

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

LUCIANA CARAPUNARLA

**Efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e a
influência na biomassa perifítica**

Maringá
2019

LUCIANA CARAPUNARLA

Efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e a influência na biomassa perifítica

Tese 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 Doutor em Ecologia e Limnologia.

Área de concentração: Ecologia e Limnologia

Orientadora: Prof. ^a Dr.^a Liliana Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Sidinei Magela Thomaz

Maringá
2019

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

C261e Carapunarla, Luciana, 1985-
Efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e a influência na biomassa perifítica/ Luciana Carapunarla. -- Maringá, 2019.
42 f. : il. (algumas color.).
Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2019.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Liliana Rodrigues.
Coorientador: Prof. Dr. Sidinei Magela Thomaz

1. Invasões biológicas – Ecologia. 2. Comunidades, Ecologia de – Perifiton de água doce. 3. Comunidades, Ecologia de – Macrófitas. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -577.18
NBR/CIP - 12899 AACR/2

LUCIANA CARAPUNARLA

Efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e a influência na biomassa perifítica

Tese 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 Doutor em Ecologia e Limnologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Liliana Rodrigues
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof.^a Dr.^a Jascieli Bortolini
Universidade Federal de Goiás (UFG)

Prof. Dr. André Andrian Padial
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFPR)

Prof. Dr. Carlos Moacir Bonato
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Dr. Márcio José Silveira
Universidade Estadual de Maringá (PEA/UEM)

Aprovada em: 27 de março de 2019.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

Dedico este trabalho aos meus pais e à minha avó Nena.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de doutorado.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA) da Universidade Estadual de Maringá, agradeço todo o suporte. Às secretárias Aldenir, Bete e Jocemara, muito obrigada por todo suporte e apoio.

Aos funcionários do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia), sempre solícitos, muito obrigada pela ajuda, compreensão, dúvidas sanadas e apoio nos experimentos. Não escreverei todos os nomes para não cometer o erro de me esquecer de alguém, agradecerei a todos pelo nome do Sebastião Rodrigues, o Tião, pessoa fundamental para os experimentos do doutorado. Aos bibliotecários Maria Salete e João, sempre dispostos a ajudar.

À Professora Mara Lane do Departamento de Farmácia da Universidade Estadual de Maringá e seu aluno, Éverton Santos, que me ajudaram nas análises dos compostos fenólicos. Ao Laboratório de Limnologia do Nupélia pela ajuda as análises limnológicas.

Aos amigos que me ajudaram nos experimentos, Andressa, Bianca, Felipe, Maria Gabriela, Sue Ellen e Ubirajara. Aos membros da banca, que prontamente aceitaram esse convite e dispuseram-se a ler o trabalho e participar dessa etapa da minha formação.

Gostaria também de agradecer à todas as pessoas que ajudaram direta ou indiretamente para que eu pudesse fazer o doutorado. O processo de doutoramento envolve inúmeras pessoas, muita ajuda, muito apoio, muita compreensão, muita calma e muito amor de todos aqueles que estão ao nosso redor. Poder agradecer a todos aqueles que me ajudaram é a parte mais importante de todo esse processo.

Gostaria de agradecer à minha família. Meus pais, eles que são a minha fortaleza, a minha base, e parafraseando Djavan são meu “ouro de mina”. Se cheguei até aqui o mérito também é de deles, eles me ensinaram, me amaram, me apoiaram e me suportaram. Agradeço também ao meu irmão e minha cunhada. Aos meus sobrinhos Gabriel e Beatriz, agradeço o amor e peço desculpas pela ausência constante. Na minha família estou cercada de mulheres fortes, minhas tias Cecília, Alzira, Maria e Neuza, a força delas me inspira! E a mais forte de todas as mulheres é a minha avó, Dona Nena, que sempre me disse para continuar estudando e toda vez que me vê pergunta quando eu vou me “formar”. “A hora está chegando, Vó!”

Além da família de sangue, temos a família que escolhemos, os nossos amigos, e quanto a isso, sou uma pessoa de muita sorte. Agradeço a todos pelo apoio, motivação, abraços

e colo nas mais diversas horas. Aos de fora da Universidade, aos de dentro, aos de hoje e aos que me acompanham pela vida toda, muito obrigada! Agradeço a Carla, minha amiga de infância que faz parte da minha vida até hoje. À Val, com quem tive a honra de dividir esse ciclo da minha vida. Agradeço também à Maria do Carmo, nossa Du, por ter me ensinado tanto, e em tantos aspectos, por sempre ter me estendido a mão, serei eternamente grata! Agradeço ao Luis pela companhia em parte dessa caminhada.

Dentre os amigos que tenho, alguns eu conheci na sala 08 do bloco G-90, algumas me acompanham desde a época do mestrado, Vanessa, Natália e Iraúza, outros conheci no doutorado, todos com grande importância na minha formação e vida, Andressa, Aparecida, Bárbara, Daiane, Érika, Helivânia, Maria Gabriela, Marina, Nicolli, Paulo e Ubirajara, aprendi muito com todos. Nicolli, a melhor companheira de viagens do mundo, de uma graça cativante, serei eternamente grata por tudo! Andressa, com a nossa sincronia de pensamentos e companheirismo para me ajudar no experimento.

À Maria Gabriela e Ubirajara (leiam com letras douradas em papel bonito), eles foram fundamentais, me fizeram rir, me fizeram chorar de tanto rir, me fizeram parar de chorar, me ajudaram nos experimentos, me ajudaram na vida, me tiraram do tédio, são os meus grandes companheiros do mundo GF, de piadas internas, de apelidos, de Afonsos e de Tabuleiros. Não tenho palavras para expressar a importância de vocês (#Nativos) durante todos os dias desses quatro anos.

Aos professores que me direcionaram para o caminho da ciência e das algas, Mauro Parolim e Cynthia B. Furstemberger, agradeço por me apresentarem esse mundo maravilhoso e me inspirarem como professores. Agradeço também ao professor Dr. Sidinei M. Thomaz, que aceitou me coorientar durante o doutorado.

Por último, e com certeza, não menos importante, agradeço à minha orientadora, Liliana Rodrigues, que aceitou mais uma vez a difícil missão de me orientar. Ela não é apenas uma orientadora nos assuntos acadêmicos, ela orienta para a vida, com ela aprendi não apenas sobre perifiton, algas e ecologia, aprendi sobre a vida. Ela me apoiou nos momentos mais difíceis, sempre tentando me entender quando nem eu me entendia, ela que me conhece só de olhar. Lica, serei sempre grata!

“Vou mostrando como sou
E vou sendo como posso,
Jogando meu corpo no mundo,
Andando por todos os cantos
E pela lei natural dos encontros
Eu deixo e recebo um tanto
E passo aos olhos nus
Ou vestidos de lunetas,
Passado, presente,
Participo sendo o mistério do planeta”

(Antonio Pires e Luis Galvão)

Efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e a influência sobre a biomassa perifítica

RESUMO

A existência do efeito de vizinhança pode afetar a produção de compostos alelopáticos pelas plantas, o que é um benefício no processo de invasão biológica. Os ambientes de água doce são os mais ameaçados pelas invasões biológicas e as macrófitas aquáticas têm destaque entre os organismos invasores. As macrófitas, juntamente com o perifíton, são importantes produtores nos sistemas aquáticos e na ciclagem de nutrientes e de energia para os próximos níveis tróficos. Para testar o efeito de vizinhança entre macrófitas e a influência no perifíton aderido à elas, realizou-se um experimento utilizando as macrófitas *Egeria najas* Planch (nativa) e *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle (não nativa). Analisou-se a concentração de polifenóis e a biomassa das macrófitas, a concentração de clorofila-*a*, peso seco total (PST), peso seco livre de cinzas (PSLC), índice autotrófico e porcentagem de cinzas do perifíton. Os resultados indicaram que existe efeito de vizinhança entre as macrófitas pois a espécie nativa produziu maior concentração de polifenóis totais que a espécie não nativa, que, em contrapartida, aumentou a biomassa. Houve diferença significativa no PST e PSLC do perifíton durante o experimento. Com isso, há indícios de que produção de compostos alelopáticos pelas macrófitas pode afetar a produtividade e a porção orgânica da matriz perifítica. Observou-se que o mecanismo que beneficia a invasão da espécie não nativa, contrariando a literatura, não é a alelopatia, e sim a alocação de recursos para o crescimento e dispersão.

Palavras-chave: Alelopatia. Desenho experimental. *Egeria najas*. Invasão. *Hydrilla verticillata*. Plantas aquáticas.

Neighborhood effect between native and non-native aquatic macrophytes and the influence on periphytic biomass

ABSTRACT

The neighborhood effect may affect the production of allelopathic compounds by plants, which is a benefit in the process of biological invasion. Freshwater environments are most threatened by biological invasions and aquatic macrophytes are prominent among invasive organisms. Macrophytes together with the periphyton, are important producers in the aquatic systems, they have importance in the cycling of nutrients and energy for the next trophic levels. Was performed an experiment to test the neighborhood effect between *Egeria najas* Planch (native) and *Hydrilla verticillata* (L.f) Royle (non-native), was analyzed the productivity according to the concentration of chlorophyll-a, total dry weight (PST), and ash-free dry weight (PSLC), also calculating autotrophic index and ash percentage. Results indicated a neighborhood effect, since native species invested in defense (higher polyphenolic production) while non-natives invested in growth (higher relative biomass). Concerning to the periphyton, PST and PSLC differed between the first and the last days of the experiment. Differentially from the discussed in the recent literature, that allelopathy is not the primary mechanism used by *H. verticillata* during the invasion process, but resource allocation. Indeed, the production of allelopathic compounds by natives is a factor against the invasion by non-native, but it can also affect the productivity of the organic portion of the periphytic matrix. In addition, was observed that the mechanism that benefits the invasion of the non-native species, contrary to the literature, is not allelopathy, but the allocation of resources for growth and dispersal.

Keywords: Allelopathy. Aquatic plants. experimental design. *Egeria najas*. Invasion. *Hydrilla verticillata*.

Tese elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Biological Invasions*.

Disponíveis em:

https://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10530?detailsPage=pltc_i_1060750

SUMÁRIO

1	EFEITO DE VIZINHANÇA ENTRE MACRÓFITAS AQUÁTICAS NATIVA E NÃO NATIVA E A INFLUÊNCIA SOBRE A BIOMASSA PERIFÍTICA	12
1.1	INTRODUÇÃO.....	12
1.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
1.2.1	Delineamento experimental.....	15
1.2.2	Amostragem das macrófitas e análise dos compostos fenólicos	16
1.2.3	Amostragem do perifíton.....	18
1.2.4	Análise dos dados	19
1.3	RESULTADOS	19
1.3.1	Macrófitas aquáticas e concentração de polifenóis totais.....	19
1.3.2	Perifíton	21
1.4	DISCUSSÃO	26
	REFERÊNCIAS.....	30
	APÊNDICE A - Fotos do experimento	35
	APÊNDICE B - Nutrientes do experimento por aquário	36
	APÊNDICE C - Variáveis limnológicas do experimento por aquário	37
	APÊNDICE D - Regressão simples para estimativa da área das macrófitas.....	38
	APÊNDICE E - Resultado do LSD de Fisher para PST.....	39
	APÊNDICE F - Resultado do LSD de Fisher para PST	40
	APÊNDICE G - Índice autotrófico do perifíton por réplica.....	40
	APÊNDICE H - Classificação do perifíton pela porcentagem de cinzas por réplica.....	41

1 EFEITO DE VIZINHANÇA ENTRE MACRÓFITAS AQUÁTICAS NATIVA E NÃO NATIVA E A INFLUÊNCIA SOBRE A BIOMASSA PERIFÍTICA

1.1 INTRODUÇÃO

As plantas, tanto terrestres quanto aquáticas, são capazes de produzir metabólitos secundários, que são substâncias utilizadas para a proteção contra patógenos, na competição por recursos e para a aptidão delas nos ecossistemas (Van der Fits e Memelink 2000; Bourgaud et al. 2001), parte desses compostos produzidos pode ter efeito alelopático, ou seja, tem potencial de prejudicar ou beneficiar outras plantas ou microrganismos (Rice 1977; Gross et al. 2007). O termo “alelopatia” foi cunhado por Molisch em 1937, e definido por ele, adaptada por Rice 1977, como “interações bioquímicas, benéficas ou prejudiciais, entre todas as classes de plantas, incluindo microrganismos”.

A presença de compostos alelopáticos (polifenóis) pode afetar a capacidade de uma planta competir ou aumentar a capacidade competitiva com as outras plantas (Elakovich 1989; Hyder et al. 2002; An 2005) e organismos vizinhos (Gross et al. 1996; Hilt e Gross 2008; Gao et al. 2011; Gutierrez e Mayora 2015). O efeito de vizinhança que ocorre entre espécies de um determinado ambiente, pode influenciar o desenvolvimento delas no local que elas co-ocorrem (Callaway e Aschehoug 2000). Esse efeito é bem estudado em plantas terrestres, principalmente envolvendo espécies invasoras, associando competição e facilitação entre elas (Callaway 2002; Callaway e Ridenour 2004). No contexto das invasões, as espécies invasoras, sem os inimigos naturais que as mantêm sob controle, podem utilizar todo o seu potencial competitivo (Callaway e Aschehoug 2000), dentre eles o potencial alelopático, produzindo compostos que são novos no local da invasão (Callaway e Ridenour 2004). Então, além de não ter seus inimigos naturais, as plantas não nativas ainda apresentam substâncias novas no ambiente invadido, podendo apresentar nocividade as comunidades locais (Callaway e Ridenour 2004; Carapunarla em prep.).

O Efeito de vizinhança, bem conhecido em plantas terrestres, passou a ser estudado em plantas aquáticas na última década (Bagousse-Pinguet et al. 2012; Thouvenot et al. 2019). Quando tratamos das macrófitas aquáticas, parte dos compostos alelopáticos produzidos foram descritos em alcaloides, terpenóides, polifenóis e flavonoides (McClure 1970 *apud*; Elakovich e Wooten 1995). Dentre esses, os polifenóis, e seus efeitos nas comunidades aquáticas, são mais amplamente estudados (Leu et al. 2002; Zhang et al. 2010; Kurashov et al. 2014). Efeitos negativos de polifenóis produzidos por espécies invasoras em potenciais competidores nativos

podem explicar o sucesso de invasão (Grutters et al. 2017; Santoja et al. 2018). Nos ambientes aquáticos, as macrófitas têm destaque entre os organismos invasores (Schultz e Dibble 2012; Sousa 2011).

Algumas características das macrófitas podem favorecer a sua invasão, são elas, o tipo de reprodução, o potencial de dispersão e a produção de substâncias alelopáticas pela planta (Thomaz e Esteves 2011; Schultz e Dibble 2012). Apesar do impacto sobre a diversidade de macrófitas nativas, os efeitos de uma espécie invasora são complexos, pois a mesma pode alterar a estrutura física do *habitat* levando a alteração na composição e densidade de outras comunidades aquáticas, na qualidade da água e ainda diminuir a diversidade local (Ricciardi e MacIsaac 2011). Os ecossistemas de água doce são os mais invadidos por espécies não nativas em todo o mundo (Jenkins 2003; Ricciardi e MacIsaac 2011) e estas introduções são consideradas ameaças aos ambientes naturais e a biodiversidade (Agostinho et al 2005; Vilà et al. 2011), causando alterações nas populações, comunidades e ecossistemas (Cox, 1999; Ricciardi e MacIsaac 2011). Vilà et al. (2010) mostrou que espécies com alto poder de invasão podem impactar comunidades e o ecossistema local. Entender como esses impactos afetam as comunidades locais ainda é uma lacuna nos estudos de invasão, principalmente quando os impactos são sobre a produtividade dos ambientes (Vilà et al. 2010).

As macrófitas, juntamente com a comunidade perifítica, são importantes estruturadores dos ambientes aquáticos (Algarte et al. 2017), são produtores e atuam na ciclagem de nutrientes (De Kluijver et al. 2015; Périllon e Hilt 2016). A comunidade perifítica é composta por todos os organismos vivos que vivem firme ou frouxamente aderidos a qualquer substrato submerso (Wetzel 1983), dentre eles, algas, protozoários, microcrustáceos, macroinvertebrados, fungos, bactérias e rotíferos. As algas têm o papel de produtores no perifiton, por meio da fotossíntese são capazes de fixar dióxido de carbono e produzir moléculas orgânicas, parte desse carbono é incorporado à biomassa e pode ser passado para os próximos níveis tróficos (Felisberto e Murakami 2013). O perifiton pode ser classificado pela concentração de clorofila-*a*, peso seco (Watanabe 1990) e por meio de índices calculados por essas estimativas (Lakatos 1989). Esse tipo de abordagem pode indicar a biomassa perifítica e a disponibilidade de recursos para os sistemas (Fernandes e Esteves 2003).

Existe uma escassez nos trabalhos sobre o potencial alelopático das macrófitas aquáticas (Elakovich e Woten 1995). Esse tipo de pesquisa continua escasso até os dias atuais, principalmente relacionando o efeito de vizinhança entre espécies de macrófitas nativas e não nativas, alelopatia, invasão e o efeito em outras comunidades (Thouvenot et al. 2019). Nesse trabalho, foram escolhidas duas macrófitas aquáticas submersas para testar o efeito de

vizinhança, elucidar o processo de invasão e os efeitos no perifíton. A espécie nativa é *Egeria najas* Planch e a não nativa *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle (Tabela 1).

Tabela 1: Características das macrófitas utilizadas no estudo

	<i>Egeria najas</i>	<i>Hydrilla verticillata</i>
Família	Hydrocaritaceae ^a	Hydrocaritaceae ^b
Tipo biológico	Submersa ^a	Submersa ^b
Origem	América do Sul ^a	Ásia ^b
Morfologia		
Status de invasão	Nativa ^a	Não nativa ^b
Habitat	Ambientes lênticos e dulcícolas ^a	Ambientes dulcícolas, com preferência a ambientes com menor corrente e pouco sombreados ^b
Órgãos de resistência	Ausentes ^a	Turião axilar ou subterrâneo ^{b,d}
Estudos sobre alelopatia	Apenas um ^e	Vários ^{e; f; g; h}
Potencial alelopático	Pouco conhecido ^e	Fungos ^g , algas ^{e;h;i} , outras macrófitas ^f e outras plantas ^{j;k}
Potencial de invasão	Baixo	Alto ^d
Em quais continentes podem ser encontradas	Apenas América do Sul ^a	África, Américas, Ásia, Europa e Oceania ^l

^a Cook e Urmi-König (1984); ^b Cook e Löünd (1982); ^c Desenho de Eduardo Cunha Ribeiro; ^d Sousa (2011); ^e Carapunarla et al. (em prep.); ^f Thouvenot et al. 2019; ^g Hipskind et al. 1992; ^h Gao et al. 2011; ⁱ Ji et al. (2015); ^j Woodward et al. (1974); ^k Hofstra et al. (1999); ^l Silveira e Thomaz (2019).

Com base nos conhecimentos sobre produção de compostos alelopáticos, efeito de vizinhança e invasões de macrófitas, foram levantadas as seguintes hipóteses: i) há o efeito de vizinhança entre macrófitas aquáticas nativa e não nativa e afeta a concentração de compostos fenólicos produzidos por elas. Assim, espera-se que sob efeito de vizinhança, a macrófita não nativa aumente a produção de polifenóis totais; ii) caso haja alteração na produção de fenóis com vizinhos, espera-se que esse efeito se reflita no perifíton. A expectativa é que aumente

fenóis da não nativa, diminuindo produtividade de perifíton, mas mantendo biomassa orgânica independente de um possível efeito de vizinhança.

1. 2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 Delineamento experimental

Esse estudo foi desenvolvido de forma experimental, em duas etapas, a primeira, em tanques de 1000L para crescimento das macrófitas, e a segunda, em aquários de 30L. Ambas etapas foram realizadas na Base Avançada de Pesquisas da Universidade Estadual de Maringá (UEM) em Porto Rico – PR entre os meses de setembro e dezembro de 2015. Na primeira etapa, para crescimento das macrófitas, foram plantadas mudas das plantas (*E. najas* e *H. verticillata*) em vasos com areia e matéria orgânica. Cada vaso continha 100g de matéria orgânica, 200g de areia e foi plantado um ramo terminal de aproximadamente 15 cm de planta, sem brotos laterais (Silveira et al. 2009). As plantas foram retiradas de ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná. Os ramos foram previamente lavados para retirada do material aderido e após a lavagem, plantados. O mesmo procedimento foi feito para ambas as plantas. Os vasos contendo as mudas foram colocados em tanques, montados em três combinações, foram elas: a) contendo apenas *H. verticillata*; b) contendo *E. najas* e *H. verticillata*; e c) contendo apenas *E. najas*. Os tanques foram enchidos previamente com água do rio Paraná não filtradas para a entrada de propágulos do perifíton e colonização das plantas. As mudas foram mantidas nos tanques por, aproximadamente, 60 dias para crescimento das plantas (Apêndice 1). As plantas foram plantadas em vasos distintos, cada planta em um vaso, foi excluído os efeitos das raízes sendo que o foco do trabalho era a parte aérea da planta e que a produção de compostos e interação pelas raízes desse tipo de planta não foram significativos em outros trabalhos.

Após o período nos tanques, as plantas foram transportadas para aquários previamente cheios com água do rio Paraná filtrada em rede de plâncton de 68µm e filtrada novamente com rede de 25µm de abertura de malha, com a finalidade de não inserir a comunidade planctônica nos tratamentos. Foram montados quatro diferentes tratamentos, cada tratamento com cinco réplicas, foram eles: A) Apenas *E. najas*; B) *E. najas* e *H. verticillata* que cresceram em tanques distintos para verificar um efeito agudo; C) *E. najas* e *H. verticillata* que cresceram no mesmo tanque, para verificar um efeito crônico; D) Apenas *H. verticillata* (Figura 1). Em cada aquário foram colocados quatro vasos de macrófitas para padronizar a densidade. Nos tratamentos B e C, com *E. najas* e *H. verticillata*, colocamos dois vasos de cada espécie. Nos tratamentos A e D, os controles, foram colocados 4 vasos com plantas da mesma espécie.

O experimento, após sua montagem nos aquários, teve a duração de sete dias, tempo suficiente para o perifiton responder a mudanças ambientais (Algarte et al. 2013). Durante todo o experimento, desde a montagem dos aquários até o último dia, diariamente, foram monitoradas as variáveis físicas e químicas (temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH) (Apêndice 2). As concentrações de nitrogênio e fósforo totais também foram mensuradas nos dias zero, quatro e sete, de acordo com a metodologia apresentada em Roberto et al. (2009) (Apêndice 3). Essas medições foram necessárias para saber se as condições abióticas estavam estáveis em todos os tratamentos.

1.2.2 Amostragem das macrófitas e análise dos compostos fenólicos

O material das duas espécies de macrófitas (talos e folhas) foi retirado dos aquários, lavado para retirar os organismos aderidos, secos em temperatura ambiente e posteriormente encaminhados para a extração e quantificação dos polifenóis totais. Os extratos foram feitos a partir de amostras compostas das cinco réplicas, as macrófitas da mesma espécie de cada tratamento foram agrupadas para que houvesse peso seco suficiente para a extração e quantificação dos compostos fenólicos (Singleton e Rossi 1965), e as leituras feitas em triplicatas (Rahman et al. 2018).

Para a extração dos polifenóis totais foi utilizada a metodologia de turboextração com solvente metanol 99,8%. Foram realizadas três extrações consecutivas de 10 minutos cada, até o esgotamento do material, em seguida o extrato foi filtrado e concentrado em rotoevaporador sem ultrapassar a temperatura de 40°C (Hoscheid et al. 2013). Essa temperatura foi mantida para evitar a degradação de compostos voláteis (Hoscheid et al. 2013). Os compostos extraídos foram armazenados em frascos apropriados em temperatura negativa (Hoscheid et al. 2013). A quantificação dos compostos fenólicos produzidos pelas plantas nos diferentes tratamentos foi utilizada a metodologia de Foulín-Ciocalteau (Singleton e Rossi 1965) e medidos em espectrofotômetro (UV – 1650PC Shimadzu) (Singleton e Rossi 1965) e foram validados e quantificados em gramas de pirogalol.

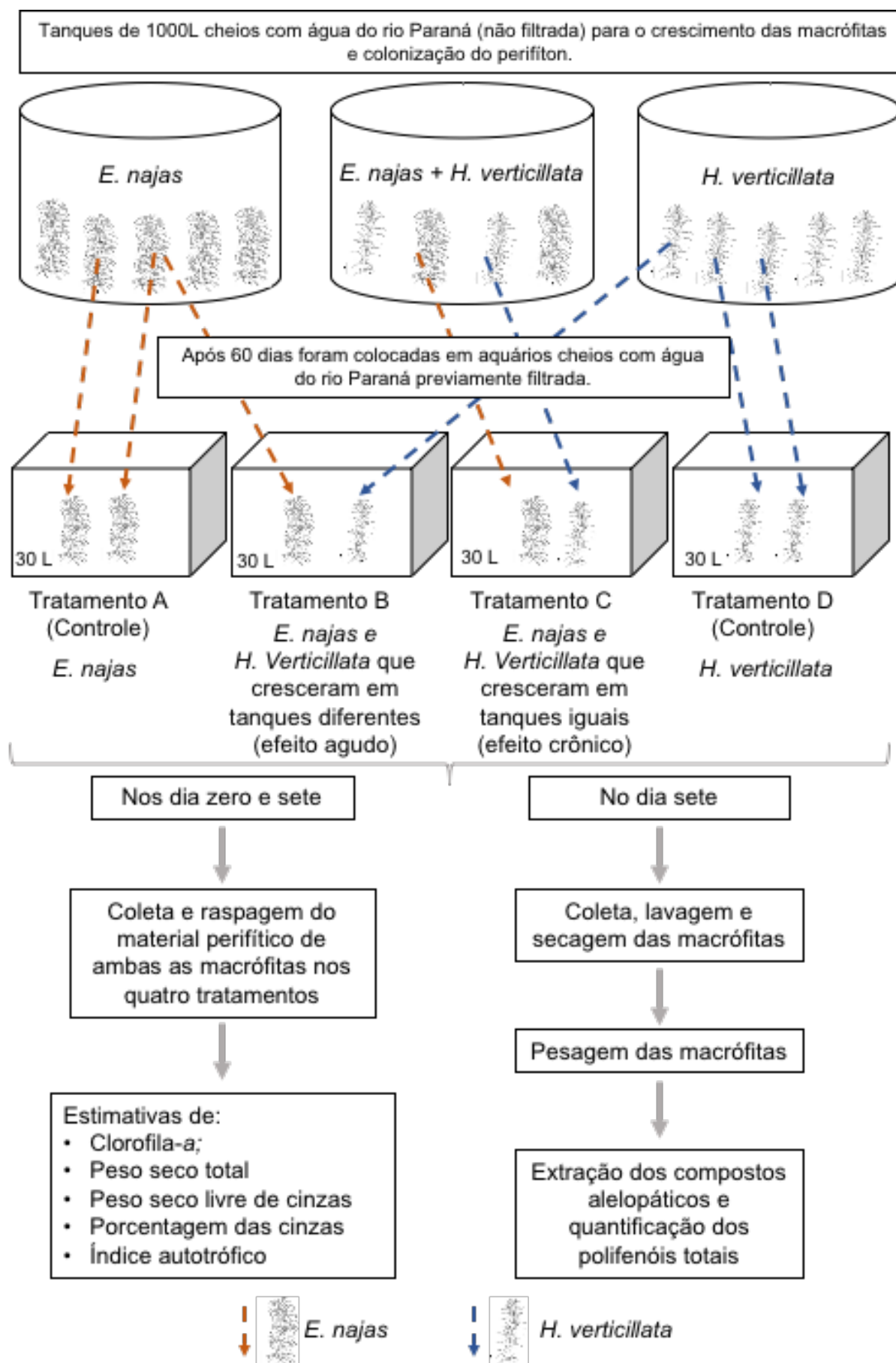


Figura 1: Esquema do experimento.

1.2.3 Amostragem do perifíton

Como dito anteriormente, o experimento, após sua montagem nos aquários, teve a duração de sete dias, com coletas do material perifítico, das folhas e talos de *E. najas* e *H. verticillata*, nos dias zero e sete. A parte apical da planta foi descartada e fragmentos de 4 cm foram raspados. O material perifítico foi removido dos substratos (*E. najas* e *H. verticillata*) com auxílio de pincel e jatos de água destilada. O perifíton retirado foi utilizado para estimativas de clorofila-*a* e peso seco. Após as raspagens, foram filtrados em bomba de vácuo com filtro de fibra de vidro, o material foi armazenado e mantido a -20°C conforme a metodologia de Schwarzbald (1990). Para as análises bióticas utilizamos quatro réplicas.

A estimativa da concentração de clorofila-*a* do perifíton foi feita por meio da maceração dos filtros em ambiente escuro, utilizou-se acetona 90% para a extração, e a leitura foi feita em espectrofotometria (Golterman et al. 1978). O peso seco foi estimado em balança de precisão, os filtros utilizados foram secos e pesados previamente. Após a filtração o material foi seco a 65°C por 48 horas, pesado por gravimetria para a obtenção do peso seco total (PST), colocado em mufla a 460°C por mais quatro horas para queimar toda a matéria orgânica, novamente pesado por gravimetria para a estimativa do peso seco das cinzas (PSC), porção inorgânica do peso seco. A porção orgânica do peso seco é calculada a partir da diferença entre o PST e o PSC e é chamado de peso seco livre das cinzas (PSLC).

O cálculo e a classificação do índice autotrófico (IA) seguiram Lakatos (1989) (Tabela 2). O índice é calculado a partir da razão entre o PSLC (mg/m^2) e a concentração de clorofila-*a* (mg/m^2). Para a classificação do perifíton entre orgânico e inorgânico foi utilizada a classificação e metodologia de Lakatos (1989), onde a porcentagem das cinzas é calculada a partir do PST (Tabela 3).

Para a estimativa da área raspada da macrófita, foi feita uma regressão a partir dos pesos secos das plantas. O modelo foi obtido por meio de uma regressão simples, realizada no Software Statistica (Statsoft Inc. 2005). Ao todo 20 fragmentos de cada espécie de macrófita, retirados da mesma população utilizada no experimento, tiveram as áreas medidas com a ajuda do software Image-Pro, após a medição das áreas as plantas foram secas e o modelo para ambas as espécies foi feito (Apêndice 4).

Tabela 2: Classificação do perifíton a partir da razão entre peso seco livre de cinzas e concentração de clorofila-*a* (Lakatos 1989)

Grupo	Classificação do perifíton	PSLC/Chl-a
I	Perifíton tipo autotrófico	> 0,60
II	Perifíton tipo auto-heterotrófico	0,25 - 0,60
III	Perifíton tipo hetero-autotrófico	0,10 - 0,25
IV	Perifíton tipo heterotrófico	< 0,10

Tabela 3: Classificação do perifíton a partir do conteúdo de cinzas (Lakatos 1989)

Grupo	Classificação do perifíton	Cinzas (%)
I	Perifíton inorgânico	>75
II	Perifíton inorgânico-orgânico	50–75
III	Perifíton orgânico-inorgânico	25–50
IV	Perifíton orgânico	<25

1.2.4 Análise dos dados

Para testar a primeira hipótese foram realizados teste-t de Student par a par para verificar se existiu diferença entre as médias das concentrações de polifenóis totais das duas macrófitas nos diferentes tratamentos e entre as diferentes macrófitas em cada tratamento. Antes de realizar os testes, os pressupostos foram verificados.

O teste da segunda hipótese do trabalho foi realizado por análises de variância de medidas repetidas (ANOVA-RM). Os dados de concentração de clorofila-*a*, PSLC e PST foram transformados por raiz quadrada para atenderem os pressupostos das análises, os valores de IA e porcentagem de cinzas não precisaram ser transformados. Foram realizados testes *post-hoc* LSD de Fisher para verificar quais tratamentos se diferenciaram (Williams e Abdi 2010). Todos os pressupostos das análises foram testados. Todas as análises foram realizadas no Software Statística (Statsoft Inc. 2005)

1.3 RESULTADOS

1.3.1 Macrófitas aquáticas e concentração de polifenóis totais

O rendimento da extração dos polifenóis totais variou entre as plantas nos diferentes tratamentos (Tabela 4). *Egeria najas* teve um rendimento maior na extração que *H. verticillata*. Nos tratamentos A e D (controle) a Espécie *E. najas* apresentou maior peso seco quando comparada com *H. verticillata*. Nos tratamentos B e C, com efeito de vizinhança entre as macrófitas, *Hydrilla verticillata* apresentou maiores valores de peso seco que *E. najas*.

Tabela 4: Rendimento da extração, peso seco da planta e peso do extrato em gramas. * o valor por planta foi feito a partir da divisão do peso total pelo número de plantas de cada espécie encontrado em cada tratamento.

Amostra	Peso Seco	Por planta *	Peso Extrato	Rendimento %
A-EN	8,90	2,22	0,84	9,48
B-EN	3,25	1,62	0,27	8,23
C-EN	3,33	1,66	0,25	7,45
B-HV	3,58	1,79	0,22	6,24
C-HV	3,46	1,73	0,23	6,73
D-HV	6,36	1,59	0,33	5,23

Houve diferença nas médias dos polifenóis produzidos pelas plantas entre todos os pareamentos feitos (Tabela 5). Quando comparamos a média dos compostos de *E. najas*, houve aumento da produção de compostos fenólicos nos tratamentos B e C em relação ao controle, tratamento A, sendo o tratamento B que apresentou maiores valores, todas as diferenças foram significativas. Para *H. verticillata*, também houve diferença em todas as médias da concentração de polifenóis totais, com maiores valores no tratamento controle (D) e menores valores no tratamento C (Figura 2).

Tabela 5: Resultado dos testes-t pareados entre as plantas nos diferentes tratamentos e nas diferentes plantas no mesmo tratamento. Onde, GL: Graus de liberdade; A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D.

	t-Student	GL	P
A_EN*B_EN	-4,05	4	0,01
A_EN*C_EN	-17,56	4	< 0,01
A_EN*D_HV	-35,05	4	< 0,01
D_HV*B_HV	-35,05	4	< 0,01
D_HV*C_HV	28,20	4	< 0,01
B_EN*B_HV	-10,01	4	< 0,01
C_EN*C_HV	10,11	4	< 0,01

Nas comparações entre as plantas, *H. verticillata* (tratamento D) apresentou maior concentração de polifenóis do que *E. najas* (tratamento A). Para o tratamento B, que as plantas cresceram em lugares distintos e foram colocadas juntas *H. verticillata* diminuiu a concentração média e *E. najas* aumentou, mas ao final dos 7 dias *H. verticillata* ainda manteve maiores concentrações médias que *E. najas*. No tratamento C, no qual as plantas cresceram juntas e foram mantidas juntas, o padrão foi invertido, com maior concentração média de polifenóis totais para *E. najas* e menores para *H. verticillata* (Figura 2).

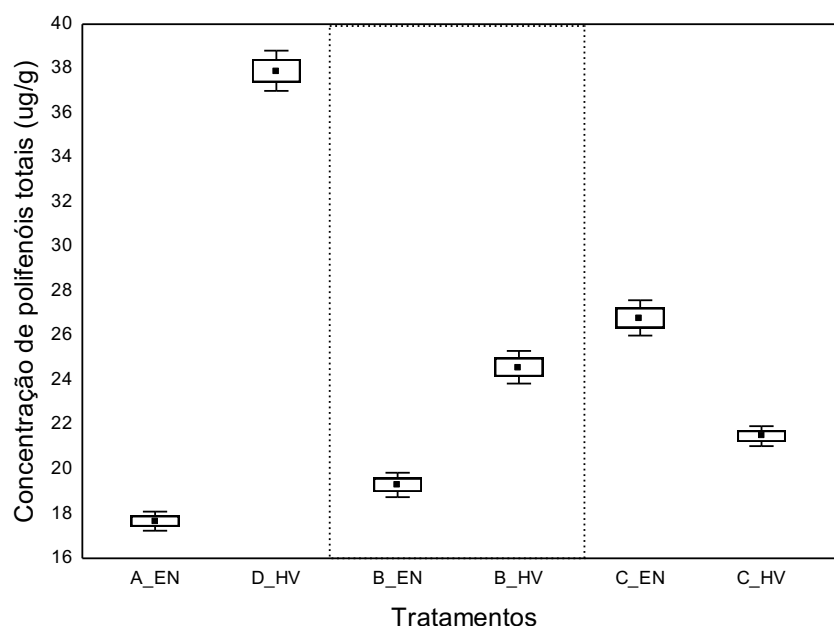


Figura 2: Concentração de polifenóis totais nas duas macrófitas nos diferentes tratamentos. Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D. ■ Média; Box: Média $\pm$ Erro padrão; Whisker: Média $\pm$ Desvio padrão.

1.3.2 Perifiton

Não houve diferença significativa nas concentrações de clorofila-*a* entre os tratamentos e os dias (Tabela 6). O que se percebeu foi uma tendência a aumentos de valores no tratamento A e diminuição do tratamento D durante os 7 dias. No tratamento B, onde as plantas foram colocadas juntas após o período de crescimento, a concentração de clorofila-*a* do perifiton na planta *E. najas* diminuiu em relação ao primeiro dia, diferente do que aconteceu com o perifiton aderido a planta *H. verticillata*, que aumentou. No tratamento C, a biomassa associada a ambas as macrófitas aumentaram no último dia (Figura 3).

Tabela 6: Resultados da ANOVA-RM com os dados da concentração de clorofila-*a* do perifiton. Onde, SS: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MS: soma dos quadrados médios.

	SS	GL	MS	F	P
Intercepto	2257,73	1	2257,73	534,43	< 0,01*
Tratamentos	17,54	5	3,51	0,83	0,54
Erro	76,04	18	4,22		
Dias	0,05	1	0,05	0,03	0,87
Dias*tratamentos	10,81	5	2,16	1,13	0,38
Erro	34,51	18	1,92		

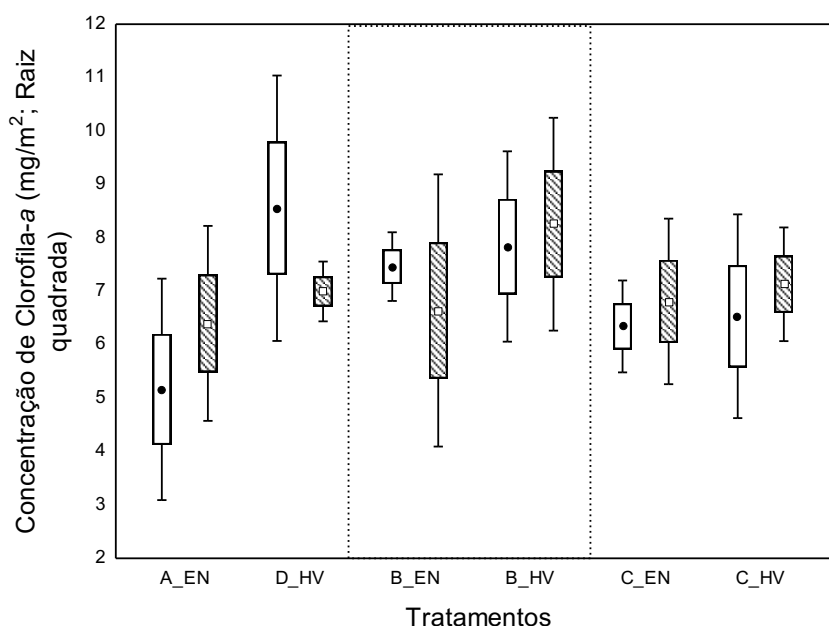


Figura 3: Gráfico das concentrações de clorofila-a do perifiton nos diferentes tratamentos e dias. Dia zero (*box* vazias) e dia sete (*box* listradas). Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D; ■ Média; Box: Média ± Erro padrão; Whisker: Média ± Desvio padrão.

O PST do perifiton também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, mas apresentou diferenças significativas entre os dias (Tabela 7). O resultado do teste de *post-hoc* de LSD de Fisher mostrou diferenças entre os dias zero e sete do tratamento C para ambas as macrófitas (Apêndice 5). O tratamento B e C seguiram a tendência diferente dos tratamentos controles, com aumento do PST entre os dias zero e sete, para ambas as plantas. Os controles apresentaram inversão no PST, com diminuição no material aderido a *H. verticillata* e aumento do material aderido a *E. najas* entre os dias zero e sete (Figura 4).

Tabela 7: Resultados da ANOVA-RM com os dados de peso seco total do perifiton. Onde, SS: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MS: soma dos quadrados médios.

	SS	GL	MS	F	P
Intercepto	1098,53	1	1098,53	211,67	< 0,01*
Tratamentos	32,71	5	6,54	1,26	0,32
Erro	93,41	18	5,19		
Dias	18,18	1	18,19	12,02	< 0,01*
Dias*tratamentos	16,89	5	3,38	2,23	0,09
Erro	27,24	18	1,51		

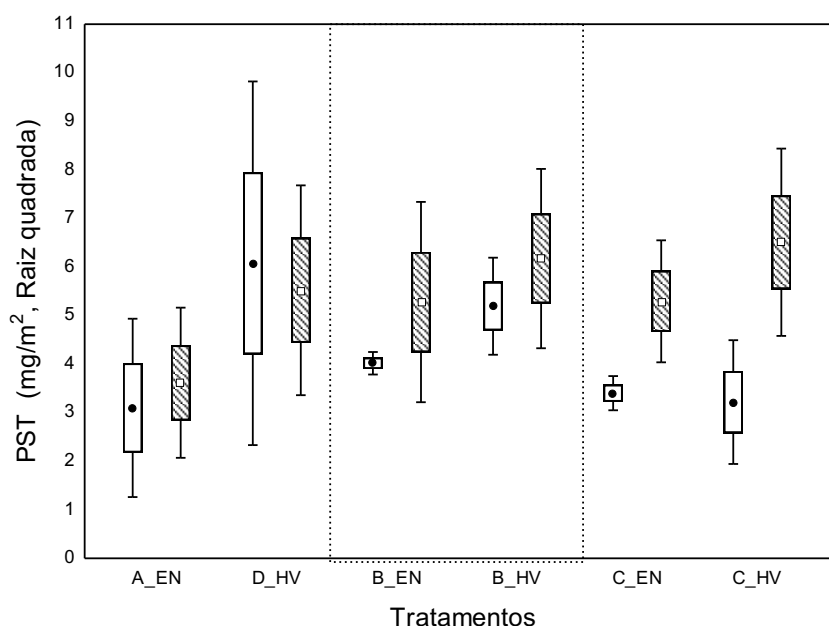


Figura 4: Peso seco total nos diferentes tratamentos e dias. Dia zero (*box* vazias) e dia sete (*box* listradas). Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D; ■ Média; *Box*: Média $\pm$ Erro padrão; *Whisker*: Média $\pm$ Desvio padrão.

O PSLC, porção orgânica do perifíton, apresentou diferenças significativas apenas entre os dias (Tabela 8). O teste *post hoc* LSD de Fisher indicou diferenças significativas entre o dia zero e sete para os tratamentos A e D, também indicou diferença significativa entre os tratamentos B e D do perifíton aderido à *H. verticillata* no dia 7 (Apêndice 6). A porção orgânica da matriz perifítica aumentou em todos os tratamentos, exceto no tratamento D, no qual houve um decréscimo do PSLC entre os dias (Figura 5).

Tabela 8: Resultados da ANOVA-RM com os dados do peso seco livre de cinzas do perifíton. Onde, SS: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MS: soma dos quadrados médios.

	SS	GL	MS	F	P
Intercepto	837,30	1	837,30	288,87	< 0,01*
Tratamentos	22,60	5	4,52	1,56	0,22
Erro	52,17	18	2,90		
Dias	12,70	1	12,70	12,41	< 0,01*
Dias*tratamentos	7,57	5	1,51	1,48	0,25
Erro	18,43	18	1,02		

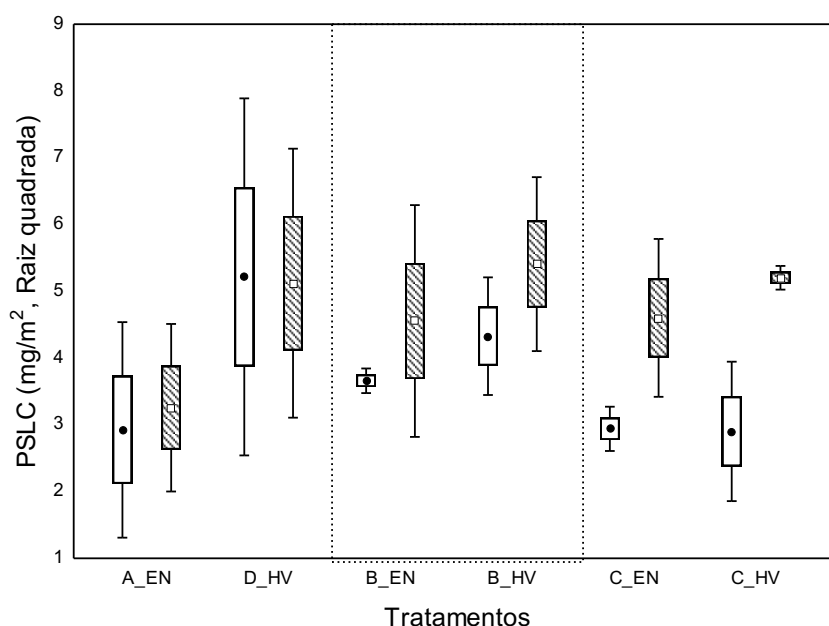


Figura 5: Peso seco livre de cinzas nos diferentes tratamentos e dias. Dia zero (*box* vazias) e dia sete (*box* listradas). Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D; ■ Média; *Box*: Média $\pm$ Erro padrão; *Whisker*: Média $\pm$ Desvio padrão.

Quanto ao índice autotrófico do perifíton (Apêndice 7), no tratamento C houve mudança no IA do perifíton de ambas as comunidades, passando de heterotrófico-autotrófico para autotrófico-heterotrófico. Esse padrão se repetiu para a macrófita *E. najas* do tratamento B. Os demais tratamentos/plantas permaneceram autotrófico-heterotrófico (Figura 6). Mesmo com essa mudança no padrão no IA não houve diferenças significativas entre os tratamentos, apenas entre os dias (tabela 9). A única macrófita que apresentou diminuição no IA foi *E. najas* no tratamento A.

Tabela 9: Resultados da ANOVA-RM com os dados do índice autotrófico do perifíton. Onde, SS: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MS: soma dos quadrados médios.

	SS	GL	MS	F	P
Intercepto	6,74	1	6,74	122,90	< 0,01*
Tratamentos	0,15	5	0,03	0,56	0,73
Erro	0,99	18	0,05		
Dias	0,40	1	0,40	12,53	< 0,01*
Dias*tratamentos	0,25	5	0,05	1,59	0,21
Erro	0,57	18	0,03		

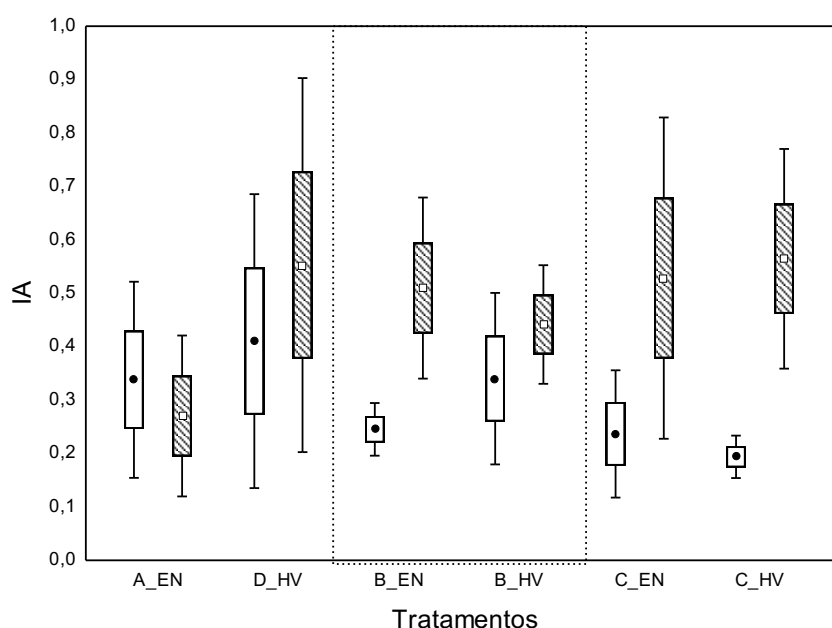


Figura 6: Índice autotrófico nos diferentes tratamentos e dias. Dia zero (*box* vazias) e dia sete (*box* listradas). Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D; ■ Média; Box: Média $\pm$ Erro padrão; Whisker: Média $\pm$ Desvio padrão.

A natureza do perifiton foi considerada em sua maioria orgânica, o único tratamento que apresentou padrão diferente foi o tratamento B na macrófita *H. verticillata* no dia zero. Esse tratamento mudou a natureza no sétimo dia e apresentou natureza orgânica, diferente do encontrado no dia zero que foi classificado como orgânico-inorgânico (Apêndice 8). Não houve diferença significativa entre os tratamentos e os dias para a porcentagem de cinzas do perifiton (Tabela 10), porém podemos perceber um aumento na porcentagem de cinzas em *E. najas* do tratamento B e uma diminuição na porcentagem de cinzas da planta *H. verticillata*, indicando o aumento do material inorgânico aderido ao substrato (Figura 7).

Tabela 10: Resultados da ANOVA-RM com os dados da porcentagem de cinzas do perifiton. Onde, SS: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MS: soma dos quadrados médios.

	SS	GL	MS	F	P
Intercepto	18213,95	1	18213,95	49,12	< 0,01*
Tratamentos	973,67	5	194,73	0,53	0,75
Erro	6674,14	18	370,79		
Dias	30,93	1	30,93	0,22	0,64
Dias*tratamentos	779,68	5	155,94	1,11	0,39
Erro	2517,65	18	139,87		

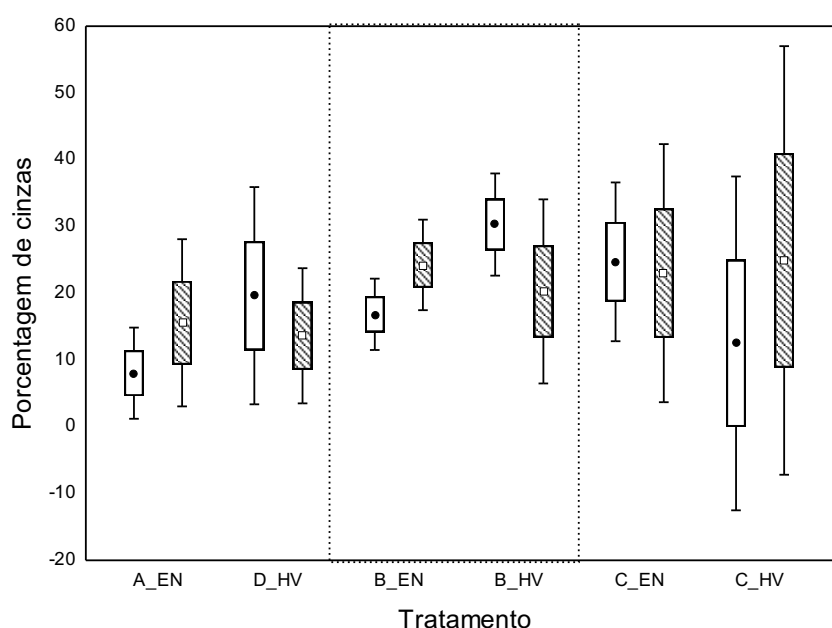


Figura 7: Porcentagem de cinzas nos diferentes tratamentos e dias. Dia zero (*box* vazias) e dia sete (*box* listradas). Onde: A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D; ■ Média; Box: Média $\pm$ Erro padrão; Whisker: Média $\pm$ Desvio padrão.

1.4 DISCUSSÃO

A primeira hipótese nula do trabalho foi rejeitada, pois houve diferença entre as médias na concentração de compostos fenólicos totais entre as macrófitas nos diferentes tratamentos. Os resultados indicaram que há um efeito de vizinhança entre essas macrófitas, pois quando as macrófitas das duas espécies são colocadas juntas existe uma alteração na concentração de polifenóis totais em relação aos tratamentos controle. A segunda hipótese nula, sobre a produtividade do perifíton, foi parcialmente rejeitada. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos nos dois dias analisados para clorofila-*a* e IA e porcentagem de cinzas, apenas para PST e PSLC que houve diferença significativa entre alguns tratamentos entre os dias.

A alteração na produção de polifenóis totais e no peso seco das macrófitas pode ser explicado por uma alteração na alocação de recursos pela planta. *Egeria najas*, quando colocada junto com *H. verticillata*, produziu maior concentração de polifenóis totais e diminuiu o peso seco, inverso do encontrado para *H. verticillata*. *Egeria najas* alocou recursos para a produção de metabólitos secundários e *H. verticillata* para a produção de metabólitos primários. O resultado obtido corrobora com o encontrado por Rivoal et al. (2011) e Thouvenot et al. (2019), demonstraram que, sob competição, as macrófitas alteram a alocação de recursos entre

metabolismo primário e secundário. Isto pode ser visto pela diferença do peso seco das plantas quando isoladas e quando juntas.

O aumento do peso seco de *H. verticillata* é importante no processo de dispersão dessa planta, é sabido que ela se reproduz por fragmentação (Sousa 2011; Umetsu et al. 2012), logo, quanto mais biomassa ela produzir, mais fragmentos consegue dispersar. Os resultados foram o contrário do esperado. *Egeria najas*, que produz maior concentração de polifenóis totais, é uma melhor competidora por recursos que a *H. verticillata*. Com isso, podemos sugerir um processo de resistência biótica envolvendo essas duas plantas, pois é percebido no local do estudo a não ocupação por *H. verticillata* nos locais onde *E. najas* está bem estabelecida, como no caso dos ambientes lânticos (Sousa 2011). Silveira e Thomaz (2019) demonstraram que *H. verticillata* e espécies do gênero *Egeria* coocorrem menos que o esperado ao acaso, devido a semelhança na obtenção de nutrientes e competição entre essas espécies, eles indicaram que *H. verticillata* não afetou a ocorrência das espécies nativas do gênero *Egeria*. Os resultados obtidos indicaram que *E. najas* é uma melhor competidora por recursos, e *H. verticillata* uma melhor dispersora.

Do ponto de vista da ecologia de invasões e do efeito de vizinhança, a macrófita nativa apresenta maiores concentrações de polifenóis totais do que a espécie não nativa, dados também encontrados por Carapunarla et al. (em prep.). Grutters et al. (2017) não encontraram evidências de que macrófitas não nativas produzam mais compostos fenólicos que as nativas. Esses resultados contradizem o pressuposto de invasão, onde com melhor potencial invasor, como é o caso da *H. verticillata*, produzem mais compostos alelopáticos, isto beneficia na competição por recursos no ambiente invadido (Callaway e Aschehoug 2000; Fleming e Dibble 2015). Este trabalho demonstrou o contrário, indicando que o sucesso da invasão de *H. verticillata* no ambiente é devido à sua plasticidade (Cook e Löünd 1982; Sousa 2011; Umetsu et al. 2012) e capacidade de mudar a alocação de recursos.

O perífiton sofre influência direta do substrato ao qual está aderido, pelo tipo de substrato, da estruturação do *habitat* e das condições ambientais (Felisberto e Murakami 2013). Neste experimento, as condições ambientais foram controladas e não houve diferença na disponibilidade de recursos nos diferentes tratamentos e réplicas. As macrófitas escolhidas pertencem à mesma família e apresentam a mesma estruturação de *habitat*. Com isso essas variáveis foram controladas e o perífiton sofreu influência apenas do substrato ao qual estava aderido, através dos compostos alelopáticos produzidos por elas.

O tratamento que apresentou maiores concentrações de clorofila-*a*, PST e PSLC do perífiton foi o D, e o com menores valores desses atributos foi o A. Isso pode ser explicado pela

composição de algas encontrada nessas macrófitas. Estudo realizado por Mormul et al. (2010) demonstrou que sobre *E. najas* cresce uma grande densidade de diatomáceas, essas algas apresentam baixo teor de clorofila-*a*, e sobre *H. verticillata* há uma abundância maior de algas verdes ou cianobactérias, que apresentam maiores concentrações de clorofila-*a*. O trabalho de Carapunarla et al. (em prep.) que testou o efeito dos extratos dessas duas macrófitas sobre a composição das algas do perifiton também verificou resultados parecidos, com maiores densidades de diatomáceas em *E. najas* e de algas verdes, inclusive filamentosas, e cianobactérias coloniais em *H. verticillata*.

A inversão no padrão da concentração de clorofila-*a* no tratamento B indica que o aumento da concentração de polifenóis totais produzidos pela *E. najas* influenciou negativamente as algas aderidas à ela, oposto o que aconteceu com as algas aderidas à *H. verticillata*. Mesmo sem diferenças significativas a tendência pôde ser verificada. Essa inversão também pode ser explicada do ponto de vista da novidade, “*novel weapons*”, que o composto alelopático produzido pela macrófita causou no perifiton aderido em ambas macrófitas (Callaway e Ridenour 2004), pois que a passagem da alelopatia da planta para o perifiton pode ser passada diretamente para a matriz ou para a coluna d’água (Gross 2003). Diferente do encontrado no tratamento C, onde as macrófitas cresceram juntas e foram mantidas juntas, o perifiton seguiu o padrão de aumento esperado no tempo, indicando que a comunidade perifítica se adaptou aos compostos alelopáticos produzidos pelas duas macrófitas. Isso pode ser confirmado pelos valores de PST que se mantiveram próximos entre as duas macrófitas e variaram significativamente apenas entre os dias.

A porção orgânica do perifiton (PSLC) demonstrou decréscimo entre os dias apenas no tratamento A, e não foi significativo. O maior aumento aconteceu entre os dias zero e sete em ambas macrófitas no tratamento C, indicando um aumento da produtividade, ou seja, os nutrientes foram absorvidos e transformados em material orgânico. Nesse mesmo tratamento houve aumento na variação da porcentagem e cinzas, porção inorgânica do peso seco, mesmo com essa grande variação o tratamento teve a matriz perifítica classificada como orgânica, e essa variação pode ser um indicativo da ciclagem de nutrientes feita pela matriz perifítica (Schneider et al. 2014; Périllon et al. 2017). O único caso que o perifiton foi classificado como orgânico-inorgânico foi o biofilme associado à *H. verticillata* no tratamento B, dia zero. Depois dos sete dias a classificação mudou e igualou à encontrada ao biofilme associado à *E. najas* no sétimo dia. Isso pode ser causado pelo efeito de vizinhança entre as macrófitas e a teoria de “*novel weapons*” (Callaway e Ridenour 2004), e a diminuição da produção de polifenóis totais pela macrófita, indicando um efeito positivo na ciclagem de nutrientes.

O índice autotrófico não apresentou diferenças significativas, mas houve mudança na classificação do tipo do perifiton, entre os dias zero e sete, nos tratamentos B na macrófita *E. najas* e em ambas as macrófitas do tratamento C. A mudança de um perifiton hetero-autotrófico para auto-heterotrófico indica que houve uma diminuição dos heterotróficos no perifiton aderido à essas macrófitas. Gutierrez e Mayora (2015) verificaram diminuição de zooplâncton sob o efeito de alelopatia de diferentes macrófitas aquáticas. Grutters et al. (2017) também não encontraram diferenças significativas entre perifiton de macrófitas não nativas e nativas, eles explicaram que existe uma grande variação da comunidade, assim como encontrado nesse experimento, o que dificulta a diferença entre os atributos estudados.

Egeria najas apresenta uma vantagem competitiva em produzir mais compostos alelopático eles diminuem o biofilme aderido à elas, beneficiando-a na aquisição de CO₂ e luz, pois o epifiton pode causar sombreamento e prejudicar o desenvolvimento da macrófita. Quando sozinha, *H. verticillata*, produz mais compostos alelopáticos e apresenta grande biomassa perifítica, talvez essa produção seja para se defender do epifiton, melhorar a absorção de gases na coluna d'água e evitar o sombreamento pelo biofilme. Quando colocada junto com *E. najas*, *H. verticillata*, cresce mais, aumentando a pressão de propágulos no ambiente. E esse impacto causado pela invasão depende, em muitos casos, mais das características do ecossistema invadido do que da espécie invasora (Levine et al. 2003; Vilá et al. 2011).

Conclui-se com esse trabalho que o efeito de vizinhança entre as macrófitas aquáticas *E. najas* e *H. verticillata*, afeta a produção de polifenóis produzidos por elas. Porém, contrariamente ao proposto pela teoria de invasão de espécies (Callaway 2002; Callaway e Ridenour 2004; Hierro et al. 2005), a produção de compostos alelopáticos pela espécie nativa foi maior que o a macrófita não nativa. Isso mostra que a *H. verticillata* tem outros mecanismos que beneficiam seu processo de invasão, como investimento em biomassa. E *E. najas*, que produz mais compostos alelopáticos em competição com a *H. verticillata*, pode atuar como um filtro biológico que impede o estabelecimento da macrófita invasora em ambientes lênticos. O perifiton não sofreu alterações sob o efeito de vizinhança dessas espécies, apenas mostrou tendências de diminuição de biomassa com o aumento do compostos alelopáticos pela *E. najas*. Este trabalho trouxe uma nova forma de analisar a invasão por plantas aquáticas, o efeito de vizinhança e a produção de compostos alelopáticos, pelo caráter inovador do experimento realizado e pelo efeito conjunto sobre macrófitas e comunidade perifítica.

REFERÊNCIAS

- Agostinho AA, Gomes LC, Thomaz SM (2005) Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conserv Biol* 19:646-652.
- Algarte VM, Siqueira NS, Rodrigues L (2013) Desiccation and recovery of periphyton biomass and density in a subtropical lentic ecosystem. *Acta Scie Biol Sci* 35:311-318.
- Algarte VM, Siqueira T, Landeiro VL, Rodrigues L., Bonecker CC, Rodrigues LC et al (2017) Main predictors of periphyton species richness depend on adherence strategy and cell size. *PLoS ONE* 12(7). doi: 10.1371/journal.pone.0181720
- An M (2005) Mathematical Modelling of Dose-Response Relationship (Hormesis) in Allelopathy and its Application. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 3(2). doi:10.2201/nonlin.003.02.001
- Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E (2001) Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci* 161(5):839–851. doi:10.1016/s0168-9452(01)00490-3
- Callaway RM (2002) The detection of neighbors by plants. *Trends Ecol Evol* 17(3).
- Callaway RM, Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290:521–523.
- Callaway RM, Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436–443.
- Carapunarla L, Santos E, Rodrigues L, et al (em prep.) Efeito da alelopatia de macrófitas aquáticas submersas sobre a comunidade de algas perifíticas: espécie nativa versus espécie não nativa.
- Cook CDK, Urmi-König K (1984) A revision of the genus *Egeria* (Hydrocharitaceae). *Aquat Bot* 19:73–96.
- Cook CDK, Löünd R (1982) A revision of the genus *Hydrilla* (Hydrocharitaceae). *Aquat Bot* 13:485–504.
- Cox JG, Lima SL (2006) Naivete and an aquatic-terrestrial dichotomy in the effects of introduced predators. *Trends Ecol Evol* 21:674–680.
- De Kluijver A, Ning J, Liu Z, Jeppesen E, Gulati RD, Middelburg JJ (2015) Macrophytes and periphyton carbon subsidies to bacterioplankton and zooplankton in a shallow eutrophic lake in tropical China. *Limnol Oceanogr* 60:375–385. doi: 10.1002/lno.10040
- Elakovich SD (1989) Allelopathic Aquatic Plants for Aquatic Weed Management. *Biol Plant* 31:479-486.

- Elakovich SD, Wooten JW (1995). Allelopathic, Herbaceous, Vascular Hydrophytes. ACS Symposium Series 582:58-73.
- Felisberto SA, Murakami EA (2013) Papel da Ciclagem de Nutrientes na Teia Trófica. In: Schwarzbald A, Burliga AL, Torgan LC (eds) Ecologia do perifiton, Rima. São Paulo, pp 23-44.
- Fernandes VO, Esteves FA (2003) The use of indices for evaluating the periphytic community in two kinds of substrate in Imboassica Lagoon, Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Biol* 63(2):233–243.
- Fleming JP, Dibble ED (2014) Ecological mechanisms of invasion success in aquatic macrophytes. *Hydrobiologia* 746(1):23–37.doi:10.1007/s10750-014-2026-y
- Gao Y, Liu B, Xu D, Zhou Q, Hu Z, Ge F, Zhang L, Wu Z (2011) Phenolic Compounds Exuded From Two Submerged Freshwater Macrophytes and Their Allelopathic Effects on *Microcystis aeruginosa*. *Pol J Environ Stud* 20:1153-1159.
- Hierro JL, Maron JL, Callaway RM (2005) A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *J ecol* 93:5–15.
- Hyder PW, Fredrickson E, Estell RE, Tellez M, Gibbens RP (2002) Distribution and concentration of total phenolics, condensed tannins, and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in creosotebush (*Larrea tridentata*). *Biochem Syst Ecol* 30(10):905–912.
- Hilt S, Gross EM (2008) Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes? *Basic Appl Ecol* 9:422–432.
- Hipskind J, Wood KV, Leite B, Chand T, Lembi CA, Nicholson RL (1992) A Fungitoxic Phenolic Compound in *Hydrilla verticillata*. *Biol control* 2:55–58.
- Hofstra DE, Clayton J, Green JD, Auger M (1999) Competitive Performance of *Hydrilla verticillata* in New Zeland. *Aquat Bot* 63:305–324.
- Hoscheid J, Bersani-Amado CA, da Rocha BA et al (2013) Inhibitory Effect of the Hexane Fraction of the Ethanolic Extract of the Fruits of *Pterodon pubescens* Benth in Acute and Chronic Inflammation. *J Evid Based Complementary Altern Med* 2013:1–7.
- Golterman HL, Clymo RS, Ohmstad MAM (1978) Methods for physical and chemical analysis of freshwater. Blackwell Scientific, Oxford.
- Gross EM (2003) Allelopathy of aquatic autotrophs. *Crit Rev Plant Sci* 22: 313–339.
- Gross EM, Meyer H, Schilling G (1996) Release and ecological impact of algicidal hydrolyzable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry* 41:133–138.

- Gross EM, Hilt S, Lombardo P, Mulderij G (2007) Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton—state of the art and open questions. *Shallow Lakes in a Changing World* 77–88.
- Grutters BMC, Gross EM, Bakker ES (2017) Periphyton density is similar on native and non-native plant species. *Freshwater Biol* 62:906–915.
- Gutierrez MF, Mayora G (2015) Influence of macrophyte integrity on zooplankton habitat preference, emphasizing the released phenolic compounds and chromophoric dissolved organic matter. *Aquat Ecol* 50(1):137–151.
- Ji H, Xie D, Zhou H, An S (2015) Influences of chemical components of water extracts from submerged macrophyte leaves on the growth of three common epiphytic algae. *Chinese Journal of Ecology* 34(2):445–453.
- Jenkins M (2003) Prospects for Biodiversity. *Science* 302:1175–1177.
- Kurashova EA, Krylovab BJV, Mitrukova GG, Chernovac AM (2014) Low Molecular Weight Metabolites of Aquatic Macrophytes Growing on the Territory of Russia and Their Role in Hydroecosystems. *Contemp Probl Ecol* 7(4):433–448.
- Lakatos G (1989) Composition of reed periphyton (biotecton) in the Hungarian part of Lake Fertő. *Biol. Forschun. Für Burg* 71:125–134.
- Bagousse-Pinguet Y, Liancourt P, Gross N, Straile D (2011) Indirect facilitation promotes macrophyte survival and growth in freshwater ecosystems threatened by eutrophication. *J Ecol* 100(2):530–538.
- Leu E, Krieger-Liszkay A, Goussias C, Gross EM (2002) Polyphenolic Allelochemicals from the Aquatic Angiosperm *Myriophyllum spicatum* Inhibit Photosystem II. *Plant Physiol* 30(4): 2011–2018
- Levine JM, Vilà M, Antonio CMD et al (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270:775–781.
- McClure, JW (1970) In *Phytochemical Phylogeny*; Harborne JB (Ed) Academic Press, New York, pp 233–268.
- Molisch H (1937) *Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie*. Gustav Fischer, Jena.
- Mormul RP, Thomaz SM, Silveira MJ, Rodrigues L (2010) Epiphyton or Macrophyte: Which Primary Producer Attracts the Snail. *Am Malacological Bul* 28:127–133.
- Périllon C, Hilt S (2016) Groundwater influence differentially affects periphyton and macrophyte production in lakes. *Hydrobiologia* 778:91–103.

- Périllon C, Poeschke F, Lewandowski J, Hupfer M, Hilt S (2017) Stimulation of epiphyton growth by lacustrine groundwater discharge to an oligo-mesotrophic hard-water lake. *Freshwater Sci* 36:555–570.
- Rahman MJ, Costa de Camargo A, Shahidi F (2018) Phenolic profiles and antioxidant activity of defatted camelina and sophia seeds. *Food Chem* 240:917–925.
- Ricciardi A, MacIsaac H (2011). Impacts Of Biological Invasions On Freshwater Ecosystems. In: Richardson DM (Ed) *Fifty years of Invasion Ecology: The Legacy of Charles Elton*. Blackwell Publishers, New Jersey, 211-224
- Rice EL (1977) Some roles of allelopathic compounds in plant communities. *Biochem Syst Ecol* 5(3):201–206.
- Rivoal A, Fernandez C, et al (2011) Does competition stress decrease allelopathic potential? *Biochem Syst Ecol* 39:401–407
- Williams LJ, H Abdi (2010) “Fisher’s least significance difference (LSD) test,” in *Encyclopedia of Research Design*. Thousand Oaks. pp. 491–494.
- Roberto MC, Santana NF, Thomaz SM (2009) Limnology in the Upper Paraná River Floodplain: Large-scale Spatial and Temporal Patterns, and the Influence of Reservoirs. *Braz. J. Biol.* 69:717-725.
- Santonja M, Le Rouzic B, Thiébaud G (2018) Seasonal dependence and functional implications of macrophyte-phytoplankton allelopathic interactions. *Freshwater Biol* 63(9):1161–1172.
- Schneider S, Cara M, Eriksen TE et al (2014) Eutrophication impacts littoral biota in Lake Ohrid while water phosphorus concentrations are low. *Limnologica* 44: 90–97.
- Schultz R, Dibble E (2012) Effects of Invasive Macrohytes on Freshwater Fish and Macroinvertebrate communities: The Role of Invasive Plant Traits. *Hydrobiologia* 684:1-14.
- Schwarzbald A (1990) Métodos ecológicos aplicados ao estudo do perifiton. *Acta Limn Bras* 3:545-592.
- Silveira MJ, Thomaz SM (2019) Interspecific associations between *Hydrilla verticillata* and three dominant native genera of submerged macrophytes are taxa dependent. *Aquat Sci* 81(1).
- Silveira MJ, Thomaz SM, Mormul RP, Camacho FP (2009) Effects of desiccation and sediment type on early regeneration of plant fragments of three species of aquatic macrophytes. *Internal Rev Hydrobiol* 94(2).

- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144–158
- Sousa, WTZ (2011) *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae), a recent invader threatening Brazil's freshwater environments: a review of the extent of the problem. *Hydrobiologia* 669:1-20.
- Stat Soft. (2005). Statistica: data analysis software system. For Windows - Version 7.0.
- Thomaz SM, Esteves FA (2011) Comunidade de Macrófitas Aquáticas. In: Esteves FA (ed). *Fundamentos em Limnologia*. Editora Interciência, Rio de Janeiro 3ed. Cap 23: 461-521.
- Thouvenot L, Gauzens B, Haury J, Thiébaud G (2019) Response of Macrophyte Traits to Herbivory and Neighboring Species: Integration of the Functional Trait Framework in the Context of Ecological Invasions. *Front Plant Sci* 9:1981.
- Umetsu CA, Evangelista HBA, Thomaz SM (2012) Colonization, Regeneration, Potential and Growth Rates of Fragments of Exotic Aquatic Macrophyte *Hydrilla verticillata*. *Aquat Biol* 16:197-202.
- Watanabe T (1990) Perifiton: comparação de metodologias empregadas para caracterizar o nível de poluição das águas. *Acta Limnol Brasil* 3:593-615.
- Wetzel RG (1983) Opening remarks. In: Wetzel RG (Ed). *Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague: Dr. W. Junk Publishers, p 3-4.
- Woodward RE, Silver WS, Mansell RL (1974) Herbicide-related Changes in Phenolic Acid Content of Field-grown *Hydrilla*. *J. Hyacinth Control* 12:35-37.
- Van der Fits L, Memelink J (2000) ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. *Science* 289:295–297
- Vilà M, Basnou C, Pysěk P et al (2010) How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European cross-taxa assessment. *Front Ecol Environ* 8:135–144.
- Vilà M, Espinar JL, Hejda M, et al (2011) Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. *Ecol Lett* 14:702–708.
- Zhang T, Zheng C, Hu W, Xu W, Wang H (2010) The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic *Microcystis aeruginosa*. *J Appl Phycol* 22:71–77.

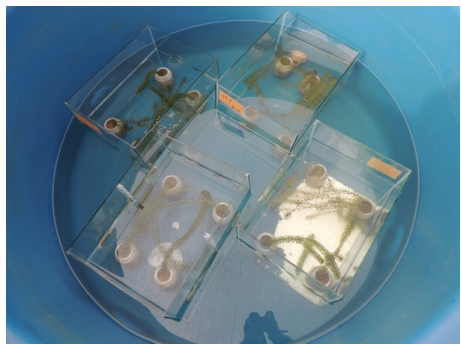
APÊNDICE A: Fotos do experimento. Onde: a) Mudas das plantas; b) caixas de 1000L onde as plantas cresceram; c) os quatro tratamentos em banho maria para evitar o aquecimento da água; d) proteção contra a chuva; e) aquário contendo quatro plantas; f) Raspagem do material perifítico do substrato com auxílio de pincel e água (para cada tratamento e planta foi utilizado um pincel diferente para evitar a contaminação); Filtros utilizados para as estimativas de clorofila-*a* e Peso seco do perifíton.



a



b



c



d



e



f



g

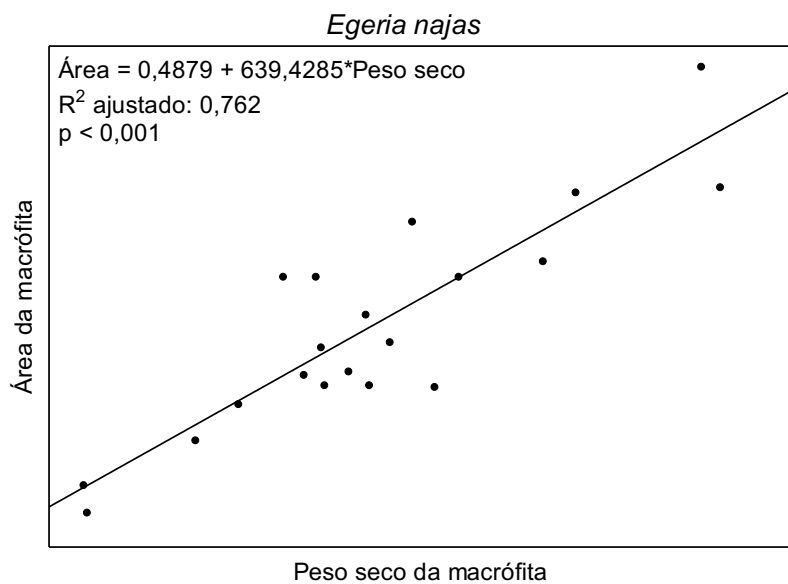
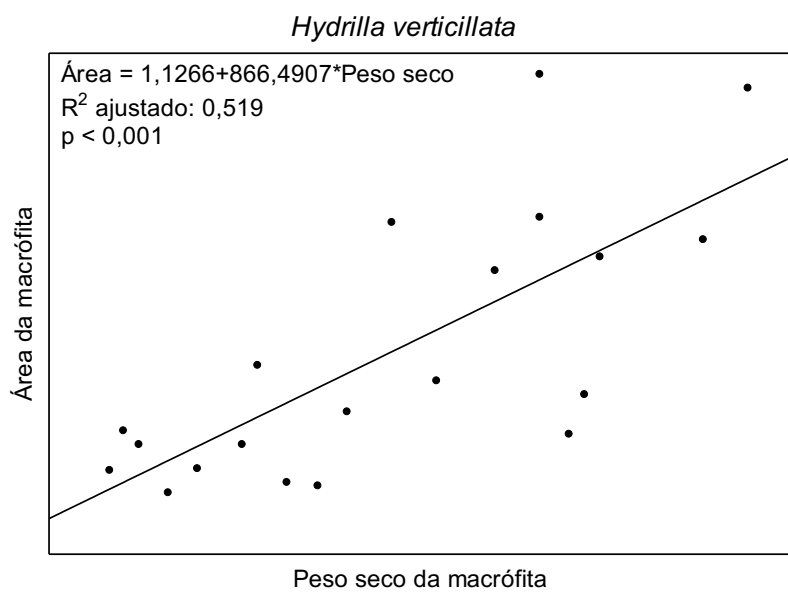
APÊNDICE B: Nutrientes do experimento por aquário. Os nutrientes foram coletados nos dias zero, quatro e sete. Onde, A1-A5: tratamento A com as cinco réplicas; B1-B5: tratamento B com as cinco réplicas; C1-C5: tratamento C com as cinco réplicas; D1-D5: tratamento D com as cinco réplicas.

Aquário	NT (ug/L)			PT (ug/L)			Razão NT/PT		
	Dia 0	Dia 4	Dia 7	Dia 0	Dia 4	Dia 7	Dia 0	Dia 4	Dia 7
A1	940,3	884,6	740,7	10,2	7,6	7,6	44,4	56,6	47,4
A2	979,0	883,0	740,7	12,1	6,8	7,9	39,3	62,9	45,5
A3	1045,5	835,1	746,4	11,9	8,3	8,5	42,5	48,5	42,5
A4	1023,8	856,7	771,5	10,6	8,0	7,9	46,7	51,6	47,4
A5	1025,4	799,5	761,2	16,1	7,6	6,8	30,9	51,1	54,2
B1	958,8	946,5	758,9	13,0	7,4	6,9	35,7	61,8	52,9
B2	918,6	1172,4	760,1	9,8	6,8	7,1	45,3	83,5	51,8
B3	1000,6	721,3	773,7	13,5	8,0	7,4	35,9	43,5	50,5
B4	946,5	749,8	662,1	9,3	7,1	7,4	49,1	51,1	43,2
B5	975,9	721,3	714,5	18,2	7,7	7,3	25,9	45,2	47,7
C1	958,8	700,8	698,5	16,4	7,1	7,7	28,3	47,8	43,8
C2	992,9	723,6	712,2	10,8	6,3	6,8	44,6	55,3	50,8
C3	1042,4	743,0	752,1	11,1	6,0	6,8	45,5	59,8	53,6
C4	1088,8	802,2	702,0	23,1	21,0	9,1	22,8	18,5	37,3
C5	1057,9	732,7	736,1	11,1	6,2	7,9	46,2	57,5	45,2
D1	1113,6	744,1	632,4	11,9	8,8	8,0	45,3	40,9	38,1
D2	1184,7	712,2	663,2	12,1	11,0	9,3	47,6	31,4	34,6
D3	1008,4	733,9	740,7	13,2	10,0	7,6	37,0	35,4	47,4
D4	989,8	756,6	703,1	10,1	10,0	8,6	47,3	36,5	39,3
D5	1071,8	762,3	713,3	12,1	10,3	8,6	43,0	35,6	39,9

APÊNDICE C: Variáveis limnológicas do experimento por aquário. As variáveis foram medidas duas vezes ao dia todos os dias. Onde, DP: desvio padrão; Var: variância; A1-A5: tratamento A com as cinco réplicas; B1-B5: tratamento B com as cinco réplicas; C1-C5: tratamento C com as cinco réplicas; D1-D5: tratamento D com as cinco réplicas.

Aquário	pH			Temperatura °C			OD (mg/L)		
	Média	DP	Var	Média	DP	Var	Média	DP	Var
A1	8,49	0,74	0,54	26,77	2,72	7,40	4,36	0,34	0,12
A2	8,67	0,48	0,23	26,59	2,63	6,92	4,29	0,38	0,15
A3	8,72	0,43	0,19	26,99	2,88	8,30	4,11	0,31	0,10
A4	8,74	0,39	0,16	26,84	2,96	8,75	4,11	0,36	0,13
A5	8,73	0,78	0,60	26,60	3,02	9,10	4,03	0,32	0,10
B1	8,64	0,69	0,48	26,62	2,69	7,23	4,00	0,19	0,04
B2	8,70	0,45	0,20	26,63	2,73	7,45	3,96	0,27	0,07
B3	8,67	0,44	0,19	26,82	2,76	7,62	3,84	0,24	0,06
B4	8,68	0,40	0,16	26,71	2,83	8,00	3,90	0,24	0,06
B5	8,74	0,68	0,47	26,59	3,00	9,02	4,00	0,29	0,09
C1	8,71	0,66	0,44	26,70	2,78	7,71	3,79	0,31	0,10
C2	8,85	0,44	0,19	26,66	2,72	7,40	3,86	0,28	0,08
C3	8,93	0,44	0,19	26,89	2,83	8,01	3,87	0,33	0,11
C4	8,85	0,41	0,17	26,74	2,86	8,19	3,85	0,16	0,03
C5	8,84	0,60	0,36	26,86	3,26	10,62	3,90	0,20	0,04
D1	8,76	0,68	0,46	26,76	2,84	8,04	3,82	0,25	0,06
D2	8,79	0,43	0,19	26,65	2,76	7,62	3,74	0,24	0,06
D3	8,82	0,42	0,17	26,86	2,82	7,95	3,72	0,24	0,06
D4	8,82	0,44	0,19	26,66	2,75	7,56	3,73	0,25	0,06
D5	8,80	0,48	0,23	26,63	3,01	9,09	3,83	0,26	0,07

APÊNDICE D: Regressão simples para estimativa da área das macrófitas a partir do peso seco da planta.



APÊNDICE E: Resultado do LSD de Fisher para PST. Onde, A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D. * valores significativos.

		A_EN	A_EN	D_HV	D_HV	B_EN	B_EN	B_HV	B_HV	C_EN	C_EN	C_HV	C_HV
	Dias	Dia 0	dia 7	Dia 0	dia 7	Dia 0	dia 7	Dia 0	dia 7	Dia 0	dia 7	Dia 0	dia 7
A_EN	Dia 0												
A_EN	dia 7	0,56											
D_HV	Dia 0	0,08	0,07										
D_HV	dia 7	0,07	0,25	0,53									
B_EN	Dia 0	0,58	0,76	0,22	0,26								
B_EN	dia 7	0,10	0,32	0,54	0,88	0,16							
B_HV	Dia 0	0,21	0,23	0,59	0,80	0,48	0,95						
B_HV	dia 7	0,02*	0,13	0,94	0,69	0,11	0,58	0,27					
C_EN	Dia 0	0,85	0,87	0,11	0,11	0,71	0,16	0,28	0,04*				
C_EN	dia 7	0,10	0,31	0,55	0,89	0,33	0,99	0,94	0,59	0,04*			
C_HV	Dia 0	0,94	0,76	0,09	0,09	0,63	0,12	0,24	0,03*	0,91	0,12		
C_HV	dia 7	0,01*	0,09	0,74	0,55	0,06	0,45	0,32	0,84	0,02*	0,46	0,00*	

APÊNDICE F: Resultado do LSD de Fisher para PST. Onde, A_EN: tratamento A; B_EN: tratamento B macrófita *E. najas*; C_EN: tratamento C macrófita *E. najas*; B_HV: tratamento B macrófita *H. verticillata*; C_HV: tratamento C macrófita *H. verticillata*; D_HV: tratamento D. * valores significativos.

		B_EN	B_EN	B_HV	B_HV	C_EN	C_EN	C_HV	C_HV	A_EN	A_EN	D_HV	D_HV
	Dias	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7
B_EN	Dia 0												
B_EN	Dia 7	0,65											
B_HV	Dia 0	0,07	0,06										
B_HV	Dia 7	0,03*	0,14	0,90									
C_EN	Dia 0	0,55	0,69	0,21	0,15								
C_EN	Dia 7	0,11	0,30	0,51	0,64	0,23							
C_HV	Dia 0	0,26	0,29	0,47	0,43	0,59	0,82						
C_HV	Dia 7	0,02*	0,09	0,85	0,81	0,09	0,49	0,15					
A_EN	Dia 0	0,99	0,75	0,07	0,04*	0,56	0,11	0,26	0,02*				
A_EN	Dia 7	0,10	0,28	0,54	0,67	0,35	0,97	0,78	0,51	0,03*			
D_HV	Dia 0	0,99	0,72	0,07	0,03*	0,54	0,11	0,25	0,02*	0,97	0,10		
D_HV	Dia 7	0,03*	0,12	0,99	0,95	0,13	0,60	0,38	0,87	0,03*	0,62	0,00*	

APÊNDICE G: Índice autotrófico do perífiton por réplica

Tratamentos	Dia 0						Dia 7					
	IA	Grupo	Média	DP	Grupo	Classificação	IA	Grupo	Média	DP	Grupo	Classificação
A_EN	0,36	II	0,34	0,18	II	auto-heterotrófico	0,18	III	0,27	0,15	II	auto-heterotrófico
A_EN	0,27	II					0,48	II				
A_EN	0,14	III					0,15	III				
A_EN	0,58	II					0,26	II				
D_HV	0,13	III	0,41	0,28	II	auto-heterotrófico	0,37	II	0,55	0,35	II	auto-heterotrófico
D_HV	0,59	II					1,07	I				
D_HV	0,22	III					0,47	II				
D_HV	0,70	I					0,30	II				
B_EN	0,23	III	0,25	0,05	III	hetero-autotrófico	0,30	II	0,51	0,17	II	auto-heterotrófico
B_EN	0,30	II					0,70	I				
B_EN	0,19	III					0,46	II				
B_EN	0,26	II					0,58	II				
B_HV	0,22	III	0,34	0,16	II	auto-heterotrófico	0,55	II	0,44	0,11	II	auto-heterotrófico
B_HV	0,50	II					0,44	II				
B_HV	0,19	III					0,48	II				
B_HV	0,45	II					0,29	II				
C_EN	0,12	III	0,24	0,12	III	hetero-autotrófico	0,37	II	0,53	0,30	II	auto-heterotrófico
C_EN	0,22	III					0,19	III				
C_EN	0,20	III					0,78	I				
C_EN	0,40	II					0,79	I				
C_HV	0,13	III	0,19	0,04	III	hetero-autotrófico	0,42	II	0,56	0,21	II	auto-heterotrófico
C_HV	0,22	III					0,87	I				
C_HV	0,21	III					0,49	II				
C_HV	0,21	III					0,48	II				

APÊNDICE H: Classificação do perifíton pela porcentagem de cinzas por réplica.

Tratamentos	Dia 0						Dia 7					
	Cinzas %	Gupo	Média (%)	DP	Grupo	Classificação	Cinzas %	Gupo	Média (%)	DP	Grupo	Classificação
A_EN	8,3	IV	8,0	6,8	IV	orgânico	0,0	IV	15,6	12,5	IV	orgânico
A_EN	0,0	IV					12,0	IV				
A_EN	7,1	IV					21,2	IV				
A_EN	16,7	IV					29,1	III				
D_HV	25,0	III	19,6	16,3	IV	orgânico	0,0	IV	13,6	10,1	IV	orgânico
D_HV	38,6	III					13,6	IV				
D_HV	0,0	IV					16,7	IV				
D_HV	15,0	IV					24,2	IV				
B_EN	19,4	IV	16,9	5,3	IV	orgânico	28,4	III	24,2	6,8	IV	orgânico
B_EN	17,9	IV					15,4	IV				
B_EN	9,1	IV					30,6	III				
B_EN	21,1	IV					22,7	IV				
B_HV	41,7	III	30,3	7,7	III	orgânico - inorgânico	29,5	III	20,3	13,8	IV	orgânico
B_HV	27,3	III					0,0	IV				
B_HV	27,3	III					28,3	III				
B_HV	25,0	IV					23,3	IV				
C_EN	37,5	III	24,7	11,9	IV	orgânico	0,0	IV	23,0	19,3	IV	orgânico
C_EN	29,6	III					25,0	III				
C_EN	9,5	IV					20,0	IV				
C_EN	22,2	IV					47,1	III				
C_HV	0,0	IV	12,5	25,0	IV	orgânico	0,0	IV	24,9	32,1	IV	orgânico
C_HV	0,0	IV					11,1	IV				
C_HV	0,0	IV					16,7	IV				
C_HV	50,0	II					71,9	II				