

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE  
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS**

**JANIELLY CARVALHO CAMARGO**

**Estrutura e dinâmica da comunidade de protozoários flagelados em riachos  
tropicais sob influência de atividades humanas**

**Maringá**

**2009**

**JANIELLY CARVALHO CAMARGO**

**Estrutura e dinâmica da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais sob influência de atividades humanas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Luiz Felipe Machado Velho

**Maringá**

**2009**

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

C172e Camargo, Janielly Carvalho, 1984-  
Estrutura e dinâmica da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais sob influência de atividades humanas / Janielly Carvalho Camargo. -- Maringá, 2009. 57 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)-- Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2009.  
Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho.

1. Protozoários flagelados - Ecologia de comunidades - Riachos tropicais. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 22. ed. -579.41782  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

## FOLHA DE APROVAÇÃO

JANIELLY CARVALHO CAMARGO

Estrutura e dinâmica da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais sob influência de atividades humanas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

### COMISSÃO JULGADORA

Profº Drº Luiz Felipe Machado Velho  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Profª Drª Cláudia Costa Bonecker  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Profº Drº Ludgero Cardoso Galli Vieira  
Universidade Federal de Goiás

Aprovada em 07 de abril de 2009.

Local de defesa: Anfiteatro do nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

*Dedico....*

*À minha amada família, mas em especial, ao meu saudoso avô Domingos Antônio de Carvalho, que sempre me ensinou a lutar pelos meus sonhos de forma justa, correta e determinada!!!*

# *Agradecimentos*

---

---

*À Universidade Estadual de Maringá.*

*Ao programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.*

*Ao Conselho Nacional de pesquisas (CNPq), pela concessão de bolsa e financiamento de projeto.*

*À banca examinadora, pelas críticas e sugestões.*

*Ao meu orientador, Luiz Felipe Machado Velho, pela amizade e principalmente, pelo apoio, incentivo, reconhecimento e confiança em meu trabalho. Obrigada “Fê”... Por você acreditar e investir em mim!!!*

*Ao Profº Drº Ângelo Antônio Agostinho, por aceitar a inclusão deste trabalho no Projeto: “Identificação de potenciais bioindicadores em ecossistemas aquáticos urbanos: resposta de três grupos de organismos a gradientes de estresse”, financiado pelo CNPq / CTHIDRO.*

*À toda equipe de coleta, pela ajuda no trabalho de campo.*

*À Janet Higuti, pelo apoio e carinho durante as coletas.*

*À Cláudia Costa Bonecker, pela inestimável amizade, pelo grande apoio nos momentos de dificuldade e também pelas suas contribuições em minha vida acadêmica.*

*Aos amigos de laboratório: Ana Paula, Bianca, Ciro, Dani, Danilo, Deise, Érica, Fernando, Geziele, Gustavo, Juliana, Leandro, Nadson, Paulão, Poliana, Priscila, Renata, Suzana e Vinícius, pelos momentos de descontração durante a execução desse trabalho e principalmente por me socorrerem com as inúmeras dúvidas, principalmente as taxonômicas, valeu!!! Obrigada de coração!!!*

*Ao “Nando” por me ajudar tão prestativamente com as contagens até altas horas!!!*

*Ao Ciro, Geziele e Nadson, por me ensinarem a arte da identificação de zooplâncton!!!*

*À Erica, por ouvir e sanar minhas inúmeras dúvidas e também pela grande amizade dedicada nos últimos meses!!!*

*À todos os meus amigos de curso, mas em especial, Marília, Alessandra, André, Cristina, Cibele e Pablo, pelos grandes e bons momentos de descontração e companheirismo.*

*Aos amigos Naiara e Danicler, por me acolherem na etapa final dessa caminhada.*

*À minhas queridas amigas “Mari” e “Tati”, pela amizade sincera, que me ajudou a superar os momentos de desânimo e a vencer todos os obstáculos...*

*À Ibraim, meu companheiro de longa data e o grande responsável pelo meu ingresso no mestrado, muito obrigada por se preocupar comigo, me apoiar e me incentivar incondicionalmente nos últimos 6 anos!!! Muito obrigada de coração!!! Você sempre será importante na minha vida...*

*À minha amada família, Elisete, Ismael, Jean Carlos, Casio, Rosa, Aparecida, Odeth e Gleicy... Muito obrigada pelo amor incondicional que me possibilitou superar todos os obstáculos e transformar esse sonho em realidade!!!*

*Aos meus pais, que são os alicerces da minha vida... Obrigada por me ensinarem tudo o que sei e por me transformarem em tudo o que sou...*

*À Deus, pelas infinitas bênçãos e principalmente pelas lições de vida que tenho recebido Dele...*

*"O homem é do tamanho do seu sonho."  
(Fernando Pessoa)*

Fatores reguladores da distribuição espacial e temporal da densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados de riachos tropicais sob influência de atividades humanas

## RESUMO

Embora os protozoários flagelados sejam importantes componentes das cadeias microbianas aquáticas, existem poucos estudos sobre eles em ambientes lóticos. Portanto, o presente estudo teve como objetivos investigar a variação espacial e temporal dos atributos (densidade, biomassa e tamanho) desta comunidade em riachos tropicais, inferir a respeito do efeito das atividades agrícolas e urbanas sobre esses atributos e ainda verificar quais os fatores (abióticos e bióticos) podem prever a variação espacial e temporal dessa comunidade. As coletas foram realizadas em 10 riachos (5 urbanos e 5 rurais), durante os períodos de inverno (julho/2007) e verão (fevereiro/2008). Os valores de densidade, biomassa e tamanho registrados no presente estudo ( $2,3 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup>; 281,3 µgC.L<sup>-1</sup>; 9 µm) foram superiores aos comumente encontrados em outros ambientes lóticos. As análises de variância demonstraram que os padrões temporais são mais evidentes do que os espaciais. Quanto à influência das atividades antrópicas, somente a fração autotrófica foi influenciada significativamente pelas atividades agrícolas. Em geral, os modelos de regressão múltipla demonstraram que a densidade de ciliados é o principal fator regulador dos padrões de distribuição espacial e temporal dos nanoflagelados, embora algumas variáveis abióticas também tenham atuado secundariamente na estruturação dessa comunidade. Contudo, não foram verificadas relações negativas que indicassem o efeito direto da predação, provavelmente, porque o aumento da disponibilidade de recursos pode ter mantido a taxa de crescimento dos nanoflagelados superior à taxa de predação. Assim sugere-se que o mecanismo “bottom-up” tenha sido mais importante do que o mecanismo “top-down” para a estruturação dessa comunidade nesses ambientes.

**Palavras-chave:** Protozoários. Estrutura de comunidade. “Top-down”. “Bottom-up”.  
Ambientes lóticos.



Factors regulating the spatial and temporal distribution of density, biomass and body size of nanoflagellates from tropical streams under anthropogenic influence

### ***ABSTRACT***

Although the flagellate protozoans are important components of aquatic microbial food chains, there are few studies about them in lotic environments. Nevertheless, this study aimed to investigate the spatial and temporal variations of the attributes (density, biomass and body size) of this community in tropical streams, infer about the effect of agricultural and urban activities on these attributes and verify which factors (abiotic and biotic) may predict the spatial and temporal variations of this community. Samplings were undertaken in 10 streams (5 urban and 5 rural), during the winter (July, 2007) and summer (February, 2008). The values of density, biomass and body size recorded in this study ( $2.3 \times 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup>; 281.3 µgC.L<sup>-1</sup>; 9 µm, respectively) were superior to those commonly found in other lotic environments. The analyses of variance pointed out that the temporal patterns are more evident than the spatial ones. Considering the anthropogenic influence, only the autotrophic fraction was significantly influenced by the agricultural activities. In general, the multiple regression models highlighted that the ciliate density is the main factor regulating the patterns of spatial and temporal distribution of nanoflagellates, although some abiotic variables also had secondary influence on the structure of this community. Meanwhile, negative relationships were not verified, that could indicate the direct effect of predation, probably because the increase in the resources availability may have maintained the growth rate of nanoflagellate higher than the predation rate. Therefore, we suggest that the bottom-up control mechanism is more important than the top-down for the structure of this community in these environments.

***Keywords:*** Protozoans. Community structure. Top-down; Bottom-up. Lotic environments.

Dissertação elaborada conforme as normas da publicação científica *International Review of Hydrobiology*. Disponível em: [http://www3.interscience.wiley.com/homepages/60500251/246\\_guidelines.pdf](http://www3.interscience.wiley.com/homepages/60500251/246_guidelines.pdf)

## SUMÁRIO

---

**Capítulo 1:** *Fatores reguladores da distribuição espacial e temporal da densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados de riachos tropicais sob influência de atividades humanas.*

1.0 INTRODUÇÃO.....	13
2.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1 Área de estudo.....	15
2.2 Amostragens e procedimentos laboratoriais.....	16
2.3 Análise dos dados.....	17
3.0 RESULTADOS.....	18
3.1 Variáveis ambientais.....	18
3.2 Densidade.....	20
3.3 Biomassa.....	21
3.4 Tamanho médio.....	22
3.5 Influência das variáveis bióticas e abióticas sobre a comunidade de flagelados.....	23
4.0 DISCUSSÃO.....	25
4.1 Padrões de densidade, biomassa e estrutura de tamanho da comunidade.....	25
4.2 Influência dos fatores abióticos e bióticos sobre os padrões de distribuição.....	27
5.0 REFERÊNCIAS.....	29

**Capítulo 2:** *Variação longitudinal dos atributos da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais.*

1.0 INTRODUÇÃO.....	37
2.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1 Área de estudo.....	38
2.2 Amostragens e procedimentos laboratoriais.....	39
2.3 Análise dos dados.....	41
3.0 RESULTADOS.....	42
3.1 Variáveis ambientais.....	42
3.2 Composição de espécies.....	43

3.3 Riqueza de espécies.....	47
3.4 Densidade.....	48
3.5 Biomassa.....	49
3.6 Influência das variáveis abióticas sobre os padrões de distribuição dos flagelados.....	49
4.0 DISCUSSÃO.....	50
5.0 REFERÊNCIAS.....	53

## Capítulo 1

---

---

*“Fatores reguladores da distribuição espacial e temporal da densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados de riachos tropicais sob influência de atividades humanas.”*

## 1.0 - INTRODUÇÃO

---

A visão clássica da cadeia alimentar pelágica (fitoplâncton - zooplâncton) foi aos poucos ampliada pela visão proposta por AZAM *et al.* (1983), que defende a existência de um conjunto de rotas tróficas alternativas sustentadas pela presença de bactérias e protozoários nas cadeias alimentares. Segundo AUER *et al.* (2004) essa mudança foi desencadeada por uma série de estudos que demonstraram a importância das bactérias e dos protozoários na remineralização dos nutrientes e na transferência de energia para os níveis tróficos superiores.

Entretanto, apesar da importância da cadeia microbiana já ter sido reconhecida e consolidada, existem poucos estudos a respeito dos protozoários flagelados em ambientes lóticos (BALDOCK *et al.*, 1983; BALDOCK e SLEIGH, 1988; CARLOUGH e MEYER, 1989; ARNDT e MATHES, 1991; BARCINA *et al.*, 1991; BASU e PICK, 1997; LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2002; WEITERE *et al.*, 2003; WEITERE e ARNDT, 2003; GUCKER e FISCHER, 2003; WALKS e CYR, 2004; PICARD e LAIR, 2005; RIBBLETT *et al.*, 2005; WEITERE *et al.*, 2005; JOAQUIM-JUSTO *et al.*, 2006), visto que, a maioria dos estudos foi realizada em ambientes lênticos de região temperada.

Logo, pouco se sabe a respeito do papel desses organismos nas cadeias alimentares de ambientes lóticos (JOAQUIM-JUSTO *et al.*, 2006), especialmente em regiões tropicais. Existem evidências que nesses ambientes, os protozoários flagelados podem controlar grande parte da produção bacteriana (IRRIBERI *et al.*, 1993; BASU e PICK, 1997; SERVAIS *et al.*, 2000; VÖRÖS *et al.*, 2000), que é fortemente influenciada pela contribuição de matéria orgânica alóctone (FINDLAY *et al.*, 1991; EDWARDS e MEYER, 1986) e serem, por outro lado, controlados pelos predadores zooplânctônicos e pelos predadores bentônicos (CARLOUGH e MEYER, 1989; BASU e PICK, 1997; WEITERE e ARNDT, 2002; JOAQUIM-JUSTO *et al.*, 2006).

Do mesmo modo, os padrões de distribuição dessa comunidade nesses ambientes também são escassamente conhecidos (CARLOUGH e MEYER, 1989; LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2002; WEITERE e ARNDT, 2003) e, até o momento, pode-se dizer que não existem padrões gerais e coerentes identificados. Temporalmente, alguns estudos registraram maiores abundâncias (densidade e biomassa) nos meses frios (WEITERE e ARNDT, 2003; WEITERE e ARNDT, 2002), enquanto outros em meses quentes (CARLOUGH e MEYER, 1989; LAIR *et al.*, 1999). Espacialmente, não foi detectado nenhum padrão geral, embora alguns estudos tenham evidenciado maiores abundâncias nas regiões mais próximas à foz (LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2002).

Além disso, pouco se sabe sobre a influência das variáveis abióticas sobre esses padrões de distribuição, porém alguns estudos apontam que a velocidade de corrente, a temperatura, a disponibilidade de carbono e de nutrientes são os principais fatores abióticos responsáveis pela estruturação dessa comunidade (CARLOUGH e MEYER, 1989; BASU e PICK, 1997; WEITERE e ARNDT, 2002; GUCKER e FISCHER, 2003).

Igualmente, o efeito das atividades humanas sobre a estrutura da comunidade de protozoários flagelados de ambientes lóticos parece não ter sido ainda investigado em pesquisas anteriores. Dentre essas atividades, destacam-se as práticas agrícolas e o processo de urbanização, que são responsáveis pela perda da qualidade da água desses ecossistemas (LEONARD *et al.*, 1999; DANIEL *et al.*, 2002; JASON *et al.*, 2001; HENDRY *et al.*, 2003; ROY *et al.*, 2003; OMETTO *et al.*, 2005; LESTER e BOULTON, 2008). Juntas, essas atividades podem promover o enriquecimento dos ambientes, principalmente, devido o uso de fertilizantes agrícolas e despejo clandestino de esgoto doméstico (LEONARD *et al.*, 1999; DANIEL *et al.*, 2002; JASON *et al.*, 2001; HENDRY *et al.*, 2003; ROY *et al.*, 2003; OMETTO *et al.*, 2005; LESTER e BOULTON, 2008).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo principal (i) investigar a variação espacial e temporal dos padrões de densidade, biomassa e tamanho médio de nanoflagelados em 10 riachos tropicais (sendo 5 urbanos e 5 rurais), durante os períodos de verão e de inverno e ainda (ii) avaliar o efeito das atividades agrícolas e urbanas sobre esses atributos; (iii) verificar os fatores abióticos e bióticos que podem influenciar a variação destes atributos, em escalas espacial e temporal.

Assim, o presente estudo foi fundamentado para testar as seguintes hipóteses: (i) O aporte extra de matéria orgânica lançado nos riachos urbanos incrementa a densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados heterotróficos, enquanto que, os nutrientes inorgânicos provenientes de lavouras próximas aos riachos rurais incrementam a densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados autotróficos desses ambientes; (ii) O efeito do enriquecimento dos ambientes (por matéria orgânica e por nutrientes inorgânicos) é o principal fator regulador das variações espaciais dos atributos da comunidade de nanoflagelados, enquanto, que as interações bióticas são os principais fatores desencadeadores das alterações temporais dessa comunidade.

## 2.0 - MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 - Área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Pirapó ( $22^{\circ}30'S$  e  $23^{\circ}30'S$ ;  $51^{\circ}15'W$  e  $52^{\circ}15'W$ ), está situada na região fisiográfica do Terceiro Planalto Paranaense, Estado do Paraná, Brasil (PERUÇO, 2004). Esta bacia possui uma área de drenagem de aproximadamente  $5.076 \text{ Km}^2$  e está sob forte influência do município de Maringá (PERUÇO, 2004), que é relativamente industrializado e urbanizado, sendo considerado o centro urbano mais importante da região. Os riachos estudados são de primeira ordem (STRAHLER, 1957) e estão localizados nas proximidades do município de Maringá (Fig. 1), que por ser um divisor de águas, abriga vários pequenos cursos de água que recebem influência direta de impactos antrópicos (CUNICO, 2005).

Os riachos foram categorizados em rurais (Água Queçaba, Água da Roseira, Córrego do Remo, Romeira e Zaúna) e urbanos (Água do Pirapó, Guaiapó, Mandacarú, Miosótis e Nazaré) com base na sua localização na área de estudo (Fig. 1). Em geral, alguns trechos desses riachos estão bastante modificados, destacando-se a grande presença de estruturas artificiais (como materiais de construção, latas, garrafas plásticas, pneus, etc.) dentro de seus leitos, alterações na vegetação ripária, assoreamento, entre outras alterações.

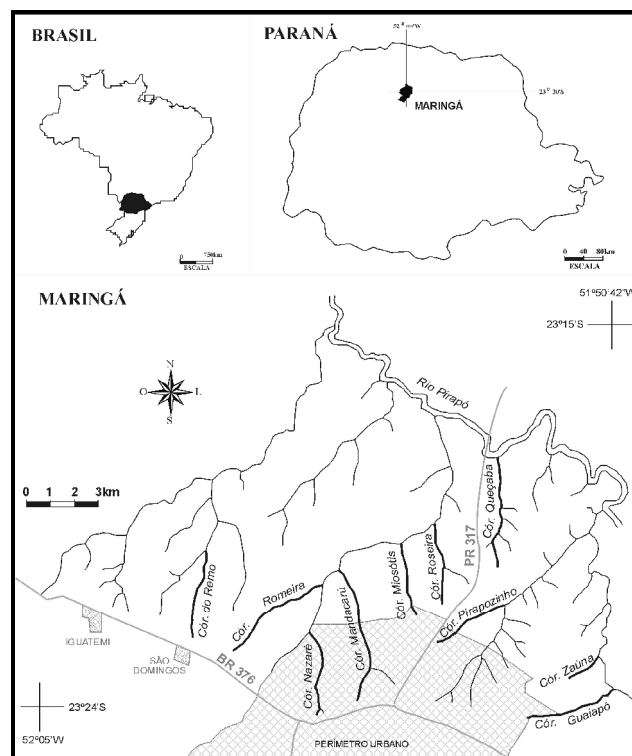


Figura 1: Mapa de localização da área de estudo.



## 2.2 - Amostragens e procedimentos laboratoriais

As coletas foram realizadas em dois períodos do ano, sendo uma no período de inverno (julho de 2007) e outra no período de verão (fevereiro de 2008). As amostragens foram realizadas na sub-superfície, em tréplicas, em três regiões (nascente, curso médio e foz) de cada riacho, totalizando 720 amostras.

As variáveis condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH, profundidade, temperatura da água e velocidade de corrente foram mensuradas ainda em campo, com o auxílio de aparelhos portáteis. Enquanto que as concentrações de nitrato e fosfato foram determinadas em laboratório (Laboratório de Saneamento e Laboratório de Agroquímica e Meio Ambiente da Universidade Estadual de Maringá), através dos métodos propostos por ZAGATTO *et al.* (1981) e GOLTERMAN *et al.* (1978), respectivamente.

As amostras de nanoflagelados (100 mL), bactérias (100 mL) e ciliados (2 L) foram coletadas através da passagem de frasco de polietileno na sub-superfície da coluna d'água dos riachos. Já os organismos zooplânctônicos (cladóceros, copépodos, rotíferos e tecamebas) foram coletados com o auxílio de um balde graduado e rede de plâncton de abertura de malha de 68  $\mu\text{m}$ , sendo filtrados 200 L por amostra.

As amostras de nanoflagelados e bactérias foram fixadas com uma solução composta de formaldeído, lugol alcalino e tiosulfato (SHERR e SHERR, 1993), o zooplâncton foi preservado em formol 4%, tamponado com carbonato de cálcio e os ciliados foram analisados vivos, para evitar deformações celulares decorrentes do processo de fixação.

Para a determinação da densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados foram montadas lâminas semipermanentes através de filtragem de sub-amostras (25 mL) em filtro preto Nucleopore/Watchman (0,8  $\mu\text{m}$ ), previamente corado com DAPI (fluorocromo 4,6' - diamidino-2-fenil-inole, a 0,1%). Após esse procedimento, as lâminas foram armazenadas em refrigerador por 24 horas e, posteriormente, analisadas em microscópio de epifluorescência. As contagens foram realizadas no aumento de 400x, onde foram estimados 25 campos ou 300 células (> 7 e <30  $\mu\text{m}$ ) e posteriormente no aumento de 1000x, onde foram estimados 100 campos ou 300 células (< 7 $\mu\text{m}$ ).

Concomitantemente às contagens, os indivíduos foram medidos com auxílio de oculares micrométricas, com o intuito de determinar o volume celular, através das medidas das dimensões celulares e das formas geométricas aproximadas (WETZEL e LIKENS, 1991). O conteúdo de carbono foi determinado de acordo com o fator de conversão proposto por FENCHEL (1982), onde  $1 \mu\text{m}^3 = 167 \text{ fg C}$ . A diferenciação entre os nanoflagelados

autotróficos e os heterotróficos foi realizada sob luz ultravioleta (U.V.), sendo que os heterotróficos são visualizados com cor esverdeada e os autotróficos com cor avermelhada ou alaranjada.

Para determinação da densidade do bacterioplâncton foi utilizado o mesmo protocolo de filtração e montagem de lâmina descrito para os nanoflagelados, exceto, o volume filtrado por sub-amostras (0,1ml) e a abertura de poro do filtro preto Nucleopore/Watchman (0,2  $\mu\text{m}$ ) que se diferiram. Foram contados 15 campos ou 300 células por amostra e a densidade final foi expressa em céls.mL<sup>-1</sup>.

Antes das contagens, as amostras de ciliados foram concentradas em um volume conhecido (100 mL), com o auxílio de uma malha de plâncton com abertura de poro de 10  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, os indivíduos foram contados em microscópio óptico comum, através de alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  dispostas sobre lâminas. O volume total analisado por amostra foi de 1mL e a densidade final foi expressa em céls.mL<sup>-1</sup>.

A estimativa da densidade do zooplâncton foi baseada na metodologia de BOTTRELL *et al.* (1976), sendo os organismos zooplânctônicos (cladóceros, copépodes, rotíferos e tecamebas) contados sob microscópio óptico comum, utilizando-se câmaras de Sedgwick-Rafter, a partir de 4 subamostras de 2,5 mL, sendo contados aproximadamente 50 indivíduos por amostra. No entanto, como, em geral, as amostras apresentaram reduzido número de indivíduos, as mesmas foram contadas na íntegra. A densidade final do zooplâncton foi expressa em ind.m<sup>-3</sup>.

### 2.3 - Análise dos dados

Antes da realização das análises, todos os dados (exceto o pH) foram transformados ( $\log.x+1$ ) com objetivo de equalizar a variância, todos os pressupostos foram checados e atendidos, e os resultados de todas as análises foram testados para o nível de significância de  $p<0,05$ .

As variáveis abióticas (condutividade elétrica, fosfato, nitrato, oxigênio dissolvido, pH, profundidade, temperatura da água e velocidade de corrente) foram sumarizadas pela Análise de Componentes Principais (PCA) com o objetivo de caracterizar os riachos, detectar um possível gradiente ambiental importante para a estrutura da comunidade de nanoflagelados e ainda retirar possíveis efeitos de multicolinearidade (entre as variáveis abióticas, que em geral, são altamente correlacionadas), que provocam erros na análise de regressão múltipla. Os eixos foram retidos para interpretação segundo o critério de Kaiser Guttman (Autovalores

>1,0; JACKSON, 1993). Essa análise foi executada com o auxílio do pacote estatístico Past (HAMMER *et al.*, 2001).

Com a finalidade de verificar a existência de diferenças significativas na densidade, biomassa e tamanho total dos nanoflagelados entre os tipos de riachos (urbanos e rurais) e entre os períodos de coleta (verão e inverno) foi empregada uma análise de variância bifatorial, que foi realizada com o auxílio do pacote Statistica 7.0 (STATSOFT INC., 1996). Também foram empregadas análises de variância bifatoriais para os atributos (densidade, biomassa e tamanho) das frações auto e heterotróficas, com o intuito de verificar isoladamente diferenças entre os tipos de riachos e os períodos para essas parcelas da comunidade.

A influência das variáveis abióticas e bióticas sobre os atributos dos nanoflagelados foi verificada através de análises de regressão múltipla, que foram executadas do pacote Statistica 7.0 (STATSOFT INC., 1996). Nestas análises, foram utilizadas a densidade do bacterioplâncton, a densidade de ciliados, a densidade do zooplâncton e os escores dos eixos 1 e 2 da PCA como variáveis explanatórias e a densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados como variáveis respostas. Foram utilizados apenas os escores dos eixos 1 e 2 da PCA, pois somente estes demonstraram uma separação mais evidente entre os períodos e os locais, além de serem os que mais explicaram a variabilidade dos dados. As regressões foram realizadas separadamente para os tipos de riachos e para os períodos, buscando identificar os fatores capazes de prever a distribuição espacial e temporal dos diferentes atributos da comunidade de nanoflagelados.

### **3.0 - RESULTADOS**

---

#### **3.1 - Variáveis ambientais**

Em geral, os riachos estudados são rasos, correntosos, apresentam águas com pH levemente ácido, com concentrações de oxigênio dissolvido relativamente baixas, elevados valores de condutividade elétrica e também elevadas concentrações de nutrientes, especialmente de nitrato (Tabela 1).

Tabela 1: Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físicos, químicos e biológicos dos riachos urbanos e rurais, estudados durante os períodos de verão e inverno.

Parâmetros	Rurais				Urbanos			
	Inverno		Verão		Inverno		Verão	
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ )	124,42	35,65	123,77	30,59	189,36	61,17	208,03	67,26
Fosfato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,06	0,03	0,07	0,08	0,09	0,06	0,13	0,12
Nitrato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	1,25	0,54	1,10	0,58	5,69	2,41	5,41	2,36
Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	7,53	0,73	8,32	0,96	6,96	0,44	7,77	0,89
pH	6,87	0,18	6,96	0,20	6,91	0,30	6,92	0,29
Profundidade (m)	0,18	0,05	0,18	0,07	0,19	0,07	0,22	0,10
Temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ )	17,56	1,31	21,51	0,61	19,69	1,07	22,16	1,27
Velocidade de corrente ( $\text{m.S}^{-1}$ )	0,25	0,09	0,27	0,10	0,19	0,09	0,20	0,06

As variáveis abióticas foram sumarizadas através da análise de componentes principais e os quatro primeiros eixos retidos para interpretação foram responsáveis por 70% da variabilidade dos dados (Tabela 2; Figs. 2a-b). No entanto, a maior parte da variabilidade dos dados (41,5%) foi explicada pelos eixos 1 e 2, que evidenciaram claramente a separação dos ambientes (Fig. 2a; Tabela 2). O eixo 1 foi negativamente influenciado pela condutividade elétrica, temperatura da água e profundidade e positivamente influenciado pela velocidade de corrente e oxigênio dissolvido (Fig. 2a, Tabela 2). Por sua vez, o eixo 2 foi influenciado negativamente pela concentração de fosfato, concentração de oxigênio dissolvido e pH (Fig. 2a; Tabela 2). Em geral, o eixo 1 discriminou a variação espacial das variáveis abióticas e o eixo 2 discriminou a variação temporal. As variáveis que mais influenciaram a formação dos demais eixos retidos para a interpretação estão listadas na tabela 2.

Tabela 2: Correlação de Pearson entre as variáveis que mais contribuíram para a formação dos eixos, autovalores e percentagem de explicação da análise de componentes principais (PCA), aplicada às variáveis limnológicas dos riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno.

Variáveis abióticas	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ )	-0,62	-0,10	0,31	-0,36
Fosfato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	-0,45	-0,77	-0,07	-0,16
pH	-0,29	-0,43	-0,68	0,07
Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,42	-0,76	0,09	0,34
Nitrato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,33	-0,17	-0,08	-0,71
Temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ )	-0,53	0,37	-0,59	-0,0008
Profundidade (m)	-0,49	-0,001	0,22	0,54
Velocidade de corrente ( $\text{m.S}^{-1}$ )	0,56	0,07	-0,45	0,15
<b>Explicação %</b>	22,4	19,2	14,8	13,7
<b>Autovalores</b>	1,79	1,53	1,18	1,09

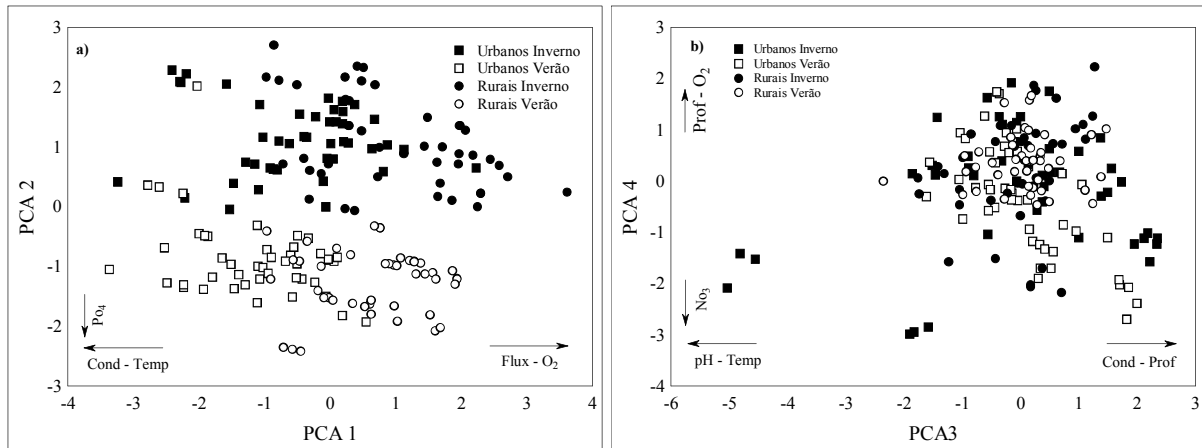


Figura 2: a) Distribuição dos escores ao longo dos eixos 1 e 2 da PCA; b) Distribuição dos escores ao longo dos eixos 3 e 4 da PCA realizada com as variáveis limnológicas dos riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno. Onde: Cond=Condutividade elétrica; Flux=Velocidade de corrente;  $\text{NO}_3$ =Nitrato;  $\text{O}_2$ =Oxigênio dissolvido;  $\text{Po}_4$ =Fosfato; Prof=Profundidade e Temp=Temperatura da água.

### 3.2 - Densidade

A densidade total dos nanoflagelados variou entre  $1,6 \cdot 10^3$  cels.mL<sup>-1</sup> e  $2,4 \cdot 10^5$  cels.mL<sup>-1</sup>, sendo observados valores entre  $3,7 \cdot 10^3$  e  $6,4 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup> nos riachos urbanos e valores entre  $1,3 \cdot 10^3$  cels.mL<sup>-1</sup> e  $2,4 \cdot 10^5$  nos riachos rurais. Quanto aos períodos, a densidade total oscilou entre  $2,0 \cdot 10^3$  cels.mL<sup>-1</sup> e  $2,4 \cdot 10^5$  cels.mL<sup>-1</sup> no inverno e  $1,6$  e  $7,5 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup> no verão. Em geral, as maiores densidades totais ocorreram durante o período de inverno em ambos os tipos de riachos (Fig. 3a) e esse resultado foi confirmado pela análise de variância que mostrou diferenças significativas apenas entre os períodos ( $g.l=1$ ;  $F=4,56$ ;  $p=0,03$ ).

Quanto a densidade dos nanoflagelados autotróficos, os valores oscilaram entre  $2,9$  e  $1,5 \cdot 10^5$  cels.mL<sup>-1</sup>, com as maiores densidades ocorrendo nos ambientes com influência rural, sobretudo, durante o período de inverno (Fig. 3b). Essa padrão foi corroborado pela análise de variância, que demonstrou diferenças significativas entre os tipos de riachos ( $g.l=1$ ;  $F=10,19$ ;  $p=0,001$ ) e entre os períodos de coleta ( $g.l=1$ ;  $F=10,29$ ;  $p=0,001$ ).

Já a densidade dos nanoflagelados heterotróficos variou entre  $9,8 \cdot 10^2$  e  $1,4 \cdot 10^5$  cels.mL<sup>-1</sup> e embora os nanoflagelados heterotróficos tenham apresentado maiores densidades nos riachos urbanos durante o inverno (Fig. 3b), a análise de variância não detectou diferenças significativas nem entre os tipos de riachos ( $g.l=1$ ;  $F=0,52$ ;  $p=0,468$ ) e nem entre os períodos analisados ( $g.l=1$ ;  $F=1,87$ ;  $p=0,173$ ).

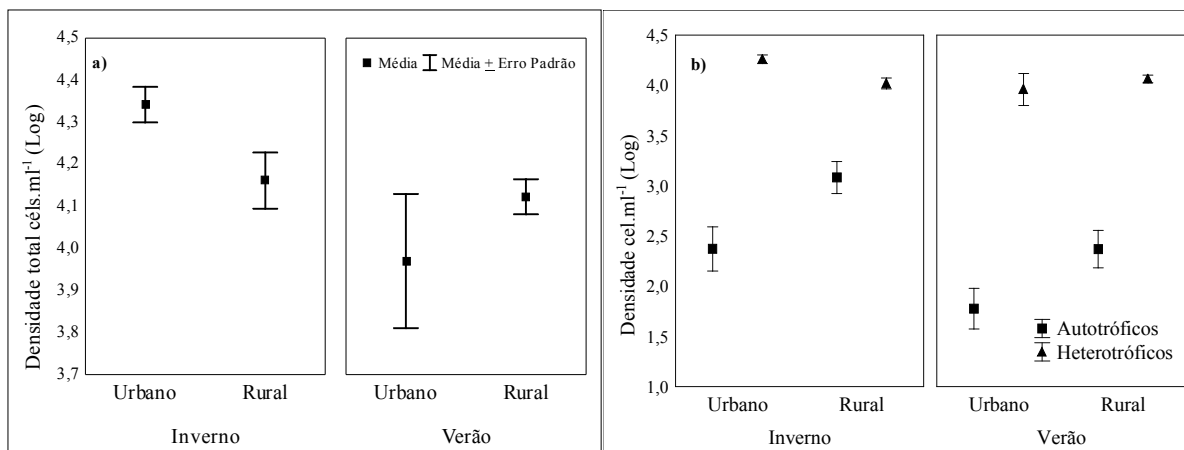


Figura 3: a) Densidade total e b) Densidade dos nanoflagelados autotróficos e heterotróficos, em riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno (média e erro padrão).

### 3.3 - Biomassa

Os valores de biomassa total registrados variaram entre  $0,25 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $583 \mu\text{gC.L}^{-1}$ , sendo observados valores entre  $0,25 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $443 \mu\text{gC.L}^{-1}$  nos riachos urbanos e  $0,54 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $583 \mu\text{gC.L}^{-1}$  nos riachos rurais. Quanto aos períodos, os valores de biomassa total oscilaram entre  $4,3 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $570 \mu\text{gC.L}^{-1}$  no período de inverno e  $0,25 \mu\text{gC.L}^{-1}$  a  $583 \mu\text{gC.L}^{-1}$  no período de verão. Assim como a densidade, a biomassa total da comunidade foi maior no período de inverno, independente do tipo de riacho (Fig. 4a), e essa diferença foi corroborada pela análise de variância, que mostrou diferenças significativas somente entre os períodos de coleta ( $g.l.=1$ ;  $F=11,82$ ;  $p<0,000001$ ).

Em relação à biomassa dos nanoflagelados autotróficos, os valores variaram entre  $0,022 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $398 \mu\text{gC.L}^{-1}$ , sendo que as maiores biomassa ocorreram nos riachos rurais durante o período de inverno (Fig. 4b). Esse padrão foi confirmado pela análise de variância, que apontou que as diferenças na biomassa dos autotróficos dependeram das interações entre o tipo de riacho e os períodos de coleta ( $g.l.=1$ ;  $F=4,42$ ;  $p=0,036$ ).

Já os valores de biomassa dos nanoflagelados heterotróficos oscilaram entre  $0,046 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $418 \mu\text{gC.L}^{-1}$ . Em contraste aos autotróficos, os maiores valores de biomassa dos nanoflagelados heterotrófico foram registrados nos riachos urbanos durante o período de inverno (Fig. 4b), porém, a análise de variância evidenciou diferenças significativas apenas entre os períodos de coleta ( $g.l.=1$ ;  $F=9,93$ ;  $p=0,001$ ).

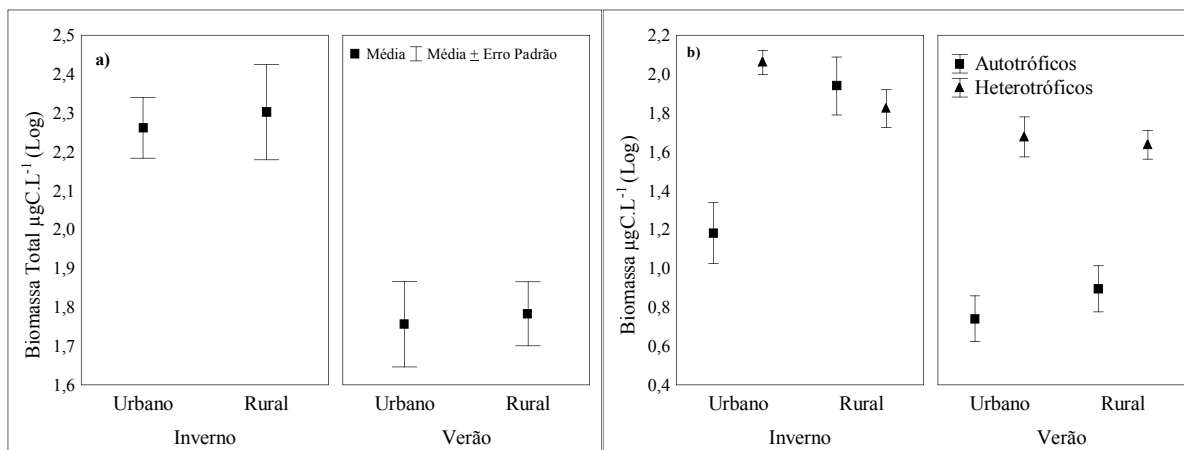


Figura4: a) Biomassa total e b) Biomassa dos nanoflagelados autotróficos e heterotróficos, em riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno (média e erro padrão).

### 3.4 - Tamanho médio

O tamanho da comunidade de nanoflagelados apresentou grande variação de medidas (Fig. 5a), com valores entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 26,0  $\mu\text{m}$ , porém, a maioria dos indivíduos apresentou medidas entre 5 e 10  $\mu\text{m}$ . No período de inverno, os valores variaram entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 26,0  $\mu\text{m}$  e no período de verão entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 19,0  $\mu\text{m}$ . Com relação aos tipos de riachos, o tamanho do corpo dos indivíduos oscilou entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 26,0  $\mu\text{m}$  nos riachos rurais e 1,5  $\mu\text{m}$  e 20,0  $\mu\text{m}$  nos urbanos.

Em geral o tamanho do corpo dos indivíduos foi maior no período de inverno (Figura 6a), sobretudo nos riachos rurais, conforme foi detectado pela análise de variância, que encontrou diferenças significativas entre os tipos de riachos (g.l.=1;  $F=5,73$ ;  $p=0,017$ ) e entre os períodos de coleta (g.l.=1;  $F=41,67$ ;  $p<0,001$ ).

O tamanho dos nanoflagelados autotróficos variou entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 26  $\mu\text{m}$ , porém, 47% da fração autotrófica era composta de indivíduos medindo entre 5 e 15  $\mu\text{m}$  (Fig. 5b). Quanto à variação espacial e temporal do tamanho dos autotróficos, os maiores valores ocorreram nos riachos rurais durante o período de inverno (Fig. 6b). Esse padrão foi evidenciado pela análise de variância que demonstrou diferenças significativas entre os tipos de riachos (g.l.=1;  $F=16,76$ ;  $p<0,001$ ) e entre os períodos de coleta (g.l.=1;  $F=15,27$ ;  $p<0,001$ ).

Já o tamanho dos nanoflagelados heterotróficos variou entre 1,5  $\mu\text{m}$  e 17  $\mu\text{m}$ , sendo que, 87% da fração heterotrófica esteve composta de indivíduos medindo entre 5 e 15  $\mu\text{m}$  (Fig. 5b). Em relação à variação espacial e temporal do tamanho dos heterotróficos, os maiores valores foram registrados nos riachos urbanos durante o período de inverno (Fig. 6b),

contudo, a análise de variância detectou diferenças significativas apenas entre os períodos de coleta ( $g.l.=1$ ;  $F=13,58$ ;  $p<0,001$ ).

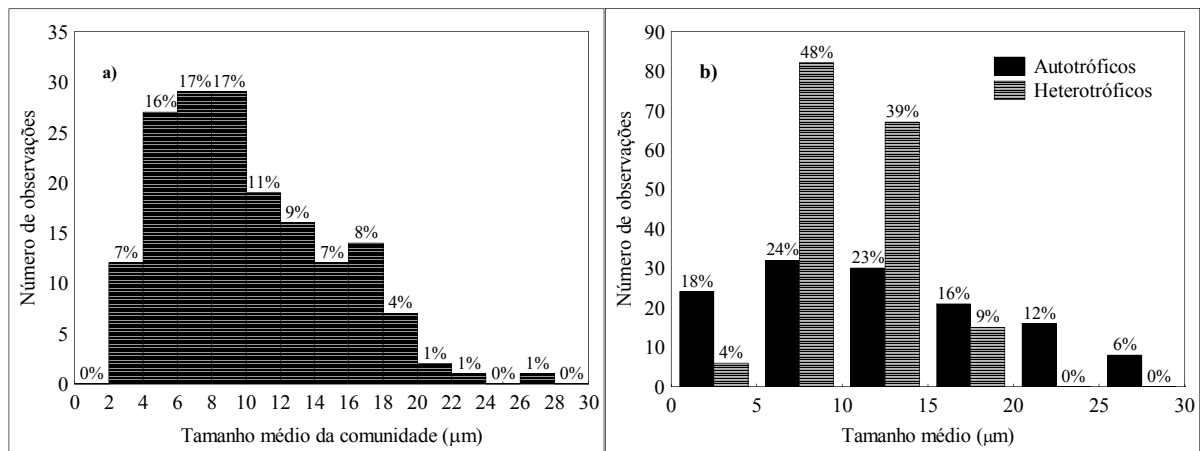


Figura 5: a) Variação das classes de tamanho da comunidade; b) Variação das classes de tamanho das frações autotróficas e heterotróficas.

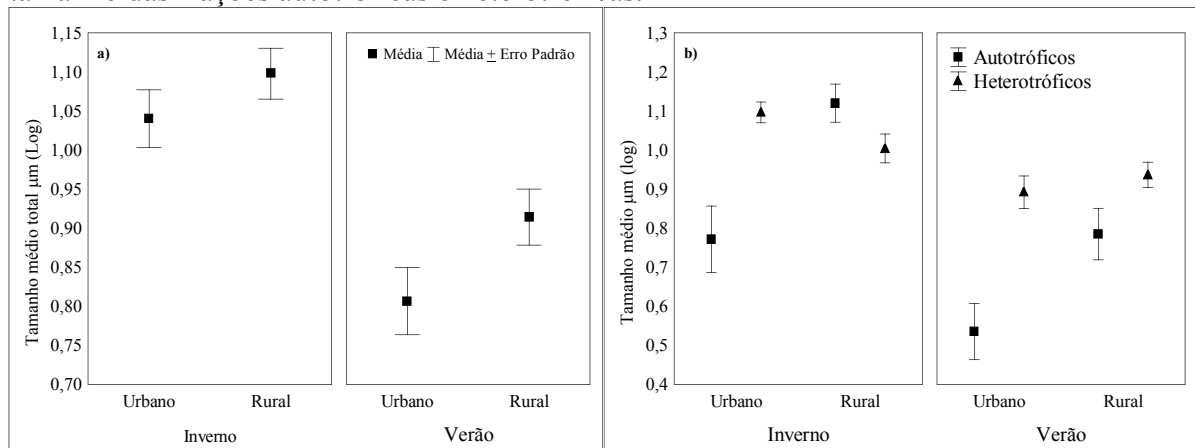


Figura 6: a) Tamanho total da comunidade e b) Tamanho dos nanoflagelados autotróficos e heterotróficos, em riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno (média e erro padrão).

### 3.5 - Influência das variáveis bióticas e abióticas sobre a comunidade de flagelados

Todos os modelos obtidos a partir da regressão múltipla estão sumarizados na tabela 3. Os resultados da análise de regressão múltipla demonstraram que nos riachos rurais a densidade dos nanoflagelados esteve significativamente relacionada com a densidade de bactérias, ciliados e zooplâncton (Tabela 3). Já nos riachos urbanos a densidade foi positivamente influenciada pela densidade de ciliados e negativamente influenciada pelas variáveis abióticas sumarizadas pelo eixo 1 da PCA, que discriminou, principalmente, as amostras com altos valores de condutividade elétrica registrados nesses ambientes (Tabela 3). Com relação aos períodos, a regressão múltipla revelou que a densidade dos nanoflagelados



no inverno esteve significativamente relacionada com a densidade de ciliados e zooplâncton, enquanto que, no período de verão esteve relacionada com a densidade de bactérias e ciliados.

Em relação à biomassa, a análise de regressão múltipla evidenciou que esse atributo esteve positivamente relacionado apenas com a densidade de ciliados tanto nos riachos rurais, quanto nos urbanos, em ambos os períodos estudados (Tabela 3).

Quanto ao tamanho do corpo dos nanoflagelados, nos riachos rurais esse atributo esteve significativamente relacionado com a densidade de ciliados e com as variáveis abióticas sumarizadas pelo eixo 2 da PCA, que representou, principalmente, a disponibilidade de fosfato. Nos riachos urbanos, o tamanho esteve significativamente relacionado com a densidade de ciliados e com as variáveis abióticas sumarizadas pelo eixo 1 da PCA, que discriminou, sobretudo, os elevados valores de condutividade elétrica registrados nesses ambientes. Do mesmo modo, no período de inverno esse atributo esteve significativamente relacionado apenas com a densidade de ciliados, no entanto, no período de verão esteve significativamente relacionado com a densidade de ciliados e também com a densidade bacteriana (Tabela 3).

Tabela 3: Sumário dos modelos de regressão múltipla realizados entre as variáveis respostas (densidade, biomassa e tamanho) e as variáveis explanatórias (PCA 1 e PCA 2: escores dos eixos da PCA; DB: densidade de bactérias; DC: densidade de ciliados e DZ: densidade de zooplâncton). \* Valores significativos ( $p < 0,05$ ).

RURAIS					URBANOS			
Variáveis	Densidade				Densidade			
	Beta	Correlação parcial	t	P	beta	Correlação parcial	t	p
DB	0,30	0,38	3,73	<0,001*	0,09	0,16	1,45	0,150
DC	0,59	0,60	6,90	<0,001*	0,77	0,69	8,73	<0,001*
DZ	0,11	0,26	2,41	0,018*	0,07	0,10	0,96	0,342
PCA 1	-0,01	-0,06	-0,57	0,57	-0,07	-0,25	-2,31	0,023*
PCA 2	-0,01	-0,12	-1,07	0,29	0,04	0,15	1,38	0,172
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P
	0,99	0,98	1575,13	<0,001*	0,95	0,95	364,38	<0,001*
Variáveis	Biomassa				Biomassa			
	Beta	Correlação parcial	t	P	beta	Correlação parcial	t	P
DB	0,06	0,03	0,24	0,814	0,03	0,03	0,28	0,780
DC	0,89	0,33	3,23	0,002*	0,96	0,64	7,58	<0,001*
DZ	-0,03	-0,02	-0,22	0,824	-0,06	-0,06	-0,54	0,591
PCA 1	0,04	0,09	0,85	0,397	-0,02	-0,04	-0,37	0,710
PCA 2	0,06	0,17	1,61	0,112	0,08	0,21	1,96	0,054
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	p
	0,89	0,88	137,57	<0,001*	0,91	0,90	172,80	<0,001*
Variáveis	Tamanho				Tamanho			

	<i>Beta</i>	Correlação parcial	t	P	<i>beta</i>	Correlação parcial	t	P	
DB	0,19	0,11	1,03	0,308	0,11	0,13	1,21	0,230	
DC	0,70	0,37	3,60	0,001*	0,87	0,60	6,94	<0,001*	
DZ	0,05	0,05	0,47	0,639	0,09	0,09	0,83	0,407	
PCA 1	0,06	0,20	1,85	0,068	-0,09	-0,22	-2,06	0,042*	
PCA 2	0,06	0,24	2,22	0,029*	0,07	0,20	1,90	0,061	
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	
	0,94	0,94	291,38	<0,001*	0,91	0,90	177,62	<0,001*	
INVERNO					VERÃO				
Variáveis	Densidade				Densidade				
	<i>Beta</i>	Correlação parcial	t	P	<i>beta</i>	Correlação parcial	t	P	
DB	-0,01	-0,02	-0,19	0,853	0,25	0,31	3,03	0,003*	
DC	0,91	0,85	14,88	<0,001*	0,60	0,42	4,27	<0,001*	
DZ	0,11	0,31	2,99	0,004*	0,14	0,12	1,09	0,277	
PCA 1	-0,03	-0,19	-1,75	0,084	-0,02	-0,10	-0,94	0,351	
PCA 2	0,00	0,01	0,10	0,919	0,01	0,02	0,20	0,843	
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	
	0,98	0,98	1102,25	<0,001*	0,95	0,95	382,2	<0,001*	
Variáveis	Biomassa				Biomassa				
	<i>Beta</i>	Correlação parcial	t	P	<i>beta</i>	Correlação parcial	t	P	
DB	-0,03	-0,02	-0,21	0,835	0,10	0,08	0,75	0,458	
DC	0,96	0,57	6,47	<0,001*	1,08	0,45	4,58	<0,001*	
DZ	0,01	0,01	0,13	0,899	-0,20	-0,10	-0,93	0,354	
PCA 1	0,02	0,07	0,65	0,516	-0,03	-0,07	-0,61	0,542	
PCA 2	0,01	0,02	0,20	0,844	0,05	0,06	0,58	0,561	
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	
	0,91	0,90	177,99	<0,001*	0,88	0,87	127,50	<0,001*	
Variáveis	Tamanho				Tamanho				
	<i>Beta</i>	Correlação parcial	t	P	<i>beta</i>	Correlação parcial	t	P	
DB	0,02	0,02	0,17	0,862	0,26	0,22	2,08	0,040*	
DC	0,88	0,64	7,72	<0,001*	0,57	0,27	2,59	0,011*	
DZ	0,05	0,08	0,77	0,445	0,13	0,07	0,64	0,523	
PCA 1	0,01	0,04	0,4	0,693	0,03	0,07	0,65	0,516	
PCA 2	0,03	0,07	0,67	0,508	0,00	0,00	0,04	0,965	
Coeficientes	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajus	F	P	
	0,94	0,94	307,84	<0,001*	0,89	0,89	147,95	<0,001*	

## 4.0- DISCUSSÃO

### 4.1 - Padrões de densidade, biomassa e estrutura de tamanho da comunidade

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram que os valores de densidade e biomassa observados encontram-se acima dos valores frequentemente registrados em

diferentes ambientes lóticos temperados. Nestes ambientes, os valores de densidade e biomassa variam entre 0,0059 e  $11.10^3$  cel.mL<sup>-1</sup> (CARLOUGH e MEYER, 1989; BASU e PICK, 1997; LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2003; PICARD e LAIR, 2005) e entre 0,49 e 54,6 µgC.L<sup>-1</sup> (CARLOUGH e MEYER, 1989; LAIR *et al.*, 1999; JOAQUIM-JUSTO, 2006), respectivamente. Os valores de densidade e biomassa registrados no presente estudo podem ser considerados elevados, visto que, se aproximam dos valores observados em lagos alemães hipereutróficos, estudados por AUER e ARNDT (2001), sendo que esses autores registraram valores de densidade e biomassa próximos de  $2.10^3$  cels.mL<sup>-1</sup> e 475 µgC.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Em contraste, a amplitude da variação de tamanho dos indivíduos observados no presente estudo foi semelhante à encontrada em outros estudos realizados em sistemas lóticos temperados, com valores oscilando entre 5 e 25 µm (LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2003; PICARD e LAIR, 2005). Contudo, nesses ambientes, predominaram os indivíduos de pequeno porte, com medidas inferiores a 5 µm, contrastando, dessa forma, com os valores registrados nos riachos estudados, onde a maioria dos indivíduos apresentou medidas entre 5 e 15 µm.

Esse predomínio de formas maiores tem implicações ecológicas importantes, como o aumento de elos tróficos, pois os indivíduos maiores não se alimentam apenas de bactérias, mas, também de algas pico e nanoplânctônicas e outros protozoários (SHERR e SHERR, 1992; AUER *et al.*, 2004; XU *et al.*, 2005). Conseqüentemente, esses organismos podem, até mesmo, competir por alimento com o microzooplâncton (AUER *et al.*, 2004). Desse modo, pode-se inferir que essas interações causadas pelo aumento do tamanho médio da comunidade, provavelmente, promovem um incremento da complexidade das cadeias alimentares dos riachos estudados.

Com relação aos padrões de distribuição espacial e temporal dos atributos dessa comunidade, as análises de variância demonstraram que os padrões temporais são mais evidentes do que os espaciais. Quanto ao padrão temporal, os maiores valores de densidade, biomassa e tamanho de ambas as frações foram registrados no período de inverno. Em contraste, apenas a fração autotrófica apresentou um padrão espacial mais conspícuo, com maiores valores de densidade, biomassa e tamanho no ambientes com influência agrícola.

Esse padrão observado para a fração autotrófica foi desencadeado, provavelmente, pelo uso de fertilizantes agrícolas que promovem o processo de enriquecimento dos ambientes lóticos próximos às lavouras (LEONARD *et al.*, 1999; HENDRY *et al.*, 2003). Segundo LESTER e

BOULTON (2008), 90% dos rios australianos próximos às regiões agrícolas estão eutrofizados ou apresentam altos teores de nutrientes, especialmente de fósforo, que é extremamente importante para a produção primária (HESSEN e FAAFENG, 2000).

É importante ressaltar que embora se tenha detectado diferenças estatísticas significativas entre os riachos para a fração autotrófica, a primeira hipótese desse trabalho não pode ser aceita, pois não foram detectadas diferenças significativas para os atributos da fração heterotrófica, apesar da tendência de maiores valores de densidade, biomassa e tamanho nos riachos urbanos. Portanto, esses resultados demonstram que dentre as muitas atividades antrópicas desenvolvidas na região, somente as atividades agrícolas podem efetivamente exercer influências sobre parte da comunidade de protozoários flagelados.

#### **4.2 - Influência dos fatores abióticos e bióticos sobre os padrões de distribuição**

Os modelos de regressão múltipla evidenciaram que a densidade de ciliados foi o fator mais importante para a regulação dos padrões de distribuição da densidade, biomassa e tamanho. Em geral, esses resultados sugerem que o incremento na abundância e no tamanho dos nanoflagelados, decorrente do aumento da disponibilidade de recursos, pode ter suportado a elevada densidade de predadores, explicando assim, as relações positivas entre predador e presa registradas neste estudo e também em outros conduzidos em ambientes lênticos por MATHES e ARNDT (1995), HWANG e HEALTH (1997) e PEREIRA *et al.* (2005).

Deste modo, pode-se inferir que a taxa de crescimento dos nanoflagelados foi superior à taxa de predação exercida pelos ciliados. Portanto, a pressão de predação não foi suficiente para suplantiar o efeito do mecanismo “bottom-up”, que pode ter sido favorecido pelo enriquecimento dos ambientes estudados, conforme foi registrado por alguns autores em vários ambientes (BERNINGER *et al.*, 1991; SANDERS *et al.*, 1992; GASOL *et al.*, 1995; MATHES e ARNDT, 1995; AUER e ARNDT, 2001; PEREIRA *et al.*, 2005).

Conseqüentemente, o mecanismo “bottom-up” parece ter sido mais importante do que o mecanismo “top-down” para a estruturação dessa comunidade, visto que, esses mecanismos não são excludentes e podem ocorrer simultaneamente, além de não possuírem a mesma importância (WEISSE, 1991). Esse fato ocorre, provavelmente, porque em ambientes com maior produtividade, o mecanismo “top-down” tende a ser neutralizado (PORTER *et al.*, 1988; WEISSE, 1991), conforme foi verificado no presente estudo.

Além disso, alguns estudos têm demonstrado que o mecanismo “top-down” não é muito evidente em ambientes lóticos (BASU e PICK, 1997; JOAQUIM-JUSTO, 2006; WEITERE *et al.*, 2005), pois a abundância do microzooplâncton em rios e riachos é muito baixa devido à velocidade de corrente. Assim, mesmo que exista uma pressão de predação, esta não é suficiente para reduzir significativamente a densidade e biomassa das presas, assim, contribuindo ainda mais para a existência de relações positivas entre predador e presa, conforme foi registrado no presente estudo.

Além dos fatores bióticos, os padrões de distribuição da densidade e de tamanho dos nanoflagelados também foram influenciados por algumas variáveis abióticas. A distribuição espacial desses atributos foi regulada pelos elevados valores de condutividade elétrica e pelas baixas concentrações de oxigênio dissolvido dos riachos urbanos. Essas características do meio, que são indícios de poluição orgânica (DANIEL *et al.*, 2002), parecem ter favorecido a diminuição da densidade e do tamanho médio dessa comunidade. Resultados semelhantes foram registrados por BERNARD *et al.* (2000), que verificaram que a maioria das espécies que consegue tolerar condições de anoxia é de pequeno porte, tais como *Bodo* sp, e *Rhycomonas* sp, que também foram encontradas nos ambientes estudados, sobretudo, nos urbanos.

Já os padrões temporais de tamanho também foram regulados pelas concentrações de fosfato e oxigênio dissolvido. Esses resultados demonstram que a maior disponibilidade de recursos alimentares associada à maior concentração de oxigênio dissolvido, induz o aumento do tamanho da comunidade, conforme já foi registrado por muitos autores em vários tipos de ambiente (MATHES e ARDNT 1995; AUER e ARNDT, 2001; MAZEI *et al.*, 2005).

Em síntese, prever os fatores responsáveis pela variação espacial e temporal da comunidade de nanoflagelados não é uma tarefa simples, sobretudo, em ambientes lóticos, que são ecossistemas extremamente complexos e dinâmicos, devido sua alta instabilidade estrutural e fluxo unidirecional (REYNOLDS, 1984; GILLER e MALMQVIST, 1998; HASLAM, 1997). Todavia, os resultados obtidos neste estudo sugerem que os padrões de distribuição espacial e temporal foram governados tanto pela disponibilidade de recursos quanto pelos predadores, contudo, é importante ressaltar que a disponibilidade de recursos foi o fator estruturador mais importante para esta comunidade, pois o efeito da predação não foi suficiente para transpor o efeito do enriquecimento dos ambientes. Por fim, esses resultados conduzem a rejeição da segunda hipótese predita neste estudo, pois a variação espacial não foi regulada apenas pelas variáveis abióticas, embora se tenha constatado que a variação temporal dos nanoflagelados foi regulada por interações bióticas.

## 5.0 – REFERÊNCIAS

---

- ARNDT, H. and J. MATHES, 1991: Large heterotrophic Flagellates form a significant part of protozooplankton biomass in lakes and rivers. - *Ophelia* **33**: 225-234.
- AUER, B. and H. ARNDT, 2001: Taxonomic composition and biomass of heterotrophic flagellates in relation to lake trophy and season. - *Freshw. Biol.* **46**: 959-972.
- AUER, B., U. ELZER and H. ARNDT, 2004: Comparison of pelagic food webs in lakes along a trophic gradient and with seasonal aspects: influence of resource and predation. - *J. Plankton Res.* **26**: 697-709.
- AZAM, F., T. FENCHEL, J. G. FIELD, J. S. GRAY, L. A. MEYER-REIL and F. THINGSTAD, 1983: The ecological role of water column microbes in the sea. - *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **10**: 257-263.
- BALDOCK, B. M., J. H. BAKER and M. A. SLEIGH, 1983: Abundance and productivity of protozoa in Chalk streams. - *Holarct. Ecol.* **6**: 238-246.
- BALDOCK, B. M. and M. A. SLEIGH, 1988: The ecology of benthic protozoa in rivers - seasonal-variation in numerical abundance in fine sediments. - *Arch. Hydrobiol.* **111**: 409-421.
- BARCINA, I., B. AYO, A. MUELA, L. EGEA and J. IRIBERRI, 1991: Predation rates of flagellate and ciliated protozoa on bacterioplankton in a river. - *Microbiol. Lett.* **85**: 141-150.
- BASU, B. K. and F. R. PICK, 1997: Factors related to heterotrophic bacterial and flagellate abundance in temperate rivers. - *Aquat. Microb. Ecol.* **12**: 123-129.
- BERNARD, C., A. G. B. SIMPSON and D. J. PATTERSON, 2000: Some free-living flagellates (protista) from anoxic habitats. - *Ophelia* **52**: 113-142.
- BERNINGER, U. G., B. J. FINLAY and P. KUUPPO-LEINIKKI, 1991: Protozoan control of bacterial abundances in freshwater. - *Limnol. Oceanogr.* **36**: 139-147.
- BOTTRELL, H. H., A. DUNCAN, Z. GLIWICZ, E. GRZYCIEREK, A. HERZIG, A. HILLBRICHT-ILLKOWSKA, H. KURASAWA and P. LARSSON, 1976: A review of some problems in zooplankton production studies. - *Norw. J. Zool.* **24**: 419-456.
- CARLOUGH, L. and J. L. MEYER, 1989: Protozoans in two southeastern blackwater rivers and their importance to trophic transfers. - *Limnol. Oceanogr.* **34**: 163-177.
- CUNICO, A. M., 2005: Estrutura e composição das assembléias de peixes em três córregos urbanos da cidade de Maringá-PR. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, 27pp.

- DANIEL, M. H. B., A. A. MONTEBELO, M. C. BERNARDES, J. P. H. B OMETTO, P. B. CAMARGO, A. V. KRUSCHE, M. V. BALLESTER, R. L. VICTORIA and L. A. MARTINELLI, 2002: Effects of urban sewage on dissolved oxygen, dissolved inorganic and organic carbon, and electrical conductivity of small streams along a gradient of urbanization in the Piracicaba River Basin. - *Water Air Soil. Pollut.* **136**: 189-206.
- EDWARDS, R. T. and J. L. MEYER, 1986: Production and turnover of planktonic bacteria in two southeastern blackwaters rivers. - *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 1317-1323.
- FENCHEL, T., 1982: Ecology of heterotrophic flagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **9**: 35-42.
- FINDLAY, S., M. L. PACE, D. LINTS, J. J. COLE, N. F. CARACO and B. PEIERLS, 1991: Weak coupling of bacterial and algal production in a heterotrophic ecosystem: The Hudson River estuary. - *Limnol. Oceanogr.* **36**: 268-278.
- GASOL, J.M., A. M. SIMONS and J. KALFF, 1995: Patterns in the top-down versus bottom-up regulation of heterotrophic nanoflagellates in temperate lakes. - *J. Plankton Res.* **17**: 1879-1903.
- GILLER, P. S. and B. MALMQVIST, 1998: The biology of streams and rivers. - Oxford University Press, New York, 296pp.
- GOLTERMAN, H. L., R. S. CLYMO, and A. M. OHMSTAD, 1978: Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. - Blackwell Scientific, Oxford, 214pp.
- GUCKER, B. and H. FISCHER, 2003. Flagellate and ciliate distribution in sediments of a lowland river: relationships with environmental gradients and bacteria. - *Aquat. Microb. Ecol.* **31**: 67-76.
- HASLAM, S. 1997: The River Scene: Ecology & Cultural Heritage. Cambridge University Press, Cambridge 344pp.
- HAMMER, Ø., D. A. T. HARPER and P. D. RYAN, 2001: PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9 p. Disponível em: [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- HENDRY, K., D. CRAGG-HINE, M. O'GRADY, H. SAMBROOK and A. STEPHEN, 2003: Management of habitat for rehabilitation and enhancement of salmonid stocks. - *Fish. Res.* **62**: 171-192.
- HESSEN, D. O. and B. A. FAAFENG, 2000: Elemental ratios in freshwater seston: implications for community structure and transfer in food webs. - *Arch. Hydrobiol. Adv. Limnol.* **55**: 349-363.

- HWANG, S. J. and R. T. HEALTH, 1997: The distribution of protozoa across a trophic gradient, factors controlling their abundance and importance in the plankton food web. - *J. Plankton Res.* **19**: 491-518.
- IRRIBERI, J., B. AYO, M. UNANUE, I. BARCINA and L. EGEA, 1993: Channeling of bacterioplanktonic production toward phagotrophic flagellates and ciliates under different seasonal conditions in a river. - *Microb. Ecol.* **26**: 111-124.
- JACKSON, D. A., 1993: Stopping rules in principal components analysis: Comparison of heuristical and statistical approaches. - *Ecology* **74**: 2204-2214.
- JASON, A. S., J. CHRISTOPHER, W. P. F. BREEN and A. K. SHARPE, 2001: Effects of urbanization on streams of the Melbourne region, Victoria, Australia. II. Benthic diatom communities. - *Freshw. Biol.* **46**: 553-565.
- JOAQUIM-JUSTO C., S. PIRLOT, L. VIROUX, P. SERVAIS, J-P. THOMÉ and J-P DESCY, 2006: Trophic links in the lowland River Meuse (Belgium): assessing the role of bacteria and protozoans in planktonic food webs. - *J. Plankton Res.* **28**: 857-870.
- LAIR, N., V. JACQUET and P. REYES-MARCHANT, 1999: Factors related to autotrophic potamoplankton, heterotrophic protists, and micrometazoan abundances, at two sites in a lowland temperate river during low water flow. - *Hydrobiologia* **394**: 13-28.
- LEONARD, A. W., R. V. HYNE, R. P. LIM and J. C. CHAPMAN, 1999: Effect of endosulfan runoff from cotton fields on macroinvertebrates in the Namoi River. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. - *Environ. Res., Section B* **42**: 125-134.
- LESTER, R. E. and A. J. BOULTON, 2008: Rehabilitating agricultural streams in Australia with wood: a review. - *Environ. Manag.* **42**: 310-326.
- MATHES J. and H. ARNDT, 1995: Annual cycle of protozooplankton (ciliates, flagellates and sarcodines) in relation to phyto-and-metazooplankton in Lake Neumuler See (Mecklenburg, Germany). - *Arch. Hydrobiol.* **134**: 337-358.
- MAZEI, Y. A., D. V. TIKHONENKOV and A. P. MYLNIKOV, 2005: The species structure of community and abundance of heterotrophic flagellates in small freshwater bodies. - *Zool. Zh.* **84**: 1027-1040.
- OMETO, J. P. H. B., L. A. MARTINELLI, M. V. BALLESTER, A. GESSNER, A. V. KRUSCHE, R. L. VICTORIA, and M. WILLIAMS, 2000: Effects of land use on water chemistry and macroinvertebrates in two streams of the Piracicaba river basin, south-east Brazil. - *Freshw. Biol.* **44**: 327-337.



- PEREIRA, D. G., L. F. M. VELHO, T. A. PAGIORO and F. A. LANSAC-TÔHA, 2005: Abundância de nanoflagelados heterotróficos no plâncton de reservatórios com distintos graus de trofia. - *Acta Sci. Biol. Sci.* **27**: 43-50.
- PERUÇO, J. D., 2004: Identificação das principais fontes poluidoras de afluentes da bacia do alto rio Pirapó. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, 63pp.
- PICARD, V. and N. LAIR, 2005: Spatio-temporal investigations on the planktonic organisms of the Middle Loire (France), during the low water period: biodiversity and community dynamics. - *Hydrobiologia* **551**: 69-86.
- PORTER, K. G., H. PAERL, R. HODSON, M. L. PACE, J. PRISCU, B. RIEMANN, D. SCAVIA and J. STOCKNER, 1988: Microbial interactions in lake food webs. *In*: CARPENTER, S. R. (ed.) *Complex Interactions in Lake Communities*. Springer-Verlag, New York, 209-227.
- REYNOLDS, C. S. 1984: *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press. 384pp.
- RIBBLETT, S. G., M. A. PALMER and D. W. COATS, 2005: The importance of bacterivorous protists in the decomposition of stream leaf litter. - *Freshw. Biol.* **50**: 516-526.
- ROY A. H., A. D. ROSEMOND, M. J. PAUL, D. S. LEIGH and J. B. WALLACE, 2003: Stream macroinvertebrate response to catchment urbanization (Georgia, U.S.A.). - *Freshw. Biol.* **48**: 329-346.
- SANDERS, R. W., D. A. CARON and U-G. BERNINGER, 1992: Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. - *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **86**: 1-14.
- SERVAIS, P., V. GOSSELAIN, C. JOAQUIM-JUSTO, S. BECQUEVORT, J. P. THOMÉ and J. P. DESCY, 2000: Trophic relationships between planktonic micro-organisms in the river Meuse (Belgium): a carbon budget. - *Arch. Hydrobiol.* **149**: 625-653.
- SHERR, E. B. and B. F. SHERR, 1992: Trophic roles of pelagic protists: phagotrophic flagellates as herbivores. - *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **37**: 165-172
- SHERR, E. B. and B. F., SHERR, 1993: Preservation and storage of samples for enumeration of heterotrophic protist. *In*: KEMP, P. F., B. F. SHERR, E. B. SHERR and J. J. COLE. *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, London, 207-212.
- STATSOFT INC., 1996. Tulsa: Statistica. 3v.
- STRAHLER, A. N. 1957: Quantitative analysis of watershed geomorphology. - *Trans. Am. Geophys. Union* **38**: 913-920.

- VÖRÖS, L., K. V. BALOGH, S. HERODEK and K. T. KISS, 2000: Underwater light conditions, phytoplankton and bacterioplankton production in the Hungarian section of the River Danube. - Arch. Hydrobiol. Suppl. **115**: 511-532.
- WALKS, D. J. and CYR, H., 2004: Movement of plankton through lake-stream systems. - Freshw. Biol. **49**: 745-759.
- WEISSE, T., 1991: The microbial food web and its sensitivity to eutrophication and contaminant enrichment: a cross-system overview. - Int. Revue ges. Hydrobiol. **76**: 327-337.
- WEITERE, M. and ARNDT, H., 2002: Top-down effects on pelagic heterotrophic nanoflagellates (HNF) in a large river (River Rhine): do losses to the benthos play a role? - Freshw. Biol. **47**: 1437-1450.
- WEITERE, M. and H. ARNDT, 2003: Structure of the heterotrophic flagellate community in water column of the River Rhine (Germany). - Euro. J. Protist. **39**: 287-300.
- WEITERE, M., K. SCHIMIDT-DENTER and H. ARNDT, 2003: Laboratory experiments on the impact of biofilms on plankton of large river. - Freshw. Biol. **48**: 1983-1992.
- WEITERE, M., A. SCHERWASS, K-T. SIEBEN and H. ARNDT, 2005: Planktonic food web structure and potential carbon flow in the lower river Rhine with a focus on the role protozoans. - River Res. Appl. **21**: 593-549.
- WETZEL, R. G. and G. E. LIKENS, 1991: Limnological Analyses. Springer-Verlag, New York, 391pp.
- XU, M., H. CAO, P. XIE, D. DENG, W. FENG and J. XU, 2005: The temporal and spatial distribution, composition and abundance of Protozoa in Chaohu Lake, China: Relationship with eutrophication. - Euro. J. Protist. **4**: 269-276.
- ZAGATTO, E. A. G., A. O. JACINTHO, B. F. REIS, F. J. KRUG, H. BERGAMIN-FILHO, L. C. R. PESSENDA, J. MORTATTI and M. F. GINÉ, 1981: Manual de análise de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. CENA/USP, Piracicaba, 45pp.

## **Capítulo 2**

---

---

*“Variação longitudinal dos atributos da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais”.*

Variação longitudinal dos atributos da comunidade de protozoários flagelados em riachos tropicais

### RESUMO

O presente estudo objetivou verificar a existência de padrões longitudinais de composição, riqueza de espécies, densidade e biomassa da comunidade de protozoários flagelados de riachos tropicais e ainda investigar se os possíveis padrões de zonação são diferentes entre dois períodos do ano. Foram realizadas coletas em três regiões ao longo de 10 riachos, durante os períodos de verão e inverno. A comunidade de protozoários flagelados pode ser considerada bastante rica, sendo representada por 106 táxons, pertencentes a 8 ordens e 1 grupo residual. Os valores de densidade e biomassa registrados encontram-se acima dos valores comumente encontrados em outros ambientes lóticos, com valores médios próximos de  $2,3 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup> e 150,8 µgC.L<sup>-1</sup>. Não foi verificado nenhum padrão longitudinal conspícuo e significativo dos atributos dessa comunidade. Foram verificadas apenas variações temporais destes atributos. As correlações de Pearson demonstraram que esse padrão temporal foi governado principalmente pela disponibilidade de nutrientes, temperatura e oxigênio dissolvido, visto que, os maiores valores de riqueza, densidade e biomassa foram registrados no inverno, onde também foram verificadas as maiores concentrações de nutrientes, de oxigênio dissolvido e as menores temperaturas. Em suma, sugere-se que essa ausência de padrões longitudinais pode ser atribuída ao fluxo unidirecional e contínuo dos ambientes lóticos.

**Palavras-chave:** Protozooplâncton. Estrutura de comunidade. Zonação. Ambientes lóticos.

Longitudinal variation of attributes from flagellate protozoans community in tropical streams.

### ***ABSTRACT***

This study verified the existence of longitudinal patterns of species composition, richness, density and biomass of flagellate protozoans from tropical streams and investigated whether the possible zonation patterns are different between two periods of the year. For this, samplings were carried out in three regions from 10 streams, during the winter and summer. The flagellate community may be considered species-rich, because it was represented by 106 taxa, belonging to 8 orders and 1 residual group. The values of density and biomass are greater than those commonly found in other lotic environments, with mean values close to  $2.3 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup> and 150.8 µgC.L<sup>-1</sup>. We did not observe any conspicuous and significant longitudinal patterns of the attributes from flagellates community. Only temporal variations of these attributes were verified. The Pearson Correlation evidenced that this temporal patterns was mainly driven by the nutrients availability, temperature and dissolved oxygen, since, the higher values of species richness, density and biomass were recorded during the winter, when the higher concentrations of nutrients and dissolved oxygen and lower temperatures were registered. In summary, this absence of patterns may be ascribed to the unidirectional and continuous flow from lotic environments

***Keywords:*** Protozooplankton. Community structure. Zonation. Lotic environments.

## 1.0 - INTRODUÇÃO

---

Os rios e riachos são ecossistemas abertos, unidirecionais, estruturalmente instáveis, dinâmicos no espaço e no tempo e em constante interação com o sistema terrestre (STANFORD e WARD, 1993; GILLER e MALMQVIST, 1996; SCHWARZBOLD, 2000). Por causa dessas características esses ecossistemas sustentam uma biota única e altamente especializada (GILLER e MALMQVIST, 1996). Vários autores defendem que esses ecossistemas devem ser estudados em três dimensões espaciais, sendo elas: horizontal, vertical e lateral (WARD, 1989a; GILLER e MALMQVIST, 1996; PETTS, 2000). Entretanto, a dimensão horizontal é uma das mais estudadas (WARD e TOCKNER, 2001; THORP *et al.*, 2006), provavelmente, porque entre as importantes teorias sobre rios, o conceito de “rio contínuo” (VANNOTE *et al.*, 1980) foi um dos primeiros a ser postulado.

Segundo esse conceito, os rios desde a nascente até à foz, apresentam um gradiente contínuo de condições ambientais, que pode prever uma série de respostas nas populações, resultando em um contínuo ajustamento biótico e também em efetivas taxas de remoção, transporte, utilização e armazenamento de matéria orgânica ao longo do curso de um rio (VANNOTE *et al.*, 1980).

Embora esse conceito tenha sido desenvolvido para rios de regiões temperadas, não perturbados e de várias ordens, ele fornece importantes bases teóricas para o estudo dos padrões de zonação longitudinal das comunidades biológicas de ambientes lóticos tropicais. No entanto, esses padrões não têm sido freqüentemente investigados nesses ambientes e a maior parte dos estudos foi realizada com organismos macroscópicos, especialmente, com os macroinvertebrados bentônicos. Estudos que tenham investigado especificamente os padrões de distribuição longitudinal dos protozoários flagelados em riachos não foram, ainda, objeto de pesquisas anteriores.

Assim é de grande relevância conhecer esses padrões, pois estes organismos desempenham importante papel na remineralização de nutrientes e na ciclagem de matéria orgânica (AZAM *et al.*, 1983; SANDERS *et al.*, 1989; WEISSE, 1991), pois ao serem consumidos pelo microzooplâncton e pelos predadores bentônicos (WEISSE, 1990; ARNDT, 1993; JÜRGENS *et al.*, 1994) transferem para os níveis tróficos superiores a energia obtida no consumo de bactérias, pico e nanofitoplâncton e até mesmo de carbono orgânico dissolvido (SANDERS *et al.*, 1989; SANDERS *et al.*, 1992; SHERR e SHERR, 1992; TRANVIK *et al.*, 1993; SIMEK *et al.*, 1997; SIMEK, *et al.*, 1999; XU *et al.*, 2005).

Do mesmo modo, os estudos sobre os padrões de composição de espécies de protozoários flagelados em ambientes lóticos também são extremamente escassos (CARLOUGH e MEYER, 1989; ARNDT e MATHES, 1991; WEITERE e ARNDT, 2003; TIKHONENKOV e MAZEI, 2006; TIKHONENKOV e MAZEI, 2008) e os estudos sobre os padrões de riqueza de espécies de protozoários flagelados nesses ambientes são inexistentes. Essa escassez de estudos ocorre devido aos problemas metodológicos que dificultam a identificação das espécies (ARNDT *et al.*, 2000; AUER e ARNDT, 2001). Conseqüentemente, também não existem estudos sobre a variação longitudinal dos padrões de composição e riqueza de espécies de protozoários flagelados em riachos.

Assim, o presente estudo tem como objetivos verificar a existência de padrões de zonação longitudinal da riqueza e composição de espécies, densidade e biomassa de protozoários flagelados em riachos tropicais; e ainda investigar se os possíveis padrões de zonação são diferentes entre os períodos de verão e de inverno. Deste modo, esse estudo visa testar as seguintes hipóteses: i) os padrões de riqueza e composição de espécies sofrem alterações ao longo do curso dos riachos devido às mudanças longitudinais das características físicas e químicas do ambiente; ii) a densidade e biomassa da fração autotrófica são maiores no curso médio dos riachos, enquanto que, a densidade e biomassa dos nanoflagelados heterotróficos são maiores nas regiões de nascente e foz. Esse padrão esperado pode ser explicado pelo fato de que nas regiões de nascente e foz, a penetração de luz é menor devido ao sombreamento e aumento da turbidez, respectivamente. Além disso, as nascentes recebem maiores quantidades de matéria orgânica alóctone, o que pode favorecer a fração heterotrófica.

## **2.0 - MATERIAL E MÉTODOS**

---

### **2.1 - Área de estudo**

A bacia hidrográfica do rio Pirapó (22°30'S e 23°30'S; 51°15'W e 52°15'W), está situada na região fisiográfica do Terceiro Planalto Paranaense, Estado do Paraná, Brasil (PERUÇO, 2004). Esta bacia possui uma área de drenagem de aproximadamente 5.076 Km<sup>2</sup> e está sob forte influência do município de Maringá (PERUÇO, 2004), que é relativamente industrializado e urbanizado, sendo considerado o centro urbano mais importante da região.

Os riachos estudados (Água do Pirapó, Água Queçaba, Água da Roseira, Córrego do Remo, Guaiapó, Mandacarú, Miosótis, Nazaré, Romeira e Zaúna) são de primeira ordem

(STRAHLER, 1957) e estão localizados nas proximidades do município de Maringá, conseqüentemente, recebem influência direta da área urbana e também das atividades agrícolas desenvolvidas nos arredores desse município (Fig. 1). Em geral, alguns trechos desses riachos estão bastante modificados. Entre essas alterações destacam-se a grande presença de estruturas artificiais (como materiais de construção, latas, garrafas plásticas, pneus, entre outras estruturas) dentro de seus leitos, alterações na vegetação ripária, assoreamento, entre outras alterações.

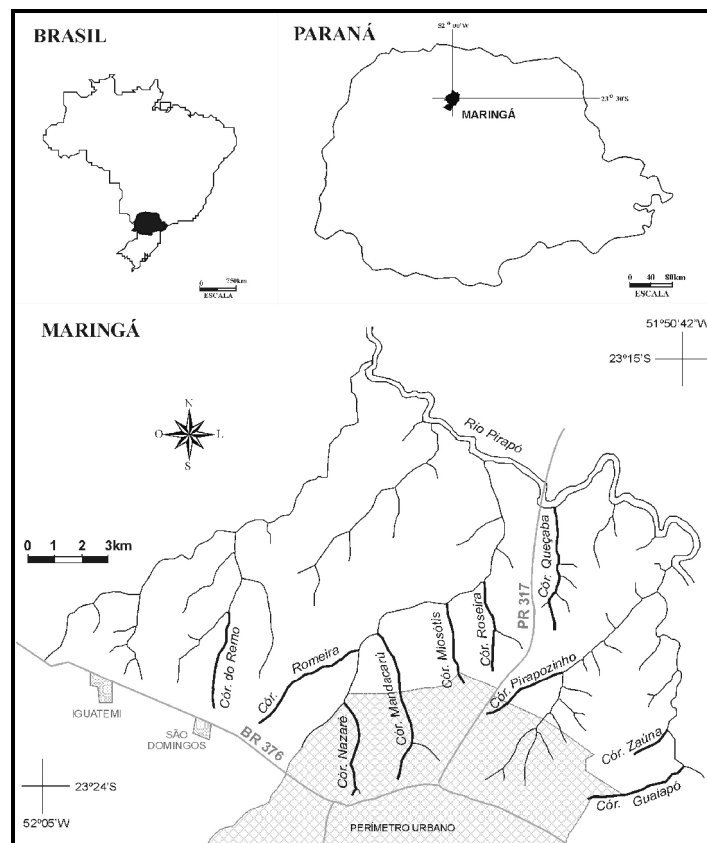


Figura 1: Mapa de localização da área de estudo.

## 2.2 - Amostragens e procedimentos laboratoriais

As coletas foram realizadas em dois períodos do ano, sendo uma em julho de 2007, durante o período de inverno, e outra em fevereiro de 2008, durante o período de verão. As amostragens foram realizadas na sub-superfície, em réplicas, em três regiões (nascente, curso médio e foz) de cada riacho, 360 amostras.

As variáveis condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH, profundidade, temperatura da água e velocidade de corrente foram mensuradas ainda em campo, com o auxílio de aparelhos portáteis. Enquanto que as determinações das concentrações de nitrato e fosfato



foram realizadas em laboratório (Laboratório de Saneamento e Laboratório de Agroquímica e Meio Ambiente da Universidade Estadual de Maringá), através dos métodos propostos por ZAGATTO *et al.* (1981) e GOLTERMAN *et al.* (1978), respectivamente.

As amostras quantitativas dos nanoflagelados (100 mL) foram coletadas através da passagem de frasco na sub-superfície da coluna d'água dos riachos e fixadas com uma solução composta de formaldeído, lugol alcalino e tiosulfato (SHERR e SHERR, 1993). Foram coletadas também amostras qualitativas (2 L), também através da passagem de frasco na sub-superfície, visando somente analisar os padrões de composição e riqueza de espécies, sobretudo, dos flagelados de maior porte ( $>10\ \mu\text{m}$ ).

Para a determinação da densidade, biomassa e tamanho dos nanoflagelados foram montadas lâminas semipermanentes através de filtragem de sub-amostras (25 mL) em filtro preto Nucleopore/Watchman ( $0,8\ \mu\text{m}$ ), previamente corado com DAPI (fluorocromo 4,6' - diamidino-2-fenil-inole, a 0,1%). Após esse procedimento, as lâminas foram armazenadas em refrigerador por 24 horas e, posteriormente, analisadas em microscópio de epifluorescência. As contagens foram realizadas no aumento de 400x, onde foram estimados 25 campos ou 300 células ( $> 7$  e  $<30\ \mu\text{m}$ ) e posteriormente no aumento de 1000x, onde foram estimados 100 campos ou 300 células ( $< 7\ \mu\text{m}$ ).

Concomitantemente às contagens, os indivíduos foram medidos com auxílio de oculares micrométricas, com o intuito de determinar o volume celular, através das medidas das dimensões celulares e as formas geométricas aproximadas (WETZEL e LIKENS, 1991). O conteúdo de carbono foi determinado de acordo com o fator de conversão proposto por FENCHEL (1982), onde  $1\ \mu\text{m}^3 = 167\ \text{fg C}$ . A diferenciação entre os nanoflagelados autotróficos e os heterotróficos foi realizada sob luz ultravioleta (U.V.), sendo que os heterotróficos são visualizados com cor esverdeada e os autotróficos com cor avermelhada ou alaranjada.

Antes de iniciar as análises qualitativas, as amostras foram concentradas em um volume conhecido (100 mL), com o auxílio de uma malha de plâncton com abertura de poro de  $10\ \mu\text{m}$ . Em seguida, os indivíduos foram analisados *in vivo*, sob microscópio óptico comum, segundo as recomendações de GASOL (1993), para evitar deformações e alterações nas dimensões celulares devido ao processo de fixação. As lâminas foram analisadas até que nenhuma nova espécie surgisse durante a análise. Os espécimes foram identificados sempre que possível, em nível de espécie, com base nos caracteres morfológicos e com auxílio de bibliografias especializadas. Os resultados foram apresentados de acordo com o sistema de classificação proposto por LEE *et al.* (2000).

### 2.3 - Análise dos dados

Antes da realização das análises, todos os dados (exceto o pH e os dados de presença e ausência das espécies) foram transformados ( $\log.x+1$ ) com objetivo de amortizar a variância, todos os pressupostos foram checados e atendidos, e os resultados de todas as análises foram testados para o nível de significância de  $p < 0,05$ .

As variáveis abióticas (condutividade elétrica, fosfato, nitrato, oxigênio dissolvido, pH, profundidade, temperatura da água e velocidade de corrente) foram sumarizadas pela Análise de Componentes Principais (PCA) com o objetivo de caracterizar os riachos e detectar um possível gradiente ambiental importante para a estrutura da comunidade de nanoflagelados. Os eixos foram retidos para interpretação segundo o critério de Kaiser Guttman (Autovalores  $> 1,0$ ; JACKSON, 1993). A PCA foi executada com o auxílio do software Past (HAMMER *et al.*, 2001) e análise de variância com o auxílio do pacote Statística 7.0 (STATSOFT INC., 1996).

Os padrões espaciais e temporais da composição de espécies foram avaliados pela análise de correspondência com remoção do efeito de arco (DCA), que foi realizada com dados de presença e ausência das diferentes espécies de protozoários flagelados, com frequência de ocorrência superior a 5%. Posteriormente, foram aplicadas análises de variância bifatoriais aos escores de cada eixo, para testar diferenças na composição de espécies entre as regiões (nascente, curso médio e foz) dos riachos e entre os períodos (verão e inverno). A DCA foi realizada com o auxílio do pacote estatístico PC-ORD versão 4.0 (MCCUNE e MEFFORD, 1999) e a análise de variância com o auxílio do pacote Statística 7.0 (STATSOFT INC., 1996).

Com a finalidade de verificar a existência de diferenças significativas nos atributos da comunidade de protozoários (riqueza, densidade e biomassa) dos nanoflagelados entre as regiões (nascente, curso médio e foz) de cada riacho e entre os períodos (verão e inverno) foram empregadas análises de variância bifatoriais, que foram realizadas com o auxílio do pacote Statística 7.0 (STATSOFT INC., 1996). Também foram empregadas análises de variância bifatoriais para os atributos (densidade e biomassa) das frações auto e heterotróficas, com o intuito de verificar isoladamente diferenças entre as regiões e entre os períodos para essas parcelas da comunidade de nanoflagelados.

Para fazer inferências sobre as relações da densidade, biomassa, riqueza e composição de espécies (representada pelos escores dos eixos 1 e 2 da DCA) com as variáveis abióticas (representadas pelos escores dos eixos da PCA) foram realizadas correlações de Pearson, com auxílio do software Statística 7.0 (STATSOFT INC., 1996).

### 3.0 - RESULTADOS

#### 3.1 - Variáveis ambientais

Os valores médios das variáveis abióticas, obtidas em três regiões dos riachos estudados, são apresentados na Tabela 1. De maneira geral, os riachos estudados são rasos, correntosos, apresentam águas com pH levemente ácido, concentrações de oxigênio dissolvido relativamente baixas, elevada condutividade elétrica e com altas concentrações de nutrientes, especialmente de nitrato. (Tabela 1). Com relação à variação espacial e temporal dessas variáveis, não foram verificadas grandes oscilações nos valores médios entre as regiões, contudo, os valores médios entre os períodos apresentaram variações um pouco mais pronunciadas (Tabela 1).

Tabela 1: Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físicos, químicos e biológicos obtidos em três regiões dos riachos estudados durante os períodos de verão e inverno.

Parâmetros	Inverno						Verão					
	Nascente		Curso médio		Foz		Nascente		Curso médio		Foz	
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ )	147,49	64,25	159,15	53,70	143,11	38,63	164,26	56,53	159,13	13,16	147,28	8,14
Fosfato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,14	0,16	0,08	0,10	0,14	0,18	0,07	0,05	0,09	0,01	0,06	0,01
Nitrato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	8,96	2,56	9,38	2,02	9,80	3,25	3,30	2,29	4,18	0,69	2,93	0,35
Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	8,05	0,50	8,51	0,58	8,76	0,46	7,17	0,52	7,07	0,16	7,49	0,08
pH	7,83	1,93	7,60	1,03	7,35	0,57	6,92	0,23	6,87	0,04	6,90	0,05
Profundidade (m)	0,21	0,09	0,22	0,10	0,25	0,13	0,23	0,11	0,19	0,02	0,20	0,02
Temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ )	18,51	2,38	17,63	1,60	16,68	1,33	18,43	1,42	19,15	0,33	18,29	0,25
Velocidade de corrente ( $\text{m.S}^{-1}$ )	0,26	0,15	0,32	0,14	0,29	0,14	0,27	0,13	0,25	0,03	0,32	0,03

As variáveis abióticas foram sumarizadas através da análise de componentes principais e os quatro primeiros eixos retidos para interpretação foram responsáveis por 70% da variabilidade dos dados (Tabela 2; Figs. 2a-b). No entanto, a maior parte da variabilidade dos dados (41,5%) foi explicada pelos eixos 1 e 2, que evidenciaram claramente a separação dos ambientes (Fig. 2a; Tabela 2). O eixo 1 foi negativamente influenciado pela condutividade elétrica, temperatura da água e profundidade e positivamente influenciado pela velocidade de corrente e oxigênio dissolvido (Fig. 2a, Tabela 2). Por sua vez, o eixo 2 foi influenciado negativamente pela concentração de fosfato, concentração de oxigênio dissolvido e pH (Fig. 2a; Tabela 2). Em geral, o eixo 1 discriminou a variação espacial das variáveis abióticas e o

eixo 2 discriminou a variação temporal. As variáveis que mais influenciaram a formação dos demais eixos retidos para a interpretação estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2: Correlação de Pearson entre as variáveis que mais contribuíram para a formação dos eixos, autovalores e percentagem de explicação da análise de componentes principais (PCA), aplicada às variáveis limnológicas dos riachos urbanos e rurais, durante os períodos de verão e inverno.

Variáveis abióticas	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ )	-0,62	-0,10	0,31	-0,36
Fosfato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	-0,45	-0,77	-0,07	-0,16
pH	-0,29	-0,43	-0,68	0,07
Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,42	-0,76	0,09	0,34
Nitrato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,33	-0,17	-0,08	-0,71
Temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ )	-0,53	0,37	-0,59	-0,0008
Profundidade (m)	-0,49	-0,001	0,22	0,54
Velocidade de corrente ( $\text{m.S}^{-1}$ )	0,56	0,07	-0,45	0,15
<b>Explicação %</b>	<b>22,4</b>	<b>19,2</b>	<b>14,8</b>	<b>13,7</b>
<b>Autovalores</b>	<b>1,79</b>	<b>1,53</b>	<b>1,18</b>	<b>1,09</b>

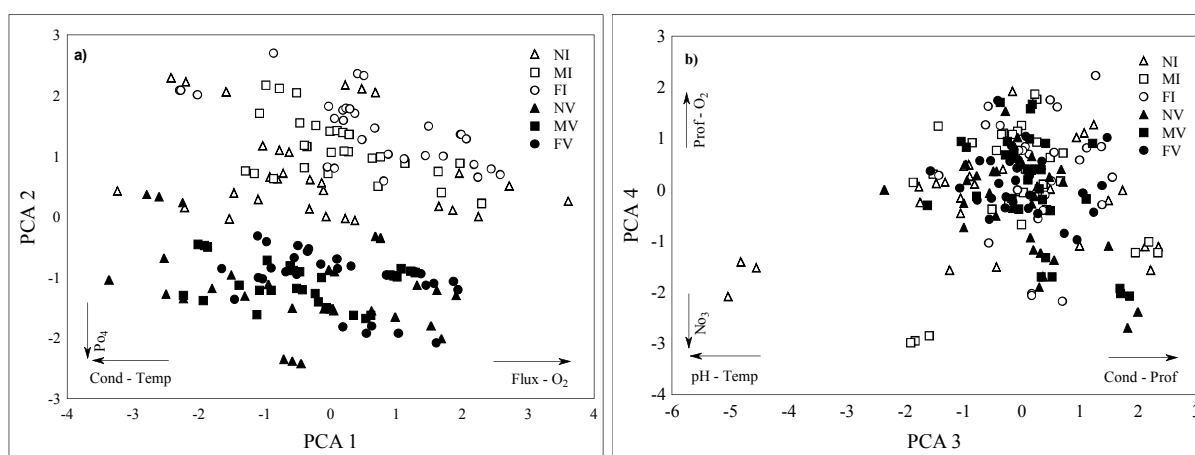


Figura 2: a) Distribuição dos escores ao longo dos eixos 1 e 2 da PCA; b) Distribuição dos escores ao longo dos eixos 3 e 4 da PCA, realizada com as variáveis limnológicas de três regiões dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno. Onde: Cond=Condutividade elétrica; Flux=Velocidade de corrente;  $\text{NO}_3$ =Nitrato;  $\text{O}_2$ =Oxigênio dissolvido;  $\text{Po}_4$ =Fosfato; Prof=Profundidade e Temp=Temperatura da água.

### 3.2 - Composição de espécies

A comunidade de protozoários flagelados foi representada por 106 táxons (Tabela 3), pertencentes a 8 ordens: Chromulinales (6 táxons), Cryptomonadida (5 táxons), Euglenida (71 táxons), Gymnodiniales (5 táxons), Kinetoplastea (8 táxons), Peridinales (2 táxons), Synurales (2 táxons), Volvocida (6 táxons) e 1 táxon residual. A ordem Euglenida foi a mais

especiosa em todas as regiões dos riachos (Fig. 2), devido à contribuição dos gêneros *Trachelomonas* (16 táxons), *Euglena* (11 táxons) e *Phacus* (11 táxons).

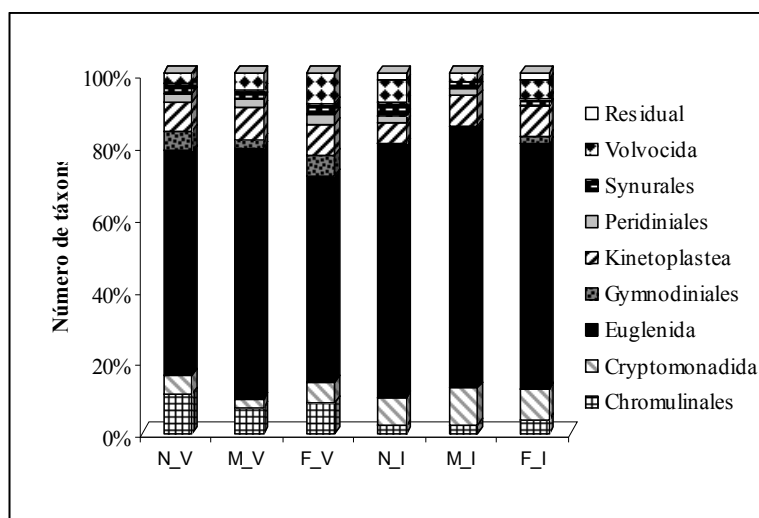


Figura 2: Contribuição relativa (%) das ordens com a composição de espécies nas três regiões dos riachos estudados durante os períodos de verão e inverno. Onde: N\_V: Nascente no verão; M\_V: Curso médio no verão; F\_V: Foz no verão; N\_I: Nascente no inverno; M\_I: Curso médio no inverno; F\_I: Foz no inverno.

Tabela 3: Inventário faunístico das espécies de protozoários flagelados registradas em três regiões (Onde: N=Nascente; CM=Curso médio; F=Foz) ao longo dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno.

Táxons	Verão			Inverno		
	N	CM	F	N	CM	F
<b>Chromulinales</b>						
<i>Anthophysa vegetans</i> (Müller) Stein	X	X	-	-	-	-
<i>Chromulina</i> sp?	X	X	X	-	-	-
<i>Chrysococcus</i> sp.	X	X	X	-	X	X
<i>Dinobryon</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Monas</i> sp?	-	-	X	-	-	-
<i>Ochromomonas</i> sp?	X	-	-	X	-	X
<b>Cryptomonadida</b>						
<i>Chilomonas</i> sp.	-	-	-	X	X	X
<i>Chroomonas</i> sp.	-	-	-	X	X	X
<i>Cryptomonas</i> cf. <i>marssonii</i> Skuja	-	-	-	X	X	X
<i>Cryptomonas</i> sp.	X	-	X	-	X	X
Cryptomonadida não identificado.	X	X	X	X	X	X
<b>Euglenida</b>						
<i>Anisomena acinus</i> Dujardin	X	X	X	X	X	X
<i>Anisonema</i> cf. <i>emarginatum</i> Stokes	-	-	-	-	X	-
<i>Anisonema</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Astasia granulata</i> Pringsheim	X	-	-	-	X	X
<i>Astasia</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Distigma curvatum</i> Pringsheim	-	-	-	-	X	-
<i>Distigma</i> sp.	-	X	-	X	X	-
<i>Dylakosoma</i> cf. <i>ymbioticum</i> Tschermak-Woess	-	-	-	-	-	X

<i>Entosiphon sulcatum</i> (Dujardin) Stein	X	X	X	X	X	X
<i>Euglena acus</i> var. <i>acus</i> Ehrenberg	X	X	-	X	-	-
<i>Euglena</i> cf. <i>agilis</i> Carter	-	-	-	-	-	X
<i>Euglena elastica</i> Prescott	X	X	-	-	-	X
<i>Euglena exilis</i> Gojdics	-	-	-	X	-	-
<i>Euglena minuta</i> Prescott	-	X	-	X	X	X
<i>Euglena oxyuris</i> Schmar	X	X	X	X	X	X
<i>Euglena proxima</i> Dangeard	X	X	X	X	X	X-
<i>Euglena spathirhyncha</i> Skuja	-	-	-	X	-	-
<i>Euglena splendens</i> Dangeard	-	X	-	X	X	X
<i>Euglena tripteris</i> (Dujardin) Klebs	X	-	-	-	-	-
<i>Euglena</i> sp.	X	-	-	-	-	-
<i>Heteronema</i> sp.	X	-	X	X	X	X
<i>Lepocincles ovum</i> (Ehrenberg) Lemmermann	X	X	-	-	-	X
<i>Lepocincles salina</i> Fritsch	-	-	-	X	X	X
<i>Lepocincles</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Lepocincles texta</i> (Dujardin) Lemmermann	-	-	-	X	-	X
<i>Menoidium</i> cf. <i>obtusum</i> Pringsheim	-	-	-	-	-	-
<i>Notosolenus</i> sp.	-	X	X	-	X	X
<i>Peranema</i> sp.	X	X	-	X	-	-
<i>Peranema trichophorum</i> (Ehrenberg) Stein	-	X	-	X	X	-
<i>Petalomonas</i> cf. <i>minor</i> Larsen et Patterson	X	-	X	X	-	X
<i>Petalomonas</i> sp.	-	X	-	X	X	X
<i>Phacus acuminatus</i> Stokes	-	X	X	X	X	-
<i>Phacus contortus</i> Bourrelly	X	-	-	-	-	-
<i>Phacus curvicauda</i> Swirenko	-	-	-	X	X	X
<i>Phacus longicauda</i> (Ehrenberg) Dujardin var. <i>longicauda</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Phacus megalopsis</i> Pochmann	-	-	-	-	X	X
<i>Phacus orbicularis</i> Hübner	-	-	-	X	X	-
<i>Phacus pleuronectes</i> (Müller) Dujardin var. <i>pleuronectes</i>	-	-	-	-	X	-
<i>Phacus pusillus</i> Lemmermann	-	-	-	-	-	-
<i>Phacus suecicus</i> Lemmermann	X	X	X	X	X	X
<i>Phacus tortus</i> (Lemmermann) Skvortzov	X	X	-	X	X	X
<i>Phacus</i> sp.	-	-	X	-	-	-
<i>Ploetia obliqua</i> Schroeckh, Lee et Patterson	-	-	-	X	X	-
<i>Ploetia pseudanisonema</i> Larsen et Patterson	-	X	-	-	-	-
<i>Ploetia</i> sp 1.	-	-	-	X	-	-
<i>Ploetia</i> sp 2.	-	-	-	X	-	-
<i>Rhabdomonas incurva</i> (Fresenius) Klebs	-	X	X	-	-	-
<i>Rhabdomonas</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Rhabdospira</i> sp.	-	-	-	X	-	-
<i>Rhychophus</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Strombomonas</i> sp.	-	-	X	-	-	-
<i>Strombomonas verrucosa</i> (Daday) Deflandre	X	X	-	X	X	X
<i>Trachelomonas armata</i> (Ehrenberg) Stein var. <i>armata</i>	-	X	-	-	-	X
<i>Trachelomonas cylindrica</i> Playfair	X	X	-	X	-	-
<i>Trachelomonas crebea</i> Kell. Emd. Deflandre	-	-	-	-	-	X
<i>Trachelomonas hispida</i> (Perty) Stein emend. Deflandre var. <i>hispida</i>	X	-	X	X	-	X
<i>Trachelomonas</i> cf. <i>lefevrei</i> Deflandre	-	-	-	X	X	-
<i>Trachelomonas oblonga</i> Lemmermann	-	-	-	X	X	X
<i>Trachelomonas raciborskii</i> Wolosz	-	-	-	-	X	-
<i>Trachelomonas robusta</i> Swirenko emd. Deflandre	-	-	-	X	-	-

<i>Trachelomonas sculpta</i> Balech	-	-	-	-	X	-
<i>Trachelomonas sidneyensis</i> Playfair var. <i>sidneyensis</i>	-	-	-	-	X	-
<i>Trachelomonas similis</i> Stokes	-	-	-	-	-	X
<i>Trachelomonas superba</i> Swirenko emend. Deflandre	X	X	X	-	-	-
<i>Trachelomonas</i> sp.	-	X	X	-	X	X
<i>Trachelomonas tuberculata</i> Middelhoek	-	-	-	-	-	X
<i>Trachelomonas volvocina</i> Ehrenberg	X	X	-	-	X	-
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Swirenko	X	X	X	X	X	X
Euglenidio incolor não identificado.	-	X	-	X	X	-
Euglenidio autotrófico não identificado.	-	-	-	X	-	X
Heteromita não indetificado.	X	-	-	-	-	-
<b>Gymnodiniales</b>						
<i>Amphidinium</i> sp.	-	-	-	-	-	X
<i>Glenodinium</i> sp.	-	X	-	-	-	-
<i>Gyrodinium</i> sp.	X	-	X	-	-	-
<i>Katodinium</i> sp.	X	X	X	-	-	-
<i>Katodinium</i> sp 1.	-	-	-	-	-	-
<b>Kinetoplastea</b>						
<i>Bodo caudatus</i> (Dujardin) Stein	X	X	X	X	X	X
<i>Bodo parvulus</i> Seckt	-	-	-	X	-	-
<i>Bodo</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Bodo</i> sp 2.	-	X	-	-	-	-
<i>Dinomonas</i> sp?	-	-	-	-	X	-
<i>Parabodo</i> sp?	-	-	-	X	X	-
<i>Rhychomonas</i> sp	X	X	X	X	X	X
Bodonidio não identificado.	-	-	-	-	-	X
<b>Peridinales</b>						
<i>Peridinium</i> sp.	X	X	X	-	-	-
<i>Peridinium cinctum</i> (Mueller) Ehrenberg	-	-	-	X	X	-
<b>Synurales</b>						
<i>Mallomonas</i> sp.	X	X	X	X	X	
<i>Synura</i> sp.	-	-	-	X	-	
<b>Volvocida</b>						
<i>Chlamydomonas</i> sp.	X	X	-	X	X	X
<i>Gonium pectorale</i> Mueller	-	-	X	-	-	-
<i>Pandorina morum</i> (Muller) Bory	-	X	X	-	-	-
<i>Polytomella</i> sp.	-	-	-	X	-	X
Chlamydomonadidae não identificado.	-	-	-	X	-	X
Volvocidae não identificado.	-	-	X	-	-	-
<b>Residual</b>						
<i>Rhipidodendron splendidum</i> Stein	-	-	-	X	-	X
<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	<b>43</b>	<b>33</b>	<b>54</b>	<b>49</b>	<b>53</b>

A análise de correspondência com remoção do efeito de arco não demonstrou uma separação evidente entre as regiões e nem entre os períodos (Fig. 3), no entanto, as análises de variância aplicadas aos escores dos eixos 1 e 2 da DCA evidenciaram a existência de diferenças significativas entre os períodos de verão e inverno para o eixo 2 da DCA (Tabela 4).

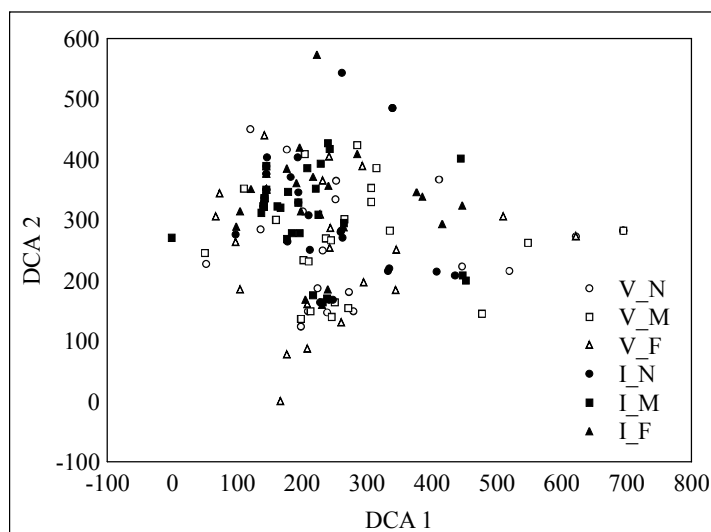


Figura 3: Distribuição dos escores ao longo dos dois primeiros eixos da DCA, baseada em dados de presença e ausência das espécies de protozoários flagelados com frequência de ocorrência superior a 5% em três regiões ao longo do curso dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno (Onde: V\_N: Nascente no verão; V\_M: Curso médio no verão; V\_F: Foz no verão; I\_N: Nascente no inverno; I\_M: Curso médio no inverno; I\_F: Foz no inverno).

Tabela 4: Autovalor dos eixos 1 e 2 da DCA e resultados das análises de variância bifatoriais aplicadas aos escores de cada eixo. \*Valores significativos ( $p < 0,05$ ).

Efeito	DCA 1		DCA 2	
	F	p	F	P
Regiões (Nascente, Curso médio e foz)	0,902	0,407	0,212	0,809
Período (Verão e Inverno)	3,455	0,064	9,951	0,001*
Regiões*Período	0,225	0,798	0,559	0,573
Autovalores	0,78		0,52	

### 3.3 - Riqueza de espécies

No inverno, os valores de riqueza de espécies variaram entre 1 e 22 táxons, sendo que os maiores valores foram registrados na nascente (Fig. 4). Já no verão, os valores de riqueza de espécies oscilaram entre 1 e 11 táxons e os maiores valores foram registrados no curso médio (Fig. 4). Contudo, a análise de variância evidenciou que a riqueza de espécies não se difere significativamente entre as regiões (g.l.=2;  $F=0,24$ ;  $p=0,785$ ), apenas entre os períodos de coleta (g.l.=;  $F=18,73$ ;  $p < 0,00001$ ).



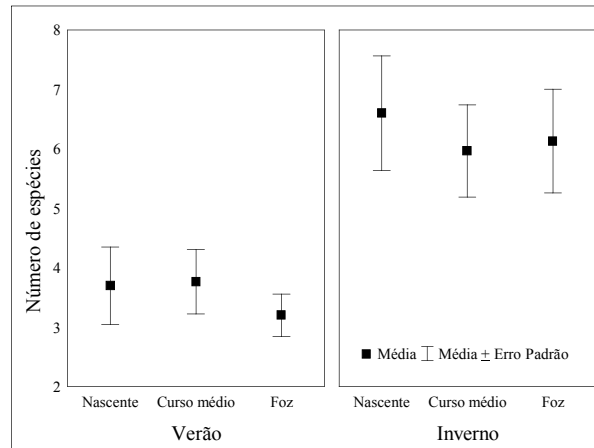


Figura 4: Riqueza de espécies de protozoários flagelados em três regiões ao longo do curso dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno.

### 3.4 - Densidade

De maneira geral, os valores de densidade total, bem como os valores de densidade dos autotróficos e dos heterotróficos foram maiores no curso médio dos riachos em ambos os períodos (Figs. 5a e 5b), com valores médios ao redor de  $2,3 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup>,  $3,0 \cdot 10^3$  cels.mL<sup>-1</sup> e  $2,0 \cdot 10^4$  cels.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Entretanto, a análise de variância demonstrou que a densidade total apresentou diferenças significativas apenas entre os períodos (g.l.=1; F=4,729; p=0,031). Quanto à densidade das frações, somente a densidade da fração autotrófica apresentou diferenças significativas entre as regiões (g.l.=2; F=3,143; p=0,04) e entre os períodos (g.l.=1; F=9,804; p=0,002), visto que, a densidade dos heterotróficos não se diferiu significativamente nem entre as regiões (g.l.=2; F=2,14; p=0,1205) e nem entre os períodos (g.l.=1; F=2,01; p=0,1582).

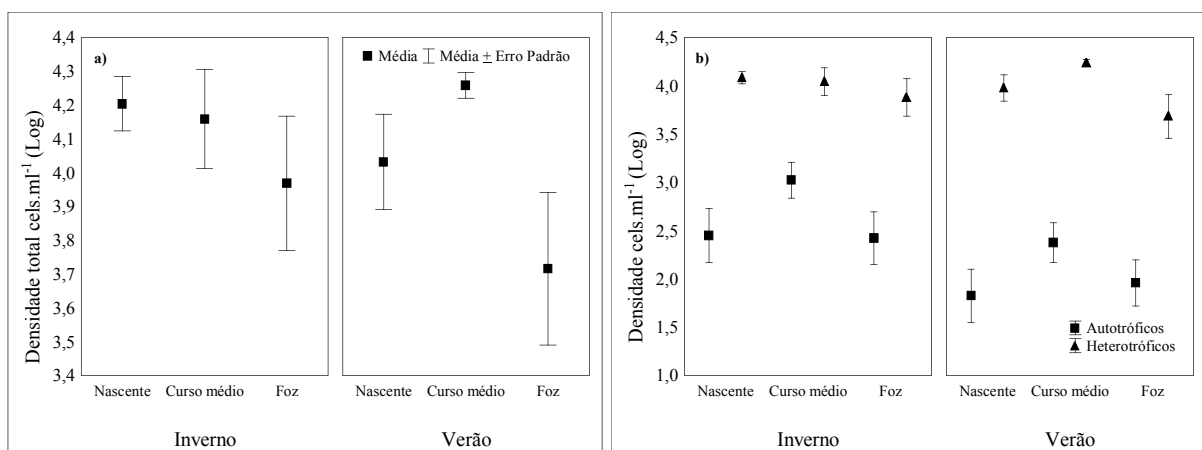


Figura 5: a) Densidade total da comunidade e b) Densidade dos nanoflagelados autotróficos e heterotróficos, em três regiões ao longo do curso dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno (média e erro padrão).

### 3.5 - Biomassa

Os maiores valores de biomassa total e também de biomassa dos autotróficos e dos heterotróficos, em geral, foram registrados no curso médio dos riachos em ambos os períodos estudados (Figs. 6a e 6b), com valores médios próximos de  $150,8 \mu\text{gC.L}^{-1}$ ,  $55,4 \mu\text{gC.L}^{-1}$  e  $106,7 \mu\text{gC.L}^{-1}$ , respectivamente. Entretanto, essa tendência não foi corroborada pelas análises de variância, uma vez que, a biomassa total (g.l.=1;  $F=23,72$ ;  $p=0,000002$ ), a biomassa dos autotróficos (g.l.=1;  $F=25,25$ ;  $p=0,000001$ ) e a biomassa do heterotróficos (g.l.=1;  $F=9,84$ ;  $p=0,002$ ) apresentaram diferenças significativas apenas entre os períodos estudados.

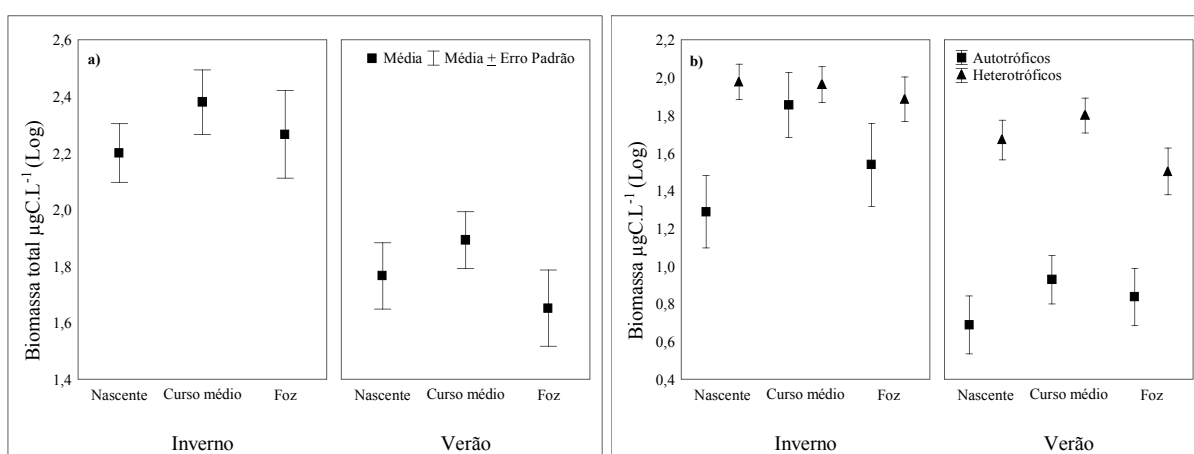


Figura 6: a) Biomassa total da comunidade e b) Biomassa dos nanoflagelados autotróficos e heterotróficos, em três regiões ao longo do curso dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno (média e erro padrão).

### 3.6 - Influência das variáveis abióticas sobre os padrões de distribuição dos flagelados

As correlações de Pearson realizadas entre os atributos da comunidade de protozoários flagelados e os escores da análise de componentes principais estão apresentadas na tabela 5. De maneira geral, as correlações de Pearson evidenciaram que a temperatura da água, a condutividade elétrica e a concentração de nutrientes foram as variáveis abióticas mais importantes para a determinação da variação espacial e temporal dos atributos da comunidade de protozoários flagelados.

Tabela 5: Correlações de Pearson realizadas entre os atributos da comunidade de protozoários flagelados e os escores da análise de componentes realizada para sumarizar as variáveis abióticas dos riachos estudados, durante os períodos de verão e inverno. \*Valores significativos ( $p < 0,05$ ).

Variáveis	PCA1		PCA 2		PCA 3		PCA 4	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>Densidade</b>	-0,20*	0,017	0,05	0,544	-0,06	0,397	0,08	0,259
<b>Biomassa</b>	0,12	0,121	0,22*	0,003	-0,11	0,159	-0,08	0,278
<b>Riqueza</b>	0,06	0,461	-0,28*	0,000	-0,08	0,275	0,17*	0,023
<b>Composição</b>	-0,03	0,684	0,19*	0,011	-0,31*	0,000	-0,20*	0,006

#### 4.0 - DISCUSSÃO

A comunidade de protozoários flagelados dos riachos estudados apresentou uma composição bastante rica, com a ocorrência de 8 ordens e um grupo residual. A ordem Euglenida foi a responsável por essa grande riqueza, pois contribuiu com 65% do total das espécies identificadas. O grande sucesso desses organismos nos riachos estudados pode ser atribuído às atividades humanas desenvolvidas na região, visto que, os euglenídeos são considerados indicadores de ambientes antropizados (JANH, 1946; PALMER, 1969), por causa de suas preferências por ambientes ricos em matéria orgânica, amônia e com alta demanda bioquímica de oxigênio (JANH, 1946; ROUND, 1983; WETZEL, 1993; REYNOLDS *et al.*, 2002).

Os padrões de composição e riqueza de espécies encontrados nos riachos estudados se diferem bastante dos padrões encontrados por outros autores em muitos rios e lagos de região temperada. Em geral, nesses ambientes o número de espécies registrado é bem inferior e a ordem Chrysomonadida é a mais representativa nesses estudos. Além disso, *Spumella* spp é a espécie mais comumente encontrada por esses autores (ARNDT e MATHES, 1991; LUGO *et al.*, 1998; AUER e ARNDT, 2001; DOMAIZON *et al.*, 2003; WEITERE e ARNDT, 2003; LAVRENTYEV *et al.*, 2004; COMTE *et al.*, 2006; TIKHONENKOV e MAZEI, 2006; TIKHONENKOV e MAZEI, 2008).

Além disso, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a riqueza e a composição de espécies não apresentaram diferenças conspícuas e significativas entre as regiões dos riachos, somente entre os períodos estudados, assim, a primeira hipótese desse estudo deve ser refutada, pois estes atributos apresentaram apenas alterações sazonais, que provavelmente, podem estar associadas tanto à variação sazonal das variáveis abióticas, quanto às interações com os demais componentes das cadeias microbianas.

Segundo as correlações de Pearson, a variação temporal da riqueza de espécies esteve diretamente associada à variação temporal das concentrações de nutrientes, visto que, as maiores riquezas foram registradas concomitantemente as maiores concentrações de nutrientes, sobretudo de nitrato. O efeito positivo dos nutrientes sobre a riqueza de protozoários flagelados nunca foi registrado, porém, inúmeros estudos demonstraram esse efeito sobre a densidade ou biomassa desses organismos (PACE e FUNKE, 1991; WEISSE 1991; SANDERS *et al.*, 1992; GASOL *et al.*, 1995; HWANG e HEATH, 1997).

Da mesma maneira, a composição de espécies também apresentou apenas alterações sazonais, dentre estas, destacam-se o aumento da contribuição da ordem Euglenida e a diminuição da contribuição das ordens Chromulinales, Gymnodyniales e Peridiniales em todas as regiões durante o período inverno. Com base nas correlações de Pearson, as prováveis causas dessa maior contribuição da ordem Euglenida no inverno são os maiores valores de fosfato, nitrato e oxigênio dissolvido que podem ter favorecido esses organismos nesse período.

Em contraste, no verão uma série de características desfavoráveis do meio, tais como pH mais ácido, menor disponibilidade de oxigênio e maiores temperaturas podem ter reduzido a dominância da ordem euglenida e assim, permitindo a maior ocorrência de outras ordens nesse período. Esses resultados são fortalecidos pelo fato da baixa disponibilidade de oxigênio e altas temperaturas serem consideradas por muitos autores os principais fatores limitantes da comunidade de protozoários flagelados (JANH, 1946; FENCHEL 1986; FENCHEL e FINDLAY, 1995; ARNDT *et al.*, 2000).

Quanto aos padrões de abundância dessa comunidade, os resultados encontrados permitem inferir que os valores de densidade e biomassa observados encontram-se acima dos valores comumente registrados em outros ambientes lóticos. Nestes ambientes, os valores de densidade e biomassa variam entre 0,0059 e  $11.10^3$  cel.mL<sup>-1</sup> (CARLOUGH e MEYER, 1989; BASU e PICK, 1997; LAIR *et al.*, 1999; WEITERE e ARNDT, 2003; PICARD e LAIR, 2005) e entre 0,49 e 54,6 µC.L<sup>-1</sup> (CARLOUGH e MEYER, 1989; LAIR *et al.*, 1999; JOAQUIM-JUSTO, 2006), respectivamente.

Assim como foi verificado para a composição e riqueza de espécies, não foi detectado nenhum padrão de distribuição longitudinal para a densidade e biomassa dessa comunidade, sendo observadas apenas alterações sazonais destes atributos. Entretanto, a densidade da fração autotrófica apresentou diferenças significativas entre as regiões estudadas, com maiores valores ocorrendo no curso médio dos riachos.

Embora se tenha verificado diferenças significativas para a densidade da fração autotrófica e também tendências de maiores valores para os demais atributos no curso médio dos riachos, os resultados obtidos no presente estudo conduzem à rejeição da segunda hipótese predita neste estudo, visto que, a comunidade não apresentou diferenças conspícuas e significativas entre as regiões dos riachos estudados.

Com base nas correlações de Pearson, pode-se inferir que o padrão temporal observado para a abundância foi desencadeado principalmente pela disponibilidade de fosfato, nitrato, oxigênio dissolvido e temperatura da água, dado que, as maiores abundâncias foram verificadas durante o período de inverno, concomitantemente aos maiores valores de fosfato, nitrato, oxigênio dissolvido e as menores temperaturas.

Muitos estudos têm demonstrado que o incremento da disponibilidade de nutrientes provoca o aumento da densidade e da biomassa da comunidade de protozoários flagelados (PACE e FUNKE, 1991; WEISSE 1991; SANDERS *et al.*, 1992; GASOL 1993; GASOL *et al.*, 1995; HWANG e HEATH, 1997), pois promove a ampliação de seus recursos alimentares (bactérias e nanofitoplâncton). Além disso, conforme discutido a pouco, muitos autores consideram a temperatura da água e a disponibilidade de oxigênio os principais fatores limitantes desses organismos, desse modo, as menores temperaturas aliadas à maior disponibilidade de oxigênio dissolvido podem ter favorecido esse incremento da abundância durante o período de inverno (JANH, 1946; FENCHEL 1986; FENCHEL e FINDLAY, 1995; ARNDT *et al.*, 2000).

Essa ausência de padrões longitudinais nítidos para os atributos da comunidade de protozoários deve estar associada ao transporte passivo dos nanoflagelados ao longo do curso dos riachos. Entretanto, é extremamente difícil diagnosticar precisamente quais os fatores (migração ativa, transporte passivo, presença de predadores e concentração de recursos alimentares, entre outros) são responsáveis pelos padrões de distribuição espacial dessa comunidade, pois eles podem atuar conjuntamente.

Em suma, o presente estudo pode fornecer importantes informações para o planejamento do monitoramento de riachos de pequeno porte, visto que, a partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que não é necessário amostrar muitos pontos ao longo do curso de riachos de pequeno porte, uma vez que, não existem diferenças entre as regiões.

## 5.0 - REFERÊNCIAS

---

- ARNDT, H., and J. MATHES, 1991. Large heterotrophic Flagellates form a significant part of protozooplankton biomass in lakes and rivers. - *Ophelia* **33**: 225-234.
- ARNDT, H., 1993: Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) - a review. - *Hydrobiologia* **255**: 231-246.
- ARNDT, H., D. DIETRICH and B. AUER, 2000: Functional diversity of heterotrophic flagellates in aquatic ecosystems. *In*: LEADBEATER, B.S.C. and J. C. GREEN, (eds), *The Flagellates*. Taylor & Francis, London: 240-268.
- AUER, B. and H. ARNDT, 2001: Taxonomic composition and biomass of heterotrophic flagellates in relation to lake trophy and season. - *Freshw. Biol.* **46**: 959-972.
- AZAM, F., T. FENCHEL, J. G. FIELD, J. S. GRAY, L. A. MEYER-REIL and F. THINGSTAD, 1983: The ecological role of water column microbes in the sea. - *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **10**: 257-263.
- BASU, B. K and F. R. PICK, 1997: Factors related to heterotrophic bacterial and flagellate abundance in temperate rivers. - *Aquat. Microb. Ecol.* **12**: 123-129.
- CARLOUGH, L. and J. L. MEYER, 1989: Protozoans in two southeastern blackwater rivers and their importance to trophic transfers. - *Limnol. Oceanogr.* **34**: 163-177.
- COMTE, J., S. VIBOUD, D. FONTVIELLE, A. MILLERY, G. PAOLINI AND I. DOMAIZON, 2006: Microbial community structure and dynamics in Largest Natural French Lake (Lake Bourget). - *Microb. Ecol.* **52**: 72-89.
- DOMAIZON, I., S. VIBOUD and D. FONTVIELLE, 2003: Taxon-specific and seasonal variations in flagellates grazing on heterotrophic bacteria in the oligotrophic Lake Annecy – importance of mixotrophy. - *Microb. Ecol.* **46**: 317-329.
- FENCHEL, T., 1982: Ecology of heterotrophic flagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. - *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **9**: 35-42.
- FENCHEL, T., 1986b: Protozoan filter feeding. - *Progr. Protis.* **1**: 65-113.
- FENCHEL, T. and B. J. FINDLAY, 1995: *Ecology and evolution in anoxic Worlds*. Oxford University Press, Oxford, 276pp.
- GASOL J. M., 1993: Benthic Flagellates and ciliates in fine freshwater sediments: calibration of a live counting procedure and estimation of their abundances. - *Microb. Ecol.* **25**: 247-262.
- GASOL, J. M., A. M. SIMONS and J. KALFF, 1995: Patterns in the top-down versus bottom-up regulation of heterotrophic flagellates in temperate lakes. - *J. Plankton Res.* **17**: 1879-1903.

- GILLER, P. S. and B. MALMQVIST, 1998: The biology of streams and rivers. Oxford University Press, New York, 296pp.
- GOLTERMAN, H. L., R. S. CLYMO, and M. A. M. OHMSTAD, 1978: Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. Blackwell Scientific, Oxford, 214pp.
- HAMMER, Ø., D. A. T. HARPER and P. D. RYAN, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9 p. Disponível em: [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- HWANG, S. J., and R. T. HEALTH, 1997: The distribution of protozoa across a trophic gradient, factors controlling their abundance and importance in the plankton food web. - *J. Plankton Res.*, **19**: 491-518.
- JACKSON, D. A., 1993: Stopping rules in principal components analysis: Comparison of heuristical and statistical approaches. - *Ecology* **74**: 2204-2214.
- JANH, T. D., 1946: The Euglenoid Flagellates. *Q. Rev. Biol.* **21**: 246-274.
- JOAQUIM-JUSTO C., S. PIRLOT, L. VIROUX, P. SERVAIS, J-P. THOMÉ and J-P. DESCY, 2006: Trophic links in the lowland River Meuse (Belgium): assessing the role of bacteria and protozoans in planktonic food webs. - *J. Plankton Res.* **28**: 857-870.
- JÜRGENS, K., J. M. GASOL, R. MASSANA and C. PEDROS-ALIO, 1994: Control of heterotrophic bacteria and protozoans by *Daphnia pulex* in the epilimnion of Lake Ciso. - *Arch. Hydrobiol.* **131**: 55-78.
- LAIR N., V. JACQUET, P. REYES-MARCHANT, 1999: Factors related to autotrophic potamoplankton, heterotrophic protist, and micrometazoan abundances, at two sites in a lowland temperate river during low water flow. - *Hydrobiologia*, **394**: 13-28.
- LAVRENTYEV, P. J., M. J. MCCARTHY, D. M. KLARER, F. JOCHEM and W. S. GARDNER, 2004: Estuarine microbial food web patterns in a lake Erie Coastal wetland. - *Microb. Ecol.* **48**: 567-577.
- LEE, J. J., G. F. LEEDALE, and P. BRADBURY, 2000: Illustrated guide to the Protozoa, 2nd Edition. Society of Protozoologists, Kansas, 1475pp.
- LUGO, A., J. ALCOCER, M. DEL R. SANCHEZ and E. ESCOBAR, 1998: Littoral protozoan assemblages from two Mexican hyposaline lakes. - *Hydrobiologia* **381**: 9-13.
- MCCUNE, B. and M. J. MEFFORD, 1999: Pc-Ord. Multivariate analysis of ecological data, version 4.01. MjM Software. - Glenden Blach, Oregon, 126pp
- PACE, M. L. and E. FUNKE, 1991. Regulation of planktonic microbial communities by nutrients and herbivores. - *Ecology*, **72**: 904-914.

- PALMER, C. P. 1969: A composite rating of algae tolerating organic pollution. - *J. Phycol.* **5**: 78-82.
- PERUÇO, J. D., 2004: Identificação das principais fontes poluidoras de afluentes da bacia do alto rio Pirapó. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, 63pp.
- PETTS, G. E., 2000: A perspective on the abiotic processes sustaining the ecological integrity of running waters. - *Hydrobiologia.* **422/423**: 15-27.
- PICARD, V. and N. LAIR, 2005: Spatio-temporal investigations on the planktonic organisms of the Middle Loire (France), during the low water period: biodiversity and community dynamics. - *Hydrobiologia*, **551**: 69-86.
- ROUND, F., 1983: *Biologia das Algas*. 2 ed. Ed. Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 263pp.
- REYNOLDS, C. S., V. HUSZAR, C. KRUK, L. NASELLI-FLORES and S. MELO, 2002: Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. - *J. Plankton Res.* **24**: 417-428.
- SANDERS, R.W., K. G. PORTER, S. J. BENNETT and A. E. DEBIASE, 1989: Sazonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers, and cladocerans in a freshwater planktonic community. - *Limnol. Oceanogr.* **34**: 673-687.
- SANDERS, R. W., D. A. CARON and U-G. BERNINGER, 1992. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. - *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **86**:1-14.
- SCHWARZBOLD, A., 2000: O que é um rio? *Ciência & Ambiente*, **21**: 57-68.
- SHERR, E B. and B. F. SHERR, 1992: Trophic roles of pelagic protists: phagotrophic flagellates as herbivores. - *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **37**: 165-172
- SHERR, E. B. and B. F., SHERR, 1993: Preservation and storage of samples for enumeration of heterotrophic protist. *In*: KEMP, P. F., B. F. SHERR, E. B. SHERR and J. J. COLE. *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, London, 207-212.
- SIMEK, K., P. HARTMAN, J. NEDOMA, J. PERNTHALER, D. SPRINGMANN, J. VRBA and R. PSENNER, 1997: Community structure, picoplankton grazing and zooplankton control of heterotrophic nanoflagellates in a eutrophic reservoir during summer phytoplankton maximum. - *Aquat. Microb. Ecol.* **12**: 49-63.
- SIMEK, K., A. J. ARMENGOL, M. COMERMA, J. C. GARCIA, T. H. CHRZANOWSKI, P. KOJECKÁ, M. MACEK, J. NEDOMA and V. STRASKRABOVÁ, 1999: Impacts of protistan grazing on bacterial dynamics and composition in reservoirs of different trophic. - *Theoret. Reserv. Ecol. and its Applic.* 267-282.



- STANFORD, J. A. and J. V. WARD, 1993: An ecosystem perspective of alluvial rivers: connectivity and the hyporheic corridor. - *J. Nor. Amer. Benthol. Soc.* **12**: 48-60.
- STATSOFT INC., 1996. Tulsa: Statistica. 3v.
- STRAHLER, A. N. 1957: Quantitative analysis of watershed geomorphology. - *Trans. Am. Geophys. Union* **38**: 913-920.
- THORP, J., M. C. THOMS and M. D. DELONG, 2006: The riverine ecosystem synthesis: biocomplexity in river networks a cross space and time. - *River Res. Appl.* **22**: 123-147.
- TIKHONENKOV, D. V. and MAZEI, Y. A., 2006: Distribution of heterotrophic flagellates at the litoral Estuary of Chernaya River (Kandalaksha Bay, White Sea). - *Russ. J. Mar. Biol.* **32**: 276-283.
- TIKHONENKOV, D. V. and MAZEI, Y. A., 2008: Heterotrophic flagellate biodiversity and community structure in freshwater streams. - *Inl. Wat. Biol.* **2**: 129-133.
- TRANVIK, L. J., E. B. SHERR and B. F. SHERR, 1993: Uptake and utilization of colloidal DOM by heterotrophic flagellates in seawater. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **92**: 301-309.
- VANNOTE, R. L., G. W. MINSHALL, K. W. CUMMINS, J. R. SEDELL and C. E. GUSHING, 1980: The river continuum concept. - *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **37**: 130-137.
- WARD, J. V. 1989a: The four-dimensional nature of lotic systems. - *J. Nor. Amer. Benthol. Soc.* **8**: 2-8.
- WARD, J. V. and K. TOCKNER, 2001: Biodiversity: towards a unifying theme for river ecology. - *Freshw. Biol.* **46**: 807-819.
- WEISSE, T., 1990: Trophic interactions among heterotrophic microplankton, nanoplankton, and bacteria in Lake Constance. - *Hydrobiologia*, **191**: 111-122.
- WEISSE, T., 1991: The microbial food web and its sensitivity to eutrophication and contaminant enrichment: a cross-system overview. - *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **76**: 327-337.
- WEITERE, M. and H. ARNDT, 2003: Structure of the heterotrophic flagellate community in water column of the River Rhine (Germany). - *Euro. J. Protist.* **39**: 287-300.
- WETZEL, R. G. and G. E. LIKENS, 1991: *Limnological Analyses*. Springer-Verlag, New York, 391pp.
- WETZEL, R. G., 1993: *Limnologia*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. 905pp.
- XU, M., H. CAO, P. XIE, D. DENG, W. FENG and J. XU, 2005: The temporal and spatial distribution, composition and abundance of Protozoa in Chaohu Lake, China: Relationship with eutrophication. - *Euro. J. Protist.* **4**: 269-276.

ZAGATTO, E. A. G., A. O. JACINTHO, B. F. REIS, F. J. KRUG, H. BERGAMIN-FILHO, L. C. R. PESSEDA, J. MORTATTI and M. F. GINÉ, 1981: Manual de análise de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. CENA/USP, Piracicaba, 45pp.