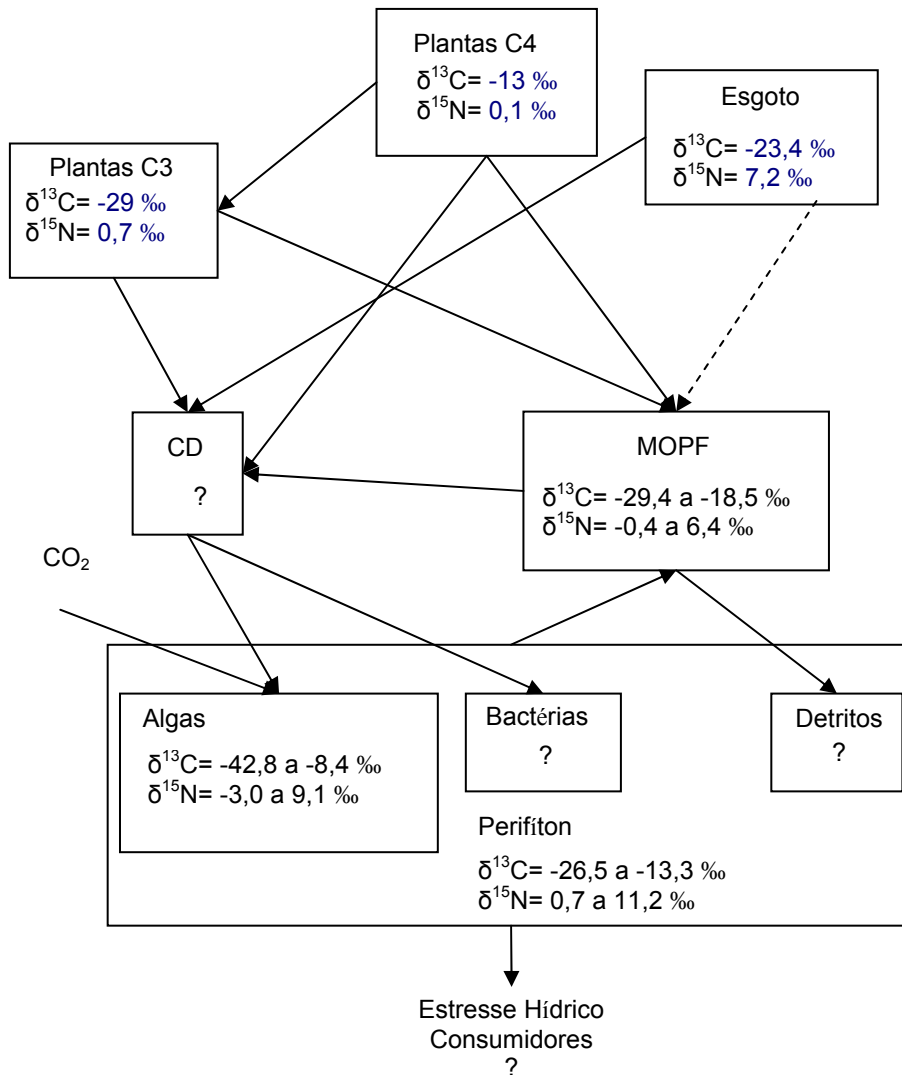


Figura 25 - Resumo dos valores das composições isotópicas no modelo conceitual. Os valores de algas filamentosas foram colocadas no compartimento do perifíton. Legenda: Os valores de esgoto, plantas C3 e C4 foram de dados da literatura. As interrogações mostram as lacunas do conhecimento. A linha tracejada mostra que o material particulado não é formado, ou sua maior parte não é formada, pelas fontes antropogênicas. Os valores em azul são Detweiler (2005).

#### 4.4 Uso da ferramenta e pesquisas futuras

A ferramenta mais evidente para a aplicação é a  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton. Esta se mostrou muito mais sensível que todas as outras testadas do sistema. Sua aplicação é interessante para o monitoramento da adição de esgoto em corpos hídricos como em outros trabalhos em que são usadas algas filamentosas. Primeiramente, sua amostragem é extremamente simples e há sua presença em todo o sistema. O que

facilita a comparação de muitos pontos de uma bacia. Outra questão interessante é o fato do perifíton ser formado por uma matriz heterogênea principalmente algas, bactérias e detritos (Roemer *et al.*, 1984; Biggs, 1996b; Frost, 2002). Estes diferentes componentes tendem a assimilar os altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  vindo de fontes antropogênicas, ou seja, a probabilidade deste parâmetro do perifíton responder é maior que estas em separado. Dessa forma, esta ferramenta pode ser utilizada para o monitoramento de um programa de recuperação ambiental.

Por exemplo, Costanzo e colaboradores (2005) identificam o efeito de tratamento de esgoto e recuperação da integridade do sistema acompanhando o declínio de  $\delta^{15}\text{N}$  de algas. Esta metodologia é bem interessante e também pode ser utilizada para os rios da bacia do rio Guapi-Macacu em programas de recuperação. As algas filamentosas encontradas também podem ser utilizadas, porém os resultados mostram que a sensibilidade do perifíton é maior e o esforço deve ser colocado primeiro neste setor do sistema.

A sensibilidade da variação em  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton foi tão sensível que as fontes de erros do presente trabalho não alteraram sua resposta que é bem evidente. As fontes erro influenciaram a  $\delta^{13}\text{C}$  do perifíton, as  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF e as  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  das algas filamentosas. Essas fontes de erros existem porque parâmetros físico-químicos e biológicos variam naturalmente entre locais no rio, principalmente em rios de magnitudes diferentes como nos sítios encontrados na presente bacia.

A fonte de erros para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  vem do fato dos impactos de pasto, agricultura e urbanização adicionarem fontes de valores diferentes para o sistema aquático. Por exemplo, gramíneas adicionam valores baixos de  $\delta^{13}\text{C}$  quando comparadas ao esgoto doméstico (-13‰ e -23‰ respectivamente) (Martinelli *et al.* 1999; Detweiler 2005; Ulseth & Hershey 2005). Outro exemplo seria a diferença entre o fertilizante proveniente de fezes animais e fertilizantes industriais. Estes últimos têm valores baixos por serem formados por fixação do nitrogênio atmosférico. A diferenciação destes impactos não foi possível porque temos um N baixo de pontos com apenas um tipo de impacto. Trabalhos futuros devem discriminar os efeitos específicos para melhor entendermos o sistema impactado que já pode ser considerado como regra e não como exceção.

Outra fonte de erros foi a influência dos impactos em diferentes escalas para estes componentes testados (Findlay *et al.* 2001; Allan 2004). Variações em  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF devem ser sensíveis a impactos locais e um melhor delineamento é

necessário para identificar sua incorporação do material terrestre que está sujeito a diferentes usos do solo. Por exemplo, o sítio do MO é um ponto de pouco impacto em toda a sua microbacia, mas seu alto valor de  $\delta^{15}\text{N}$  pode ter sido influenciado por uma descarga local de esgoto que mesmo que pequena alterou a  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF. Como o material particulado é coletado por filtragem não há a amenização deste efeito pela diluição do esgoto na água.

No caso das algas filamentosas a variação na microescala é mais difícil de resolver que do perífiton porque são muito mais raras. Em outras palavras, ao fazer uma amostragem de muitas superfícies que contêm perífiton em um sítio amostral específico, as variações na microescala perdem o efeito por trabalharmos com valores de médias. Em contrapartida, a amostragem de muitas algas filamentosas é mais difícil, principalmente nos riachos oligotróficos das cabeceiras em que são menos abundantes. Assim, a amostra do local é feita com poucos indivíduos e o efeito dos resíduos gerados por estas variações locais podem interferir nos resultados e na interpretação do funcionamento do sistema.

Por fim, este presente trabalho não completa o modelo conceitual da figura 25 (resumo dos resultados), sobretudo para rios e córregos do Brasil onde essas pesquisas ainda são escassas. As novas pesquisas devem ter um delineamento para cada tipo de impacto, buscando entender como os componentes do sistema são formados e alterados pelos diferentes impactos em diferentes escalas. E para isto, os trabalhos devem ser multidisciplinares, a fim de integrar todas as classes hierárquicas da ecologia – incluindo as atividades humanas – e gerar dados para construção de modelos preditivos mais robustos que gerem respostas cada vez mais confiáveis.



## 5 CONCLUSÃO

Em relação às hipóteses levantadas, as de número 1, 3 e 5 foram refutadas. Estas são referentes aos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  respectivamente do perifíton, do MOPF e das algas filamentosas. Esse resultado sugere que o carbono proveniente de plantas C4 não é incorporado pelos componentes utilizados neste trabalho via o carbono dissolvido. Esta quantidade de carbono pode ser pequena quando comparada com o carbono proveniente de plantas C3 das cabeceiras do rio. Em outras palavras, o presente trabalho não pode afirmar que o carbono das plantas C4 não entra no sistema, pode apenas afirmar que esta metodologia não é sensível para detectar o impacto causado pela chegada destas plantas invasoras. Para perseguir esta questão os próximos trabalhos devem se preocupar com a composição isotópica do carbono dissolvido.

A hipótese 4, referente ao  $\delta^{15}\text{N}$  do MOPF, foi refutada. Esta não se mostrou uma entidade apropriada para se detectar no  $\delta^{15}\text{N}$  a presença de materiais provenientes de atividades antropogênicas da bacia hidrográfica Guapi-Macacu. Já as hipóteses 2 e 6 foram corroboradas. As  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton e das algas filamentosas podem ser usadas em programas de monitoramento e de recuperação de sistemas aquáticos, como por exemplo, programas de tratamento de esgoto. Principalmente a  $\delta^{15}\text{N}$  do perifíton que se mostrou muito mais sensível às mudanças ocorridas na paisagem do entorno dos corpos hídricos estudados. Esta pode ser uma poderosa ferramenta para a identificação de adição de esgoto sem tratamento e de fertilizantes animais.

## REFERÊNCIAS

- Amado A.M., Farjalla V.F., Esteves F.d.A., Bozelli R.L., Roland F., Enrich-Prast A. (2006). Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake. *Microbiology Ecology*, 56, 8-17.
- Allan J.D. , Castillo M.M. (2007). *Ecology: Structure and function of running waters*. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Allan J.D. (2004). Landscape and Riverscape: The Influence of Land Use on Stream Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 35, 257-284.
- Angerbjörn A., Hersteinsson P., Lidén K. , Nelson E. (1994). Dietary variation in arctic foxes (*Alopex lagopus*)-an analysis of stable carbon isotopes. *Oecologia*, 99, 226-232.
- Araujo-Lima C.A.R.M., Forsberg B.R., Victoria R. , Martinelli L. (1986). Energy Sources for Detritivorous Fishes in the Amazon. *Science*, 234, 1256-1258.
- Baptista D.F., Buss D.F., Egler M. , Nessimian J.L. (2007). A multimetric index based on benthic macroinvertebrates for evaluation of Atlantic Forest stream at Rio de Janeiro Estate, Brazil. *Hydrobiologia*, 575, 83-94.
- Bicudo C.E.M. , Menezes M. (2006). *Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (Chave para identificação e descrições)*. Rima, São Carlos, SP, Brasil.
- Biggs B.J.F. (1996). Hydraulic habitat of plants in streams. *Regulated Rivers: Research and Management*, 12, 131-144.
- Biggs B.J.F. (1996b). *Patterns in Benthic Algae of Streams*. In: *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems* (ed. Stevenson RJ). Academic Press London, England.
- Bilby R.E. (1981). Role of Organic Debris Dams in Regulating the Export of Dissolved and Particulate Matter From a Forested Watershed. *Ecology*, 62, 1234-1243.
- Bilby R.E., Fransen B.R. , Bisson P.A. (1996). Incorporation of nitrogen and carbon from spawning coho salmon into the trophic system of small streams: Evidence from stable isotopes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53, 164-173.
- Braun B.S. (2005). Caracterização da malacofauna do Rio Grande, Parque Estadual da Pedra Branca, RJ, ao longo de um gradiente de poluição orgânica. In: *Dissertação de Mestrado (Mestrado em BioCiências) Universidade do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro.
- Brito E.F., Moulton T.P., Souza M.L. , Bunn S.E. (2006). Stable isotope analysis indicates microalgae as the predominant food source of fauna in a coastal forest stream, south-east Brazil. *Austral Ecology*, 31, 623-633.

- Bunn S.E., Arthington A.H. (2002). Basic principles and ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity. *Environmental Management*, 30, 492-507.
- Bunn S.E., Hadwen W.L. (2005). Food web responses to low-level nutrient and  $^{15}\text{N}$ -tracer additions in the littoral zone of an oligotrophic dune lake. *Limnology and Oceanography*, 50, 1096-1105.
- Bunn S.E., Davies P.D. , Mosisch T.D. (1999). Ecosystem measures of river healthy and their response to riparian and catchment degradation. *Freshwater Biology*, 41, 333-345.
- Bunn S.E., Davies P.M. , Kellaway D.M. (1997). Contributions of sugar cane and invasive pasture grass to the aquatic food web of a tropical lowland stream. *Marine and Freshwater Research*, 48, 173-179.
- Buss D.F., Baptista D.F., Silveira M.P. , Nessimian J.L. (2002). Influence of water chemistry and environmental degradation on macroinvertebrate assemblage in a river basin in South-east Brazil. *Hydrobiologia*, 481, 125-136.
- Cao Y., Larsen D.P., Hughes R.M., Angermeier P.L. , Patton T.M. (2002). Sampling effort affects multivariate comparisons of stream assemblages. *Journal of the North American Benthological Society*, 21, 701-714.
- Clapcott J.E. , Bunn S.E. (2003). Can C4 plants contribute to aquatic food webs of subtropical streams? *Freshwater Biology*, 48, 1105-1116.
- Cole M.L., Valiela I., Kroeger K.D., Tomasky G.L., Cebrian J., Wigand C., McKinney R.A., Grady S.P. , Carvalho da Silva M.H. (2004). Assessment of a  $\delta^{15}\text{N}$  Isotopic Method to Indicate Anthropogenic Eutrophication in Aquatic Ecosystems. *J Environ Qual*, 33, 124-132.
- Costanzo S.D., O'donohue M.J. , Dennison W.C. (2000). *Gracilaria edulis* (Rhodophyta) as a biological indicator of pulsed nutrients in oligotrophic waters. *Journal of Phycology*, 36, 680-685.
- Costanzo S.D., O'Donohue M.J. , Dennison W.C. (2003). Assessing the seasonal influence of sewage and agricultural nutrient inputs in a subtropical river estuary. *Estuaries and Coasts*, 26, 857-865.
- Costanzo S.D., O'Donohue M.J., Dennison W.C., Loneragan N.R. , Thomas M. (2001). A New Approach for Detecting and Mapping Sewage Impacts. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 149-156.
- Costanzo S.D., Udy J., Longstaff B. , Jones A. (2005). Using nitrogen stable isotope ratios ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of macroalgae to determine the effectiveness of sewage upgrades: changes in the extent of sewage plumes over four years in Moreton Bay, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 51, 212-217.

- Cummins K.W. , Klug M.J. (1979). Feeding Ecology of Stream Invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10, 147-172.
- Dawson T.E., Mambelli S., Plamboeck A.H., Templer P.H. , Tu K.P. (2002). Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 507-559.
- DeBruyn A.M.H. , Rasmussen J.B. (2002). Quantifying Assimilation of Sewage-Derived Organic Matter by Riverine Benthos. *Ecological Applications*, 12, 511-520.
- Detweiler A.M. (2005). The effects of urbanization on the food web of a mid-order stream in Rio de Janeiro, Brasil. In: *Dissertação de Mestrado: The University of North Carolina*. Greensboro, EUA.
- Doucett R.R., Power G., Barton D.R., Drimmie R.J. , Cunjak R.A. (1996). Stable isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53, 2058-2066.
- Drizo A., Frost C.A., Grace J. , Smith K.A. (1999). Physico-chemical screening of phosphate-removing substrates for use in constructed wetland systems. *Water Research*, 33, 3595-3602.
- Enríquez S., Duarte C.M. , Sand-Jensen (1993). Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia*, 94, 457-471.
- Evans R.D., Bloom A.J., Sukrapanna S.S. , Ehleringer J.R. (1996). Nitrogen isotope composition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. T-5) grown under ammonium or nitrate nutrition. *Plant, Cell and Environment*, 19, 1317-1323.
- Farjalla V.F., Azevedo D.A., Esteves F.A., Bozelli R.L., Roland F. , Enrich-Prast A. (2006). Influence of Hydrological Pulse on Bacterial Growth and DOC Uptake in a Clear-Water Amazonian Lake. *Microbial Biology*, 52, 334-344.
- Farjalla V.F., Esteves F.A., Bozelli R.L. , Roland F. (2002). Nutrient limitation of bacterial production in clear water Amazonian ecosystems. *Hydrobiologia*, 489, 197–205.
- Farquhar G.D. (1983). On the Nature of Carbon Isotope Discrimination in C4 Species. *Functional Plant Biology*, 10, 205-226.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. , Hubick K.T. (1989). Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40, 503-537.
- Fellows C., Clapcott J., Udy J., Bunn S., Harch B., Smith M. , Davies P. (2006). Benthic Metabolism as an Indicator of Stream Ecosystem Health. *Hydrobiologia*, 572, 71-87.
- Findlay S., Howe K. , Austin H.K. (1990). Comparison of detritus dynamics in two tidal freshwater wetlands. *Ecology*, 71, 288-295.

- Findlay S., Quinn J., Hickey C., Burrell G. , Downes M. (2001). Effects of land use and riparian flowpath on delivery of dissolved organic carbon to streams. *Limnology and Oceanography*, 46, 345–355.
- Finlay J.C. (2004). Patterns and controls of lotic algal stable carbon isotope ratios. *Limnology and Oceanography*, 49, 850-861.
- Finlay J.C., Power M.E. , Cabana G. (1999). Effects of water velocity on algal carbon isotope ratios: Implications for river food web studies. *Limnology and Oceanography*, 44, 1198-1203.
- Forsberg B.R., Araujo-Lima C.A.R.M., Martinelli L.A., Victoria R.L., Bonassi J.A. (1993). Autotrophic Carbon Sources for Fish of the Central Amazon. *Ecology*, 74, 643-652.
- France R.L. (1995). Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series*, 124, 307-312.
- Freeman M.C., Pringle C.M., Greathouse E.A. , Freeman B.J. (2003). Ecosystem-Level Consequences of Migratory Faunal Depletion Caused by Dams In: Biodiversity, Status, and Conservation of the World's Shads. *American Fisheries Society Symposium*, pp. 255-266.
- Frost P.C., Hillebrand H. ,Kahlert M. (2005). Low algal carbon content and its effect on the C:P stoichiometry of periphyton. *Freshwater Biology*, 50, 1800-1807.
- Frost P.C.a.E., James J. (2002). Effects of light and nutrients on the net accumulation and elemental composition of epilithon in boreal lakes. *Freshwater Biology*, 47, 173-183.
- Fry B. (2006). *Stable Isotope Ecology*. Springer, New York, NY, USA.
- Fry B., Joern A. , Parker P.L. (1978). Grasshopper food web analysis: use of carbon isotope ratios to examine feeding relationships among terrestrial herbivores. *Ecology*, 59, 489-506.
- Gessner M.O. , Chauvet E. (2002). A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*, 12, 498-510.
- Goericke R. , Fry B. (1994). Variations of Marine Plankton  $\delta^{13}\text{C}$  With Latitude, Temperature, and Dissolved  $\text{CO}_2$  in the World Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 8, 85-90.
- Gotelli N.J. (2004). *Regression. In: A primer of ecological statistics* (eds. Gotelli NJ, Ellison AM). Sunderland Massachusetts, USA.
- Greathouse E.A., Pringle C.M., McDowell W.H. , Holmquist J.G. (2006). Indirect Upstream Effects of Dams: Consequences Of Migratory Consumer Extirpation In Puerto Rico. *Ecological Applications*, 16, 339-352.

- Gulis V., Ferreira V. , Graça M.A.S. (2006). Stimulation of leaf litter decomposition and associated fungi and invertebrates by moderate eutrophication: implications for stream assessment. *Freshwater Biology*, 51, 1655-1669.
- Hall R.O., Jr (1995). Use of a stable carbon isotope addition to trace bacterial carbon through a stream food web. *Journal of the North American Benthological Society*, 14, 269-277.
- Hamilton S.K., Lewis W.M. , Sippel S.J. (1992). Energy sources for aquatic animals in the Orinoco River floodplain: evidence from stable isotopes. *Oecologia*, 89, 324-330.
- Handley L.L. , Raven J.A. (1992). The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology. *Plant, Cell and Environment*, 15, 965-985.
- Hecky R.E. , Kilham P. (1988). Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology and Oceanography*, 33, 796-822.
- Hill B.H., Herlihy A.T., Kaufmann P.R., Stevenson R.J., McCormick F.H. ,Johnson C.B. (2000). Use of periphyton assemblage data as an index of biotic integrity. *Journal of the North American Benthological Society*, 19, 50-67.
- Hill R.W. , Middleton R.G. (2006). Changes in carbon stable isotope ratios during periphyton development. *Limnology and Oceanography*, 51, 2360-2369.
- IBGE (2007). <http://www.ibge.gov.br/>
- Kareiva P., Marvier M. , McClure M. (2000). Recovery and Management Options for Spring/Summer Chinook Salmon in the Columbia River Basin. *Science*, 290, 977-979.
- Keeley J.E. , Sandquist D.R. (1992). Carbon: freshwater plants. *Plant, Cell and Environment*, 15, 1021-1035.
- Kennard M., Pusey B., Arthington A., Harch B. , Mackay S. (2006). Development and Application of a Predictive Model of Freshwater Fish Assemblage Composition to Evaluate River Health in Eastern Australia. *Hydrobiologia*, 572, 33-57.
- Kitting C.L., Fry B. , Morgan M.D. (1984). Detection of inconspicuous epiphytic algae supporting food webs in seagrass meadows. *Oecologia*, 62, 145-149.
- Kreitler C. , Browning L. (1983). Nitrogen-Isotope Analysis of Groundwater Nitrate in Carbonate Aquifers: Natural Sources versus Human Pollution. *Journal of Hydrology*. 61, 285-301.
- Lake J.L., McKinney R.A., Osterman F.A., Pruell R.J., Kiddon J., Ryba S.A. , Libby A.D. (2001). Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 870-878.

Lau D.C.P., Leung K.M.Y. , Dudgeon D. (2008). Experimental dietary manipulations for determining the relative importance of allochthonous and autochthonous food resources in tropical streams. *Freshwater Biology*, 53, 139-147.

Loeb S.L. (1981). An In Situ Method for Measuring the Primary Productivity and Standing Crop of the Epilithic Periphyton Community in Lentic Systems. *Limnology and Oceanography*, 26, 349-399.

Magnusson W.E. , Mourão G. (2005). *Capítulo 6: Lidamos com probabilidades e coisas improváveis acontecem. In: Estatística sem Matemática: a ligação entre as questões e as análises* (ed. Magnusson WE). Planta Londrina.

Mantel S.K., Salas M. , Dudgeon D. (2004). Foodweb structure in a tropical Asian forest stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 23, 728-755.

March J.G. , Pringle C.M. (2003). Food Web Structure and Basal Resource Utilization along a Tropical Island Stream Continuum, Puerto Rico. *Biotropica*, 35, 84-93.

Mariotti A., Mariotti F., Champigny M.-L., Amarger N. , Moyses A. (1982). Nitrogen Isotope Fractionation Associated with Nitrate Reductase Activity and Uptake of  $\text{NO}_3^-$  by Pearl Millet. *Plant Physiology*. 69, 880-884.

Martinelli L.A., Ballester M.V., Krusche A.V., Victoria R.L., Camargo P.B.d., Bernardes M. , Ometto J.P.H.B. (1999). Landcover Changes and  $\delta^{13}\text{C}$  Composition of Riverine Particulate Organic Matter in the Piracicaba River Basin(Southeast Region of Brazil). *Limnology and Oceanography*, 44, 1826-1833.

Moulton T.P., de Souza M.L., Silveira R.M.L. , Krsulovic F.A.M. (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, 868-881.

Mulholland P.J., Tank J.L., Sanzone D.M., Wollheim W.M., Peterson B.J., Webster J.R. , Meyer J.L. (2000). Food resources of stream macroinvertebrates determined by natural-abundance stable C and N isotopes and a  $^{15}\text{N}$  tracer addition. *Journal of the North American Benthological Society*, 19, 145-157.

Paul M.J. ,Meyer J.L. (2001). Streams in the Urban Landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 333-365.

Peterson B.J. , Fry B. (1987). Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293-320.

Popp B.N., Edward A.L., Bidigare R.R., Dore J.E., Hanson K.L. , Wakeham S.G. (1998). Effect of phytoplankton cell geometry on carbon isotopic fractionation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 69-77.

Post D.M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83, 703-718.

RADAMBRASIL (1983). Levantamento de recursos naturais. In. Ministério das Minas e Energia, v.32, folha S/ F. 23/ 24. Rio de Janeiro/ Vitória. Rio de Janeiro.

Rasmussen J.B. , Trudeau V. (2007). Influence of velocity and chlorophyll standing stock on periphyton  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  in the Ste. Marguerite River system, Quebec. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64, 1370-1381.

Raven P.H., Evert R.F. , Eichhorn S.E. (2001). *Biologia Vegetal*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Richards C., Johnson L. , Host G. (1996). Landscape-scale influences on stream habitats and biota. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1.

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

Rounick J.S. , James M.R. (1984). Geothermal and cold springs faunas: Inorganic carbon sources affect isotope values. *Limnology and Oceanography Methods*, 29, 386-389.

Sandler B.C. , Kalff J. (1993). Factors controlling bacterial production in marine and freshwater sediments. *Microbial Biology*, 26, 79-99.

Singer G.A. , Battin T.J. (2007). Anthropogenic subsidies alter stream consumer-resource stoichiometry, biodiversity, and food chains. *Ecological Applications*, 17, 376-389.

Smith D.G., McBride G.B., Bryers G.G., Wisse J., Mink D.F.J. (1996). Trends in New Zealand's National River Water Quality Network. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 30, 485-500.

Smith V.H., Tilman G.D. , Nekola C. (1999). Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*, 100, 179-196.

Sokal R.R. & Rohlf F.J. (1995). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman and Company, Nova Iorque, EUA.

Sponseller R.A., Benfield E.F. & Valett H.M. (2001). Relationships between land use, spatial scale and stream macroinvertebrate communities. *Freshwater Biology*, 46, 1409-1424.

Thorp J., Delong M. (1994). The riverine productivity model: An heuristic view of carbon sources and organic processing in large river ecosystems. *Oikos*, 70, 305-308.

Thorp J., Delong M., Greenwood K. , Casper A. (1998). Isotopic analysis of three food web theories in constricted and floodplain regions of a large river *Oecologia*, 117, 551-563.



- Thorp J.H., Thoms M.C., DeLong M.D. (2006). The Riverine Ecosystem Synthesis: Biocomplexity in River Networks Across Space and Time. *River Research and Applications*, 22, 123–147.
- Tockner K., Pennetzdorfer D., Reiner N., Schiemer F. & Ward J.V. (1999). Hydrological connectivity, and the exchange of organic matter and nutrients in a dynamic river-floodplain system (Danube, Austria). *Freshwater Biology*, 41, 521-535.
- TRE/RJ (2003). Estudo sócio econômico de Guapimirim. In. Tribunal de Contas do Estado do Rio de Janeiro Rio de Janeiro.
- TRE/RJ (2004). Estudo Sócio Econômico de Cachoeiras de Macacu. In. Tribunal de Contas do Estado do Rio de Janeiro Rio de Janeiro.
- Udy J., Fellows C., Bartkow M., Bunn S., Clapcott J., Harch B. (2006). Measures of Nutrient Processes as Indicators of Stream Ecosystem Health. *Hydrobiologia*, 572, 89-102.
- Ulseth A.J., Hershey A.E. (2005). Natural abundances of stable isotopes trace anthropogenic N and C in an urban stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 270-289.
- Valiela I., Collins G., Kremer J., Lajtha K., Geist M., Seely B., Brawley J., Sham C.H. (1997). Nitrogen loading from coastal watersheds to receiving estuaries: New method and application. *Ecological Applications*, 7, 358-380.
- Vannote R., Minshall G., Cummins K., Sedell J., Cushing C. (1980). The River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37, 130-137.
- Yam R.S.W., Dudgeon D. (2005). Stable isotope investigation of food use by *Caridina* spp. (Decapoda:Atyidae) in Hong Kong streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 68-81.
- Yoneyama T., Kaneko A. (1989). Variations in the Natural Abundance of  $^{15}\text{N}$  in Nitrogenous Fractions of Komatsuna Plants Supplied with Nitrate. *Plant and Cell Physiology*, 30, 957-962.
- Yoneyama T., Matsumaru T., Usui K., Engelaar W.M.H.G. (2001). Discrimination of nitrogen isotopes during absorption of ammonium and nitrate at different nitrogen concentrations by rice (*Oryza sativa* L.) plants. *Plant, Cell & Environment*, 24, 133-139.
- Young R.G., Hurryn A. (1999). Effects of Land Use on Stream Methabolism and Organic Matter Turnover. *Ecological Applications*, 9, 1359-1376.

**APÊNDICE A** - Exemplo das fotografias aéreas utilizadas para o cálculo da microbacia e dos diferentes usos do solo.



Região de Guapiaçu. Escala: 1:10.000. Fotografias foram cedidas pelo Plano de Manejo do Parque Estadual dos Três Picos (PETP) de projeção UTM, fuso 23 datum SAD 69 do ano de 2003 ou da AMPLA Distribuidora de energias SA de projeção UTM, fuso 23 datum SAD 69 do ano de 2000.

## Apêndice B – Fotos de alguns Sítios Amostrais



Legenda: A – Mariquitas (MR), B – Caneca Fina (CC), C – Manoel Alexandre (MO), D – Prefeito (PR), E – Tim (TI), F – Macumba (MC), G – Gato (GT) H – Duas Barras (DB).

Fotos: Timothy P. Moulton

Sigla dos pontos amostrais:

SQ – Sete Quedas

MO – Monte Olivete

DI – Dirlei

AL – Alex

CC – Caldo de Cana

CF – Caneca Fina

MC – Macumba

MA – Manoel Alexandre

CL – Cleonice

GT – Gato

PR – Prefeito

BM – Boca do Mato

JU – Jumento

TI – TIM

RE – Renata

PL – Placa

MR – Mariquitas

CO – Corujas

CE – Cemitério

KL – Klabin

PA – Paraíso

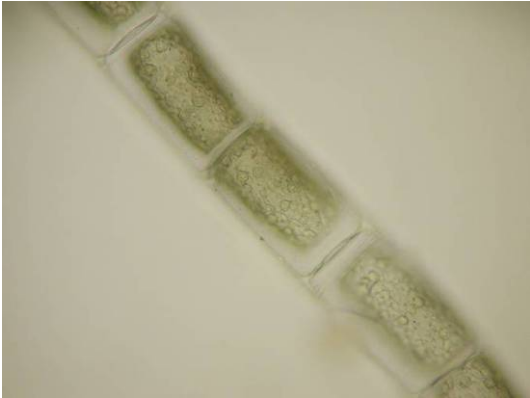
RI – Riviera

ES – Estreito

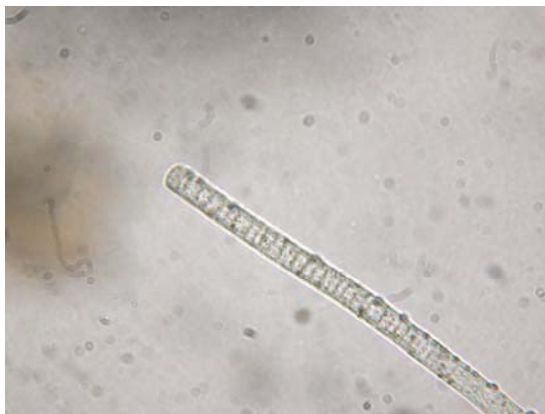
DB – Duas Barras

VE - Veterinária

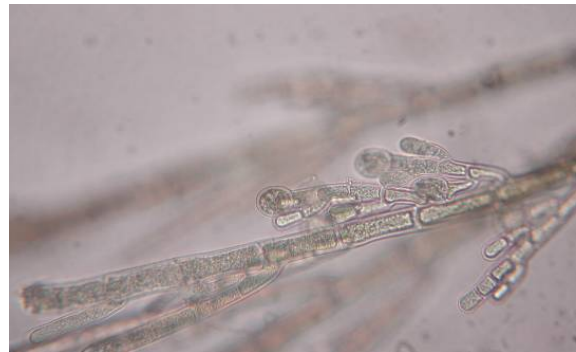
## Apêndice C – Fotos Microscopia Óptica



*Oedogonium* sp. Link ex Hirn 1900  
Objetiva: 40x (esquerda) e 100x (direita)



*Tyconema* sp. Anagnostidis & Komárek 1988  
Objetiva: 100x



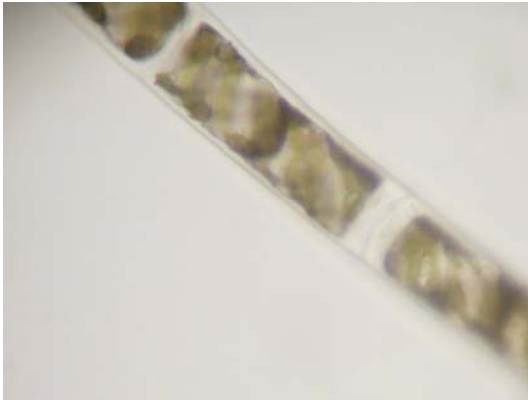
*Trentepohlia* sp. Martius 1817, nom. cons.  
Objetiva: 40x



*Oscillatoria* sp. Vaucher ex Gomont 1892  
Objetiva: 40x



*Phormidium* sp. Kützing ex Gomont 1982  
Objetiva: 100x



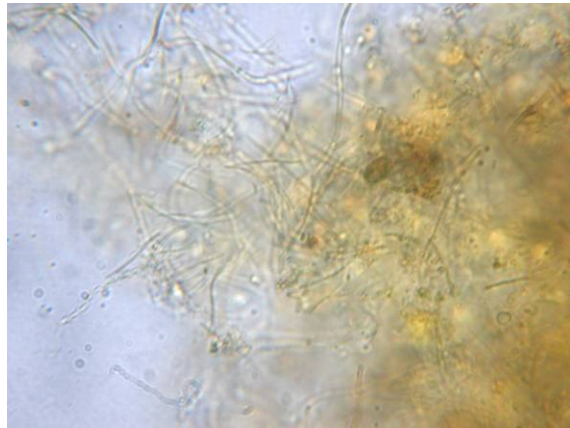
*Spirogyra* sp. Link 1820  
Objetiva: 40x



*Batrachospermum* sp. Roth 1797  
Objetiva: 10x



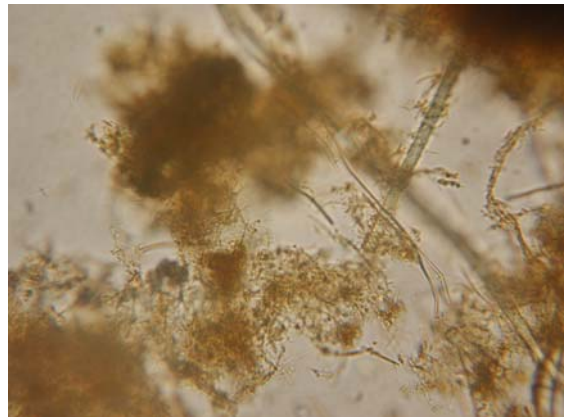
Perifiton: Material amorfo com Diatomáceas.  
Objetiva: 100x



Perifiton: Material Amorfo com micélios de fungos.  
Objetiva: 100x



Perifiton: Material Amorfo e Algas filamentosas  
Objetiva: 10x



Perifiton: Material Amorfo e algas filamentosas  
Objetiva: 40x