

# Abundância de nanoflagelados heterotróficos no plâncton de reservatórios com distintos graus de trofia

Danielle Goeldner Pereira, Luiz Felipe Machado Velho\*, Thomaz Aurélio Pagioro e Fábio Amodêo Lansac-Tôha

*Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura (Nupélia), Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.\* Autor para correspondência. e-mail: felipe@nupelia.uem.br*

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi investigar a influência do grau de trofia sobre a abundância dos nanoflagelados heterotróficos no plâncton de três reservatórios do Estado do Paraná: Iraí (eutrófico), Rosana (mesotrófico) e Chavantes (oligotrófico). As coletas foram realizadas durante os períodos de estiagem (julho) e chuva (novembro) de 2001, à subsuperfície e camada de mistura da região lacustre desses reservatórios. A abundância dos nanoflagelados heterotróficos foi determinada sob microscópio de epifluorescência, utilizando o Dapi como corante, e os volumes celulares calculados objetivando estimar a biomassa, usando um fator de conversão volume celular-carbono. Maiores valores de densidade e biomassa foram observados no reservatório Iraí, enquanto que os menores foram registrados em Chavantes, em ambos os períodos estudados. Em relação à distribuição vertical, maiores valores de densidade e biomassa foram encontrados, em geral, à subsuperfície. Os resultados sugerem que o grau de trofia influenciou fortemente os padrões de variação da abundância (densidade e biomassa) dos nanoflagelados heterotróficos plancônicos, indicando que a disponibilidade de recursos alimentares prevaleceu na determinação de tais padrões. Em outras palavras, embora uma pressão de predação sobre a comunidade de nanoflagelados heterotróficos esteja certamente ocorrendo, não é suficiente para evitar que o aumento desses recursos determine um incremento significativo na abundância desses organismos.

**Palavras-chave:** protozooplâncton, nanoflagelados heterotróficos, grau de trofia, reservatórios, região tropical.

**ABSTRACT. Planktonic heterotrophic nanoflagellates abundance in reservoirs of distinct trophic state.** The aim of this study was to investigate the influence of the trophic state on the planktonic heterotrophic nanoflagellates abundance from three reservoirs of the State of Paraná: Iraí (eutrophic), Rosana (mesotrophic) and Chavantes (oligotrophic). The samples were collected during dry (July) and rainy (November) periods in 2001 and were taken at the sub-surface and mixing layers of the lacustrine zone of the reservoirs. Heterotrophic nanoflagellates abundance was determined by epifluorescence microscopy, after staining with Dapi, and cells volumes were calculated aiming to estimate biomass, using a cell volume-to-carbon conversion factor. Higher values of density and biomass were observed in Iraí Reservoir, the most eutrophic environment, whereas the lower ones were registred in Chavantes Reservoir, in both studied periods. In all reservoirs, a clear vertical pattern was observed, with higher values in the sub-surface layer. The results suggested that the trophic state influenced strongly the abundance patterns of planktonic heterotrophic nanoflagellates, indicating that the resources available determined the patterns. In other words, although there certainly is a predation pressure on the heterotrophic nanoflagellates community, it is not enough to prevent that the increase of resources determine a significant enlargement in these organisms abundance.

**Key words:** protozooplankton, hetrotrophic nanoflagellates, trophic state, reservoirs, tropical region.

## Introdução

Reservatórios são considerados sistemas artificiais que interagem com os rios nos quais são construídos, alterando os sistemas terrestres e aquáticos a eles associados de forma drástica e efetiva. Por outro lado, proporcionam inúmeros benefícios, tais como reserva de água para hidroeletricidade e abastecimento público (Tundisi, 1999).

Estes ecossistemas também constituem importantes centros de convergência das várias atividades desenvolvidas nas bacias hidrográficas, recebendo, assim, grandes quantidades de material em suspensão e nutrientes inorgânicos e orgânicos (Bicudo *et al.*, 1999). A liberação excessiva destes nutrientes para estas bacias implica em um processo de enriquecimento (eutrofização), que interfere na organização das comunidades aquáticas, bem como nas características físicas e químicas da água e do sedimento (Esteves, 1998).

Um dos principais efeitos da eutrofização nos corpos aquáticos é o aumento da biomassa algal e de macrófitas aquáticas, que pode acarretar na geração de compostos nocivos na água, afetando diretamente o componente social e econômico dos recursos hídricos (Mehner e Benndorf, 1995). Além dessas comunidades, outros organismos, como bactérias e protozoários, também são afetados por perturbações ambientais, podendo responder até mesmo a baixos níveis de alterações físicas, químicas e biológicas do ambiente, devido ao reduzido tamanho e alta taxa de crescimento (Paerl *et al.*, 2003).

Estudos recentes têm demonstrado que o incremento da disponibilidade de nutrientes no ambiente acarreta direta e/ou indiretamente aumento da abundância dos diferentes componentes das comunidades microbianas, como bactérias e protozoários (Bettez *et al.*, 2002; Samuelsson *et al.*, 2002; Auer *et al.*, 2004; Pereira, 2005).

Entre os protozoários, os nanoflagelados heterotróficos desempenham importante papel no metabolismo dos ecossistemas aquáticos. Devido ao seu reduzido tamanho e altas taxas metabólicas (Fenchel, 1982), estão envolvidos na rápida remineralização dos nutrientes (Weisse, 1991). Além disso, são conhecidos por serem os principais consumidores da produção bacteriana (Schmidt-Halewicz, 1994; Simek *et al.*, 1999), sendo, ainda, potencialmente capazes de se alimentar de vírus, carbono orgânico dissolvido (COD) (Gasol *et al.*, 1995) e cianobactérias (Pernthaler *et al.*, 1996). Ao serem predados pelos ciliados (Weisse, 1991, Berninger *et al.*, 1993) e pelos organismos do mesozooplâncton (copépodos e cladóceros) (Burns e

Schallenberg, 2001), desempenham importante papel na transferência de energia em cadeias alimentares aquáticas (Weisse, 1991).

No Brasil, estudos sobre a ecologia de protozoários planctônicos são ainda incipientes, devido, principalmente, às dificuldades metodológicas (Gomes e Godinho, 2003), ao alto custo de aquisição de novos equipamentos e à escassez de treinamento dos ecologistas aquáticos (César e Abreu, 2001).

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo investigar os padrões de variação da densidade e biomassa dos nanoflagelados heterotróficos em três reservatórios do Estado do Paraná, com diferentes graus de trofia, em dois períodos hidrológicos distintos. Especificamente, pretendeu-se testar a hipótese de que a abundância dos nanoflagelados heterotróficos responde positivamente ao incremento na disponibilidade dos recursos alimentares.

## Material e métodos

### Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido em três reservatórios que se diferem pela morfometria, características físicas e químicas da água e, principalmente, pelo estado trófico, variando de oligotrófico a eutrófico (Figura 1). Os reservatórios de Chavantes (oligotrófico) e Rosana (oligomesotrófico) possuem 242,40 km<sup>2</sup> e 130,8 km<sup>2</sup> de área, respectivamente, e estão localizados na bacia do rio Paranapanema, na divisa dos Estados do Paraná e São Paulo (Figura 1). Chavantes é um dos primeiros e Rosana o último de uma série de reservatórios em cascata e tem como principal finalidade a geração de energia elétrica. O reservatório do Iraí, localizado na bacia do rio Iguaçu, possui 14,5 km<sup>2</sup> de área e é considerado o corpo de água mais importante da região metropolitana de Curitiba, tendo como finalidade o abastecimento público. Anacronicamente, devido a sua localização recebe elevada carga de nutrientes, o que determina recorrentes florescimentos de algas e a característica eutrófica do lago (Figura 1). Algumas características físicas e químicas dos diferentes reservatórios são apresentadas na Tabela 1.

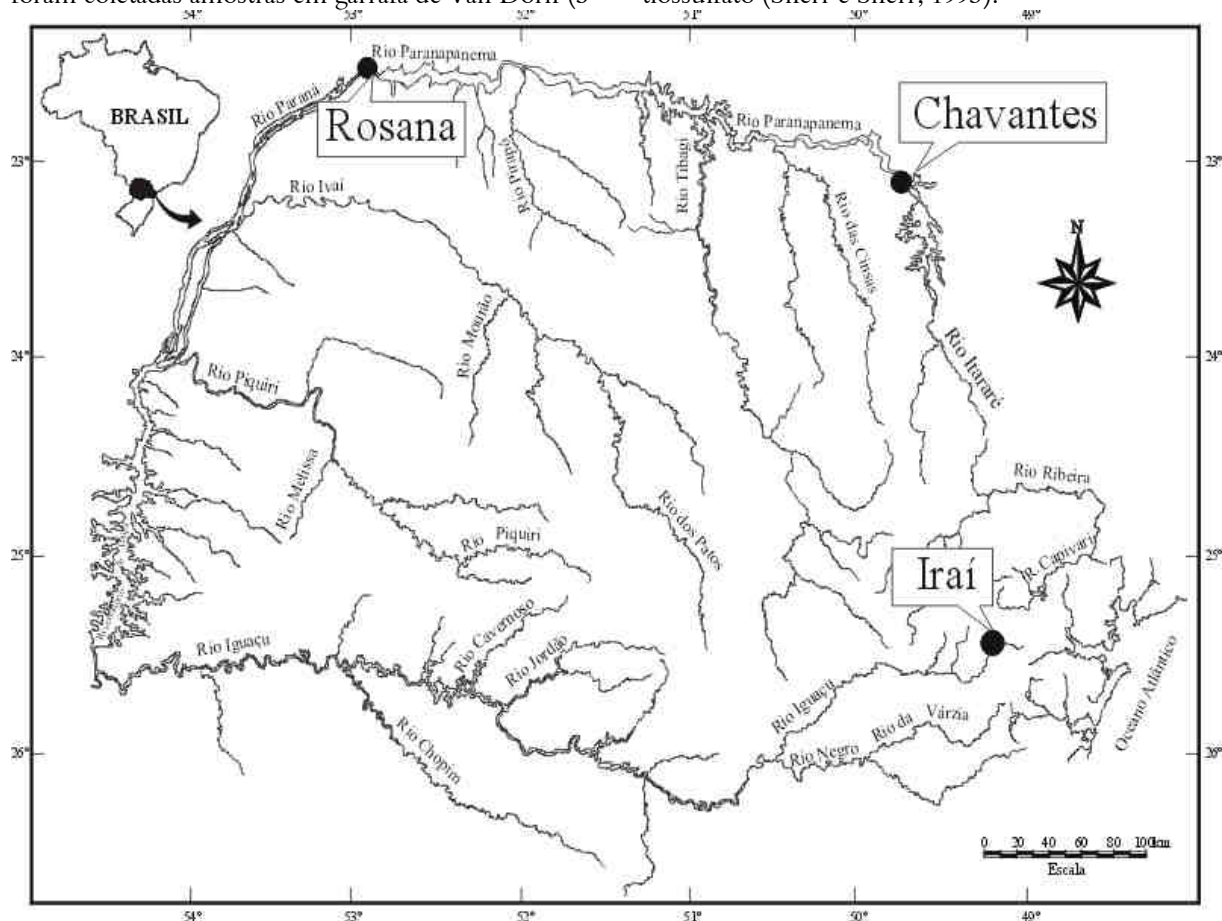
### Amostragem

Os reservatórios foram amostrados na região lacustre, à subsuperfície (aproximadamente 50 cm de profundidade) e na camada de mistura (imediatamente acima da termoclina), nos meses de julho (seca) e novembro (chuvas) de 2001. A

classificação do estado trófico dos ambientes foi baseada na concentração de clorofila-*a*, fósforo total e transparência da água (disco de Secchi).

Para a análise das comunidades de bactérias, ciliados, nanoflagelados heterotróficos (HNF – *heterotrophic nanoflagellates*) e das variáveis abióticas, foram coletadas amostras em garrafa de Van Dorn (5

L). A água para as análises físicas e químicas foi estocada em potes plásticos (5 L). As amostras para análise das comunidades de bactérias (50 mL) foram preservadas em formol 4% tamponado, e para os HNF (100 mL) e ciliados (1,5 L), em solução fixadora composta de formaldeído, lugol alcalino e tiosulfato (Sherr e Sherr, 1993).



**Figura 1.** Mapa do Estado do Paraná com a localização dos reservatórios Iraí, Rosana e Chavantes.

**Tabela 1.** Valores médios de alguns parâmetros físicos e químicos da água nos reservatórios do Iraí, Rosana e Chavantes

|                                                  | Irai | Rosana | Chavantes |
|--------------------------------------------------|------|--------|-----------|
| pH                                               | 6,9  | 7,6    | 7,0       |
| Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ) | 49,7 | 59,4   | 55,9      |
| Turbidez (NTU)                                   | 18,4 | 4,7    | 1,4       |
| Disco de Secchi (m)                              | 0,95 | 2,10   | 5,15      |
| Fósforo total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )           | 54,3 | 10,4   | 7,2       |
| Nitrogênio total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )        | 1152 | 477    | 306       |
| Clorofila-a ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )             | 77,1 | 4,2    | ND        |
| Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )       | 7,4  | 7,5    | 6,0       |

ND = não-detectável ou abaixo do limite de detecção.

### Variáveis abióticas

As seguintes variáveis abióticas foram determinadas em campo: transparência da coluna de água (disco de Secchi); temperatura da água e

oxigênio dissolvido (Oxímetro YSI 55); pH e condutividade elétrica (potenciômetros digitais portáteis) e alcalinidade total (Carmouze, 1994).

As concentrações de nitrogênio amoniacal (Koroleff, 1978), N-nitrito e N-nitrato (Zagatto *et al.*, 1981), ortofosfato, fósforo total dissolvido, fósforo total e nitrogênio total (Mackereth *et al.*, 1978) e carbono orgânico dissolvido (Analisador de Carbono Schimadzu TOC 5000) foram determinadas em laboratório, sendo que para as formas inorgânica e dissolvida as amostras foram filtradas em filtros Whatman GF/C. Para a análise séston total (Wetzel e Likens, 1991) e clorofila *a* (Golterman *et al.*, 1978), as amostras foram filtradas em filtros Whatman GF/C.

## Contagem e estimativa da biomassa

A densidade e biomassa do bacterioplâncton foram determinadas a partir da filtragem de alíquotas de 0,1 mL de água em membrana de polycarbonato preta (Nucleopore/Whatman) com 0,2  $\mu\text{m}$  de abertura de poro, previamente coradas com aproximadamente 1 mL do fluorocromo 4,6-diamidino-2-fenil-indole (Dapi), a 0,1%, no escuro. Os filtros foram montados em lâminas, armazenados em geladeira por 24 horas e posteriormente estocados em freezer a  $-8^{\circ}\text{C}$ . As bactérias foram quantificadas e mensuradas com aumento de 1000X em microscópio de epifluorescência (Zeiss Axiophot) sob luz UV. As bactérias tiveram seu biovolume determinado através da equação proposta por Fry (1990):  $v = (\pi/4) \cdot w^2 \cdot (l - w/3)$ , em que:  $v$  = volume celular;  $l$  = comprimento e  $w$  = largura. Para a conversão de biovolume em biomassa, foi considerado que  $1 \mu\text{m}^3 = 3.5 \times 10^{-13} \text{ gC}$  (Björnsen, 1986).

Para a estimativa da densidade e biomassa de HNF, utilizou-se o mesmo protocolo de filtração e montagem de lâminas descrito para a quantificação do bacterioplâncton, sendo, no entanto, filtradas alíquotas entre 5 e 50 mL de água em membrana de polycarbonato preta (Nucleopore/Whatman) com 0,8  $\mu\text{m}$  de abertura de poro.

Para a quantificação dos HNF, foi realizada primeiramente uma contagem dos nanoflagelados totais sob luz ultravioleta (excitação 365 nm). Posteriormente, sob luz azul (excitação 450-490 nm), os nanoflagelados heterotróficos foram diferenciados dos nanoflagelados pigmentados (utilizando-se como critério a baixa fluorescência e a cor esverdeada das células heterotróficas em contraste com a cor avermelhada ou alaranjada das células pigmentadas) e quantificados. Em cada uma das lâminas foram contadas 300 células ou 100 campos analisados aleatoriamente.

Simultaneamente às contagens, os HNF foram medidos com auxílio de oculares micrométricas, com o objetivo de determinar o volume celular ( $\mu\text{m}^3$ ) através das dimensões da célula e formas geométricas (Wetzel e Likens, 1991), e o conteúdo de carbono segundo Fenchel (1982), no qual  $1 \mu\text{m}^3 = 167 \text{ fg C}$ .

Para a estimativa da densidade e biomassa de ciliados, um volume variável de cada amostra (entre 50 e 1000 mL) foi corado com Rosa de Bengala, acondicionado em câmaras de sedimentação por um período (em horas) equivalente à altura da câmara (cm) multiplicado por 3. Posteriormente, as amostras foram quantificadas em microscópio invertido sob magnitude de aumento de 400x. Para a estimativa da biomassa, os organismos foram

medidos e seu biovolume ( $\mu\text{m}^3$ ) calculado a partir da forma geométrica aproximada. O conteúdo de carbono ( $\mu\text{g/L}$ ) foi estimado utilizando-se o fator  $1 \mu\text{m}^3 = 110 \text{ fg C}$  (Weisse, 1991).

### Análises estatísticas

Para reduzir a dimensionalidade das variáveis abióticas, caracterizar e identificar os fatores ambientais responsáveis pela diferenciação dos reservatórios, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP).

A significância das diferenças de densidade dos HNF entre os diferentes reservatórios, para os dois períodos hidrológicos, em ambas as profundidades analisadas, foi testada empregando-se uma análise de variância unifatorial (Anova) de modelos nulos, utilizando-se nível de significância  $p < 0,05$ .

Correlações de Pearson foram realizadas para inferir sobre a influência dos fatores abióticos e bióticos sobre a comunidade de HNF, nos distintos reservatórios estudados, utilizando-se os resultados de densidade e biomassa de HNF, bactérias, ciliados, clorofila-*a* e os eixos da ACP.

Para as diferentes análises, com o objetivo de equalizar a variância, os dados originais foram log  $(x+1)$  transformados, com exceção do pH e dos escores dos eixos da ACP. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico STATISTICA, versão 5.0 (Statsoft Inc., 1997).

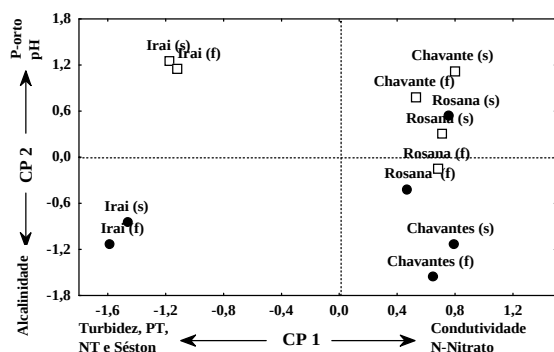
## Resultados

### Caracterização dos reservatórios

Na Figura 2, é apresentada a dispersão dos escores das variáveis limnológicas e dos pontos de coletas resultantes da ACP, utilizada para caracterizar e identificar os fatores ambientais responsáveis pelas diferenças entre os reservatórios. Os dois primeiros eixos desta análise explicaram, cumulativamente, 57,0% e 73,5% da variabilidade total dos dados. A condutividade elétrica e N-nitrato estiveram positivamente correlacionadas com o eixo 1, enquanto que a turbidez, fósforo total, nitrogênio total e séston total estiveram correlacionados negativamente com esse eixo. A alcalinidade total apresentou correlação negativa e o ortofosfato positiva com o eixo 2. Essas variáveis foram as principais responsáveis pela ordenação dos reservatórios ao longo dos eixos desta análise. Em relação às unidades amostrais, o eixo 1 discriminou-as em uma escala espacial, separando as amostras do reservatório do Iraí, correlacionadas negativamente, daquelas obtidas nos reservatórios de Chavantes e

Rosana, correlacionadas positivamente com esse eixo (Figura 2).

O eixo 2, em geral, diferenciou as unidades amostrais em uma escala temporal, discriminando as amostras obtidas no período chuvoso, correlacionadas positivamente, daquelas do período de estiagem, correlacionadas negativamente com esse eixo, principalmente nos reservatórios de Iraí e Chavantes (Figura 2).

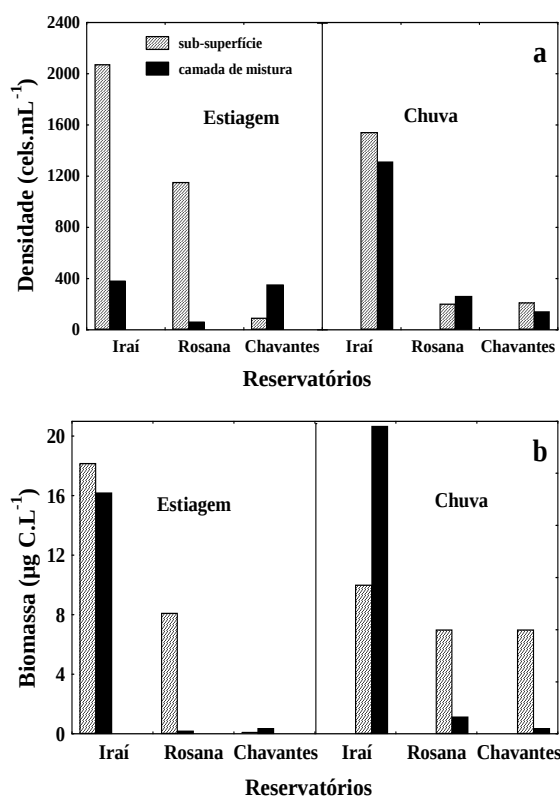


**Figura 2.** Escores resultantes da Análise dos Componentes Principais, realizada sobre a matriz logaritimizada dos dados abióticos originais. Círculos fechados representam as amostras obtidas no período de estiagem e os quadrados vazios, as obtidas no período de chuva. (s) = amostras de sub-superfície e (f) = amostras tomadas na zona de mistura.

Assim, o eixo 1 da ACP discriminou as amostras do reservatório do Iraí, caracterizado por apresentar elevados valores de fósforo total, nitrogênio total, sétton e turbidez, das amostras de Chavantes e Rosana, que se caracterizaram pelos maiores valores de N-nitrato e condutividade elétrica. Por outro lado, o eixo 2 discriminou, em geral, as amostras do período chuvoso dos reservatórios de Iraí e Chavantes com elevados valores de pH e ortofósforo daquelas obtidas no período de estiagem, que apresentaram maiores valores de alcalinidade.

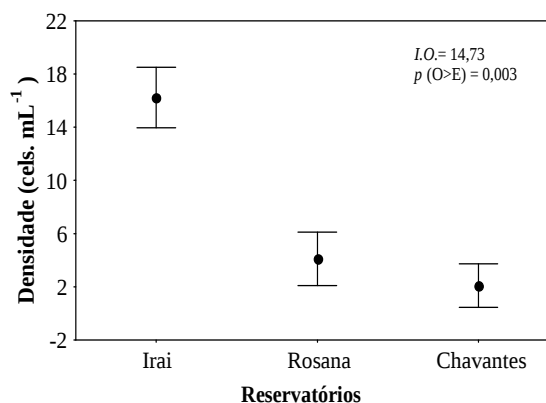
#### Densidade e biomassa de nanoflagelados heterotróficos

Os valores de densidade e biomassa da comunidade de HNF mostraram uma grande variação entre os diferentes reservatórios, sendo observados valores entre 92 cel.mL<sup>-1</sup> e 0,34 µgC.L<sup>-1</sup> no reservatório oligotrófico (Chavantes) e 2,07 X 10<sup>3</sup> cel.mL<sup>-1</sup> e 20,64 µgC.L<sup>-1</sup> no reservatório eutrófico (Iraí) (Figura 3). Em geral, os maiores valores ocorreram à subsuperfície desses ambientes. Exceções a esse padrão foram observadas no reservatório de Chavantes, no período de seca, onde maiores valores de densidade e biomassa foram registrados na camada de mistura, e nos reservatórios do Iraí e Rosana, durante o período chuvoso, onde a biomassa e densidade, respectivamente, foram maiores também nessa camada (Figura 3).



**Figura 3.** Valores de densidade (a) e biomassa (b) de nanoflagelados heterotróficos planctônicos em três reservatórios do Estado do Paraná, na superfície e na zona de mistura durante os períodos de estiagem e chuva.

Os resultados da Anova de modelos nulos evidenciaram que as diferenças entre as densidades de HNF foram significativas entre os distintos reservatórios, sendo os maiores valores registrados para o reservatório Iraí, enquanto que os menores valores e mais similares foram observados para os reservatórios de Rosana e Chavantes (Figura 4).



**Figura 4:** Valores médios e erro padrão das densidades de HNF nos distintos reservatórios. São apresentados, ainda, os Índices Observados (IO) e a Probabilidade (P), derivados da Análise de Variância Unifatorial de modelos nulos (O = valor observado; E = valor esperado).

### Influência dos fatores abióticos e bióticos sobre a abundância de HNF

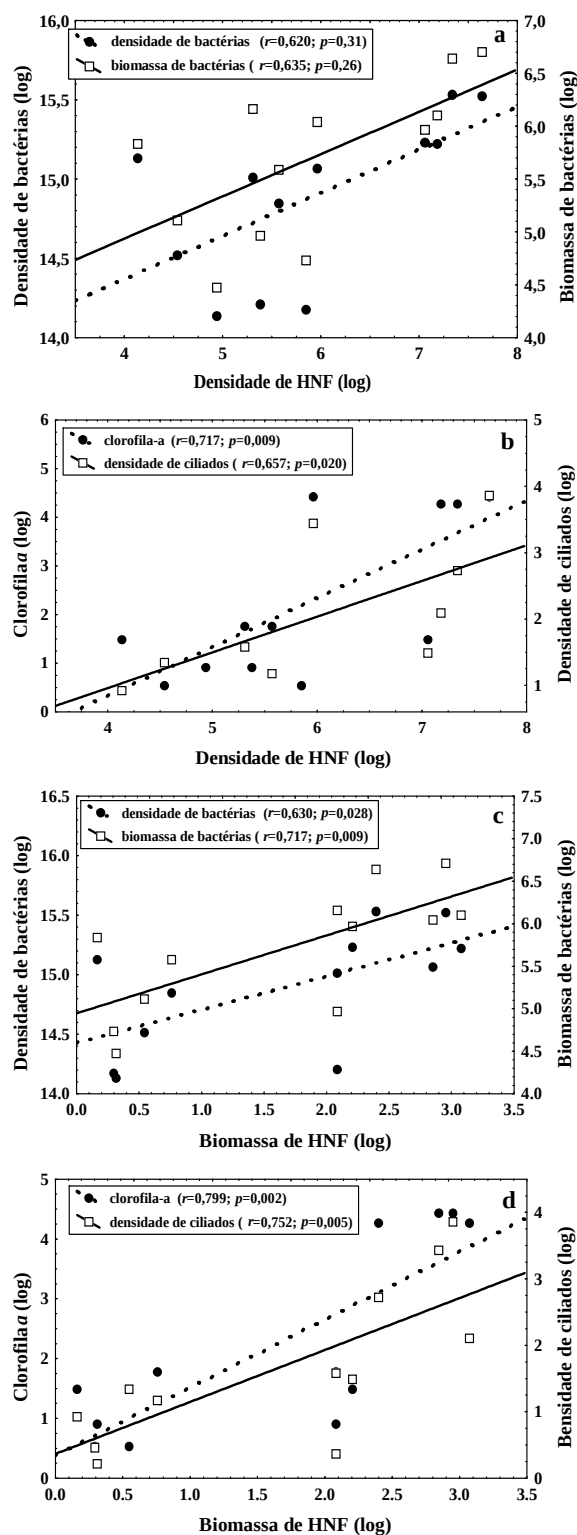
Os resultados das análises de correlação de Pearson evidenciaram que entre os fatores bióticos, a clorofila *a*, a densidade e a biomassa bacteriana e a densidade de ciliados estiveram positivamente correlacionadas com a densidade e a biomassa de HNF (Figura 5). Em relação às variáveis abióticas, o eixo 1 da ACP, que representou, principalmente, as diferentes formas de nitrogênio e fósforo, esteve negativa e significativamente correlacionado com a densidade ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,020$ ) e a biomassa de HNF ( $r = -0,71$ ;  $p = 0,009$ ) (Figura 5). Por outro lado, a densidade e biomassa de HNF não estiveram significativamente correlacionadas com a biomassa de ciliados e com o eixo 2 da ACP.

### Discussão

Como tem sido reportado em vários ecossistemas de água doce (Mathes e Arndt, 1994; Gasol et al., 1995; Jansson et al., 1996; Hwang e Health, 1997), os resultados do presente estudo também evidenciaram que o estado trófico influenciou significativamente a distribuição da abundância (densidade e biomassa) da comunidade de HNF, nos três reservatórios estudados. Neste sentido, o reservatório oligotrófico Chavantes caracterizou-se por apresentar baixa densidade e biomassa de HNF, sendo os valores similares aos encontrados por Macek et al. (1994) em um lago oligotrófico tropical. Ao contrário, refletindo a condição eutrófica, o reservatório do Iraí apresentou os maiores valores desses atributos, porém inferiores aos registrados por Finlay et al. (1988) em lagos eutróficos de região temperada.

Em relação à distribuição vertical, vários autores têm observado elevada abundância nas camadas mais profundas, devido à maior disponibilidade de alimento nessa região (Carrick e Farnenstiel, 1989; Macek et al., 1994). Entretanto, embora no presente estudo tenham sido analisadas amostras tomadas apenas à subsuperfície e camada de mistura, os resultados não corroboram aqueles dos autores citados, visto que maiores valores de densidade e biomassa foram observados, em geral, à sub-superfície dos três reservatórios.

Em relação aos fatores responsáveis pela distribuição da abundância das diferentes comunidades aquáticas, a influência dos recursos alimentares (mecanismo *bottom-up*) e da predação (mecanismo *top-down*) tem sido alvo de diversas pesquisas envolvendo as comunidades planctônicas (Gasol et al., 1995; Hwang e Health, 1997; Burns e Schallenberg, 2001)



**Figura 5:** Correlação entre a densidade (cels.mL<sup>-1</sup>) (a e b) e a biomassa (μgC.L<sup>-1</sup>) (c e d) de nanoflagelados heterotróficos e a densidade (cels.mL<sup>-1</sup>) e biomassa (μgC.L<sup>-1</sup>) de bactérias, concentração de clorofila *a* (μg.L<sup>-1</sup>) e densidade de ciliados (cels.L<sup>-1</sup>).

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram o predomínio de mecanismos do tipo *bottom-up* na determinação da distribuição da abundância dos HNF, pelo menos quando os diferentes reservatórios são comparados, tendo em vista que o incremento na disponibilidade de nutrientes determinou um aumento na abundância fitoplantônica (estimada neste trabalho pelas concentrações de clorofila-*a*) e bacteriana, que provavelmente propiciaram condições para o incremento da abundância de nanoflagelados heterotróficos, visto que constituem as principais fontes alimentares desses protozoários. De acordo com Auer *et al.* (2004), os recursos alimentares parecem ser os principais fatores que controlam as comunidades planctônicas quando lagos são comparados ao longo de um gradiente trófico, enquanto que alterações sazonais dentro de um lago são talvez reguladas pela atividade de predação.

Embora exista, certamente, uma pressão de predação sobre os HNF, os resultados evidenciam que esse mecanismo (*top-down*) não é suficiente para limitar o efeito da disponibilidade de nutrientes, que determina um incremento significativo na abundância desses organismos. Outro resultado que não sugere o controle *top-down* sobre a abundância dos HNF foi a correlação positiva entre esses organismos e os ciliados, seus potenciais predadores. Correlações positivas entre presa e predadores ocorrem em situações em que a taxa de crescimento da presa, determinada pelo o aumento da disponibilidade de recursos, é maior do que a taxa de predação. Resultados semelhantes foram registrados por Berninger (1991), Mathes e Arndt (1995) e Hwang e Health (1997), entre outros. Correlação positiva entre HNF e ciliados evidencia, portanto, que uma grande abundância de HNF pode suportar elevada densidade de ciliados (Laybourn-Parry e Walton, 1998).

Em síntese, os resultados obtidos neste estudo sugerem que os padrões de variação da abundância (densidade e biomassa) de nanoflagelados heterotróficos planctônicos foram fortemente influenciados pelo grau de trofia dos ambientes, e que mecanismos do tipo *bottom-up* prevalecem na regulação desse componente do elo microbiano quando lagos com distintos graus de trofia são comparados.

## Referências

AUER, B. *et al.* Comparison of pelagic food webs in lakes along a trophic gradient and with seasonal aspects: influence of resource and predation. *J. Plankton Res.*, Oxford, v. 26, p. 697-709, 2004.

BERNINGER, U.G. Protozoan control of bacteria abundances in freshwater. *Limnol. Oceanogr.*, Waco, v. 36, p. 139-147, 1991.

BERNINGER, U.G. *et al.* Trophic coupling within the microbial food web: a study with fine temporal resolution in a eutrophic freshwater ecosystem. *Freshw. Biol.*, Oxford, v. 30, p. 419-432, 1993.

BETTEZ, N. D. *et al.* Changes in abundance, composition and controls within the plankton of a fertilized arctic lake. *Freshw. Biol.*, Oxford, v. 47, p. 303-311, 2002.

BICUDO, C.E.M. *et al.* Dinâmica de populações fitoplantônicas em ambiente eutrofizado: o lago da Garça. In: HENRY, R. (Ed.). *Ecologia de reservatórios: Estrutura, função e aspectos sociais*, Botucatu: Fapesp/Fundibio, 1999. p. 449-508.

BJØRNSSEN, P.K. Automatic determinations of bacterioplankton biomass by means of image analyses. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, DC, v. 51, p. 1199-1204, 1986.

BURNS, C.W.; SCHALLENBERG, M. Calanoid copepods versus cladocerans: Consumer effects on protozoa in lakes of different trophic status. *Limnol. Oceanogr.*, Waco, v. 46, p. 1558-1565, 2001.

CARMOUZE, J.P. *O Metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas*. São Paulo: Edgard Blücher/Fapesp, 1994.

CARRICK, H.J.; FAHNENSTIEL, G.L. Biomass, size, and composition of phototrophic and heterotrophic nanoflagellate communities in Lakes Huron and Michigan. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, 1922-1928, 1989.

CÉSAR, D.E.; ABREU, P.C. Ecology of aquatic microorganisms in Southern Brazil: State of art. In: FARIA, B.M. *et al.* (Ed.). *Aquatic microbial ecology in Brazil*. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001. p. 153-171. (Séries Oecologia Brasiliensis, v. 9).

ESTEVEZ, F. A. *Fundamentos de limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FENCHEL, T. Ecology of heterotrophic flagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Oldendorf, v. 9, p. 35-42, 1982.

FINLAY, B.J. *et al.* On the abundance and distribution of protozoa and their food in a productive freshwater pond. *Europ. J. Protistol.*, Jena, v. 23, p. 205-217, 1988.

FRY, J.C. Direct Methods and Biomass Estimation. *Methods Microbiol.*, London, v. 22, p. 41-85, 1990.

GASOL, J.M., *et al.* Patterns in the top-down versus bottom-up regulation of heterotrophic nanoflagellates in temperate lakes. *J. Plankton. Res.*, Oxford, v. 17, p. 1879-1903, 1995.

GOLTERMAN, H.L. *Methods for physical and chemical analysis of freshwater*. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1978.

GOMES, E.A.T.; GODINHO, M.J.L. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. *Acta Oecol.*, Paris, v. 24, p. 153-161, 2003.

- HWANG, S.J.; HEALTH, R.T. The distribution of protozoa across a trophic gradient, factors controlling their abundance and importance in the plankton food web. *J. Plankton Res.*, Oxford, v. 19, p. 491-518, 1997.
- JANSSON, M. Nutrient limitation of bacterioplankton, autotrophic and mixotrophic phytoplankton, and heterotrophic nanoflagellates in Lake Ortrasket. *Limnol. Oceanogr.*, Waco, v. 4, p. 1552-1559, 1996.
- KOROLEFF, K. Determination of ammonia. In GRASSHOFF, K.; KREMLING, E. (Ed.). *Methods of seawater analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1978, p. 127-135.
- LAYBOURN-PARRY, J.; WALTON, M. Seasonal heterotrophic flagellate and bacterial plankton dynamics in a large oligotrophic lake – Loch Ness, Scotland. *Freshw. Biol.*, Oxford, v. 39, p. 1-8, 1998.
- MACEK, M. et al. Changes in protozoan assemblage structure and activity in a stratified tropical lake. *Mar. Microb. Food Webs*, Paris, v. 8, p. 235-249, 1994.
- MACKERETH, F.Y.H. Water analysis: some revised methods for limnologists. *Freshw. Biol. Assoc.*, Oxford, v. 36, p. 1-120, 1978.
- MATHES, J.; ARNDT, H. Biomass and composition of protozooplankton in relation to lake trophy in north German lakes. *Mar. Microb. Food. Web*, Paris, v. 8, p. 357-375, 1994.
- MATHES, J.; ARNDT, H. Annual cycle of protozooplankton (ciliates, flagellates and sarcodines) in relation to phyto- and metazooplankton in Lake Neumuhler See (Mecklenburg, Germany). *Ach. Hydrobiol.*, Stuttgart, v. 134, p. 337-358, 1995.
- MEHNER, T.; BENNDORF, J. Eutrophication - a summary of observed effects and possible solutions. *J. Water SRT - Aqua*, v. 44, p. 35-44, 1995.
- PAERL, H. W. et al. Microbial indicators of aquatic ecosystem change: current applications to eutrophication studies. *Microb. Ecol.*, New York, v. 46, p. 233-246, 2003.
- PEREIRA, D. G. Efeitos da adição de nutrientes sobre a abundância e o tamanho médio da célula de nanoflagelados planctônicos. 2004. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2004.
- PERNTHALER, J. et al. Short-term changes of protozoan control on autotrophic picoplankton in an oligo-mesotrophic lake. *J. Plankton. Res.*, Oxford, v. 18, p. 443-462, 1996.
- SAMUELSSON, K. et al. Structural changes in an aquatic microbial food web caused by inorganic nutrient addition. *Aquat. Microb. Ecol.*, Oldendorf, v. 29, p. 29-38, 2002.
- SCHMIDT-HALEWICZ, S. E. Composition and seasonal changes of the heterotrophic plankton community in a small oligotrophic reservoir. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, Stuttgart, v. 40, p. 197-207, 1994.
- SHERR, E.B.; SHERR, B.F. Preservation and storage of samples for enumeration of heterotrophic protists. In: KEMP, P. F. et al. (Ed.). *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. London: Lewis Publishers, 1993. p. 207-227.
- SIMEK, K. et al. Impacts of protistan grazing on bacterial dynamics and composition in reservoirs of different trophy. In: TUNDISI, J.G. (Ed.). *Theoretical reservoir ecology and applications*, São Carlos: International Institute of Ecology/ Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers, 1999. p. 267-282.
- STATSOFT, INC. STATISTICA for windows (Computer program manual). Tulsa Oklahoma, 1997.
- TUNDISI, J.G. Reservatórios como sistemas complexos: teoria, aplicações e perspectivas para usos múltiplos. In: HENRY, R. (Ed.). *Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais*. Botucatu: Fapesp/Fundibio, 1999. p. 19-38.
- WEISSE, T. The annual cycle of heterotrophic freshwater nanoflagellates: role of bottom-up versus top-down control. *J. Plankton. Res.*, Oxford, v. 13, p. 167-185, 1991.
- WETZEL, R.G.; LIKENS, G.E. *Limnological analyses*. New York: Springer-Verlag, 1991.
- ZAGATTO, E.A.G. et al. *Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo*. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura/ USP, 1981.

Received on October 21, 2004.

Accepted on March 21, 2005.