

2.16. Variabilidade Isotópica em macrófitas

Célia de Almeida Lopes
Evanilde Benedito-Cecílio

Introdução

Em ambientes aquáticos, os isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), baseados na razão $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$, dos tecidos vegetais têm sido utilizados no esclarecimento da via fotossintética de fixação de CO_2 (Osmond *et al.* 1981; Keeley & Sandquist 1992; Kalapos *et al.* 1997), na estimativa da contribuição vegetal para a matéria orgânica do sedimento (McArthur & Moorhead 1996; Martinelli *et al.* 1999), no entendimento do funcionamento de cadeias alimentares (Araújo-Lima *et al.* 1986; Forsberg *et al.* 1993; Magnusson *et al.* 1999; Benedito-Cecílio *et al.* 2000; Clapcott & Bunn 2003), bem como, na avaliação dos impactos relacionados com a biomagnificação de contaminantes (Hobson *et al.* 2002; Hoeskstra *et al.* 2003; Silva *et al.* 2005).

Progressos na interpretação da dinâmica das variabilidades isotópicas de carbono intensificaram-se com a utilização desse elemento isotópico aliado ao isótopo estável de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) (France 1995; Wada *et al.* 1997; Jennings *et al.* 1997). Entretanto, os mecanismos responsáveis pela composição de $\delta^{15}\text{N}$, a partir da razão $\delta^{15}\text{N}/\delta^{14}\text{N}$, nos vegetais ainda necessitam ser estudados (Handley & Raven 1992; Lopes, & Benedito-Cecílio 2002). A maioria das investigações concentra-se em ambientes terrestres e marinhos e, conseqüentemente, a interpretação de seu comportamento isotópico em organismos autotróficos de água doce é proveniente da compreensão da organização e ciclagem de nitrogênio nestes ecossistemas (Lopes & Benedito-Cecílio 2002). Os trabalhos acerca de $\delta^{15}\text{N}$ nos vegetais aquáticos ou de áreas adjacentes são desenvolvidos com o intuito de identificar a fixação biológica do nitrogênio molecular (Martinelli *et al.* 1992), a fonte e a forma nitrogenada utilizada pelos vegetais, especialmente, aqueles em áreas impactadas (Macko & Ostrom 1994; McArthur & Moorhead 1996) e a contribuição vegetal para cadeias alimentares (Hamilton & Lewis Jr 1992; Manetta *et al.* 2003; Benedito-Cecílio *et al.* 2003).

A presença de heterogeneidades física, química e biológica entre os ambientes aquáticos e semi-aquáticos (Agostinho & Zalewski 1996), confere à planície de inundação do alto rio Paraná a formação de rios e lagoas comunicantes e isoladas dos rios. Nesses ambientes, quando ocorre elevação dos níveis hidrométricos podem ser observadas consideráveis alterações nas condições limnológicas, no balanço dos processos de produção/respiração e padrões de ciclagem de nutrientes (Thomaz *et al.* 1997). A sua jusante, o reservatório de Itaipu drena uma vasta área da América do Sul ($2.8 \times 10^6 \text{ km}^2$) (Bini *et al.* 1999), formando no rio Paraná um lago com particularidades bióticas e abióticas intimamente ligadas às condições ambientais e operacionais da barragem (Fuem.Nupelia/Itaipu Binacional 1999).

Os ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná e do reservatório de Itaipu apresentam uma considerável abundância de táxons e formas biológicas (emergentes, flutuantes e submersas, sendo as duas últimas enraizadas ou não) de macrófitas aquáticas (Campos & Souza 1997; Bini *et al.* 1999). Características limnológicas e metabólicas peculiares, possivelmente, influenciam as variabilidades isotópicas espaciais dessas plantas e conseqüentemente, dos demais níveis de fluxo de energia. Além disso, pesquisas têm demonstrado que elevações fluviométricas promovem marcantes variabilidades isotópicas inter-relacionadas com a sua magnitude (Boon & Bunn 1994; Benedito-Cecílio *et al.* 2000; 2003). Dessa forma, atesta-se, a necessidade de investigações temporais, além de espaciais, para o entendimento das variabilidades dos organismos autotróficos que fazem parte do fluxo de carbono e nitrogênio que dirigem a dinâmica estrutural e funcional dos ecossistemas.

Os estudos isotópicos espaço-temporais abordando as macrófitas aquáticas são essencialmente escassos e têm sido realizados apontando apenas a existência de variabilidades para poucas espécies e formas

biológicas (LaZerte & Szalados 1982; Martinelli *et al.* 1991; Keeley & Sandquist 1992; Boon & Bunn 1994; Benedito-Cecilio *et al.* 2000; Gichuki *et al.* 2001, Lopes 2001). De modo que, a maioria das pesquisas isotópicas sobre o fluxo de energia e nutrientes em teias alimentares aquáticas acaba desconsiderando a diversidade de macrófitas aquáticas e investigando as suas contribuições como apenas dois grandes grupos: plantas C₃ (via fotossintética Calvin-Benson) e C₄ (via fotossintética Hatch-Slack), o que provavelmente subestima a participação dessas plantas na transferência de energia nos ecossistemas.

Nesse sentido, o presente trabalho investigou a composição de $\delta^{13}\text{C}$ e de $\delta^{15}\text{N}$ de táxons e formas biológicas de macrófitas aquáticas da planície de inundação do alto rio Paraná e do reservatório de Itaipu durante os períodos de chuva e de estiagem. Foi testada a hipótese de que além da existência de variabilidades espaço-temporais sobre a composição isotópica de táxons e formas biológicas de macrófitas aquáticas, estas plantas apresentam variabilidades significativas entre tais táxons e formas biológicas.

Material e métodos

As coletas do material biológico foram realizadas durante os períodos de chuva (fevereiro e março/2000 a 2003) e de estiagem (agosto e setembro/2000 a 2003) na bacia do alto rio Paraná, entre a foz dos rios Paranapanema e Iguaçu, compreendendo a planície de inundação do rio Paraná (22°40'30.18'' - 22°51'23.7''S; 53°13'11.16'' - 53°36'1.02''W) e o reservatório de Itaipu (24°12'25'' - 24°45'37''S; 54°19'48'' - 54°22'20''W) (Fig. 1).

Os locais amostrados foram agrupados em quatro subsistemas de acordo com as características físicas e químicas (Agostinho & Zalewski 1996; Fuem.Nupelia/Itaipu Binacional 1999): a) Paraná= rio Paraná e lagoa aberta Ressaco do Pau Veio; b) Baía: rio Baía, lagoa aberta Maria Luiza e lagoa fechada Fechada; c) Ivinheima: rio Ivinheima, lagoa aberta Finado Raimundo e lagoa fechada Ventura; e d) Itaipu: trechos semi-lêntico e lótico do reservatório de Itaipu no rio Paraná.

Foram coletadas amostras de macrófitas aquáticas mais comuns em cada subsistema (Campos & Souza 1997; Bini *et al.* 1999), as quais foram identificadas ao menor nível taxonômico possível, representando as vias fotossintéticas C₃ (Calvin-Benson) e C₄ (Hatch-Slack) e depositadas no herbário da Universidade Estadual de Maringá (Tab. 1). Essas plantas foram agrupadas em formas biológicas conforme adaptação de Agami & Reddy (1991) e Bianchini Junior (2003).

Tabela 1. Relação de táxons, vias fotossintéticas, formas biológicas e número de amostras das macrófitas aquáticas analisadas.

Táxons	Vias Fotossintéticas	Formas Biológicas	N
Cyperaceae	C ₃	Emergente	6
<i>Eichhornia azurea</i> (Sw.) Kunth	C ₃	Emergente	23
Poaceae	C ₃ e C ₄	Emergente	84
<i>Polygonum</i> sp.	C ₃	Emergente	23
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	C ₃	Flutuante	23
<i>Pistia stratiotes</i> L.	C ₃	Flutuante	6
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> L. f.	C ₃	Flutuante	8
<i>Salvinia</i> sp.	C ₃	Flutuante	22
<i>Nymphaea</i> sp.	C ₃	Enraizada flutuante	9
<i>Egeria najas</i> Planch.	C ₃	Enraizada submersa	7

Foram preparadas 211 amostras de macrófitas, sendo que cada amostra foi considerada como uma réplica em *pool*, composta por cinco folhas de plantas de estado fisiológico semelhante, porém obtidas

de exemplares distintos. Essas folhas foram enxaguadas em água corrente, e posteriormente, em solução de HCl a 1N para remoção de carbonatos. Todas as amostras, devidamente identificadas, foram submetidas à secagem em estufa a 60°C (durante 72 horas) e maceradas até a obtenção de um pó fino.

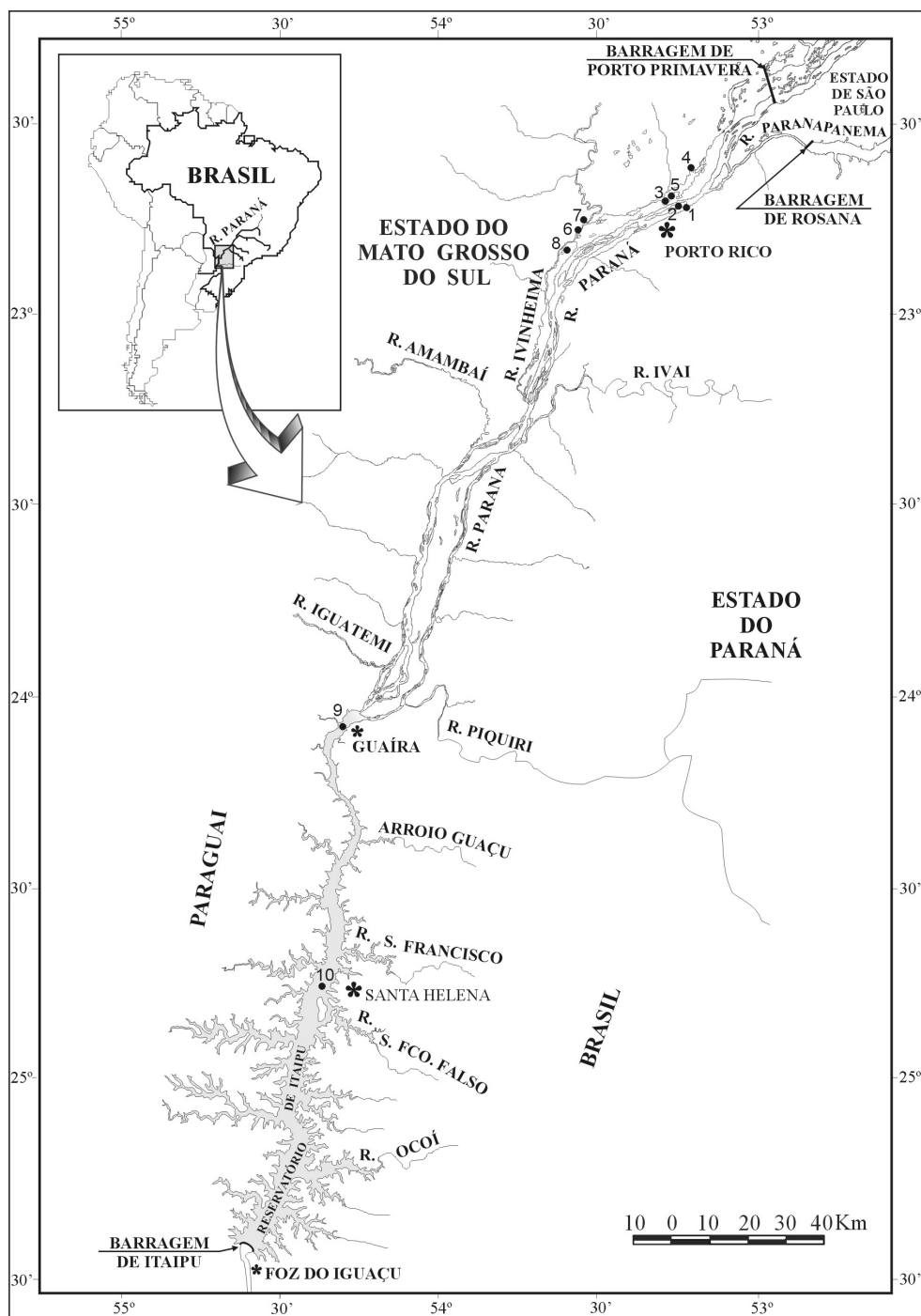


Figura 1. Locais de coleta: Subsistema Paraná: (1) rio Paraná e (2) ressaco do Pau Veio; Subsistema Baía: (3) rio Baía, (4) lagoa Maria Luiza e (5) lagoa Fechada; Subsistema Ivinheima: (6) rio Ivinheima, (7) lagoa do Finado Raimundo e (8) lagoa Ventura; e Subsistema Itaipu: trechos (9) lótico e (10) semi-lêntico.

Amostras de aproximadamente 3 mg foram enviadas ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) para a determinação da razão isotópica de carbono e nitrogênio em espectrômetro de massa:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ e } \delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$$

onde: R = ^{13}C : ^{12}C e ^{14}N : ^{15}N

As análises gráficas foram conduzidas no STATISTICA 6,0. Considerando a ausência de homocedasticidade e normalidade nos valores isotópicos, o efeito espacial e temporal sobre a variabilidade isotópica de macrófitas aquáticas, analisadas por táxons e formas biológicas, bem como, as diferenças entre os táxons e as formas biológicas foram investigados através da análise de variância de modelo nulo com o auxílio do programa computacional ECOSIM (Gotelli & Entsminger 2003). Correções baseadas na desigualdade de Bonferroni foram realizadas nas investigações espaciais e temporais por táxons (p -valor= 0,0045) e formas biológicas (p -valor= 0,01) das macrófitas aquáticas (Bussab & Morettin 2003).

Resultados

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ das macrófitas aquáticas amostradas variaram de $-32,8\text{‰}$ a $-11,2\text{‰}$ nos subsistemas (Fig. 2). Variabilidade isotópica espacial significativa foi registrada apenas para *Polygonum* sp. (IO =1,225; $p < 0,0045$) que teve os menores valores no subsistema Ivinheima ($-32,2$ a $-29,1\text{‰}$) e os maiores no Baía ($-30,0$ a $-28,1\text{‰}$).

As formas biológicas não exibiram diferença espacial significativa nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ($p > 0,01$) (Fig. 3).

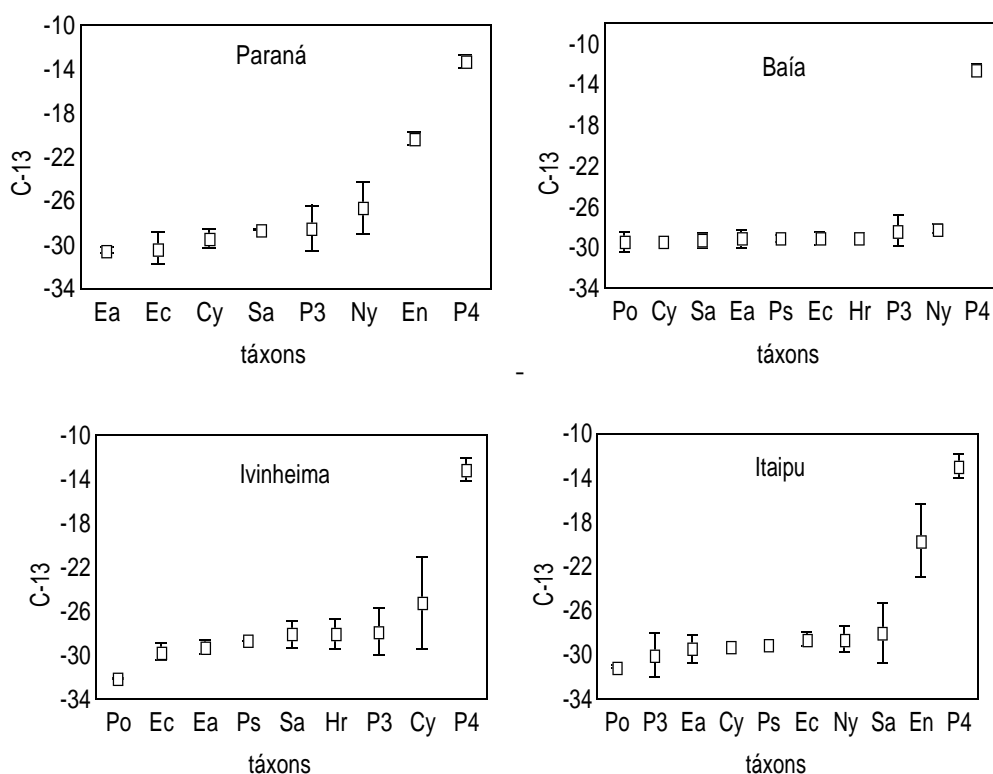


Figura 2. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ de macrófitas aquáticas por subsistemas (Ea = *Eichhornia azurea*, Ec = *Eichhornia crassipes*, Cy = Cyperaceae, Sa = *Salvinia* sp., P3 = Poaceae C₃, Ny = *Nymphaea* sp., En = *Egeria najas*, Hr = *Hydrocotyle ranunculoides*, Ps = *Pistia stratiotes*, Po = *Polygonum* sp. e P4 = Poaceae C₄).

Os táxons (IO =396,563; $p < 0,05$) e as formas biológicas (IO =10,517; $p < 0,05$) foram significativamente diferentes entre si (Figs. 2 e 3). Os menores valores foram verificados para as C₃ emergentes *Polygonum* sp. ($-32,2$ a $-29,1\text{‰}$) e *E. azurea* ($-30,9$ a $-27,5\text{‰}$) e para as flutuantes como *E. crassipes*

($-31,4$ a $-27,7\text{‰}$) e *P. stratiotes* ($-29,5$ a $-28,7\text{‰}$), enquanto que os maiores valores foram observados para a família Poaceae pertencente à forma emergentes C_4 ($-15,1$ a $-11,2\text{‰}$). Esses valores foram seguidos pelos das enraizadas submersas, *E. najas* ($-23,8$ a $-16,8\text{‰}$).

Diferença temporal nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ foi registrada apenas entre os exemplares de *E. crassipes* (IO = 8,164; $p < 0,0045$) que tiveram composição isotópica mais deplecionada durante a estiagem ($-31,4$ a $-28,4\text{‰}$) (Fig. 4). Não foi verificada variabilidade temporal significativa para as formas biológicas das macrófitas ($p > 0,01$).

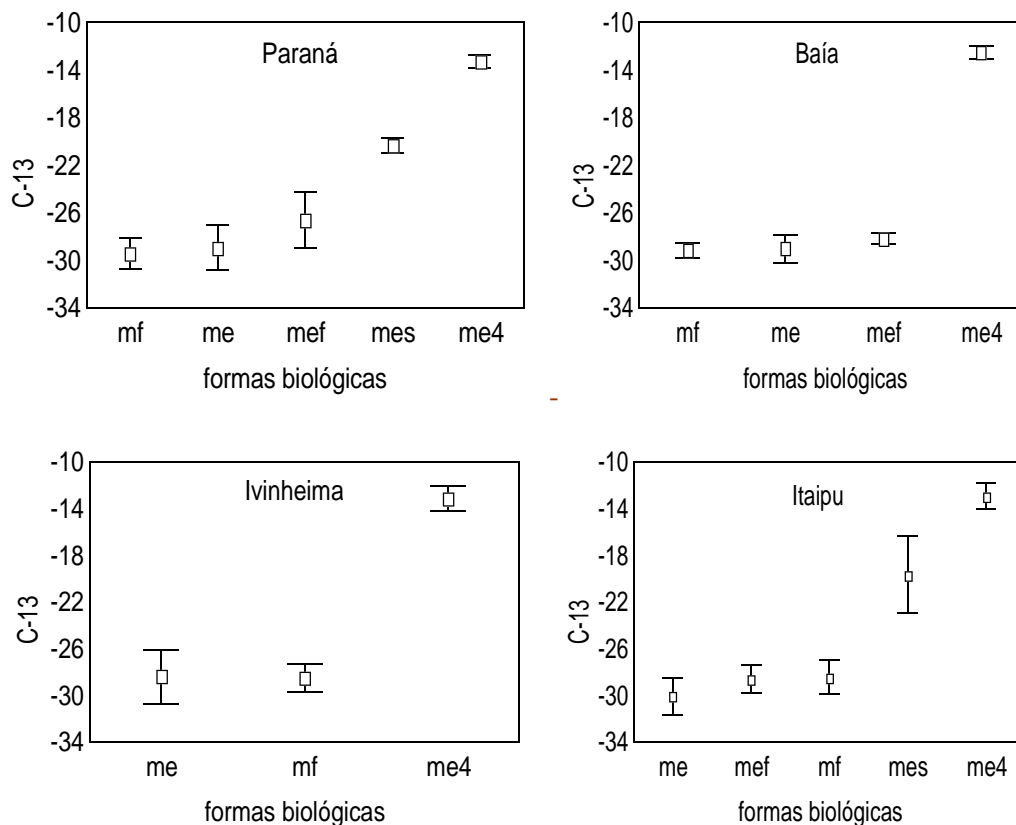


Figura 3. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ de macrófitas aquáticas agrupadas por formas biológicas em cada subsistema (mf = macrófita flutuante, me = macrófita emergente, mef = macrófita enraizada flutuante, mes = macrófita enraizada submersa e me4 = macrófita emergente C_4).

A composição de $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas analisadas variou de $-4,6\text{‰}$ a $14,3\text{‰}$ nos subsistemas (Fig. 5). Constatou-se variabilidade espacial significativa entre os subsistemas para *E. crassipes* (IO = 4,813; $p < 0,0045$) e Poaceae C_4 (IO = 5,486; $p < 0,0045$), as quais apresentaram os menores valores no subsistema Baía (*E. crassipes* = $0,9$ a $7,4\text{‰}$; e Poaceae C_4 = $-1,6$ a $7,7\text{‰}$).

As macrófitas aquáticas emergentes (IO = 10,144; $p < 0,01$) e flutuantes (IO = 5,797; $p < 0,01$) tiveram variabilidade espacial significativa nos valores de $\delta^{15}\text{N}$, sendo mais deplecionados nos subsistemas Baía (emergentes = $-1,6$ a $14,3\text{‰}$; flutuantes = $-2,2$ a $7,4\text{‰}$) e Ivinheima (emergentes = $1,4$ a $8,4\text{‰}$; flutuantes = $-3,2$ a $5,3\text{‰}$) (Fig. 6).

Entre os táxons (IO = 2,254; $p < 0,05$) e formas biológicas (IO = 4,910; $p < 0,05$) registrou-se diferença significativa (Figs. 5 e 6). Os menores e maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ ocorreram para as macrófitas enraizadas flutuantes do gênero *Nymphaea* ($-4,6$ a $9,4\text{‰}$) e para as emergentes como *Polygonum* sp. ($-0,2$ a $14,3\text{‰}$), respectivamente.

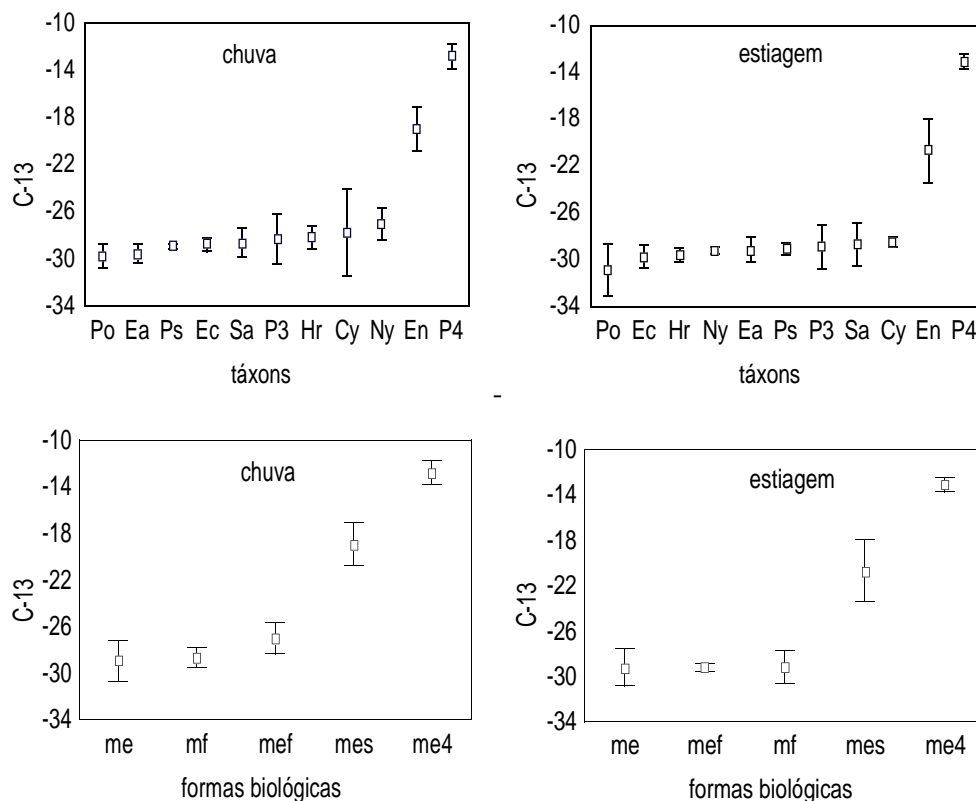


Figura 4. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas aquáticas por período de coleta (Ea = *Eichhornia azurea*, Ec = *Eichhornia crassipes*, Cy = Cyperaceae, Sa = *Salvinia* sp., P3 = Poaceae C₃, Ny = *Nymphaea* sp., En = *Egeria najas*, Hr = *Hydrocotyle ranunculoides*, Ps = *Pistia stratiotes*, Po = *Polygonum* sp., P4 = Poaceae C₄, mf = macrófita flutuante, me = macrófita emergente, mef = macrófita enraizada flutuante, mes = macrófita enraizada submersa e me4 = macrófita emergente C₄).

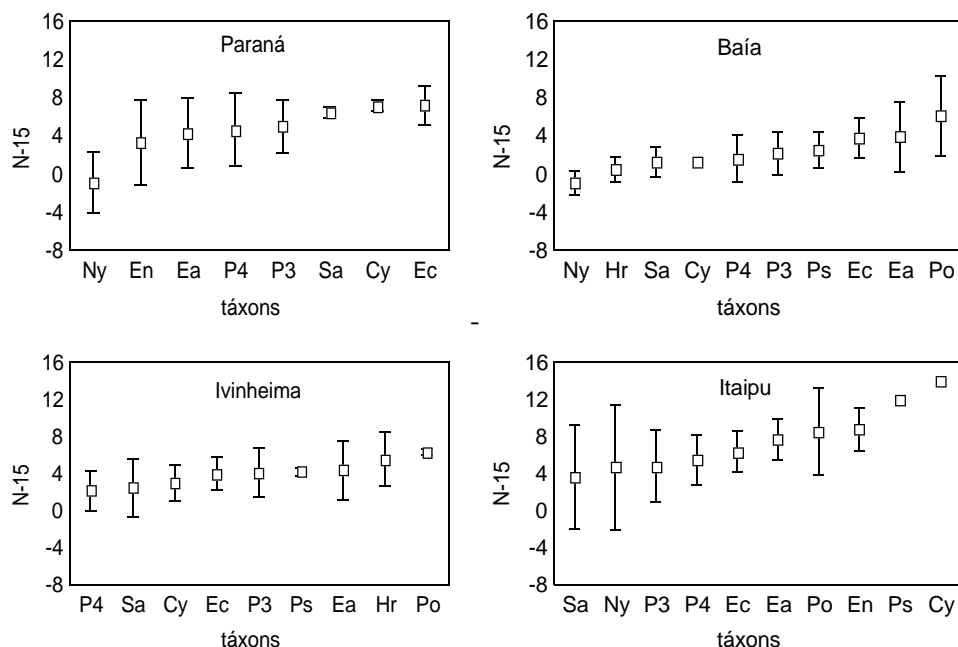


Figura 5. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{15}\text{N}$ de macrófitas aquáticas por subsistemas (Ea = *Eichhornia azurea*, Ec = *Eichhornia crassipes*, Cy = Cyperaceae, Sa = *Salvinia* sp., P3 = Poaceae C₃, Ny = *Nymphaea* sp., En = *Egeria najas*, Hr = *Hydrocotyle ranunculoides*, Ps = *Pistia stratiotes*, Po = *Polygonum* sp. e P4 = Poaceae C₄).

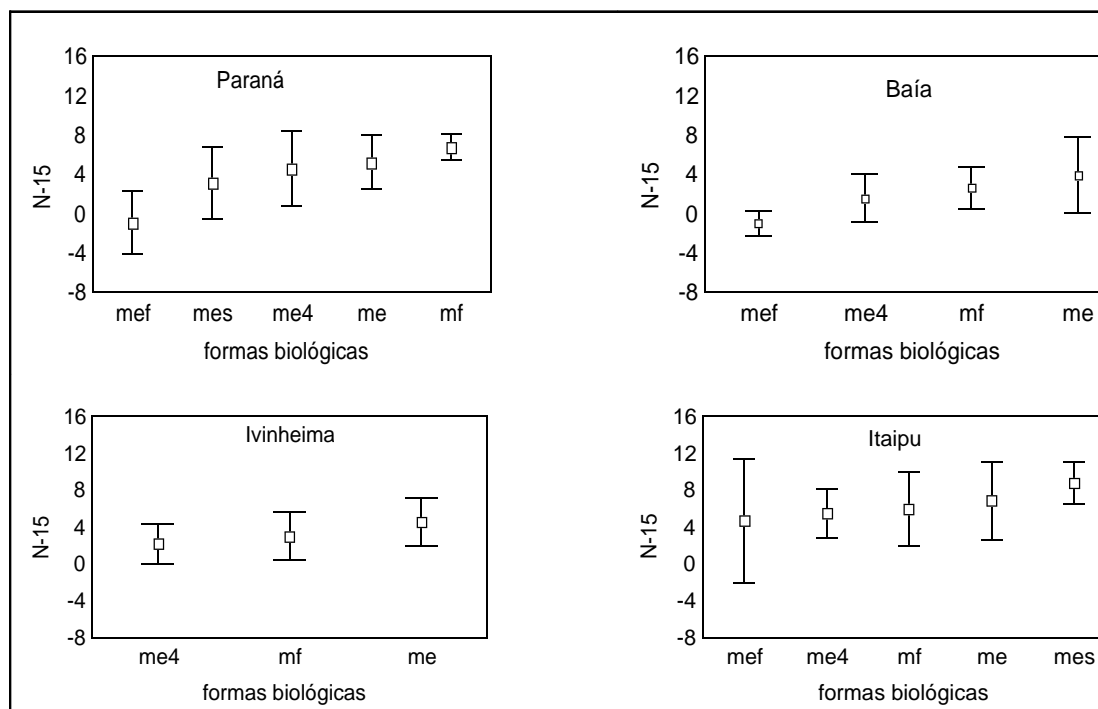


Figura 6. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{15}\text{N}$ de macrófitas aquáticas agrupadas por formas biológicas em cada subsistema (mf = macrófita flutuante, me = macrófita emergente, mef = macrófita enraizada flutuante, mes = macrófita enraizada submersa e me4 = macrófita emergente C₄).

Os exemplares de Poaceae C₄ sofreram variabilidade temporal (IO = 6,724; $p < 0,0045$) (Fig. 7) com valores menores no período de chuva (-1,97 a 14,3‰). Constatou-se também variabilidade temporal para as macrófitas flutuantes (IO = 5,269; $p < 0,01$), cujos valores foram mais deplecionados no período de estiagem (-0,53 a 12,0‰).

Discussão

A elevada variabilidade nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das macrófitas aquáticas analisadas (26,1‰) coincide com a descrita em alguns trabalhos publicados tanto em regiões temperadas (LaZerte & Szalados 1982; Fry & Sher 1984; Farquhar *et al.* 1989; Keeley & Sandquist 1992) quanto em tropicais (Martinelli *et al.* 1991; Boon & Bunn 1994; Benedito-Cecilio *et al.* 2000; Gichuki *et al.* 2001). Nos ecossistemas aquáticos, os fatores que determinam a extensão da composição isotópica de carbono das plantas encontram-se intimamente envolvidos com o processo fotossintético (Smith & Walker 1980; Farquhar *et al.* 1989). Esses fatores são a composição isotópica do *pool* de carbono inorgânico dissolvido (CID), a menor taxa de difusão do CO₂ do meio externo para o cloroplasto e a discriminação isotópica enzimática durante a fixação de carbono (Farquhar *et al.* 1982; 1989), os quais são altamente sensíveis aos fracionamentos isotópicos decorrentes das características químicas, físicas e biológicas peculiares de cada ambiente (Osmond *et al.* 1981; Peterson & Fry 1987; Keeley 1999).

A variabilidade espacial significativa na composição isotópica de carbono para *Polygonum* sp., pode ser decorrente da incorporação de CO₂ prontamente da atmosfera tal como fazem as plantas terrestres, o que explica os valores mais deplecionados de $\delta^{13}\text{C}$ para este gênero. Por outro lado, considerando que a maioria das plantas aquáticas assimila o CO₂ dissolvido na água, como a forma preferencial de carbono (Lampert & Sommer 1997), e que os vegetais C₃ autoctônes (macrófitas, fitoplâncton e perifíton) e alóctones (vegetação ripária terrestre), juntamente com o CO₂ biogênico (CO₂ liberado da atividade respiratória da fauna e flora) apresentam valores empobrecidos em $\delta^{13}\text{C}$ (Peterson & Fry 1987; Lajtha & Marshall 1994), pode-se inferir que os valores essencialmente mais negativos para *Polygonum* sp., especialmente no subsistema Ivinheima, são provenientes: i) da contribuição da vegetação alóctone para

o CID e/ou do CO₂ biogênico da fauna e flora terrestres e próximas da água; e/ou ii) da contribuição da vegetação autóctone e/ou do CO₂ biogênico da fauna e flora aquáticas. A diferença espacial para *Polygonum* sp. acabou sendo diluída quando a planta foi agrupada em formas biológicas, visto a ausência de variabilidades amplas para as outras plantas emergentes.

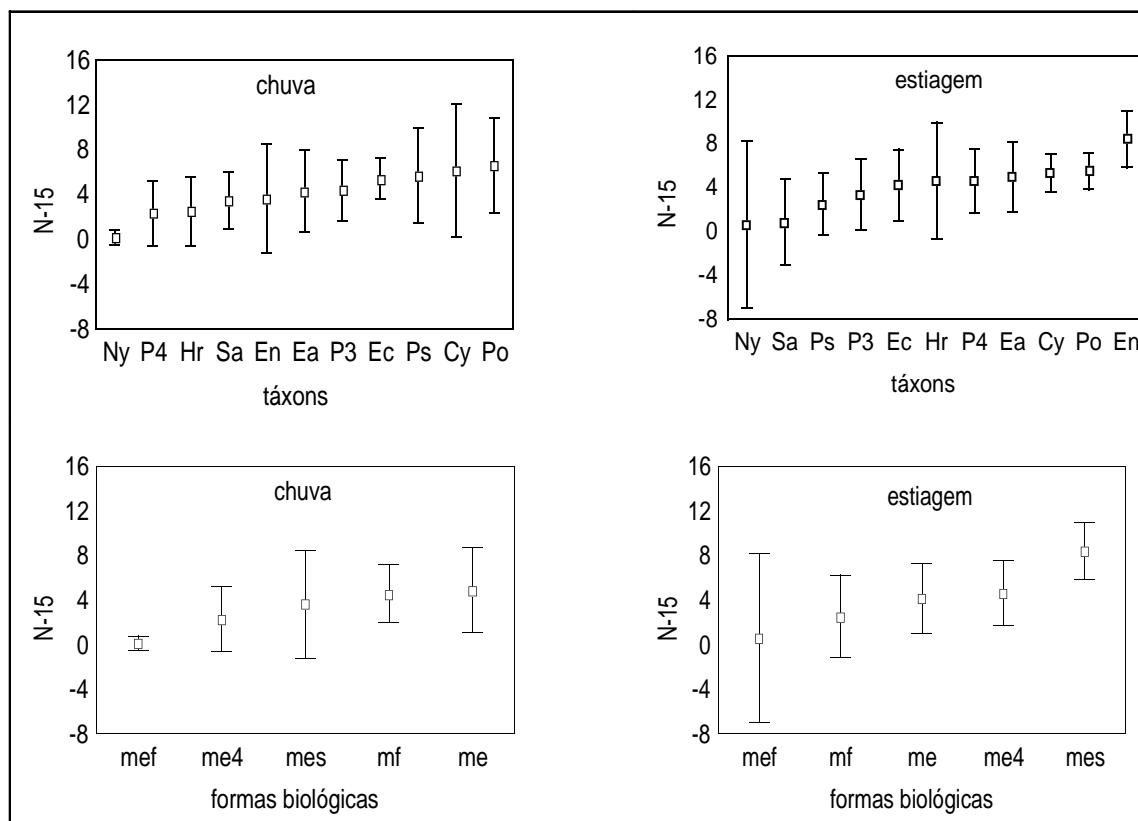


Figura 7. Valores médios e desvio padrão de $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas aquáticas por período de coleta (Ea = *Eichhornia azurea*, Ec = *Eichhornia crassipes*, Cy = Cyperaceae, Sa = *Salvinia* sp., P3 = Poaceae C₃, Ny = *Nymphaea* sp., En = *Egeria najas*, Hr = *Hydrocotyle ranunculoides*, Ps = *Pistia stratiotes*, Po = *Polygonum* sp., P4 = Poaceae C₄, mf = macrófita flutuante, me = macrófita emergente, mef = macrófita enraizada flutuante, mes = macrófita enraizada submersa e me4 = macrófita emergente C₄).

A via fotossintética utilizada pelas plantas aquáticas auxilia grandemente no esclarecimento da variabilidade isotópica de carbono. As macrófitas aquáticas emergente, flutuante, enraizada flutuante e enraizada submersa analisadas utilizaram a via fotossintética C₃ (Calvin-Benson) e as plantas da forma biológica emergente C₄ utilizaram a via fotossintética C₄ (Hatch-Slack).

Na via C₃, a composição isotópica das plantas tem baixa razão ¹³C/¹²C. Essas plantas incorporam o CO₂ e o reduzem a 3-fosfoglicerato utilizando a enzima de carboxilação, ribulose -1,5- bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCo) que discrimina fortemente contra os $\delta^{13}\text{C}$ com um fracionamento de cerca de 29%, enquanto que a difusão do CO₂ (atmosférico ou dissolvido) ao longo da zona de interface da folha tem um fracionamento de aproximadamente 4% (Michener & Schell 1994). Como a variabilidade isotópica dessas plantas depende destes dois eventos, seus valores de $\delta^{13}\text{C}$ permanecem entre -20 a -35‰ (Rounick & Winterbourn 1986; Ehleringer & Osmond 1989). Entretanto, os extremos isotópicos mais negativos são observados para as plantas que incorporam o CO₂ atmosférico (-8‰) com elevado fracionamento enzimático contra o isótopo mais pesado (¹³C) (Lajtha & Marshall 1994), devido a maior taxa de difusão gasosa em ambiente aéreo do que em aquático (Maberly & Spence 1983).

As macrófitas C_4 utilizam a enzima de carboxilação inicial fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-carboxilase), que por sua vez, reduz o CO_2 a malato ou aspartato, discriminando menos contra o isótopo pesado (fracionamento de 3,6 a 5,7‰) (Farquhar *et al.* 1989; Lajtha & Marshall 1994), promovendo alta razão $^{13}C/^{12}C$. Conseqüentemente, estas plantas apresentam valores mais enriquecidos em $\delta^{13}C$, cerca de -9 a $-16‰$ (Fry & Sher 1984; Ribeiro *et al.* 1998).

Certas macrófitas aquáticas submersas são adaptadas a assimilar o bicarbonato (HCO_3^-) em resposta a escassez de CO_2 na zona de interface da folha e à reduzida difusão desse gás em meio aquático (LaZerte & Szalados 1982; Keeley 1999; Keeley & Sandquist 1992; Larcher 2000a; Pierini & Thomaz 2004a). Nos subsistemas Paraná e Reservatório de Itaipu, os valores de $\delta^{13}C$, relativamente positivos para a forma biológica macrófita enraizada submersa, composta pela espécie *Egeria najas*, encontram-se diretamente relacionados com o uso de HCO_3^- como fonte de carbono inorgânico. Tal proposta, encontra-se em concordância com o fato de que dependendo da temperatura, os $\delta^{13}C$ do HCO_3^- podem ser de 7 a 11‰, menos negativos do que o CO_2 (Mook *et al.* 1974; Mook & Tan 1991). Além disso, em experimento laboratorial Pierini & Thomaz (2004b) demonstraram que *Egeria najas* é hábil em utilizar o HCO_3^- quando a disponibilidade de CO_2 na água é baixa, associada a elevada alcalinidade. Esses autores afirmaram também que nos bancos dessa espécie ao longo do reservatório de Itaipu, as concentrações de CO_2 não chegam a ser detectadas, principalmente nos meses de maior temperatura (Pierini & Thomaz 2004a).

Além disso, as macrófitas submersas têm propensão a conteúdos baixos de lipídios (cerca de 3%), quando comparadas com as outras formas biológicas (de 6 a 20%) (Esteves 1982; Thomaz & Esteves 1984; Henry-Silva *et al.* 2001) o que favorece a presença de valores enriquecidos em $\delta^{13}C$, pois segundo O'Leary (1981), tecidos ricos em lipídios geralmente são empobrecidos.

As áreas sujeitas à alagamento tendem a apresentar variações temporais na dinâmica estrutural e funcional de suas comunidades (Junk *et al.* 1989). Na planície de inundação do rio Murray, a variabilidade temporal de $\delta^{13}C$ para macrófitas flutuantes foram mínimas, destacando-se a variabilidade maior entre as emergentes (Boon & Bunn 1994). Na Amazônia, as macrófitas C_4 foram mais deplecionadas em $\delta^{13}C$ durante o período de chuva, levando os pesquisadores a atribuírem o resultado à ação da decomposição da vegetação terrestre e ao CO_2 biogênico da fauna decompositora (Martinelli *et al.* 1991).

Embora a bacia do alto rio Paraná não tenha exibido elevações fluviométricas marcantes nos últimos anos, por causa de estiagem e influência de operações hidroelétricas a montante, variações temporais nos resultados não estiveram ausentes. A variabilidade observada entre os períodos de estudo nos valores de $\delta^{13}C$, exclusivamente para *E. crassipes*, decorreu de menores valores durante a estiagem, evidenciando o uso de fontes mais deplecionadas em $\delta^{13}C$ e próximas de CO_2 biogênico e/ou da decomposição de material, preferencialmente, autóctone.

A razão isotópica de ^{15}N dos *pools* de nitrogênio, disponíveis para a absorção dos vegetais, tem sido definida pelas entradas e saídas desse elemento ao longo de sua ciclagem nos ecossistemas (Nadelhofer & Fry 1994). Importantes entradas de nitrogênio para os ambientes aquáticos incluem a precipitação, a fixação biológica de nitrogênio molecular, a excreção, a lise celular, a decomposição e o escoamento de fertilizantes oriundos de terras agrícolas adjacentes, enquanto que as relevantes saídas se constituem nas formas dissolvidas, principalmente, nitratos (NO_3^-) e nas gasosas, como óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio molecular (N_2) (Esteves 1998).

A extensão dos fracionamentos isotópicos que ocorrem na ciclagem de nitrogênio depende de inúmeros fatores, incluindo a razão substrato (fonte de nitrogênio)/produto (vegetal), a temperatura e as enzimas específicas ou microorganismos mediadores das reações de amonificação, nitrificação e desnitrificação (Mariotti *et al.* 1981).

As formas nitrogenadas orgânicas não participam efetivamente dos processos de absorção dos vegetais aquáticos, salvo os momentos de considerável escassez de formas inorgânicas (Esteves 1998). Assim, o nitrogênio inorgânico é preferencialmente absorvido pelos vegetais como íon amônio (NH_4^+) ou nitrato (Larcher 2000b). O íon amônio é energeticamente mais atraente do que o nitrato porque, segundo Esteves (1998), a sua absorção no interior das células não exige reações de redução enzimática, mas

como é muito escasso nas camadas onde se encontra o fitoplâncton, o nitrato acaba sendo a forma nitrogenada mais utilizada pelos vegetais superiores.

Os vegetais que absorvem e assimilam o nitrato apresentam maior probabilidade de exibir valores enriquecidos em $\delta^{15}\text{N}$ do que aqueles que utilizam o íon amônio porque o nitrato tem maior mobilidade no ecossistema, sofrendo menor tempo de exposição aos processos fracionantes (Pennock *et al.* 1996; Shearer & Kohl 1988; Robinson 2001).

Ao contrário do comportamento dos $\delta^{13}\text{C}$, a extensão da composição de $\delta^{15}\text{N}$ dos materiais biológicos podem apresentar menor variabilidade (France 1995). Fracionamentos leves são verificados na absorção de nitrogênio, quando presente em quantidades suficientes ou limitadas, para que todo o nutriente seja utilizado pelos vegetais (Hamilton & Lewis 1992; Montoya & McCarthy 1995; Fry *et al.* 2000). Como consequência, os vegetais exibem composição isotópica próxima da fonte de nitrogênio explorada, refletindo baixa variabilidade. As plantas analisadas corresponderam a essa tendência isotópica, diferenciando-se em 18,9‰ umas das outras, cerca de 7‰ a menos do que a variabilidade para a composição isotópica de carbono.

No entanto, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ superaram a variabilidade isotópica de 4‰ verificadas por Hamilton & Lewis Jr. (1992) na planície de inundação do rio Orinoco (Venezuela) e a variabilidade de 9,4‰ das macrófitas investigadas por Bezerra (1999) no pantanal Mato-Grossense. O comportamento isotópico das macrófitas da planície de inundação do alto rio Paraná e do reservatório de Itaipu permaneceu mais próximo da variabilidade de 16,8‰, averiguada por Boon & Bunn (1994) na planície de inundação do rio Murray, demonstrando que nesses ambientes as fontes de nitrogênio são, provavelmente, mais abundantes e participantes de fracionamentos que promovem elevadas variabilidades isotópicas.

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas aquáticas foram significativamente mais sensíveis ao efeito espacial e temporal do que os valores de $\delta^{13}\text{C}$. Os valores significativamente mais deplecionados em ^{15}N para *E. crassipes*, família Poaceae C_4 e formas emergentes e flutuantes no subsistema Baía permitem supor que tais vegetais estiveram utilizando o íon amônio, o qual, segundo Rocha (2003), é bem mais abundante neste subsistema do que o nitrato. Entretanto, os menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ para as plantas nesse subsistema discordam da suposição da autora de que a escassez de nitrato na água talvez seria decorrente da assimilação desse íon pelas plantas aquáticas, dentre outras suposições. Embora o subsistema Ivinheima seja caracterizado por quantidades consideráveis de nitrato (Rocha 2003), observou-se também a presença de valores isotópicos deplecionados para essas plantas, possivelmente, refletindo a assimilação do nitrato por outros organismos como o fitoplâncton e a microbiota decompositora, por exemplo. Da mesma forma, pode-se explicar o comportamento isotópico das macrófitas enraizadas flutuantes, constituídas por exemplares de *Nymphaea* sp., que também utilizaram fonte deplecionada em $\delta^{15}\text{N}$ e distinta de nitrato ao longo dos subsistemas.

A maioria das formas biológicas e táxons teve maiores valores médios e amplitude de variação no reservatório de Itaipu, sugerindo que as formas nitrogenadas absorvidas foram mais abundantes e amplamente fracionadas na forma de nitrato, as quais converteram-se em valores enriquecidos em $\delta^{15}\text{N}$. A presença de valores deplecionados na variabilidade isotópica pode ter sido causada pela absorção de formas amoniacais também presentes no meio. Conforme Pagioro (1999), o reservatório de Itaipu se caracteriza por apresentar baixas concentrações de nitrogênio amoniacal (<33 μl) e elevadas concentrações de nitrato (até 518 μl).

Outro mecanismo que resulta em reduzidos valores de $\delta^{15}\text{N}$, é o fato de que somente as plantas fixadoras de nitrogênio conseguem incorporar o N_2 atmosférico (0‰), resultando em tecidos com valores baixos, além de muito próximos isotopicamente da fonte atmosférica (Martinelli *et al.* 1992). Entretanto, a ocorrência desse evento necessita de maiores investigações, especialmente, em ambientes e grupos de plantas empobrecidos em $\delta^{15}\text{N}$ e próximos de 0‰.

Apesar dos valores deplecionados, principalmente no subsistema Baía, no geral, as macrófitas emergentes tiveram os maiores enriquecimentos em $\delta^{15}\text{N}$. Essas macrófitas apresentam elevada capacidade de estocagem de nitrogênio (Henry-Silva & Camargo 2000), sendo o sedimento a sua

principal fonte (Camargo *et al.* 2003) o que leva a sugerir a exploração de formas enriquecidas em isótopo pesado pouco retrabalhadas e fracionadas em tal compartimento aquático.

Variabilidades espaciais e temporais nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ também foram encontradas por Boon & Bunn (1994) na planície de inundação do rio Murray. Os pesquisadores verificaram variações de cerca de 10‰ para *Ludwigia peploides*, e de 9‰ para o gênero *Myriophyllum* entre os locais e períodos.

As explorações de fontes de nitrogênio deplecionadas pelos exemplares C_4 e de fontes enriquecidas em ^{15}N por aqueles que são flutuantes durante o período de chuva apontam diferenças na absorção de formas nitrogenadas e processos fracionantes mais fortemente relacionadas à forma biológica do que ao período de estudo.

As variabilidades espaciais e temporais para os $\delta^{13}\text{C}$ e principalmente, para os $\delta^{15}\text{N}$ das macrófitas aquáticas tenderam a particularidades fortemente taxonômicas e biológicas. As estratégias de sobrevivência adotadas pelos táxons e formas biológicas responderam de forma diferente às características químicas, físicas e biológicas apresentadas pelos subsistemas e períodos de estudo, salvo o reservatório de Itaipu, como destacado anteriormente. Assim, atesta-se a necessidade de considerar as possíveis variabilidades entre táxons e formas biológicas, além de refinar as análises espaço-temporais em estudos de fluxo de energia em teias alimentares com o objetivo de esclarecer melhor o papel dessas plantas nos ecossistemas aquáticos.

Em síntese, investigações prévias devem anteceder a reunião das plantas em *pools*, pois um conjunto formado a partir de informações gerais provenientes de outros ambientes ou táxons podem conduzir a conclusões ecológicas incertas. Da mesma forma, limitações logísticas ou de ordem econômica não devem nortear as estratégias de análises. Além disso, investigações detalhadas da composição isotópica das fontes de nitrogênio requeridas pelos vegetais devem ser primordiais com o objetivo de auxiliar na elucidação de sua ciclagem.