

FONTES AUTOTRÓFICAS DE ENERGIA

EVANILDE BENEDITO-CECILIO (COORDENADORA); CÉLIA DE ALMEIDA LOPES (PÓS-GRADUANDA)
MARIA CONCEIÇÃO DE SOUZA (PESQUISADORA) E CÁSSIA MÔNICA SAKURAGUI (PESQUISADORA)

RESUMO

O presente subprojeto, teve por objetivo estabelecer a variabilidade isotópica dos principais produtores primários (macrófitas aquáticas C₄, C₃, vegetação ripariana C₃, plantas MAC, perifiton, fitoplâncton e POC) da planície de inundação do rio Paraná, abrangendo ainda o trecho represado do rio Paraná localizado no corpo principal do reservatório de Itaipu. Evidenciou-se que as fontes autotróficas de carbono analisadas apresentaram valores médios distinguíveis, possibilitando, portanto, serem utilizados na identificação das fontes de carbono utilizadas para as comunidades animais da área estudada. São também descritos os valores para o isótopo de nitrogênio, os quais poderão auxiliar na identificação mais precisa da posição trófica dos diferentes grupos animais pertencentes a cadeia alimentar da planície de inundação do rio Paraná.

INTRODUÇÃO

Considerando, a estrutura trófica do ecossistema, constituída pelos extratos autotrófico e heterotrófico, é conveniente reconhecer que os primeiros são os que manufaturam o alimento a partir de substâncias inorgânicas simples, disponibilizando os nutrientes para os demais componentes da teia alimentar. O entendimento do fluxo de energia no ecossistema inicia-se pela investigação dos processos que ocorrem a partir dos produtores primários e como a variabilidade a este nível pode influenciar nos níveis subseqüentes da teia alimentar.

A análise de isótopos estáveis vêm, nas últimas décadas auxiliando a melhor compreensão da dinâmica e do fluxo de

carbono e de nitrogênio entre os organismos produtores, consumidores e decompositores nas teias alimentares (Fry, 1988; Yoshioka *et al.* 1988; Neill & Cornwell, 1992; Forsberg *et al.* 1993). Os diversos componentes da cadeia alimentar, refletem exatamente o $\delta^{13}\text{C}$ das suas fontes de energia, com pequenas diferenças, aumentando 0,2 a 1‰ a cada nível trófico (Fry, 1988).

As fontes autotróficas para os consumidores podem ser avaliadas de acordo com o ciclo fotossintético das plantas, as quais geram padrões distintos de fracionamento isotópico, resultantes da ação enzimática que seleciona ^{12}C e ^{13}C de maneiras distintas. No ciclo C₃ (CALVIN) as plantas discriminam o CO₂ apresentando um valor médio do $\delta^{13}\text{C}$ de -27‰, enquanto que no ciclo C₄ (HATSCH-SLACK) ocorre uma menor discriminação, originando

um $\delta^{13}\text{C}$ médio de -13‰ (Leite, 2000).

Um outro processo de discriminação é observado para as plantas do Ciclo do Ácido Crassuláceo ou intermediário (MAC), estas plantas apresentam um sistema de fixação do CO_2 especializado, destinado principalmente, a manter um balanço relativamente positivo de carbono nos tecidos e $\delta^{13}\text{C}$ em faixas intermediárias àquelas dos outros ciclos.

A somatória de fracionamentos que ocorrem durante a fixação biológica do CO_2 é considerada fator marcante da composição isotópica da biomassa vegetal terrestre (Rounick & Winterbourn, 1986). Vários modelos têm sido propostos com o objetivo de se descrever o fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$ durante o processo fotossintético (Park & Epstein, 1960; Smith & Walker, 1980; O'Leary, 1981; Schleser & Jayasekera, 1985). Os modelos são similares na estrutura, cada um assumindo que os componentes de maior contribuição para o fracionamento total são a difusão diferencial do CO_2 , através dos estômatos e a carboxilação enzimática com diferente seletividade para ^{12}C e ^{13}C (Farquhar et al., 1989).

O $\delta^{15}\text{N}$, por sua vez, oferece a possibilidade de traçar a estrutura trófica na teia alimentar. Este isótopo não identifica os produtores primários como o $\delta^{13}\text{C}$, mas por ser fracionado consistentemente ao longo da teia trófica, permite inferências sobre a posição trófica dos consumidores. O aumento de $\delta^{15}\text{N}$ dos animais é de cerca de $3,4\text{‰}$ por nível trófico e aqueles com $\delta^{15}\text{N}$ mais próximos aos dos produtores são considerados consumidores diretos das plantas (Vander Zanden et al., 1997).

Neste sentido, o presente trabalho investiga a variabilidade isotópica em produtores primários da planície de inundação do rio Paraná e reservatório de Itaipu, tomando por hipótese básica que as variações isotópicas dos produtores primários analisados não são sobreponíveis, e por isto possibilitam o uso das proporções médias destes em estudos de teia

alimentar, facilitando o entendimento da origem e do destino dos recursos no ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na bacia do rio Paraná, entre a foz dos rios Paranapanema e Iguaçu ($22^{\circ} 05'$ a $25^{\circ} 33'$ e $54^{\circ} 00'$ a $54^{\circ} 37'W$), compreendendo da planície de inundação do rio Paraná ao reservatório de Itaipu. Com base em estudos detalhados acerca das características físicas e químicas apresentados em FUEM/CIAMB-PADCT (1993) e FUEM.NUPELIA/ITAIPU BINACIONAL (1999), a área de estudo foi subdividida nos seguintes subsistemas: 1. Paraná (RPRA): calha principal do rio Paraná, localizada nas imediações do município de Porto Rico e lagoa aberta Ressaco do Pau Véio; 2. Baía (RBAI): segmentos estreito (inferior) e alargado (superior) do rio Baía; 3. Ivinheima (RIVI): calha principal do rio Ivinheima e lagoa aberta Finado Raimundo; e 4. Reservatório de Itaipu (RESE): em seus trechos lêntico (próximo ao município de Santa Helena) e lótico (nas imediações do município de Guaíra).

A coleta do material biológico foi realizada durante o período de chuva (fevereiro e março/2000) e seca (agosto/2000). As amostras de plantas vasculares constituiu-se de folhas de vegetação ripária terrestre C_3 (via fotossintética Calvin) e MAC (via fotossintética Metabólica dos Ácidos Crassuláceos) e de macrófitas aquáticas C_3 e C_4 , das espécies mais comuns de cada subsistema (Agostinho & Zalewski, 1996; Campos, 1997 e Romagnolo, 1998). Cada espécie de planta amostrada correspondeu a uma réplica em pool, composta de 5 folhas de exemplares distintos. Os vegetais amostrados foram ainda, codificados para identificação e depositados no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá (HUM). O perifiton foi obtido através da raspagem de substratos (folhas ou caules de plantas) sendo retidos em filtros de fibra de vidro (GFC-Whatman), previamente

submetidos a combustão (400°C durante 4 horas). Amostras de zooplâncton, cladóceros e copépodos filtradores, foram coletadas com auxílio de rede de zooplâncton (53µm) e ou, quando necessário, com bomba de sucção escovante. As amostras foram, posteriormente, triadas e acondicionadas em papel alumínio. Os valores isotópicos do fitoplâncton foram determinados considerando o fracionamento de 1‰ por nível trófico (Tieszen et al. 1983). O carbono orgânico particulado (COP), constituído da mistura de partes de vegetais vasculares, fitoplâncton e microorganismos suspensos na coluna da água, foi retido em filtros de fibra de vidro (GFC-Whatman), também previamente submetidos a combustão.

A remoção de carbonatos foi realizada através do enxágue das amostras em solução a 1N de HCl. Com exceção do zooplâncton, as demais amostras, devidamente identificadas, foram secas em estufa a 50°C. Em seguida foram maceradas em gral de porcelana até a obtenção de um pó fino, e enviadas ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP), em Piracicaba (SP). A determinação da razão isotópica de carbono e nitrogênio foi realizada em espectrômetro de massa (Micromass 602-E, Finnegan Mat, Bremen, Germany), conforme descrito em Martinelli et al. (1992) e Forsberg et al. (1993).

Os resultados foram expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativo ao padrão de referência PDB ("Belemnite" de formação PeeDee do Grand Canyon, Carolina do Sul, USA). O $\delta^{15}\text{N}$ foi calculado utilizando como padrão o nitrogênio atmosférico.

$$d^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}_{\text{amostra}}} \right) - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}_{\text{PDB}}} \right) \right] \times 1000 \quad (1)$$

onde:

R_{amostra} = razão isotópica da amostra em estudo
(= $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$); e

$R_{\text{padrão}}$ = razão isotópica da amostra padrão.

As análises gráficas e estatísticas foram conduzidas no STATISTIC 5,0™. Diferenças significativas entre as médias isotópicas obtidas entre as vias fotossintéticas, grupos ecológicos, subsistemas e fases do período de estudo foram investigadas através de análises de variâncias, com um ou dois fatores, sendo utilizado o teste de Tuckey (Zar, 1974) na identificação destas diferenças.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, acredita-se que as fontes de variabilidade na composição isotópica de carbono de plantas são decorrentes da bioquímica das vias fotossintéticas, da eficiência ecofisiológica no uso da água (C_3) e da fonte de carbono utilizado pelos vegetais (Lajtha & Marshall, 1994). Alguns parâmetros ambientais, como luz, disponibilidade de água e poluição do ar, além das características genéticas interespecíficas (como a taxa de crescimento), podem também promover fracionamentos que alteram a amplitude de variação isotópica dos produtores primários.

Com o intuito de facilitar o entendimento da variabilidade isotópica dos produtores primários na planície de inundação do rio Paraná e seu trecho represado a jusante (reservatório de Itaipu), são apresentados, a seguir, os valores registrados de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para cada grupo autotrófico, analisados para cada subsistema (Reservatório, Paraná, Baía e Ivinheima) e nos períodos de chuva e seca.

Plantas Vasculares

A análise das plantas vasculares correspondeu a determinação das razões isotópicas de 195 amostras. As amostras de vegetação ripária terrestre foram compostas por 52 de via fotossintética Calvin (C_3) e 9 da via fotossintética Metabólica dos Ácidos Crassuláceos (C_4), enquanto que, as de macrófitas aquáticas corresponderam a 95 da

via fotossintética Calvin (C_3) e 39 da fotossintética Hatch-Slack (C_4) (Tabela 1).

Vegetação ripária terrestre

Os valores de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}C$) variaram de $-33,7$ a $-27,1\text{‰}$ para a vegetação ripária terrestre C_3 e de $-30,6$ a $-$

$29,1\text{‰}$ para a vegetação ripária terrestre MAC (Figura 1A). Entre esses dois grupos de plantas não foram observadas diferenças significativas nas médias isotópicas obtidas (ANOVA: gl = 1; $F = 0,0740$; $p = 0,7868$) e os valores médios de $\delta^{13}C$ foram $-30,1 \pm 1,42\text{‰}$ para as plantas de via C_3 e $-29,9 \pm 0,40\text{‰}$ para a MAC.

Tabela 1. Plantas vasculares coletadas por subsistema estudado.

Produtor primário	Via	RPRA		RESE		RIVI		RBAI	
	Fotos.	chuva	seca	chuva	seca	chuva	seca	chuva	seca
<i>Vegetação ripária</i>									
Zygia cauliflora	C_3	X	X			X	X	X	X
<i>Colubrina retusa</i>	C_3	X	X						
<i>Calathea</i> - Maranthaceae	C_3			X	X				
<i>Ocotea diospyrifolia</i>	C_3	X	X			X	X	X	X
<i>Croton urucurana</i>	C_3	X	X			X	X	X	X
<i>Ingá sp</i>	C_3	X	X			X	X	X	X
Lauraceae	C_3			X	X				
Leguminosae	C_3				X				
<i>Machaerium</i> - Leguminosae	C_3			X	X				
Meliaceae	C_3			X	X				
Myrtaceae	C_3			X	X				
<i>Trema micrantha</i> - Ulmaceae	C_3			X	X				
Tiliaceae	C_3			X	X				
<i>Cecropia sp</i>	MAC	X	X	X	X	X	X	X	X
Macrofilas aquáticas									
<i>Paspalum repens</i>	C_4			X			X		
Poaceae	C_3 e C_4	X	X	X	X	X	X	X	X
Cyperaceae	C_3 e C_4	X	X	X		X	X	X	X
Cyperus gardini	C_3					X			
Egeria najas	C_3	X	X	X	X				
Eichhornia azurea	C_3	X	X	X	X	X	X	X	X
Eichhornia crassipes	C_3			X	X	X	X		
<i>Hydrocotyle umbellata</i>	C_3					X	X		
<i>Nymphaea sp</i>	C_3	X	X	X	X	X	X		
<i>Paspalum sp</i>	C_3		X	X					
Polygonum sp	C_3			X	X			X	X
<i>Salvinia auriculata</i>	C_3			X	X	X	X	X	X

Diferenças espaciais significativas para a vegetação ripária não foram verificadas entre os subsistemas analisados (ANOVA: gl = 3; $F =$

$2,6676$; $p = 0,0570$). Os valores isotópicos médios mais positivos foram observados nos subsistemas Baía ($-29,5 \pm 0,87\text{‰}$) e Ivinheima

($-29,6 \pm 0,9\%$) que apresentaram variabilidade isotópica entre $-31,8$ a $-28,2\%$ e de $-31,5$ a $-28,2\%$, respectivamente. Os valores médios mais deplecionados foram constatados para os subsistemas Reservatório de Itaipu ($-30,6 \pm 1,60\%$) e Paraná ($-30,4 \pm 1,35\%$), com respectiva variabilidade isotópica de $-33,7$ a $-27,1\%$ e de $-32,9$ a $-27,9\%$ (Figura 1A).

A influência do CO_2 biogênico também é verificada em vegetações riparianas, onde são observadas acentuadas diferenças entre os extratos superiores e inferiores das árvores quanto ao $\delta^{13}\text{C}$. Nestes ambientes, a vegetação conta ainda com os processos respiratórios da fauna e flora aquáticas, as quais tendem a ser mais proeminentes no sentido da nascente a foz dos rios, constituindo o *efeito biogênico do rio*.

Por outro lado, os resultados apresentados são semelhantes aos obtidos por Martinelli et al. (1991), os quais observaram para a floresta da planície de inundação do rio Paraná tendências isotópicas ascendentes destes valores e da canopia, no sentido rio abaixo, diferentes daqueles esperados (procedente do *efeito biogênico do rio*). Este fato foi atribuído ao aprisionamento noturno do CO_2 biogênico, através da formação de uma camada delimitadora de trocas gasosas com o CO_2 atmosférico sobre o rio, mais desenvolvida em suas porções superiores.

Efeito da sazonalidade sobre os valores isotópicos registrados para cada subsistema não foram identificados (ANOVA: gl = 3; F = 0,9155; p = 0,4398). Durante a fase de chuvas o valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ observado foi de $-30,1 \pm 1,36\%$ ($-33,7$ a $-27,1$) e durante a seca foi de $-30,1 \pm 1,29\%$ ($-32,9$ a $-28,2$) (Figura 1B).

A composição isotópica de nitrogênio para a vegetação terrestre, bem como suas variações, são altamente dependentes dos “pools” de nitrogênio, que são determinados pelas entradas e saídas desse elemento no ambiente e pelos fracionamentos isotópicos que possam ocorrer durante a sua ciclagem. As entradas de amônio e nitrato para a vegetação terrestre são

relativamente deplecionadas em ^{15}N , com valores estendendo-se de -10 a 5% , com o amônio mais deplecionado que o nitrato, devido a sua menor mobilidade (Shearer & Kohl, 1988). Assim, nos ecossistemas terrestres os valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos tecidos das plantas e do solo estão compreendidos entre -10 a 15% , sendo que a variação isotópica das plantas se situa entre -9 e 10% , demonstrando leve deplecionamento em ^{15}N em relação aos solos (Peterson & Fry, 1987).

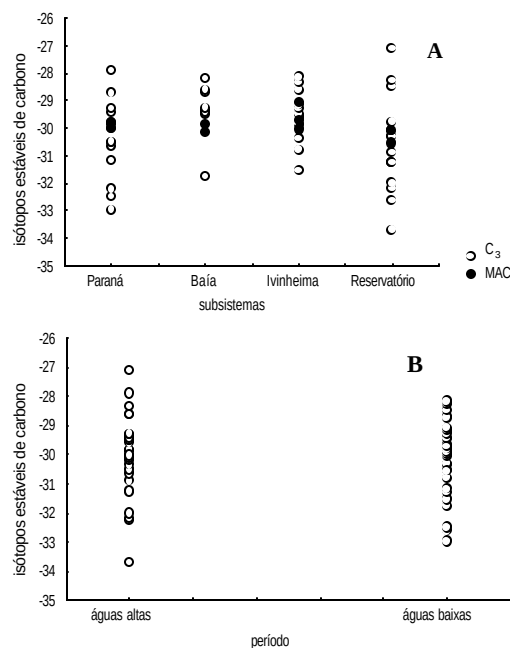


Figura 1. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ de vegetação ripária por subsistema (A) e período (B).

Para a planície de inundação do rio Paraná, os valores de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) variaram de $-1,5$ a $10,1\%$ para a vegetação C_3 e de $-0,9$ a $4,8\%$ para a vegetação MAC (Figura 3A). Estes dois grupos de plantas também não apresentaram diferenças significativas de $\delta^{15}\text{N}$ (ANOVA: gl = 1; F = 0,0390; p = 0,8438) e seus valores isotópicos médios foram de $2,1 \pm 2,59\%$ para a vegetação C_3 e de $2,2 \pm 1,59\%$ para a MAC. Diferenças

espaciais significativas de $\delta^{15}\text{N}$ foram registradas para a vegetação ripária entre os subsistemas (ANOVA: gl = 3; F = 3,4789; p = 0,0221). Os subsistemas Ivinheima e Paraná diferiram significativamente um do outro (p = 0,0233), uma vez que os menores valores isotópicos médios foram verificados para os subsistemas Ivinheima ($1,1 \pm 1,19\text{‰}$) e Baía ($1,3 \pm 1,31\text{‰}$) e os maiores para o Paraná ($3,5 \pm 3,67\text{‰}$) e Reservatório de Itaipu ($2,2 \pm 1,98\text{‰}$) (Figura 2A).

As concentrações de $\delta^{15}\text{N}$ das vias fotossintéticas, em cada subsistema analisado não sofreram influências significativas da sazonalidade (ANOVA: gl = 3; F = 0,5700; p = 0,6372). Na seca foi constatado o maior valor isotópico médio ($2,6 \pm 2,97\text{‰}$), enquanto no período de chuvas, o menor ($1,6 \pm 1,7\text{‰}$) (Figura 2B).

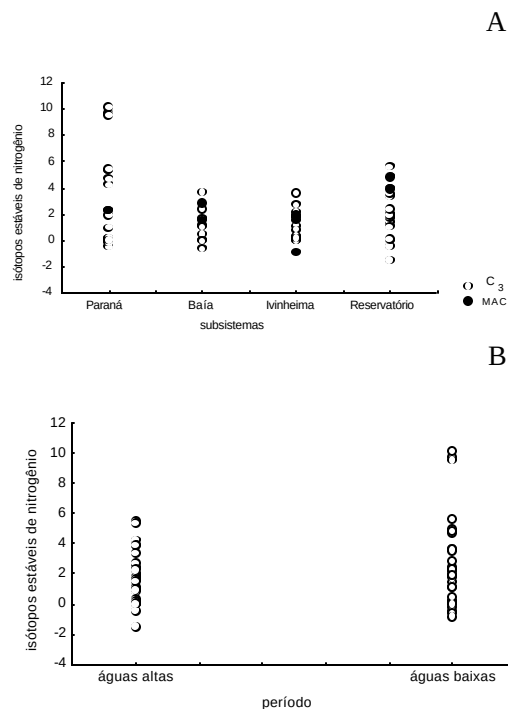


Figura 2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ de vegetação ripária por subsistema (A) e período (B).

Macrófitas Aquáticas

As plantas aquáticas apresentam maior variabilidade nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ do que as plantas terrestres. Farquhar et al. (1982) propuseram que em ambientes aquáticos essa ampla variação nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ é determinada por três fatores: a discriminação isotópica enzimática durante a fixação de carbono, a taxa de difusão do CO_2 e a composição isotópica do “pool” de carbono inorgânico dissolvido (CID). Para a planície de inundação do rio Paraná, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ apresentaram variabilidade de -32,8 a -16,8‰ para as macrófitas C_3 e de -15,1 a -11,5‰ para as macrófitas de via fotossintética Hatch-Slack (C_4) (Figura 3A). Os valores isotópicos médios das macrófitas C_4 ($-13,0 \pm 0,87\text{‰}$) foram mais positivos do que o das macrófitas C_3 ($-28,4 \pm 2,7\text{‰}$). A variabilidade na composição isotópica das plantas com via fotossintética C_4 é bem menor do que a das plantas C_3 . Este fato deve-se a ocorrência de fracionamentos com magnitudes diferentes daquelas das plantas C_3 , durante a carboxilação e assimilação do CO_2 .

Diferenças isotópicas espaciais não foram constatadas para as macrófitas C_3 (ANOVA: gl = 3; F = 1,0975; p = 0,3547) as quais apresentaram variabilidade de -32,8 a -18,0‰ ($-27,5 \pm 3,70\text{‰}$) no subsistema Paraná; de -32,4 a -16,8‰ ($-28,6 \pm 3,33\text{‰}$) no subsistema Reservatório; de -30,9 a -22,3 ‰ ($-28,7 \pm 1,74\text{‰}$) no subsistema Ivinheima e de -31,5 a -26,3‰ ($-28,9 \pm 1,21\text{‰}$) no Baía (4A). As macrófitas C_4 também não demonstraram diferenças espaciais significativas (ANOVA: gl = 3; F = 1,9207; p = 0,1468). A variabilidade isotópica observada foi de -14,2 a -16,7‰ ($-13,3 \pm 0,55\text{‰}$) no subsistema Paraná, de -13,7 a -11,53‰ ($-12,6 \pm 0,62\text{‰}$) no Baía, de -15,1 a -12,6‰ ($-13,5 \pm 0,81\text{‰}$) no Ivinheima e de -15,1 a -11,6‰ ($-12,9 \pm 1,10\text{‰}$) no Reservatório (Figura 3A). Da mesma forma que a vegetação ripariana de maior porte, as macrófitas também sofreram forte efeito biogênico do rio. Corpos de água com alta

biomassa vegetal circundante e elevadas temperaturas ($>30^{\circ}\text{C}$) apresentam grande demanda por CO_2 , excedendo o seu suprimento. Conseqüentemente, o uso excessivo de CO_2 durante o dia torna-se restituído pelo CO_2 respirado durante a noite, rendendo para as plantas aquáticas valores negativos de $\delta^{13}\text{C}$. Por outro lado, nos estudos desenvolvidos ao longo da várzea amazônica, Martinelli et al. (1991) encontraram variações espaciais para a macrófita C_4 , *Echinochloa polystachya*, que apresentou tendência contrária àquela observada para as plantas terrestres C_3 , ou seja, os valores isotópicos das macrófitas diminuíram rio abaixo, uma vez que estas plantas se encontravam abaixo da camada limite de trocas gasosas. Os decréscimos nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram resultantes da diluição do carbonato, proveniente dos Andes, por CO_2 biogênico, produzido pela respiração do rio.

Comportamento oposto foi verificado no tributário Henry's Fork do rio Snake (USA) (Angradi, 1993). As macrófitas, bem como, os demais produtores primários, da cabeceira do rio foram mais deplecionados em ^{13}C . Para este resultado, o autor sugeriu que as espécies dos trechos inferiores do rio, provavelmente, absorviam HCO_3^- , ao mesmo tempo em que a velocidade da corrente de água era constante ao longo do rio.

Desta forma, o tipo de carbono inorgânico absorvido pelos vegetais aquáticos pode variar de espécie para espécie. O CO_2 dissolvido é descrito como a forma preferencial de carbono assimilado pelos vegetais, entretanto, muitas espécies são passíveis de assimilar o HCO_3^- , como algumas macrófitas submersas, ou então, no caso das emergentes, o CO_2 atmosférico (Keeley & Sandquist, 1992).

As macrófitas C_3 submersas enraizadas tiveram valores de $\delta^{13}\text{C}$ significativamente diferente dos demais grupos (ANOVA: $\text{gl} = 3$; $F = 25,9278$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$). As macrófitas emergentes C_3 apresentaram variabilidade isotópica de $-32,8$ a $-18,0\text{‰}$ ($-$

$28,9 \pm 2,18\text{‰}$), as flutuantes C_3 de $-30,7$ a $-24,4\text{‰}$ ($-28,7 \pm 1,51\text{‰}$), as enraizadas flutuantes C_3 de $-29,4$ a $-25,4\text{‰}$ ($-28,1 \pm 1,49\text{‰}$) as submersas enraizadas C_3 de $-21,1$ a $-16,8\text{‰}$ ($-19,7 \pm 1,93\text{‰}$) (Figura 3B). Estas macrófitas não apresentaram diferenças isotópicas sazonais significativas (ANOVA: $\text{gl} = 1$; $F = 0,5816$; $p = 0,4477$).

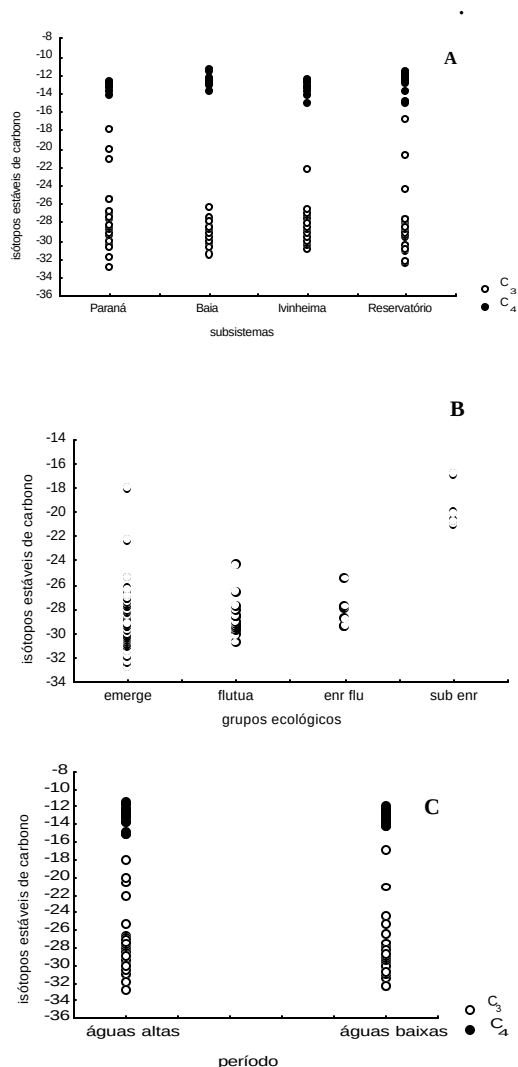


Figura 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ para macrófitas por subsistema (A), grupo ecológico (B) e período (C).

Durante o período de chuvas os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ das macrófitas C_3 foram $-28,2 \pm 3,07\text{‰}$ ($-32,8$ a $-16,8\text{‰}$) e na seca $-28,7 \pm 2,29\text{‰}$ ($-32,4$ a $-20,7\text{‰}$). Por outro lado, um exemplo da ocorrência dessas variabilidades foi averiguado por Boon & Bunn (1994), que encontraram espacial e temporalmente diferenças significantes nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ em plantas aquáticas de pequenos corpos de águas lânticas, localizados na planície de inundação do rio Murray (Austrália). As macrófitas emergentes tenderam a ser mais enriquecidas em ^{13}C durante o verão do que na primavera, como foi o caso de *Eleocharis sphacelata* e *Juncus ingens*. Através destes resultados, percebe-se que a extrapolação de dados de uma dada região ou período pode conduzir a equívocos.

A composição isotópica das macrófitas C_4 variou de $-15,1$ a $-11,5\text{‰}$ ($-12,9 \pm 1,04\text{‰}$) no período de chuva e de $-14,2$ a $-11,9\text{‰}$ ($-13,1 \pm 0,65\text{‰}$) na seca (Figura 4C). Assim não houve diferenças sazonais significativas entre as duas fases (ANOVA: $\text{gl} = 1$; $F = 0,0196$; $p = 0,8896$).

A razão isotópica de ^{15}N dos produtores primários aquáticos é dependente da abundância de formas nitrogenadas de nutrientes inorgânicos, bem como a ocorrência de fracionamentos no meio. Para a planície de inundação do rio Paraná, influências significativas da via fotossintética ou dos grupos ecológicos não foram verificadas na composição isotópica de nitrogênio das macrófitas aquáticas (ANOVA_{via fotossintética}: $\text{gl} = 1$; $F = 0,5808$; $p = 0,4474$ e ANOVA_{grupos ecológicos}: $\text{gl} = 3$; $F = 2,6101$; $p = 0,0544$). As macrófitas C_3 apresentaram valores de $\delta^{15}\text{N}$ que variaram de $-4,6$ a $14,0\text{‰}$ ($4,1 \pm 3,88\text{‰}$) e as C_4 de $-1,9$ a $10,9\text{‰}$ ($3,5 \pm 3,17\text{‰}$) (Figura 4A). Ao contrário dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, os de $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas aquáticas apresentaram diferenças espaciais significativas entre os subsistemas (ANOVA: $\text{gl} = 3$; $F = 13,6199$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$): o subsistema Baía, cuja variabilidade isotópica foi de $-2,8$ a

$7,7\text{‰}$ ($1,2 \pm 2,32\text{‰}$) diferenciou-se dos demais subsistemas; o subsistema Ivinheima com variabilidade isotópica de $-3,2$ a $8,4\text{‰}$ ($3,8 \pm 2,93\text{‰}$) além de diferenciar-se do Baía, diferenciou-se também do Reservatório de Itaipu, o qual apresentou variabilidade de $-3,7$ a $14,0\text{‰}$ ($6,1 \pm 3,88\text{‰}$). O subsistema Paraná apresentou valores $\delta^{15}\text{N}$ que variaram de $-4,6$ a $8,6\text{‰}$ ($4,3 \pm 3,58\text{‰}$) (Figura 4A).

A variabilidade de $\delta^{15}\text{N}$ demonstrada pelos grupos ecológicos foi de $-1,9$ a $14,0\text{‰}$ para as emergentes ($4,3 \pm 3,45\text{‰}$); de $-4,6$ a $9,4$ ($0,4 \pm 4,83\text{‰}$) para as enraizadas flutuantes; de $-3,7$ a $9,8$ ($3,1 \pm 4,18\text{‰}$) para as flutuantes e de $-1,9$ a $7,3\text{‰}$ ($4,7 \pm 4,41\text{‰}$) para as submersas enraizadas (Figura 4B). No geral, a sazonalidade não influenciou nos valores isotópicos das macrófitas (ANOVA: $\text{gl} = 1$; $F = 0,1045$; $p = 0,7470$). Análises das interações da sazonalidade com as outras variáveis estudadas revelaram que não houve interação com os grupos ecológicos (ANOVA: $\text{gl} = 3$; $F = 2,3522$; $p = 0,0754$). Entretanto, tendências contrárias foram registradas para as vias fotossintéticas (ANOVA: $\text{gl} = 1$; $F = 3,9746$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$) e subsistemas (ANOVA: $\text{gl} = 3$; $F = 3,2488$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$). Variabilidade de $-1,9$ a $14,0\text{‰}$ ($3,9 \pm 3,56\text{‰}$) e de $-4,6$ a $12,0\text{‰}$ ($4,0 \pm 3,86\text{‰}$) foram registradas para as fases de chuva e seca, respectivamente (Figura 4C). Para a planície de inundação do rio Murray, Boon & Bunn (1994) também encontraram variabilidades espaciais e temporais nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (de $-6,2$ a $10,6\text{‰}$).

No geral, as macrófitas submersas foram consideravelmente mais enriquecidas em ^{15}N na primavera do que no verão. Os valores isotópicos variaram em torno de 10‰ (de $0,4$ a $10,6\text{‰}$) para *Ludwigia peploides*, e 9‰ para o gênero *Myriophyllum* (de $-5,8$ a $4,8\text{‰}$). Tendências contrárias foram observadas para algumas macrófitas emergentes como *Eleocharis sphacelata* e *Juncus usitatus*, que apresentaram valores isotópicos de ^{15}N deplecionados na primavera.

Fitoplâncton

Poucos mensuramentos isotópicos têm sido feitos a partir de amostras diretas de fitoplâncton. Em sua maioria, estas amostras apresentam determinação isotópica feita através de estimativas de valores, tendo como referência os valores isotópicos do COP ou do zooplâncton. O zooplâncton, empregado na estimativa isotópica do fitoplâncton deve ser exclusivamente filtrador (coepódos calanóides e cladóceros, com ressalvas aos cladóceros predadores Polyphemidae e Leptoridae). Embora estes organismos filtrem basicamente algas planctônicas, detritos podem fazer parte da dieta, principalmente entre os cladóceros. No entanto, pesquisas têm revelado que a utilização de ambos indicadores tem sido de grande confiabilidade (Benedito-Cecilio et al., 2000). A variabilidade de $\delta^{13}\text{C}$ do fitoplâncton, da planície de inundação do rio Paraná, estimados a partir do zooplâncton, foi de $-37,4$ a $-25,1\text{‰}$. Os valores isotópicos variaram de $-37,3$ a $-27,0\text{‰}$ no subsistema Paraná, de $-37,4$ a $-31,9\text{‰}$ no subsistema Baía, de $-34,4$ a $-25,1\text{‰}$ no Ivinheima e de $-32,6$ a $-27,3\text{‰}$ no Reservatório de Itaipu. (Figura 5A)

Os valores isotópicos médios foram mais negativos no subsistema Baía ($-35,6 \pm 2,33\text{‰}$), que se diferenciou dos demais subsistemas, seguido pelo subsistema Paraná ($-32,4 \pm 3,86\text{‰}$), que também se diferenciou dos outros subsistemas. Os valores médios mais positivos foram verificados nos subsistemas Reservatório ($-29,1 \pm 1,50\text{‰}$) e Ivinheima ($-29,8 \pm 4,13\text{‰}$), os quais se apresentaram diferentes dos subsistemas Paraná e Baía, apesar de não exibirem diferenças entre si (ANOVA: gl = 3; F = 25,1269; p < 0,05 e TUCKEY: p < 0,05).

Além de variações espaciais, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ demonstraram variações sazonais (ANOVA: gl = 1; F = 46,2081; p < 0,05 e TUCKEY: p < 0,05). No período de chuva ($-37,4$ a $-27,7\text{‰}$) o valor isotópico médio foi $-33,7 \pm 3,37$ e na seca foi $-29,7 \pm 3,59\text{‰}$ ($-37,2$ a $-25,1\text{‰}$) (Figura 5B).

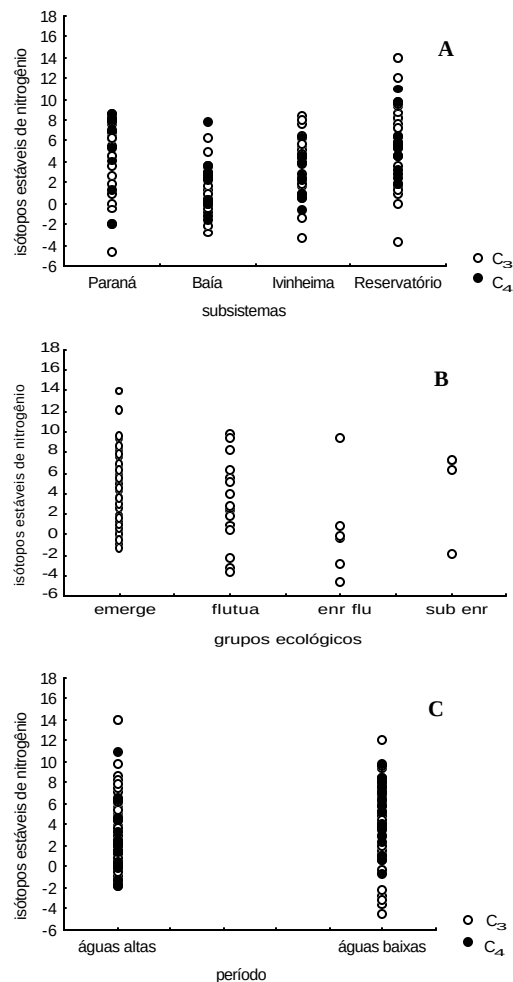


Figura 4. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ de macrófitas aquáticas por subsistema (A), grupo ecológico (B) e período (C).

Os $\delta^{13}\text{C}$ são influenciados pelas mudanças sazonais introduzidas pelas condições ambientais (temperatura, por exemplo) e fisiológicas. No lago Kizaki no Japão (Ilha Honshu), durante 1984 e 1985, Yoshioka et al. (1988) verificaram tendência isotópica descendente na seguinte ordem: junho (de $-15,0$ a $-18,8\text{‰}$), setembro ($-23,4\text{‰}$) e abril ($-35,3\text{‰}$).

Para a região amazônica, Benedito-Cecilio et al. (2000), investigando as fontes de carbono para a pesca entre Vargem Grande e Óbidos, durante os períodos de águas altas e baixas de 1983 a 1998, demonstraram que os $\delta^{13}\text{C}$ do fitoplâncton (a partir do zooplâncton) não foram sazonalmente diferentes ao longo do rio.

A interação entre as fases de estudo e os subsistemas foi significativa (ANOVA: $gl = 1$; $F = 7,7592$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ do fitoplâncton variaram de $-0,6$ a $10,7\text{‰}$. A variabilidade entre os subsistemas foi de $4,0$ a $10,7\text{‰}$ para o Paraná; de $-0,61$ a $4,39\text{‰}$ para o Baía; de $1,5$ a $5,3\text{‰}$ para o Ivinheima e de $3,6$ a $9,5\text{‰}$ para o reservatório de Itaipu (Figura 6A).

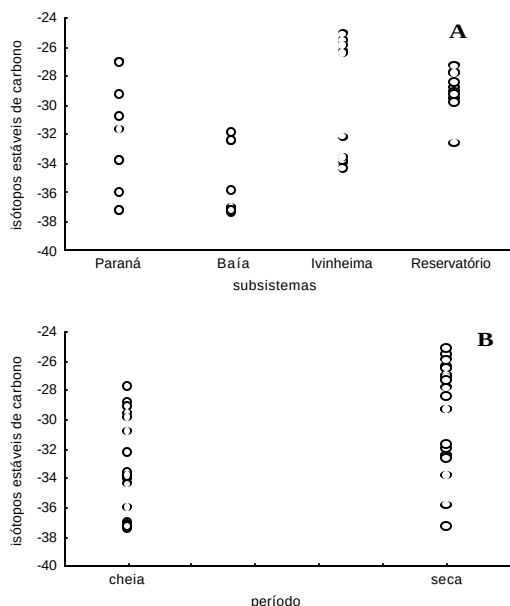


Figura 5. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ de fitoplâncton por subsistemas (A) e período (B).

Os subsistemas Ivinheima ($2,9 \pm 1,21\text{‰}$) e Baía ($3,1 \pm 2,15\text{‰}$) apresentaram os menores valores médios, enquanto que as maiores médias valores foram observadas para os subsistemas reservatório de Itaipu ($6,5 \pm 2,1\text{‰}$) e Paraná ($6,3 \pm 2,42\text{‰}$). Diferenças espaciais

foram evidenciadas para os subsistemas Ivinheima e Baía em relação aos subsistemas reservatório de Itaipu e Paraná (ANOVA: $gl = 3$; $F = 16,4413$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$).

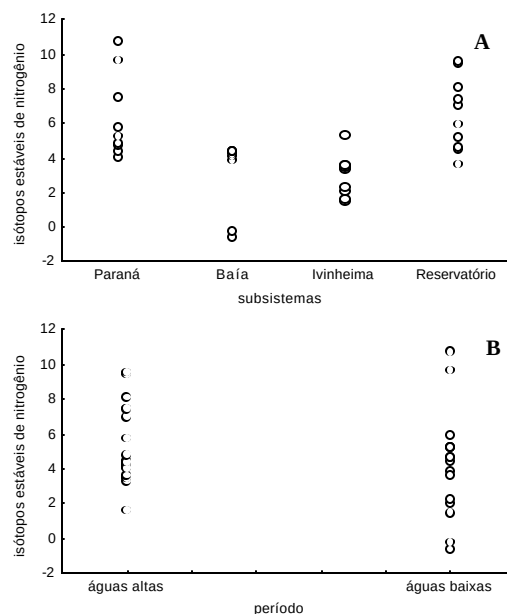


Figura 6. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ de fitoplâncton por subsistemas (A) e período (B).

São poucos os estudos realizados com o mensuramento de $\delta^{15}\text{N}$ no fitoplâncton e perifíton de água doce. Wada et al. (1997) verificaram valores médios de $2,0\text{‰}$ para o fitoplâncton nos lagos do Vale do Médio rio Doce. Na planície de inundação do rio Orinoco (Venezuela) foram constatados valores para o fitoplâncton de $2,7$ a $4,4\text{‰}$ (Hamilton & Lewis, 1992), e no lago Kizaki (Japão), valores de $4,7$ a $0,9\text{‰}$ (Yoshioka et al., 1988). Assim como para os $\delta^{13}\text{C}$, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ do perifíton apresentam grande variabilidade, refletindo a elevada diversidade de seus componentes.

A variabilidade isotópica durante as chuvas foi de $1,6$ a $9,5\text{‰}$ e de $-0,6$ a $10,7\text{‰}$ durante as seca (Figura 6B). Diferenças sazonais também foram registradas (ANOVA: $gl = 1$; $F = 5,3081$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$). Na fase de

chuva ($5,2 \pm 2,17\%$) o valor isotópico médio foi 1‰ maior do que o na fase subsequente ($4,2 \pm 3,03\%$). A interação entre os valores isotópicos obtidos para os subsistemas e as fases de coleta do material de estudo foi significativa (ANOVA: gl= 3; F= 6,9393; p <0,05 e TUCKEY: p <0,05).

Perífiton e COP (carbono orgânico particulado)

A análise de 42 amostras de perífiton e 40 de COP revelou, respectivamente, variabilidade isotópica de carbono de $-31,9$ a $-18,2\%$ e de $-34,4$ a $-22,2\%$ (Figura 7). No geral, o subsistema Baía apresentou os valores médios mais negativos para o perífiton ($-28,7 \pm 2,70\%$) e COP ($-30,9 \pm 2,45\%$), enquanto que o subsistema Ivinheima apresentou os valores mais positivos para o perífiton ($-23,12 \pm 3,57\%$) e o Paraná para o COP ($-25,8 \pm 1,92\%$) (Figura 7A). Diferenças espaciais significativas foram registradas somente entre os subsistemas, sendo que os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do perífiton (ANOVA: gl = 3; F = 11,2595; p <0,05 e TUCKEY: p <0,05) e COP (ANOVA: gl = 3; F = 23,1136; p <0,05 e TUCKEY: p <0,05) observados no subsistema Baía diferenciaram-se significativamente daqueles dos demais subsistemas amostrados. Variabilidade sazonal significativa foi observada para a composição isotópica do perífiton (ANOVA: gl = 1; F = 8,5291; p <0,05 e TUCKEY: p <0,05), cujos valores médios foram mais negativos durante a fase de chuva ($-26,0 \pm 3,31\%$) do que na de seca ($-23,9 \pm 3,24\%$), entretanto, estas diferenças sazonais não se relacionaram significativamente com a variável espacial. Embora os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do COP não tenham apresentado diferenças sazonais significativas, valores médios levemente mais negativos ocorreram na fase de seca (seca: $-27,3 \pm 3,15\%$; chuvas: $-27,2 \pm 2,36\%$) (Figura 7B). Interações sazonais significativas com a variável espacial foram evidenciadas para o COP (ANOVA: gl = 3; F = 2,9171; p <0,05 e TUCKEY: p <0,05).

O perífiton, ao longo do rio Amazonas, apresenta a maior variabilidade isotópica de ^{13}C dentre os “pools” de carbono investigados. Os valores mais negativos são de $-36,7\%$ e os mais positivos são de -21% (Martinelli et al., 1994). Essa variação é explicada como resultado da grande diversidade de espécies que podem compor o perífiton (como mencionado anteriormente) ou ainda devido ao uso de CO_2 biogênico, derivado do substrato sobre o qual o perífiton está frequentemente aderido. Este efeito pode ser também correlacionado com as variações sazonais entre os períodos de águas altas e baixas, ao longo do rio (Benedicto-Cecilio et al., 2000).

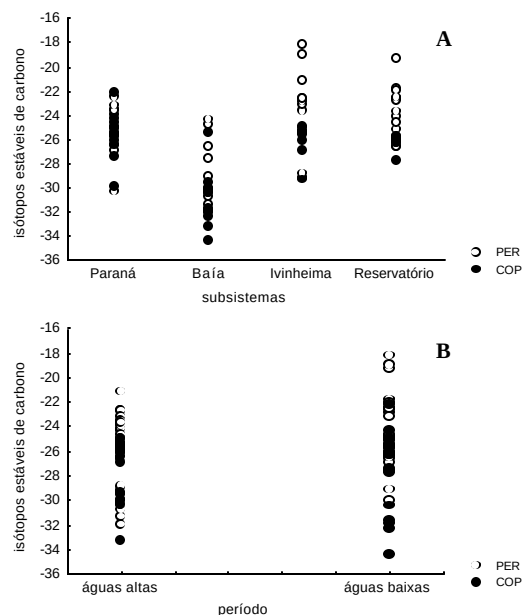


Figura 7. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ de perífiton (PER) e carbono orgânico particulado (COP) por subsistemas (A) e período (B).

A composição isotópica de nitrogênio do perífiton foi de 1,1 a 10,2‰ e do COP de $-0,9$ a 11,8‰ (Figura 8). Os maiores valores médios de nitrogênio destes grupos biológicos foram observados para o subsistema reservatório de Itaipu (perífiton: $7,1 \pm 2,09\%$; COP: $6,6 \pm$

3,22‰), seguido do Paraná (perifíton: $5,8 \pm 1,84\%$; COP: $6,3 \pm 3,92\%$) e Ivinheima (perifíton: $5,2 \pm 2,01\%$; COP: $5,7 \pm 2,23\%$), sendo os menores valores àqueles verificados no Baía (perifíton: $2,7 \pm 1,38\%$; COP: $3,6 \pm 2,14\%$) (Figura 8A). Entretanto, diferenças espaciais significativas para o subsistema Baía em relação aos demais subsistemas foram registradas somente para o perifíton (ANOVA: $gl = 3$; $F = 10,9570$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$).

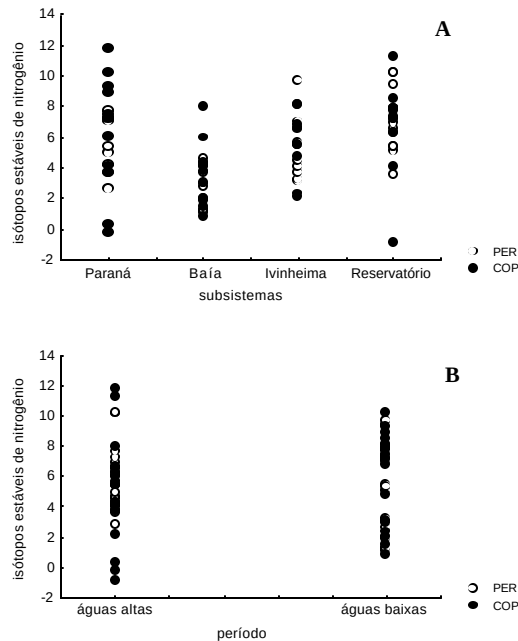


Figura 8. Valores de $\delta^{15}N$ de perifíton (PER) e carbono orgânico particulado (COP) por subsistema (A) e período (B)

Tanto o perifíton quanto o COP não apresentaram variabilidade sazonal significativa. Entretanto, interações significativas entre período e subsistemas foram registradas para o COP (ANOVA: $gl = 3$; $F = 3,5531$; $p < 0,05$ e TUCKEY: $p < 0,05$). Diferenças de 0,3‰ foram exibidas pelo perifíton entre as fases de chuva ($5,4 \pm 2,02\%$) e seca ($5,1 \pm 2,86\%$) e diferenças de 1,1‰ foram exibidas pelo COP durante o mesmo

período de estudo (chuvas= $5,0 \pm 3,27\%$; seca= $6,1 \pm 2,95\%$) (Figura 8B).

Variabilidade entre os produtores

As composições isotópicas de plantas C_3 e MAC, não apresentaram diferenças significativas, como mencionado anteriormente. Os valores da vegetação ripária terrestre, macrófitas aquáticas C_3 , macrófitas aquáticas C_4 , perifíton, COP e fitoplâncton foram significativamente diferentes quanto as razões de carbono (ANOVA: $gl = 5$; $F = 377,0866$; $p < 0,05$) (Fig. 1A) e de nitrogênio (ANOVA: $gl = 5$; $F = 11,9720$; $p < 0,05$) (Fig. 9). Entretanto, cabe destacar que a grande variabilidade das plantas C_3 exige cautela nas inferências acerca das fontes de carbono para a cadeia alimentar.

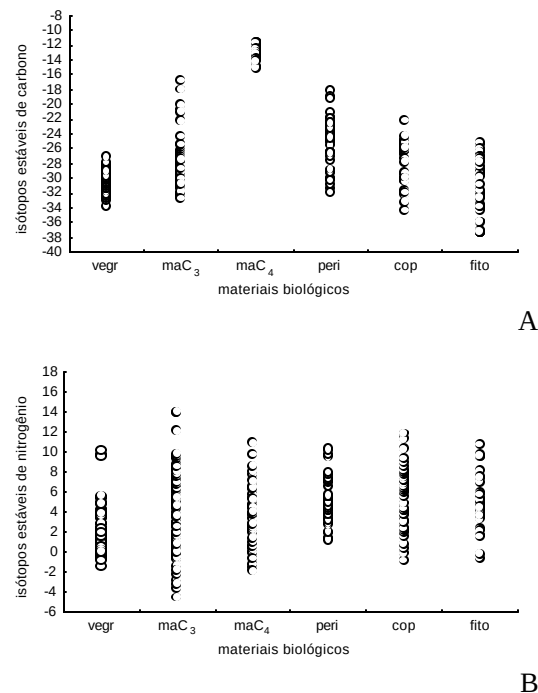


Figura 9. Valores isotópicos de carbono (A) e nitrogênio (B) para os produtores primários analisados.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A.A. E ZALEWSKI, M. 1996. A planície alagável do alto rio Paraná: Importância e preservação (Upper Paraná River floodplain: Importance and Preservation). Maringá-PR., EDUEM. 100p.
- ANGRADI, T. R. Stable carbon and nitrogen isotope analysis of seston in a regulated rocky mountain river. USA. *Regul. Rivers Res. Manag.*, Chichester, v. 8, p. 251–270, 1993.
- BENEDITO-CECILIO, E.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; FORSBERG, B. R.; BITTENCOURT, M. M.; MARTINELLI, L. C. Carbon sources of Amazonian fisheries. *Fish. Manag. Ecol.*, Oxford, v. 7, p. 305–315, 2000.
- BOON, P. I.; BUNN, S. E. Variations in the stable isotope composition of aquatic plants and their implications for food web analysis. *Aquat. Bot.*, Amsterdam, v. 48, p. 99–108, 1994.
- CAMPOS, J. B. 1997. Análise dos desflorestamentos, estrutura dos fragmentos florestais e avaliação do banco de sementes do solo da ilha Porto Rico na planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, Palo Alto, v. 40, p. 503–537, 1989.
- FARQUHAR, G. D.; O'LEARY, M. H.; BERRY, J. A. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.*, Collingwood, v. 9, p. 121–137, 1982.
- FORSBERG, B.; ARAUJO LIMA, C. A. R. M.; MARTINELLI, L. A.; VICTORIA, R. L. e BONASSI, J. A. 1993. Autotrophic carbon sources for fishes of the central amazon. *Ecology*, v. 74, n. 3, p. 643 - 652.
- FRY, B. Food web structure on Georges bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnol. Oceanogr.*, Lawrence, v. 33, no. 5, p. 1182–1190, 1988.
- FUEM.NUPELIA/ITAIPU BINACIONAL. 1999. Reservatório de Itaipu – Aspectos biológicos e sócio-econômicos da pesca. Maringá: il. (Relatório anual – Itaipu Binacional) 237p.
- FUEM/CIAMB-PADCT. 1993. Estudos ambientais da planície de inundação do rio Paraná, no trecho compreendido entre a foz do rio Paranapanema e o reservatório de Itaipu. Maringá, Fundação Universidade Estadual de Maringá, 3v.
- HAMILTON, S. K.; LEWIS Jr., W. M. Stable carbon and nitrogen isotopes in algae and detritus from the Orinoco river floodplain, Venezuela. *Geochim. Cosmochim. Acta*, London, v. 56, p. 4237–4246, 1992.
- KEELEY, J. E.; SANDQUIST, D. R. Carbon: freshwater plants. *Plant Cell Environ.*, Oxford, v. 15, p. 1021–1035, 1992.
- LAJTHA, K.; MARSHALL, J. D. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R. H. (Ed.). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Oxford: Blackwell Scientific, 1994. cap. 1, p. 1–21. (Methods in ecology).
- LEITE, R. G. 2000. Fontes de energia utilizadas pelas larvas de peixes no rio Solimões/Amazonas e suas áreas inundáveis. Tese de Doutorado, Universidade do Amazonas, Manaus, Amazônia.
- MARTINELLI, L. A.; DEVOL, A. H.; VICTORIA, R. L.; RICHEY, J. E. Stable carbon isotope variation in C₃ and C₄ plants along the Amazon river. *Nature*, London, v. 353, p. 57–59, 1991.
- MARTINELLI, L. A.; VICTORIA, R. L.; FORSBERG, B. R.; RICHEY, J. E. Isotopic composition of majors carbon reservoirs in the Amazon floodplain. *Internat. J. Ecol. Environ. Sci.*, New Delhi, v. 20, p. 31–46, 1994.
- MARTINELLI, L. A.; VICTORIA, R. L.; TRIVELIN, P. C. O.; DEVOL, A. H.; RICHEY, J. E. ¹⁵N natural abundance in plants of the Amazon river floodplain and potential atmospheric N₂ fixation. *Oecologia*, Berlin, v. 90, p. 591–596, 1992.
- NEILL, C. e CORNWELL, J. C. 1992. Stable carbon, nitrogen and sulfur isotopes in a prairie

- marsh food web. *Wetlands*, v.12, n. 3, p. 217 - 224.
- O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, Oxford, v. 20, p. 553-567, 1981.
- PARK, R.; EPSTEIN, S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis. *Geochim. Cosmochim. Acta*, London, v. 21, p. 110-126, 1960.
- PETERSON, B. J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, Palo Alto, v. 18, p. 293-320, 1987.
- ROMAGNOLO, M. B. 1998. Análise florística e estrutural de remanescentes florestais da margem direita do alto rio Paraná, Município Taquaruçu, MS. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- ROUNICK, J. S.; WINTERBOURN, M. J. Stable carbon isotopes and carbon flow in ecosystems. *BioScience*, Washington, v. 36, no. 3, p. 171-177, 1986.
- SCHLESER, G. H.; JAYASEKERA, R. $\delta^{13}\text{C}$ -Variations of leaves in forests as an indication of reassimilated CO_2 from the soil. *Oecologia*, Berlin, v. 65, p. 536-542, 1985.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. Estimates of N_2 fixation in ecosystems: the need for and basis of the ^{15}N natural abundance method. In: RUNDEL, J. R.; EHRLINGER, J. R.; NAGY, K. A. *Stable isotopes in ecological research*, New York: Springer-Verlag, p. 342-374, 1988.
- SMITH, B. N.; WALKER, N. A. Photosynthesis by aquatic plants: effects of unstirred layers in relation to assimilation of CO_2 and HCO_3^- and to carbon isotopic discrimination. *New Phytol.*, Cambridge, v. 86, p. 245-259, 1980.
- TIESZEN, L.L.; BOUTON, T. W.; TESDAHL, K. G.; SLADE, N. A. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for ^{13}C analysis of diet. *Oecologia*, v.57, p. 32 - 37.
- VANDER-ZANDEN, M. J.; CABANA, G.; RASMUSSEN, J. B. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, v.54, p. 1142-1158, 1997.
- WADA, E.; KABAYA-UZAKI, Y.; MITAMURA, O.; SAIJO, Y.; TUNDISI, J. G. $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ Map of the middle rio Doce Valley lake ecosystem. In: TUNDISI, J. G.; SAIJO, Y. (Ed.). *Limnological studies on the rio Doce Valley lakes, Brazil*. São Paulo: Brazilian Academy of Sciences; São Carlos: USP. 1997. p. 189-196.
- YOSHIOKA, T.; WADA, E. e SAIJO, Y. Analysis of lacustrine food web with natural carbon and nitrogen isotope ratios. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, Stuttgart, v. 23, p. 573-578, 1988.
- ZAR, J. H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 620p.