

Danielly Guilherme de Oliveira

**EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV) EM  
COMUNIDADES DE ALGAS METAFÍTICAS DE LAGOAS  
OLIGOTRÓFICAS DE ALTITUDE NO BRASIL**

Florianópolis

2019



Danielly Guilherme de Oliveira

**EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV) EM  
COMUNIDADES DE ALGAS METAFÍTICAS DE LAGOAS  
OLIGOTRÓFICAS DE ALTITUDE NO BRASIL**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia e Biociências  
Trabalho da Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia  
e Biociências.

Orientador: Prof. Dr. José Bonomi Barufi

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Melina Guimarães

Florianópolis

2019







Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre me  
incentivaram a seguir meus sonhos.





## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não teria sido possível sem o apoio e a participação de familiares e colegas de trabalho. Portanto, agradeço sobretudo aos meus pais que sempre me apoiaram e ajudaram, embora não compreendessem o significado do meu trabalho; e também ao Alan que não apenas me acompanhou durante todo o mestrado, me ajudando em campo e lendo meus textos ou assistindo minhas apresentações, como também se tornando uma das pessoas mais importantes na minha vida pessoal.

À Geni que me acompanhou desde o começo na definição do projeto e nas disciplinas do programa, e principalmente por ter me ajudado em campo duas semanas antes do seu casamento. Geni, sinto muito pela insolação! Ainda bem que já estava tudo bem no dia da festa. Muito obrigada por ter ido naquele dia, sem aquele experimento minha dissertação estava comprometida e não teria a mesma qualidade. Obrigada pelo apoio, pelas conversas, pela companhia nas longas viagens de ônibus e pela ajuda na interpretação dos dados.

À Gabi e à Giulia que me ensinaram muitos dos seus conhecimentos acerca do funcionamento e técnicas usadas no laboratório, além de diferentes questões relacionadas às algas; me ajudando não apenas com questões práticas de trabalho como também sendo, acima de tudo, grandes companheiras e se transformando em algumas das minhas melhores amigas. Às duas agradeço pelas conversas, pelas dicas, pelas sessões de terapia, pelo café, pela comida, pelos bombons de coco, e por todos os momentos bons ou difíceis.

A todos aqueles que foram em campo comigo (Alan, Geni, Melissa, Bruna, Grazi, Carla, Marden, Larissa, Rose, Léo, Tanise, estagiários da UCB, Melina e Zé), mesmo que algumas dessas saídas não tenham entrado no trabalho final, eu os agradeço profundamente pois sozinha eu teria dado conta. Agradeço também quem não foi à campo, como a Gabi e Karina, mas que me ajudaram construindo as estruturas usadas nos experimentos.

Aos técnicos da UCB (Rose, Larissa, Marden, Renan, Gabriel e João) pela confiança, por eliminarem minha louça absurdamente grande e por terem que ouvir incessantemente o barulho da capela, da centrífuga e, principalmente, do espectrofotômetro (eu sei que esse barulho ficou nas suas cabeças por dias).

À Rose e à Larissa agradeço especialmente por terem me ajudado na bancada, por terem me animarem quando eu estava exausta e por algumas vezes me alimentarem quando não podia parar de trabalhar. Rose, obrigada por ter parado suas atividades diversas vezes pra poder fazer alguma coisa por mim, mesmo quando eu já tinha voltado pra Floripa. Perdi as contas de quantas vezes eu prometi que seria a última vez que eu te atrapalharia e você sempre foi amigável e compreensiva, então eu te agradeço muito. Larissa, obrigada por ter feito as quantificações de proteínas quando eu já não tinha mais tempo, e por ter feito as curvas padrão. Essas informações foram essenciais, então muito obrigada.

Ao Simão por ter me aberto as portas do NEMAR, pro ter me ensinado as análises de nutrientes e por me ter confiado laboratório mesmo na sua ausência.

Ao professor Marcelo Barros por ter me ensinado os protocolos para a quantificação das atividades enzimáticas.

Ao professor Leonardo por ter me ensinado muitas das coisas que eu aprendi sobre microalgas, por ter ido a campo comigo por duas vezes, por ter me ajudado mesmo sem obrigação em momento em que estava muito atarefado e por acreditar na minha capacidade.

Ao professor Rubens por ter aceitado acompanhar meu trabalho desde a definição do projeto até a defesa. Muito obrigada por ter lido todos os meus textos e ser meu avaliador em todas as etapas do mestrado.

A todos meus colegas do LAFIC pelas conversas, pelo apoio, pela troca de ideias e pelas risadas. Obrigada por tudo Melissa, Tanise, Kely, Thaís, Rafa, Karina, Carla, Luana, Ariane, Vic e Cadu.

Ao IBGE, ao IBRAM e aos donos do terreno em Rancho Queimado pelas autorizações para a realização dos experimentos.

À Universidade Católica de Brasília (UCB) pelo empréstimo do espectrorradiômetro e por disponibilizar os laboratórios e reagentes imprescindíveis para as análises bioquímicas.

Aos meus orientadores que aceitaram orientar uma desconhecida que nunca tinha trabalhado com algas e com um projeto que fugia um pouco das suas zonas de conforto, muito obrigada pela confiança.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências e à UFSC pela oportunidade de realizar este trabalho. E à CAPES pela bolsa de fomento.

A todos muito obrigada!



“Be something you love and understand”.

**Lynyrd Skynyrd**



## RESUMO

Embora as microalgas tenham aplicabilidade em diversas áreas da biotecnologia, poucas cepas são comercialmente utilizadas, o que faz da prospecção uma promissora área de trabalho que pode revelar potenciais usos de outras espécies. Neste contexto, a escolha do local para prospecção de novas cepas é um item de extrema importância, pois as condições ambientais são determinantes para as características bioquímicas que as espécies que ali habitam possam ter. No caso da busca por compostos fotoprotetores e com potencial antioxidante, um dos locais mais indicados são as lagoas oligotróficas de altitude. Isto porque estes ambientes recebem alta incidência de radiação UV, cuja incidência aumenta de 5 a 10% a cada 1000 metros em relação ao nível do mar, e os níveis reduzidos de material dissolvido permitem maior penetrabilidade de radiação na água. Neste contexto, este trabalho objetivou a bioprospecção de compostos relacionados à fotoproteção em comunidades algais de lagoas oligotróficas de altitude. Foram amostradas lagoas em três ecossistemas independentes, sendo uma em Santa Catarina no bioma Mata Atlântica (município de Rancho Queimado, 1180 metros de altitude) e duas no bioma Cerrado (Distrito Federal, 960 e 1119 metros de altitude), constituindo amostragens independentes. A determinação da diversidade desses locais revelou a predominância da Classe Zygnematomyxozoa, comum em ambientes oligotróficos, e em especial das Famílias Desmidiaceae, em termos de número de espécies, e Zygnemataceae, em termos de biomassa úmida. Esta segunda é reconhecida por ser formadora de metafíton, e espécies deste grupo foram submetidas a experimentos com variação de incidência de radiação, a fim de elucidar a relação entre a produção e a atividade de compostos fotoprotetores com a radiação recebida pelos organismos. As análises bioquímicas do metafíton revelaram diferentes estratégias de fotoproteção, possivelmente associadas às espécies predominantes de cada local. Enquanto em Rancho Queimado a fotoproteção parece estar associada ao sistema antioxidante enzimático, evidenciado pela atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX), as lagoas do Distrito Federal parecem priorizar a produção de compostos fenólicos, os quais são responsáveis pela coloração púrpura característica de suas espécies dominantes. Além das respostas fisiológicas obtidas das comunidades, também foi observado que a radiação UV altera a dinâmica de assimilação de

nutrientes, uma informação importante especialmente para ambientes com carência nutricional. Conclui-se, portanto, que as comunidades algais de lagoas oligotróficas de altitude não apenas conseguem lidar com a radiação produzindo compostos de fotoproteção, como também as estratégias de resposta à radiação UV são diversas e relacionadas à espécie. Locais de amostragem como estes podem ser indicados como ambientes promissores na bioprospecção para isolamento de novas cepas visando a produção de compostos fotoprotetores e antioxidantes.

**Palavras-chaves:** Radiação ultravioleta. Oligotrofia. Altitude. Fotoproteção. Enzimas antioxidantes. Compostos fenólicos. Bioprospecção.



## ABSTRACT

Although microalgae can be applied to many biotechnological approaches, few strains are commercially utilized. It reinforces the role of prospection as promising strategy to reveal other species utilization and potentials. In this way, choosing the right site for prospection is crucial, since the environment selects and influences the metabolism in species living in these areas. In the case of screening of photoprotection compounds, with antioxidant potential, one of the most indicated areas are oligotrophic lakes in high altitude. These environments receive high UV radiation incidence, which increases from 5 to 10% at each 1000 m increment in relation to the sea level. The reduced levels of nutrients allow higher penetration of UV radiation to deeper areas in the water. In this context, this study aimed to conduct a prospection of photoprotective strategies in algal communities of altitude oligotrophic lakes. Three independent lake's ecosystems were sampled, being one in Santa Catarina State in Atlantic Forest biome (Rancho Queimado municipality, 1180 m of altitude), and two in the Cerrado biome (Federal District, 960 and 1119 m of altitude). Diversity was determined, showing predominance of Zygnematophyceae Class, which is common in oligotrophic environments, with special emphasis to Desmidiaceae (with respect to number of species) and Zygnemataceae (regarding to fresh biomass) families. The second family is recognized by formation of metaphyton, and species of this group were submitted to experiments with variation of radiation incidence, to elucidate the relation between radiation types received by the organisms and their production and activity of photoprotective compounds. Biochemical analyses of metaphyton revealed different photoprotection strategies, possibly related to the dominant species in each site. While in Rancho Queimado the photoprotection was associated to enzymatic antioxidant system, evidenced by superoxide dismutase and ascorbate peroxidase activities, lakes in Federal District seem to prefer phenolic compounds, which are responsible for the purple colour found in the dominant species. Besides physiological responses of the biological community, UV radiation also modified nutrient assimilation. This is relevant in a scenario with nutritional limitation. We can conclude that algal communities in oligotrophic lakes located in altitude not only can deal with radiation producing photoprotection compounds, but also strategies are diverse and related to the dominant species. Sampling areas like

these can be indicated as promising areas for isolating new strains for biotechnological approaches, mainly focusing on antioxidant and photoprotective compounds.

**Keywords:** Ultraviolet radiation. Oligotrophy. Altitude. Photoprotection. Antioxidant enzymes. Phenolic compounds. Bioprospection.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Exemplos de ácidos fenólicos. A, ácidos hidroxibenzoicos. B, ácidos hidroxicinâmico. Adaptada de BALASUNDRAM <i>et al.</i> , 2006.....	<b>39</b>
<b>Figura 1.2.</b> Estrutura genérica de um flavonoide. Adaptada de BALASUNDRAM <i>et al.</i> , 2006.....	<b>40</b>
<b>Figura 1.3.</b> Exemplos de taninos condensado. Adaptada de SOUZA <i>et al.</i> , 2015.....	<b>40</b>
<b>Figura 1.4.</b> <i>Mesotaenium berggrenii</i> com coloração marrom. Escala 5 µm. Imagem retirada de REMIAS <i>et al.</i> , (2012).....	<b>43</b>
<b>Figura 1.5.</b> <i>Zygonium ericetorum</i> com pigmentação roxa. a. células jovens; b. células mais velhas. Escala 10 µm. Imagem retirada de HOLZINGER <i>et al.</i> , (2010).....	<b>44</b>
<b>Figura 1.6.</b> Exemplos de carotenoides. A, xantofilas e B, carotenos.....	<b>45</b>
<b>Figura 3.1.</b> Localização das três lagoas situadas a aproximadamente 1000m de altitude.....	<b>54</b>
<b>Figura 3.2.</b> Organização das estruturas experimentais.....	<b>61</b>
<b>Figura 4.1.</b> Proporção do número de espécies ou morfotipos entre os grupos taxonômicos identificados em três lagoas de altitude.....	<b>70</b>
<b>Figura 4.2.</b> Proporção do número de espécies por Família de Zygnematophyceae identificadas em três lagoas de altitude.....	<b>70</b>
<b>Figura 4.3.</b> Espécies dominantes no metafíton de (A) Rancho Queimado, <i>Mougeotia</i> sp., (B) Lagoa Bonita, <i>Zygnema</i> sp., e (C) Lagoa do Roncador, <i>Temnogametum</i> sp.....	<b>71</b>
<b>Figura 4.4.</b> Irradiância absoluta incidente em W/m <sup>2</sup> em diferentes horários nos dias de experimentos.....	<b>73</b>
<b>Figura 4.5.</b> Quantidade de nutrientes dissolvidos na água dos tratamentos.....	<b>79</b>
<b>Figura 4.6.</b> A, Taxa fotossintética líquida em µmol O <sub>2</sub> µg chla <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> nos tratamentos de Rancho Queimado (RQ) e da Lagoa Bonita (LB) (N=3). B, Taxa fotossintética líquida média em cada local estudado (N=9).....	<b>83</b>
<b>Figura 4.7.</b> Quantidade de clorofila <i>a</i> média em µg/mL.....	<b>84</b>

<b>Figura 4.8.</b> Quantidade de carotenoides totais em $\mu\text{g/mL}$ dos tratamentos nos experimentos realizados.....	<b>85</b>
<b>Figura 4.9.</b> Quantidade de compostos fenólicos totais em $\text{mg/mL}$ dos tratamentos nos experimentos realizados.....	<b>86</b>
<b>Figura 4.10.</b> A, Atividade de ascorbato peroxidase (APX) em unidades de APX por $\text{mg}$ de proteína nos três tratamentos com corte de radiação em Rancho Queimado, Santa Catarina. B, Atividade de superóxido dismutase (SOD) em unidades de SOD por $\text{mg}$ de proteína nos três tratamentos com corte de radiação em Rancho Queimado, Santa Catarina.....	<b>87</b>
<b>Figura 4.11.</b> Atividade média de cada enzima por localidade.....	<b>88</b>
<b>Figura 4.12.</b> Análise de Escalonamento Multi-dimensional Não Métrica (nMDS) dos dados de dose recebida e respostas fisiológicas de três comunidades metafíticas a 1000m de altitude.....	<b>91</b>
<b>Figura 4.13.</b> Relação entre as respostas fisiológicas obtidas como resposta pelas comunidades metafíticas de três lagoas a 1000m de altitude pelo método de Análise de Componentes Principais (PCA).....	<b>92</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1.</b> Resumo dos parâmetros físico-químicos importantes para definir organismos extremófilos.....	<b>29</b>
<b>Tabela 3.1.</b> Equipamentos utilizados nas medidas dos parâmetros abióticos nas três localidades com seus respectivos locais de medida e unidades. Santa Catarina: lagoa em Rancho Queimado; Distrito Federal: Lagoa Bonita e Lagoa do Roncador.....	<b>55</b>
<b>Tabela 3.2.</b> Relação dos tratamentos usados nos experimentos com suas respectivas qualidades espectrais recebidas e os filtros utilizados para a sua obtenção.....	<b>60</b>
<b>Tabela 3.3.</b> Porcentagem de corte de radiação dos filtros Lee nº 130 e Lee nº 226 usados nos experimentos.....	<b>61</b>
<b>Tabela 3.4.</b> Horários de início e finalização dos experimentos em cada localidade e a duração total de cada um.....	<b>62</b>
<b>Tabela 4.1.</b> Características físico-químicas da água nos dias de experimento nos três locais de estudo.....	<b>72</b>
<b>Tabela 4.2.</b> Irradiância absoluta em $W/m^2$ por região espectral em cada horário de medida nas três localidades de estudo.....	<b>74</b>
<b>Tabela 4.3.</b> Dose total recebida em $kJ/m^2$ e dose recebida por hora em $kJ/m^2/h$ nas três localidades de estudo.....	<b>75</b>
<b>Tabela 4.4.</b> Relação proporcional entre as regiões espectrais das irradiâncias médias de cada dia nos locais de experimentos.....	<b>76</b>
<b>Tabela 4.5.</b> Integrais ponderadas das doses de radiação ultravioleta que efetivamente causam inibição da fotossíntese [ $kJ/m^2 (mW/m^2)^{-1}$ ] e inibição da fixação de carbono [ $kJ/m^2 (mg C) (mg chl)^{-1} (J/m^2)^{-1}$ ] nos três locais de estudo. Os dados foram normalizados de acordo com os espectros de ação de Cullen & Neale 1997 e Boucher & Prézelin 1996.....	<b>76</b>
<b>Tabela 4.6.</b> Resumo das análises de variância com um fator (One-Way ANOVA) nas quantidades de nutrientes nos tratamentos dos experimentos realizados em duas lagoas a aproximadamente 1000 metros de altitude.....	<b>78</b>

<b>Tabela 4.7.</b> Resumo das análises de variância (One-Way ANOVA) nas respostas fisiológicas das comunidades metafíticas de três localidades a 1000m de altitude.....	<b>81</b>
<b>Tabela 4.8.</b> Resumo das análises de variância com dois fatores (Factorial ANOVA) (tratamento de radiação e localidade) nas respostas fisiológicas das comunidades metafíticas de três experimentos a 1000m de altitude.....	<b>82</b>
<b>Tabela 4.9.</b> Matriz de correlação de Pearson entre a dose total recebida de radiação e as respostas fisiológicas para cada tratamento nos experimentos realizados em Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018).....	<b>89</b>
<b>Tabela 4.10.</b> Tabela de resultados da Análise de Variância Multivariada por Permutação (PERMANOVA) pelo teste PAIR-WISE comparando, duas a duas, três comunidades metafíticas a 1000 m de altitude levando em consideração os dados de dose total recebida de radiação e as respostas fisiológicas das comunidades.....	<b>90</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>25</b>
1.1 Cenário atual e perspectivas acerca do potencial de aplicação de microalgas.....	25
1.2 Organismos Extremófilos.....	26
1.3 Radiação solar.....	31
1.3.1 Radiação em lagoas de altitude.....	33
1.3.2 Efeitos fisiológicos causados pela radiação UV.....	34
1.3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROs).....	35
1.4 Fotoproteção.....	36
1.4.1 Compostos Fenólicos.....	37
1.4.2 Carotenoides.....	44
1.4.3 Enzimas Antioxidantes.....	46
1.4.3.1 Superóxido dismutase (SOD).....	47
1.4.3.2 Ascorbato peroxidase (APX) e Catalase (CAT).....	48
1.5 Lagoas ultraoligotróficas.....	48
1.6 Metafíton.....	50
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>51</b>
2.1 Objetivo geral.....	51
2.2 Objetivos específicos.....	51
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
3.1 Locais de estudo.....	53
3.1.1 Lagoa sem nome em Rancho Queimado, Santa Catarina.....	53
3.1.2 Lagoa Bonita em Planaltina, Distrito Federal.....	53
3.1.3 Lagoa do Roncador em Brasília, Distrito Federal.....	53
3.2 Caracterização físico-química da água e medidas de radiação solar.....	55
3.2.1 Medidas de radiação solar.....	55
3.2.2 Quantificação de nutrientes.....	56
3.2.2.1 Ortofosfato.....	57
3.2.2.2 Nitrito.....	57
3.2.2.3 Nitrato.....	58
3.2.2.4 Nitrogênio amoniacal.....	58
3.2.2.5 Nitrogênio dissolvido total.....	59
3.3 Determinação da diversidade algal.....	59
3.4 Delineamento experimental.....	59
3.5 Determinação das taxas de fotossíntese líquida (NP) e respiração (R).....	62

3.6 Análises bioquímicas.....	63
3.6.1 Quantificação de compostos fenólicos.....	63
3.6.2 Ensaio enzimáticos.....	63
3.6.2.1 Normalização dos dados enzimáticos.....	65
3.6.3 Quantificação de clorofila <i>a</i> e carotenoides totais.....	65
3.7 Análises estatísticas.....	66
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>69</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>95</b>
5.1 Diversidade algal e características físico-químicas da água das lagoas.....	95
5.2 Radiação.....	95
5.3 Dinâmica geral de nutrientes nos sacos de incubação.....	96
5.4 Respostas fisiológicas por localidade.....	96
5.4.1 Rancho Queimado, Santa Catarina.....	97
5.4.2 Lagoa Bonita, Distrito Federal.....	99
5.4.3 Lagoa do Roncador, Distrito Federal.....	100
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>103</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>105</b>
<b>APÊNDICE A</b> – Lista de espécies e morfotipos identificados em três lagoas de altitude.....	<b>117</b>
<b>APÊNDICE B</b> – Quantidades de nutrientes dissolvidos nos tratamentos de corte de radiação.....	<b>131</b>
<b>APÊNDICE C</b> – Relação de respostas fisiológicas de comunidades metafíticas em relação à radiação em três lagoas a 1000m de altitude.....	<b>132</b>



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Cenário atual e perspectivas acerca do potencial de aplicação de microalgas

As microalgas possuem grande diversidade evolutiva e biológica devido às suas diversas origens filogenéticas. Elas são amplamente distribuídas pelo planeta e estão bem adaptadas a sobreviver em um amplo espectro de estresses ambientais como calor, frio, aridez, salinidade, foto-oxidação, pressão osmótica e exposição à radiação ultravioleta (UV) (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011). Por isso, acredita-se que produzam uma ampla variedade de compostos bioquímicos, tornando-as atrativas para estudos de bioprospecção e produção de compostos de interesse. Embora as microalgas sejam exploradas desde meados do século XX, e já serem reconhecidas como produtoras de compostos de grande valor agregado, poucas cepas são atualmente utilizadas comercialmente (BOROWITZKA, 2013; VARSHNEY *et al.*, 2015).

Cianobactérias e algas são fontes de diversos metabólitos de interesse biotecnológico e industrial. Esses compostos pertencem a diversas classes como alcaloides, carboidratos, flavonoides, pigmentos, terpenos, vitaminas e outros (RIZWAN *et al.*, 2018), e até mesmo alguns metabólitos, à primeira vista sem interesse para o uso humano, como por exemplo, cianotoxinas que podem ser exploradas como pesticidas (SINGH *et al.*, 2017). Muitos metabólitos secundários de microalgas também despertam interesse devido às suas propriedades como antibacterianos, anticancerígenos, antifúngicos, antivirais e imunossuppressores (SINGH *et al.*, 2017).

A aplicação biotecnológica de microalgas é promissora pois estes organismos possuem características típicas de plantas como fotossíntese eficiente e necessidade nutricional simples, além dos atributos biotecnológicos comuns dos microrganismos como altas taxas de crescimento (comparado às plantas) e habilidade de acumular e secretar metabólitos de interesse (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011).

Entre as várias aplicações biotecnológicas que as microalgas possuem, podem ser citadas: produção de biocombustíveis (BRENNAN; OWENDE, 2010; CARDOSO; VIEIRA; MARQUES, 2011; CHISTI, 2008; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010); produção de alimentos e suplementos alimentares (DRAAISMA *et al.*, 2013; GUARNIERI; PIENKOS, 2015; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010);

desenvolvimento de vacinas, imunotoxinas e antibióticos (GUARNIERI; PIENKOS, 2015); uso na biorremediação de águas residuais domésticas (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; RAHMAN; ELLIS; MILLER, 2012); e produção de compostos de fotoproteção à radiação ultravioleta (UV) (BROWNE *et al.*, 2014; DUVAL; SHETTY; THOMAS, 1999).

Como as algas são organismos fotossintetizantes, a sua exposição à radiação é inevitável e a produção de compostos fotoprotetores ao excesso da mesma é essencial. Esses compostos estão sendo utilizados em muitos produtos de cuidado com a pele como cremes antienvelhecimento, remédios regenerativos, antioxidantes e anti-inflamatórios (WANG *et al.*, 2015). Devido à necessidade da indústria cosmética por protetores solares melhores e mais seguros, a exploração de algas é promissora por causa da presença de compostos como aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) e scitoneminas, que podem ser usados como eficientes bloqueadores de UV naturais nas formulações dos produtos (SINGH *et al.*, 2017).

Apesar dos estudos sobre a aplicabilidade das microalgas mostrarem que estas são uma excelente fonte de produtos de interesse comercial, ainda é um desafio o escalonamento do cultivo, devido à dificuldade de manutenção e no controle sobre contaminações. Assim, as microalgas extremófilas são uma alternativa interessante para estudos que visam à exploração biotecnológica, já que são capazes de prosperar em condições pouco favoráveis a outros organismos (PULZ; GROSS, 2004), reduzindo a perspectiva de contaminação em eventuais sistemas de cultivo.

## 1.2 Organismos Extremófilos

Um organismo extremófilo é aquele que consegue prosperar em um ambiente considerado “extremo” para a maioria dos demais organismos (VARSHNEY *et al.*, 2015). Os “extremos” podem ser classificados como físicos (temperatura, radiação, pressão), geoquímicos (dessecação, salinidade, pH) e biológicos (extremo nutricional, densidade populacional, parasitas) (ROTHSCHILD; MANCINELLI, 2001). Em alguns casos, os organismos são capazes de sobreviver em uma combinação de estresses, e estes são denominados poli-extremófilos.

Algumas questões devem ser levadas em consideração quando se fala em extremófilo. A primeira faz referência à definição de

extremo. Em geral o que determina um extremófilo é baseado em definições antropocêntricas e o que são considerados como extremos para humanos podem ser, e com frequência são, as condições ideais para a sobrevivência de determinados organismos, assim como o oposto também é verdade, condições ótimas para humanos podem fatais para espécies consideradas extremas (ROTHSCHILD; MANCINELLI, 2001).

A segunda questão é relacionada à ecologia dos extremófilos. O termo extremófilo significa “aquele que ama o extremo”, mas isso não necessariamente é verdade para todos aqueles são encontrados em ambientes extremos. Muitos deles crescem apenas sob tais condições, mas muitos também apenas toleram esses extremos e podem ser chamados de extremotolerantes (ROTHSCHILD; MANCINELLI, 2001).

A terceira questão, e não menos importante, diz respeito aos ciclos de vida dos extremófilos. Um organismo extremófilo não necessariamente passa todos os estágios da sua vida sob condições de estresse. Algumas estruturas reprodutivas como esporos, sementes e ovos são, por exemplo, mais resistentes aos extremos ambientais que as formas vegetativas (ROTHSCHILD; MANCINELLI, 2001).

Levando em conta estas três questões acerca dos extremófilos, é possível afirmar que, mesmo não tendo ambientes extremos típicos como vulcões e geleiras, em decorrência da sua grande biodiversidade e variedade de ambientes, o Brasil possui algumas regiões que podem ser consideradas extremas, tais como fontes termais, cavernas e áreas impactadas por metais, além de características marcantes de alguns biomas como a acidez do solo do Cerrado, a aridez e calor do solo da Caatinga e a alta salinidade e baixa concentração de oxigênio nos mangues. Porém, ainda que o país possua tal riqueza de ambientes extremos e o estudo dos organismos que ali habitam possa ajudar a elucidar questões relacionadas aos limites da vida na Terra, poucos trabalhos têm sido realizados com organismos extremófilos no Brasil (DUARTE *et al.*, 2012).

As microalgas extremófilas são uma alternativa interessante para estudos que visam à exploração biotecnológica, pois elas são capazes de prosperar em condições pouco favoráveis a outros organismos (VARSHNEY *et al.*, 2015).

Como as algas possuem potencial de uso na produção de diversos produtos e sua viabilidade econômica é maior quando comparadas às plantas terrestres, isso por crescerem mais rápido e com melhor eficiência fotossintética, a busca por algas extremófilas faz-se particularmente importante pois estas exigem pouco gasto com a manutenção das condições necessárias ao seu cultivo (VARSHNEY *et al.*, 2015), embora a determinação dessas condições ideais seja um desafio inicial para os pesquisadores (DUARTE *et al.*, 2012).

Entre as condições consideradas extremas para o crescimento de algas, VARSHNEY *et al.* (2015) destacaram: temperaturas altas (>50°C) ou baixas (<15°C), grande amplitude térmica diária, excesso de luz e radiação UV, alto teor ou limitação de CO<sub>2</sub>, elevado conteúdo de sal (2 – 5M NaCl), pH alcalino (pH >8) ou ácido (pH <5), alto conteúdo de metais, e alta concentração de carbono orgânico dissolvido.

A **Tabela 1.1** traz uma série de características relacionadas com a capacidade de resistência de algas e os fatores ambientais associados. De acordo com ela, os organismos extremófilos podem ser classificados de acordo com o tipo de fator ao qual apresentam resistência, incluindo por exemplo os termófilos (resistentes a altas temperaturas), os psicrófilos (resistentes a baixas temperaturas), os oligotróficos (tolerantes a quantidades reduzidas de nutrientes no ambiente), e assim por diante.

**Tabela 1.1.** Resumo dos parâmetros físico-químicos importantes para definir organismos extremófilos.

Parâmetro ambiental	Tipo de extremófilo	Definição (variação de condições para crescimento)	Exemplos	Referências
Temperatura	Termófilo	45-85°C	<i>Phormidium</i> sp., <i>Galdieria sulphuraria</i>	(BARBIER; ZIMMERMAN; WEBER, 2005; ERTUĞRUL; BAKIR; DÖNMEZ, 2008)
	Psicrófilo	<15°C (máx. à 20°C)	<i>Chlamydomonas</i> sp., <i>Chlorella</i> sp., <i>Nostoc commune</i>	(MORGAN-KISS <i>et al.</i> , 2008; RAYMOND; JANECH; FRITSEN, 2009; TAMARU <i>et al.</i> , 2005)
pH	Alcalinófilo	pH > 8	<i>Synechocystis aquatilis</i>	(DESHMUKH; PURANIK, 2010)
	Acidófilo	pH < 5	<i>Dunaliella acidophila</i> , <i>Galdieria sulphuraria</i>	(BARBIER; ZIMMERMAN; WEBER, 2005; POLLIO; GRETA, 1988)
Salinidade	Halófilo	2 – 5 M NaCl	<i>Dunaliella parva</i>	(BEN-AMOTZ; AVRON, 1972)
Dessecação	Xerófilo	Potencial hídrico < 0,8	<i>Nostoc commune</i> , <i>Zygonium ericetorum</i>	(HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010; TAMARU <i>et al.</i> , 2005)
Radiação	Radiotolerante	Até 6- Gy/h	<i>Coccomyxa actinabiotis</i>	(RIVASSEAU <i>et al.</i> , 2013)
Gás carbônico	-	Baixo teor de CO <sub>2</sub>	<i>Chlorogleopsis</i> sp.	(ONO; CUELLO, 2007)

	-	Alto teor de CO <sub>2</sub>	<i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp.	(HANAGATA <i>et al.</i> , 1992; MAEDA <i>et al.</i> , 1995)
Radiação solar	-	Excesso de radiação PAR e UV	<i>Microcoleus</i> sp., <i>Chlorella ohadii</i>	(OHAD <i>et al.</i> , 2010; TREVES <i>et al.</i> , 2013)
Metais pesados	-	Alto nível de metais	<i>Cyanidioschyzon</i> sp., <i>Cyanidium</i> sp., <i>Galdieria</i> sp.	(QIN <i>et al.</i> , 2009)
Nutrientes	Oligotrófico ou Ultraoligotrófico	Crescimento em ambientes depletados de nutrientes	<i>Scenedesmus</i> <i>quodricauda</i>	(BROOK, 1965)

### 1.3 Radiação solar

A região ultravioleta (UV) do espectro solar compreende a região de 200 a 400 nm e é dividida em três faixas: ultravioleta A (UV-A), ultravioleta B (UV-B) e ultravioleta C (UV-C). UV-A é definida como sendo a região que abrange de 320 a 400 nm, UV-B de 280 a 320 nm, e UV-C de 200 a 280 nm (HOLZINGER; LÜTZ, 2006; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

A radiação UV que atinge a superfície terrestre compreende UV-A e parte de UV-B, pois comprimentos de onda menores que aproximadamente 290 nm são retidos pela atmosfera, o que inclui toda a faixa do UV-C e parte de UV-B, reduzindo a relevância dessa faixa de UV do ponto de vista biológico (HOLZINGER; LÜTZ, 2006) e, por essa razão, não será discutido nesse texto.

Apenas uma pequena faixa da UV-A é usada na fotossíntese, e embora a UV-B contribua com menos de 0,5% da energia total de luz que atinge a terra, esta região tem a mais alta energia do espectro de luz e provoca um impacto considerável nos organismos (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014), fazendo a radiação UV ser algo a se tolerar, neutralizar ou evitar, aspectos vinculados à produção e atuação de metabólitos secundários (EDREVA *et al.*, 2008; HOLZINGER; LÜTZ, 2006).

A radiação que incide na superfície terrestre está relacionada não apenas ao ozônio estratosférico que absorve parte de UV, como também às latitudes, estações do ano, períodos do dia, turbidez atmosférica, cobertura por nuvens e altitude (PIAZENA, 1996). De modo geral, as doses diárias de UV, segundo MCKENZIE *et al.* (2007), são maiores:

- nos trópicos, por causa da elevação solar e das menores quantidades de ozônio nessa região;
- nos locais de grandes altitudes, por causa da menor atenuação da radiação pelos processos de absorção e dispersão pelas camadas da atmosfera; e
- nos locais elevados onde há presença de neve, devido a maior reflexão da superfície.

Dentre as diversas condições que podem ser citadas como extremas para as algas (**Seção 1.2**), a radiação UV tem, portanto, grande

relevância pois organismos fotossintetizantes não tem a mesma facilidade em evitar UV, quando comparados com heterotróficos e quimiotróficos, uma vez que evitar a radiação UV pode implicar também em evitar a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) (COCKELL; KNOWLAND, 1999; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014; SCANDALIOS, 1993). Assim, os seres fotossintetizantes estão mais sujeitos aos danos provocados por esse tipo de radiação.

Sabe-se que no começo do Pré-Cambriano a radiação UV era muito maior em relação à que atualmente atinge a superfície terrestre, causando taxas de danos no DNA aproximadamente três vezes maiores que as atuais (COCKELL, 2000). Assim, alguns dos organismos pioneiros na história evolutiva como cianobactérias e eucariotos basais (entre outros, microalgas) devem ter se adaptado às altas concentrações de UV e é possível que eles tenham mantido tais características (HÄDER *et al.*, 2011; HOLZINGER; LÜTZ, 2006).

Desde que foram detectados buracos na camada de ozônio sobre as regiões polares, pesquisas direcionadas à radiação UV se intensificaram, principalmente por causa do aumento da radiação UV-B que atinge a superfície em decorrência deste fato (HOLZINGER; LÜTZ, 2006). Muitos experimentos têm sido realizados para mensurar as consequências fisiológicas de UV em diferentes organismos, incluindo algas (DUNLAP; SHICK, 1998; HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010; HOYER *et al.*, 2001). Entretanto, a maioria dos trabalhos foi realizada em estufas, câmaras de crescimento e condições laboratoriais, onde as proporções entre PAR, UV-A e UV-B são não realísticas (HOLZINGER; LÜTZ, 2006; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

Estudos em campo são então importantes para avaliar o efeito biológico real da radiação UV e estes estudos podem ser de dois tipos: complementar aos níveis de radiação UV-B ambientais, que é feito com o uso de lâmpadas fluorescentes, permitindo avaliar como os aumentos previstos de UV-B afetarão a fisiologia dos organismos; ou supressor de UV, no qual o uso de filtros não permite que a radiação atinja os organismos e serve para avaliar o efeito fisiológico que UV já exerce neles (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).



### 1.3.1 Radiação em lagoas de altitude

Geralmente, a radiação solar incrementa com o aumento da altitude devido às menores massas de ar em comparação ao nível do mar, fazendo com que a radiação atravesse um caminho mais curto através da atmosfera e sofra assim menos dispersão e absorção (BLUMTHALER; AMBACH; ELLINGER, 1997).

Diversos trabalhos têm sido realizados com o intuito de quantificar a radiação UV incidentes na superfície terrestre e correlacioná-las às altitudes (MCKENZIE *et al.*, 2006; PIAZENA, 1996; SCHMUCKI; PHILIPONA, 2002). Observando os dados produzidos, é incontestável o aumento de radiação UV em relação ao aumento das elevações, porém os efeitos da altitude na radiação são fortemente influenciados por parâmetros da superfície e pelas extinções de UV na camada limite atmosférica por aerossóis e pelo ozônio, então não é possível representar este efeito por apenas um valor padrão (MCKENZIE *et al.*, 2003; PFEIFER; KOEPKE; REUDER, 2006). Ainda assim o aumento de UV-B a cada 1000 m de altitude é, de forma geral, de pelo menos 5 a 10% em relação ao nível do mar (SOMMARUGA, 2001).

A radiação ultravioleta é então um fator ambiental crucial em lagos de altitude por causa do aumento natural do fluxo de UV em decorrência da elevação do relevo. Esse aspecto deve ser associado com a alta transparência da água nesses ecossistemas, por causa das concentrações extremamente baixas de matéria orgânica dissolvida (HÄDER *et al.*, 2011; SOMMARUGA, 2001). Esse fato é especialmente evidente para os comprimentos de onda mais curtos na faixa do UV-B, que nesses casos podem penetrar até 10 m de profundidade em águas mais transparentes (COCKELL; KNOWLAND, 1999; HÄDER *et al.*, 1998).

Embora a radiação aumente fortemente com a altitude e penetre grandes profundidades em lagos e lagoas, o que faz que muitas espécies nesses ambientes tenham especial resistência à UV-B, grande parte dos trabalhos realizados com algas são feitos em ambientes marinhos e pouco foi feito com algas de lagos, gelo/neve e habitats terrestres (HÄDER *et al.*, 1998; HOLZINGER; LÜTZ, 2006).

### 1.3.2 Efeitos fisiológicos causados pela radiação UV

A radiação solar foi citada por TOHGE & FERNIE (2017) como sendo “uma espada de dois-gumes” para plantas, isso porque além de ser um fator crítico para fotossintetizantes, também os expõe à radiação UV, que potencialmente danifica macromoléculas como DNA, RNA, proteínas, e também o metabolismo celular devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio.

Tanto a radiação UV-A quanto UV-B afetam o crescimento e a produtividade de vários organismos (HÄDER *et al.*, 1998). Há um consenso de que a UV-B ambiental, independente dos aumentos relacionados à redução da camada de ozônio, é um importante estresse ecológico que influencia o crescimento, a sobrevivência e a distribuição do fitoplâncton (HÄDER *et al.*, 1998; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

A proporção espectral entre PAR, UV-A e UV-B tem se mostrado como sendo importante para determinar a sensibilidade em estudos de campo. Há também um entendimento geral de que a presença da PAR pode reduzir alguns dos efeitos negativos da radiação UV-B (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

Em baixos fluxos, a UV-B estimula alguns genes que estão envolvidos em um amplo espectro de processos de proteção à UV, incluindo os responsáveis pela produção de compostos fotoprotetores e uma matriz de mecanismos de defesa. Mas se os fluxos de UV-B forem altos, essa radiação pode causar danos em biomoléculas pela formação de espécies reativas de oxigênio, que por sua vez podem causar oxidação de lipídios e proteínas, danos no DNA e aumento da peroxidação lipídica (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

Os danos causados pela radiação UV são diversos e incluem: estresse oxidativo, inibição da atividade da nitrogenase, danos na estrutura do DNA e nos mecanismos de assimilação de carbono, inibição da formação de heterocistos em algumas cianobactérias, entre outros (COCKELL; KNOWLAND, 1999; FIGUEROA *et al.*, 2009; VARSHNEY *et al.*, 2015). A exposição à radiação UV-B pode reduzir as concentrações de clorofilas, carotenoides e proteínas totais, e estimular a síntese de proteínas de estresse e a atividade de enzimas antioxidantes (EDREVA *et al.*, 2008).

Os ácidos nucleicos são especialmente sensíveis e rapidamente absorvem UV, o que causa foto-dano e mudanças conformacionais

(HÄDER; SINHA, 2005; HOLZINGER; LÜTZ, 2006). A radiação UV induz duas das lesões mutagênicas e citotóxicas mais abundantes do DNA, o dímeros de ciclobutano-pirimidina (CPDs) e fotoprodutos de pirimidina-pirimidona (HÄDER; SINHA, 2005; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

No caso de organismos unicelulares como algumas das microalgas, a ocorrência de uma única mutação no DNA pode significar morte para o organismo e faz com que as estratégias de fotoproteção e de reparo dos danos causados sejam especialmente importantes (COCKELL; KNOWLAND, 1999).

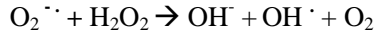
### 1.3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROs)

As algas estão expostas à uma grande quantidade de luz e altas concentrações de oxigênio, o que origina radicais livres e outros oxidantes (RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004) a partir das reações de oxirredução comuns às células aeróbicas (LÔRDELO *et al.*, 2010; SHAMI; MOREIRA, 2004). As espécies reativas de oxigênio (EROs) podem ser geradas como consequência do metabolismo de O<sub>2</sub> na respiração celular ou pela redução incompleta do O<sub>2</sub> após a exposição da célula a estímulos exógenos como a radiação UV (BIANCHI; ANTUNES, 1999; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SHAMI; MOREIRA, 2004).

Muitos efeitos da radiação UV são mediados através desses radicais (COCKELL; KNOWLAND, 1999). A exposição à UVB sobrecarrega a cadeia transportadora de elétrons dos cloroplastos, fazendo com que parte dos elétrons sejam desviados da ferredoxina para o O<sub>2</sub>, reduzindo-o a radical superóxido e inibindo, portanto, a fotossíntese e a cadeia transportadora de elétrons, levando à formação das espécies reativas de oxigênio (EROs) (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

As primeiras EROs geradas em resposta a UVB são radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), mas as EROs dominantes produzidas nos tilacóides em situação de estresse por UVB são, em ordem, o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>), o radical hidroxila (OH<sup>-•</sup>) e o oxigênio singlet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

A relação entre as diferentes formas de EROs pode ser simplificada por meio da seguinte reação geral (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003):



As EROs mais importantes biologicamente são (Scandalios 1993; Ferreira & Matsubara 1997):

- Radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ): formado após a primeira redução do  $\text{O}_2$ ;
- Radical hidroxila ( $\text{OH}^{\cdot}$ ): o mais potente oxidante conhecido por atacar macromoléculas, levando a sérios danos nos componentes celulares, lesões no DNA e mutações. É formado pela transferência de elétron do  $\text{Fe}^{2+}$  para  $\text{H}_2\text{O}_2$  (IMLAY, 2003);
- Peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ): bastante deletério por participar da reação que produz o  $\text{OH}^{\cdot}$ ;
- Oxigênio singlet ( $^1\text{O}_2$ ): é a forma excitada do oxigênio molecular.

#### 1.4 Fotoproteção

Como a radiação ultravioleta (UV) causa vários efeitos biológicos adversos, algas e cianobactérias produzem compostos com propriedades fotoprotetoras tais como carotenoides, aminoácidos tipo micosporinas e scitoneminas (HÄDER *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2017). A síntese destes compostos acontece em resposta a diversos estímulos ambientais como flutuação na intensidade de luz, diferenças nos comprimentos de onda da radiação UV, limitação de nutrientes e outros fatores estressores (SINGH *et al.*, 2017).

Um dos sistemas mais eficientes na absorção de UV são estruturas com ligações conjugadas onde são encontrados elétrons  $\pi$ , que podem ser tanto moléculas de cadeia linear com ligações simples e duplas alternadas, quanto compostos aromáticos e cíclicos que contém ressonância eletrônica. A proteção ocorre porque os orbitais dos elétrons  $\pi$  tem absorção máxima na região UV, o que causa a transição energética dos elétrons do nível  $\pi$  para orbitais não ocupados (e mais energéticos)  $\pi^*$  (COCKELL; KNOWLAND, 1999).

É importante ressaltar que as moléculas que contém elétrons  $\pi$ , como ácidos nucleicos, polipeptídeos contendo aminoácidos aromáticos e lipídeos insaturados, são também os principais alvos dos danos provocados pela radiação UV (COCKELL; KNOWLAND, 1999).

A eficiência dos compostos que absorvem diretamente a radiação UV está relacionada então ao tamanho da molécula e ao número de substituintes que ela tem, pois quanto maior ela for, mais comprimentos de onda serão absorvidos e também em maior intensidade (COCKELL; KNOWLAND, 1999).

Como muitos dos efeitos da radiação UV são mediados por espécies reativas de oxigênio (COCKELL; KNOWLAND, 1999), organismos aeróbicos buscam o equilíbrio entre esses agentes oxirredutores e o sistema de defesa antioxidante (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Isso porque a disparidade entre os dois causa estresse oxidativo e acaba por resultar em danos celulares (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes são, portanto, responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pela oxidação por meio dos radicais livres nas células, e eles podem ser classificados em duas categorias, a dos antioxidantes enzimáticos e dos não-enzimáticos. Os antioxidantes não-enzimáticos, que podem ser sub-divididos em lipossolúveis e hidrossolúveis, são, entre outros, os carotenoides, vitaminas e compostos fenólicos; já os enzimáticos são diversos e podem ser citados como exemplos a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GSH-Px) (BIANCHI; ANTUNES, 1999; LÔRDELO *et al.*, 2010; SHAMI; MOREIRA, 2004).

A radiação UVB é capaz de induzir a transcrição de genes para a produção de enzimas chave como ascorbato peroxidase (APX), SOD e CAT, e o próprio estresse oxidativo é capaz de aumentar a regulação das defesas antioxidantes em resposta à radiação (BIANCHI; ANTUNES, 1999; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

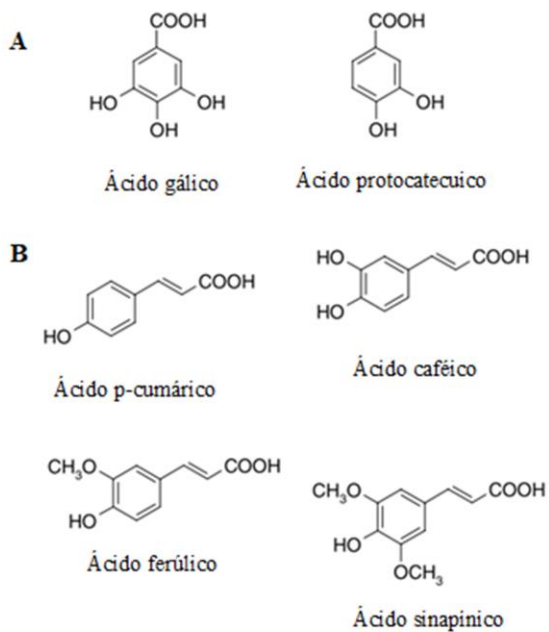
#### **1.4.1 Compostos Fenólicos**

Os compostos fenólicos têm a estrutura química ideal para as atividades de eliminação de radicais livres e quelação de metais (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997). Eles são formados por um ou dois anéis aromáticos, com um ou mais substituintes hidroxil, originando uma grande variedade de moléculas fenólicas, as quais podem ser divididas

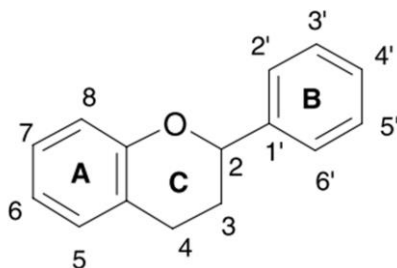
em várias classes (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; MACHU *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2017).

Dentre a diversidade de estruturas (classes) de compostos fenólicos, três tipos têm recebido especial atenção por ter uma alta produtividade em fotossintetizantes: os ácidos fenólicos, os flavonoides e os taninos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

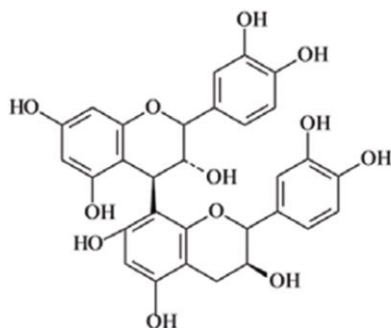
Os ácidos fenólicos consistem basicamente de dois sub-grupos: os ácidos hidroxibenzoico (estrutura  $C_6 - C_1$ ) e hidroxicinâmico (estrutura  $C_6 - C_3$ ) (**Figura 1.1**). Os flavonoides são compostos cuja estrutura consiste essencialmente de dois anéis aromáticos (A e B), unidos por uma ponte de três carbonos, geralmente na forma de um anel heterocíclico (C) (estrutura  $C_6 - C_3 - C_6$ ) (**Figura 1.2**). E os taninos são compostos de peso molecular relativamente alto que constituem o terceiro grupo mais importante de fenólicos e podem ser sub-divididos em taninos hidrolisáveis (ésteres de ácido gálico), condensados (polímeros de monômeros) (**Figura 1.3**) e florotaninos (floroglucinol) (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Os florotaninos são encontrados especialmente em algas pardas e tratam-se de componentes de paredes celulares que apresentam funções ecológicas como a proteção à radiação UV (MACHU *et al.*, 2015).



**Figura 1.1.** Exemplos de ácidos fenólicos. A, ácidos hidroxibenzoicos. B, ácidos hidroxicinâmico. Adaptada de BALASUNDRAM *et al.*, 2006.



**Figura 1.2.** Estrutura genérica de um flavonoide. Adaptada de BALASUNDRAM *et al.*, 2006.



**Figura 1.3.** Exemplos de taninos condensado. Adaptada de SOUZA *et al.*, 2015.

Os compostos fenólicos exibem uma ampla variedade de propriedades fisiológicas, tais como anti-alergênico, anti-inflamatório, anti-microbiano, e antioxidante, entre outros (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Em plantas, eles estão relacionados ao estresse, participando de mecanismos de proteção contra a radiação UV e patógenos (SINGH *et al.*, 2017), mas também atuam na pigmentação, reprodução e crescimento (MACHU *et al.*, 2015).



A atuação das substâncias fenólicas na fotoproteção contra UV não se dá apenas pela capacidade antioxidante de doar átomos de hidrogênio ou elétrons a radicais livres (LÔRDELO *et al.*, 2010), mas também à sua habilidade de absorção passiva da radiação UV, em decorrência da sua estrutura contendo grupos aromáticos (PICHRTOVÁ *et al.*, 2013).

O acúmulo de fenólicos é desencadeado não apenas por UV, mas também por diferentes fatores ambientais como salinidade, PAR e temperatura (PICHRTOVÁ *et al.*, 2013), fazendo dos compostos fenólicos uma das classes de antioxidantes mais importantes na natureza (MACHU *et al.*, 2015). Por isso, os compostos fenólicos já foram citados como grandes responsáveis pela efetividade antioxidante em plantas aquáticas e terrestres (RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004).

Além de sequestrar radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997), outra característica importante dos compostos fenólicos é a propensão como quelante de metais, o que suporta o papel dessas moléculas como antioxidantes preventivos em termos de inibição da formação de radicais livres catalisada por metais de transição (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997).

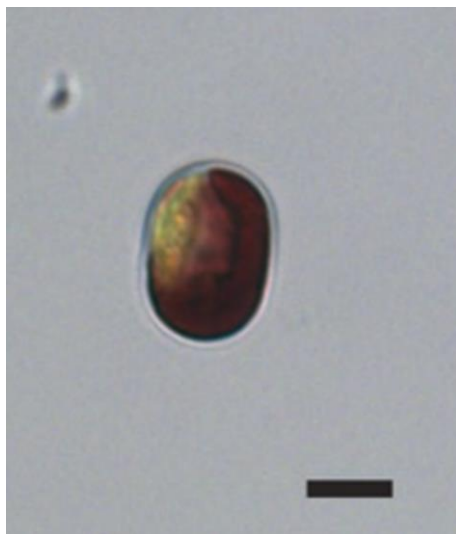
No caso específico das algas pertencentes à Classe Zygnematomyceae, os compostos fenólicos já foram citados por sua habilidade, às vezes crucial, de filtrar UV (FIGUEROA *et al.*, 2009; PICHRTOVÁ *et al.*, 2013; REMIAS *et al.*, 2012). A presença de fenólicos não é comum em microalgas não estreptófitas de água doce, mas são frequentemente encontradas em membros de Zygnematomyceae, provavelmente por causa da sua relação próxima com as plantas terrestres (LEE, 2008).

Dois compostos fenólicos que foram encontrados, até então, exclusivamente em Zygnematomyceae foram identificados nos últimos anos: um chamado de ácido 6-O- $\beta$ -D-glucopironosideo purpurogalina carboxílico, e um composto glicosilado com ferro e ácido gálico. O primeiro deles foi isolado por REMIAS *et al.* (2012) de *Mesotaenium*

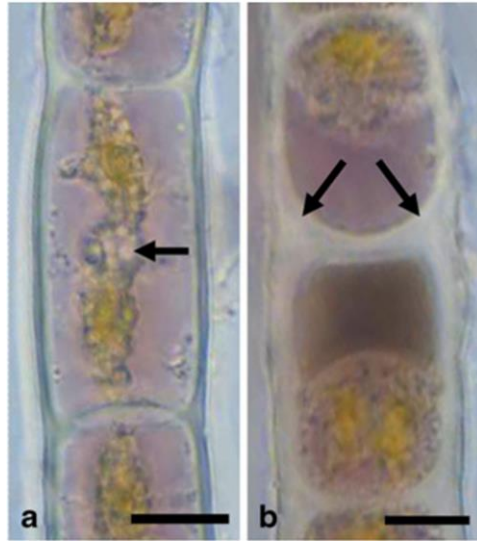
*berggrenii* (uma alga extremófila encontrada em geleiras). Esse composto, que confere coloração em tons de marrom às algas (**Figura 1.4**), tem ampla capacidade de absorção que abrange toda a faixa do UV-A e UV-B, e ainda parte do espectro visível.

O segundo composto foi isolado de *Zigogonium ericetorum*, que sofre com eventos de dessecação e altas intensidades luminosas, tendo vacúolos preenchidos com pigmento de coloração roxa (**Figura 1.5**). Este pigmento roxo foi analisado em maior detalhe por NEWSOME, MURPHY & VAN BREEMEN (2013), os quais purificaram e analisaram o pigmento usando diferentes tipos de espectroscopia, concluindo que se tratava de um composto altamente glicosilado e ramificado associado com um complexo de ferro com ácido gálico, portanto, um tipo de composto fenólico.

Pigmentação marcante causada por metabólitos secundários (provavelmente outros compostos fenólicos) é uma importante característica encontrada em alguns membros de Zygnematophyceae expostos a estresses ambientais (HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010). Estes compostos, além da capacidade de bloquear UV, também são encontrados em grandes quantidades em vacúolos que ficam na periferia das células, o que aumenta sua capacidade de proteção dos cloroplastos e outras organelas que ficam mais centralizadas (PICHRTOVÁ *et al.*, 2013). Eles parecem desempenhar um papel importante na prevenção do estresse da radiação UV em Zygnematophyceae, assim como metabólitos secundários tais como MAAs, carotenoides e scitoneminas o fazem em outros tipos de microorganismos (REMIAS *et al.*, 2012).



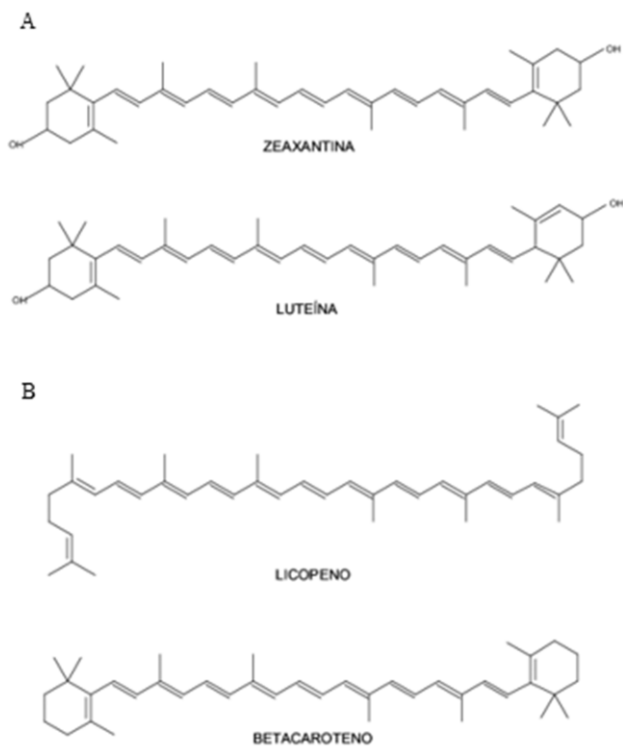
**Figura 1.4.** *Mesotaenium berggrenii* com coloração marrom. Escala 5  $\mu\text{m}$ . Imagem retirada de REMIAS *et al.*, (2012).



**Figura 1.5.** *Zygonium ericetorum* com pigmentação roxa. **a.** células jovens; **b.** células mais velhas. Escala 10  $\mu\text{m}$ . Imagem retirada de HOLZINGER *et al.*, (2010).

### 1.4.2 Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos acessórios da fotossíntese de cor amarelada a avermelhada, formados por uma cadeia de 40 carbonos, com ligações duplas organizadas de forma conjugada e com simetria bilateral (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011; HORST; MORENO, 2009) (**Figura 1.6**). Os compostos com apenas hidrocarbonetos são carotenos, e compostos com grupos oxo, hidroxil e epóxi são xantofilas (SINGH *et al.*, 2017).



**Figura 1.6.** Exemplos de carotenoides. A, xantofilas e B, carotenos.

Os diferentes tipos de carotenoides são gerados por modificações na estrutura básica, principalmente com a formação de anéis nas extremidades e pela adição de átomos de oxigênio, características essas que fornecem coloração e capacidade antioxidante a essa classe de

compostos (HORST; MORENO, 2009). A eles são atribuídas diversas atividades biológicas como absorção da luz solar e capacidade antioxidante, eliminação de espécies reativas de oxigênio e dissipação de energia, além de participarem na estabilização de membranas e atuarem em funções dos complexos fotossintéticos (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011).

Carotenoides são sintetizados apenas por organismos fotossintetizantes e adquiridos por animais por meio da alimentação (LÔRDELO *et al.*, 2010). Nos animais, exercem funções como manutenção, crescimento e diferenciação de células epiteliais, agindo na fotoproteção da pele, além de serem os compostos bioativos de alimentos mais estudados e amplamente utilizados no desenvolvimento de produtos alimentícios enriquecidos por causa de suas propriedades como corantes naturais, antioxidantes e fontes de vitamina A (HORST; MORENO, 2009).

Os carotenoides absorvem a luz na faixa do 400 a 500 nm e, portanto, não absorvem diretamente UV, mas são importantes extintores de radicais de livres (SINGH *et al.*, 2017; SOMMARUGA, 2001). Agem na proteção da foto-oxidação nas células em decorrência da sua atuação como sequestrantes de EROs e podem interagir sinergicamente com outros antioxidantes (HORST; MORENO, 2009). Podem atuar também com quelantes do oxigênio singlet, e removedores de radicais peróxidos absorvendo sua energia eletrônica e dissipando-a na forma de calor. Essa capacidade é relacionada ao número de ligações duplas e aos grupos ligados a suas extremidades, aumentando a atividade antioxidante quando possuem grande número de ligações duplas, grupos cetona e quando da presença de anéis aromáticos na sua estrutura (SHAMI; MOREIRA, 2004; UENOJO; MARÓSTICA; PASTORE, 2007).

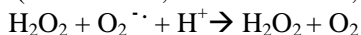
### **1.4.3 Enzimas Antioxidantes**

As enzimas antioxidantes são consideradas catalisadoras de reações que extinguem as EROs ou estão envolvidas no processamento direto delas. Assim, enzimas antioxidantes atuam na interrupção das cascatas de oxidação descontrolada (NOCTOR; FOYER, 1998). Sua ativação pela exposição à UV-B já foi observada em plantas previamente (WANG *et al.*, 2009), e a presença de EROs, como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e

$O_2^-$ , também é capaz de acionar a atividade de enzimas como SOD, CAT e APX (ZEESHAN; PRASAD, 2009).

### 1.4.3.1 Superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase (SOD) constitui a primeira linha de defesa celular contra as EROs (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002). Ela catalisa a dismutação do radical superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e gás oxigênio ( $O_2$ ), quando na presença de prótons ( $H^+$ ) segundo as reações (FERREIRA; MATSUBARA, 1997):

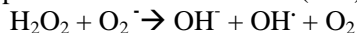


Como  $O_2^{\cdot -}$  não atravessa membranas, a presença de SOD nos compartimentos onde  $O_2^{\cdot -}$  é formado torna-se crucial (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002).

Devido a disponibilidades diferentes de metais na biosfera ao longo das eras geológicas, três tipos de SOD evoluíram, possuindo quatro diferentes metais como co-fator, as quais podem ser encontradas em diferentes compartimentos celulares (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002; SHAMI; MOREIRA, 2004):

- Fe-SOD: Cloroplastos;
- Mn-SOD: Mitocôndrias e peroxissomos, e no caso de algas e cianobactérias, também nas membranas dos tilacoides;
- Cu-ZnSOD: Cloroplastos e citoplasma.

Embora a atuação da SOD seja de grande relevância, a dismutação de  $O_2^{\cdot -}$  apenas serve para converter uma ERO em outra, no caso  $H_2O_2$  (NOCTOR; FOYER, 1998). Entretanto, o  $H_2O_2$  também não pode ser acumulado nas organelas (SCANDALIOS, 1993), pois participa da reação que produz o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ):

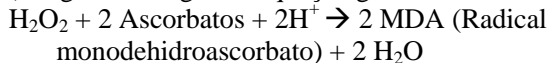


Assim, a atuação de enzimas que eliminam o  $H_2O_2$ , como catalases e peroxidases, são igualmente importantes para a proteção das células contra os oxidantes.

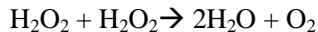
### 1.4.3.2 Ascorbato peroxidase (APX) e Catalase (CAT)

Catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) destroem a grande maioria do  $\text{H}_2\text{O}_2$  produzido no metabolismo celular (LUNA *et al.*, 2005). Estas duas enzimas são encontradas em vários compartimentos celulares, sendo a CAT encontrada no citoplasma, nas mitocôndrias e nos peroxissomos, e APX encontrada principalmente nos cloroplastos (NOCTOR; FOYER, 1998; RAVEN, 2000).

A APX catalisa uma reação que remove o  $\text{H}_2\text{O}_2$  através do ascorbato como redutor (RAVEN, 2000; RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003), segundo a seguinte equação geral:



Já a CAT catalisa a redução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$  sem a necessidade de um redutor (FERREIRA; MATSUBARA, 1997):



O excesso de luz e a presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas células já foram relacionados com o aumento da expressão gênica e transcrição de mRNA para a produção tanto para CAT, quanto para APX (SMIRNOFF, 1998), embora a regulação desse processo ainda não esteja bem elucidada (LUNA *et al.*, 2005).

As duas enzimas possuem afinidades distintas por  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Enquanto APX tem alta afinidade e consegue lidar com baixas concentrações, a CAT pode lidar com concentrações altas desse substrato por causa de sua menor afinidade ao mesmo (NOCTOR; FOYER, 1998; SMIRNOFF, 1998).

## 1.5 Lagoas ultraoligotróficas

A produtividade primária de ecossistemas aquáticos de água doce ocorre até ser limitada pela disponibilidade de recursos. Em geral, organismos fotossintetizantes aquáticos são limitados pela disponibilidade de luz e recursos minerais, como nitrogênio e fósforo (SCOTT *et al.*, 2007), e quando ambos são encontrados em baixas concentrações, pode-se dizer que há um caso de co-limitação nutricional. Quando há baixa disponibilidade de nutrientes em um ambiente aquático, o mesmo pode ser referido como oligotrófico, definição que se opõe à de eutrófico, ou seja, com boa disponibilidade de nutrientes. Os ambientes oligotróficos podem ter concentrações



extremamente baixas de nitrogênio e fósforo, e nesses casos são chamados de ultraoligotróficos (KOCIOLEK; STOERMER, 2009).

Embora a disponibilidade de nutrientes seja o principal parâmetro de definição dos estados tróficos de ecossistemas aquáticos, outros parâmetros têm sido desenvolvidos e aplicados na sua classificação. Estes parâmetros podem ser divididos de forma geral em químicos (p. ex., concentração de fósforo), físicos (p. ex., turbidez da água) e biológicos (p. ex., diversidade e quantidade de produtores primários) (KOCIOLEK; STOERMER, 2009).

A presença de matéria dissolvida na água não apenas influencia a produtividade primária, como também a transparência da água à radiação UV. Alguns corpos d'água com as maiores transparências à UV são sistemas com concentrações extremamente baixas de matéria orgânica dissolvida tais como águas ultraoligotróficas, onde a penetrabilidade da radiação UV atinge algumas dezenas de metros (HÄDER *et al.*, 2011).

A radiação solar é absorvida pela matéria particulada e dissolvida na água, sendo o maior fator que controla as características ópticas de habitats de água doce (HÄDER *et al.*, 2011). Como a maioria dos lagos e lagoas ao redor do mundo tem baixa concentração de nutrientes e baixa biomassa de fitoplâncton (KARLSSON *et al.*, 2009), ecossistemas de água doce geralmente são bastante transparentes à UV (HÄDER *et al.*, 2007).

Além de fotolisar a matéria orgânica dissolvida, UV também inibe a atividade de bactérias decompositoras (HÄDER *et al.*, 1998), que são especialmente sensíveis aos danos provocados pela radiação, embora ainda assim desempenhem um papel vital na dinâmica da matéria orgânica dos ecossistemas aquáticos, pois mineralizam a matéria e fornecem um link com os organismos de níveis tróficos superiores (HÄDER *et al.*, 2011), disponibilizando os nutrientes e, portanto, diminuindo a transparência da água.

## 1.6 Metafítton

O termo ‘metafítton’ é aplicado às comunidades de algas filamentosas de livre flutuação que variam em termos de composição, estrutura e características fisiológicas, e é geralmente associado com epífitos microscópicos (diatomáceas, desmídeas, e outros) (SAUNDERS *et al.*, 2012). Ele é formado inicialmente como biofilmes bentônicos dominados pelas algas filamentosas, que se desprendem do substrato e sobem à superfície quando a fotossíntese é tão intensa a ponto de produzir bolhas de gases dentro da matriz algal (SAUNDERS; KILHAM; VERB, 2016; SAUNDERS *et al.*, 2012). Como o primeiro estágio de formação do metafítton é o estabelecimento de algas bentônicas, essa estrutura ocorre essencialmente em ambientes de águas transparentes e rasas, onde a disponibilidade de luz não é limitante para o bentos.

Uma vez na superfície, as condições ambientais para as algas filamentosas, e também para seus epífitos, mudam drasticamente. As algas não ficam mais em contato direto com o sedimento rico em nutrientes, e a radiação solar e a temperatura aumentam consideravelmente (SAUNDERS; KILHAM; VERB, 2016). Um gradiente vertical de estresse é formado no tapete algal, onde a região superficial sofre com altas temperaturas e alta incidência de UV, enquanto as regiões mais internas experimentam rápido declínio de temperatura e aumento do auto-sombreamento (SAUNDERS *et al.*, 2012). Assim, o metafítton pode ser considerado uma formação de proteção ao reduzir a luz incidente nas camadas inferiores, compensando a fotoinibição sofrida pelas camadas superiores (SAUNDERS; KILHAM; VERB, 2016).

A localização do metafítton na superfície da água sugere que as algas que o compõem possuem adaptações que permitem a sobrevivência em um amplo espectro de condições de radiação, incluindo tolerância à UV-B. Ainda assim, pouco se sabe sobre quão sensíveis são à radiação (especialmente UV-B), ou quais são suas estratégias de fotoproteção (O’NEAL; HOOVER, 2018).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar os efeitos da variação da radiação UV nas respostas fisiológicas e antioxidantes (compostos fenólicos, carotenoides e enzimas) em algas metafíticas de três lagoas oligotróficas a 1000m de altitude.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Identificar e caracterizar a diversidade de microalgas em três lagoas de altitude;
- Caracterizar o ambiente de três lagoas de altitude quanto ao espectro de radiação solar e aspectos físico-químicos da água; e
- Verificar se a variação da radiação UV em curto prazo modifica a atividade fotossintetizante, a dinâmica de aproveitamento de nutrientes, a produção de compostos fenólicos e carotenoides, ou a atividade de enzimas antioxidantes em algas de lagoas de altitude.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Locais de estudo**

Os locais de estudo foram três lagoas a aproximadamente 1000 metros de altitude em três localidades distintas (**Figura 3.1**).

##### **3.1.1 Lagoa sem nome em Rancho Queimado, Santa Catarina**

A Lagoa (27°41'44.6"S, 49°08'41.8"W) fica em propriedade particular na Serra do Alto da Boa Vista a 1180 metros de altitude, em Rancho Queimado/SC.

O experimento nesta lagoa foi realizado no dia 23 de novembro de 2017. Segundo dados da Estação Automática de Rancho Queimado (SC) disponibilizados pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) no site <http://www.inmet.gov.br>, a temperatura local no período do experimento variou de 11,8 a 18,5 °C, a radiação variou de 426 a 2163 kJ/m<sup>2</sup> e não houve precipitação.

##### **3.1.2 Lagoa Bonita em Planaltina, Distrito Federal**

A Lagoa Bonita (15°35'20.1"S, 47°41'50.5"W) fica a 960 m do nível do mar, está localizada na Estação Ecológica Águas Emendadas em Planaltina/DF e é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral sob responsabilidade do Instituto Brasília Ambiental (IBRAM).

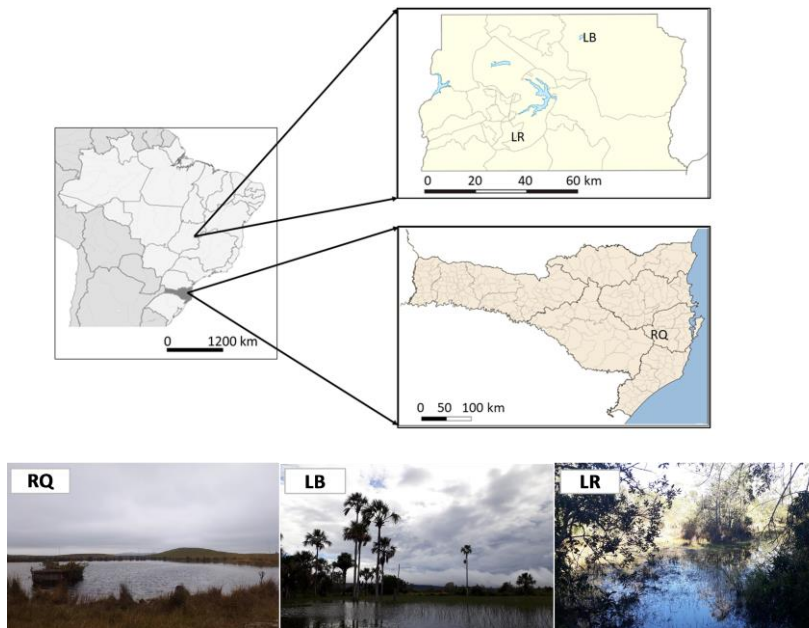
O experimento na Lagoa Bonita aconteceu no dia 14 de março de 2018. Diferentes condições de tempo aconteceram, intercalando períodos de chuva, céu nublado, céu limpo e neblina. De acordo com os dados da Estação Automática do INMET em Águas Emendadas (DF), a temperatura variou de 21,8 a 25,7 °C, a radiação de 740 a 2405 kJ/m<sup>2</sup> e a precipitação total no período do experimento foi de 5,2 mm.

##### **3.1.3 Lagoa do Roncador em Brasília, Distrito Federal**

A Lagoa do Roncador (15°56'48.5"S, 47°52'06.1"W) fica a 1119 m de altitude na Reserva Ecológica do IBGE (Instituto Brasileiro de

Geografia e Estatística) em Brasília/DF, cuja área compõe a Área de Proteção Ambiental (APA) Gama Cabeça de Veado.

O experimento na Lagoa do Roncador aconteceu no dia 30 de junho de 2018. Neste dia, o INMET registrou na Estação Automática de Brasília (DF) temperaturas de 10,5 a 23,6 °C, radiação de 4 a 2785 kJ/m<sup>2</sup> e nenhuma precipitação no período em que ocorreu o experimento.



**Figura 3.1.** Localização das três lagoas situadas a aproximadamente 1000m de altitude. LB: Lagoa Bonita, Distrito Federal; LR: Lagoa do Roncador, Distrito Federal; e RQ: Rancho Queimado, Santa Catarina.

### 3.2 Caracterização físico-química da água e medidas de radiação solar

Medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e temperatura da água, além da radiação solar total incidente às margens das lagoas (**Tabela 3.1**) foram tomadas em triplicata três a seis vezes em cada dia de experimento. Uma amostra de água também foi coletada para a quantificação de nutrientes dissolvidos (ortofosfato, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal) e ficou refrigerada até a chegada ao laboratório.

**Tabela 3.1.** Equipamentos utilizados nas medidas dos parâmetros abióticos nas três localidades com seus respectivos locais de medida e unidades. Santa Catarina: lagoa em Rancho Queimado; Distrito Federal: Lagoa Bonita e Lagoa do Roncador.

Parâmetro	Local de medida	Unidade	Equipamento usado em Santa Catarina	Equipamento usado no Distrito Federal
pH	Água	-	Ionlab	Hanna HI9126
Condutividade	Água	$\mu\text{S}/\text{cm}^2$	Lutron	YSI 30-50 FT
Oxigênio dissolvido	Água	mg/L	Instrutherm	YSI 55-50 FT
Temperatura	Água	$^{\circ}\text{C}$	Instrutherm	YSI 55-50 FT
Radiação	Ar	$\text{W}/\text{m}^2$	OceanOptics USB2000+	OceanOptics USB2000+
Nutrientes	Água	$\mu\text{M}$	Ver Seção 3.2.2	Ver Seção 3.2.2

#### 3.2.1 Medidas de radiação solar

Dados espectrais (280-700 nm) foram registrados às margens das lagoas três a quatro vezes por dia em intervalo de aproximadamente duas horas usando o espectrorradiômetro OceanOptics USB2000+. Em

cada momento de medida, três leituras foram realizadas, das quais foram feitas médias em unidades de  $W/m^2/nm$ .

Os valores de radiação fotossinteticamente ativa (PAR, 400-700 nm), radiação ultravioleta A (UV-A, 320-400 nm) e radiação ultravioleta B (UV-B, 280-320 nm) foram integrados para a obtenção das irradiâncias absolutas ( $W/m^2$ ), usados para calcular as doses totais recebidas ( $kJ/m^2$ ) nas diferentes regiões espectrais para cada intervalo entre as medidas e para determinar as proporções entre as regiões espectrais em cada local. As doses totais recebidas formam ainda normalizadas pelo tempo total dos experimentos obtendo doses totais recebidas por hora ( $kJ/m^2/h$ ) para tornar as doses comparativas entre os locais.

As doses totais recebidas para cada tratamento nos experimentos (**Seção 3.4**) foram calculadas da seguinte forma:

- Tratamento PAB: somatório das doses referentes à PAR, UV-A e UV-B;
- Tratamento PA: somatório das doses referentes à PAR e UV-A;
- Tratamento P: igual às doses de PAR.

As irradiâncias biologicamente efetivas foram determinadas usando as funções de ponderação para fotoinibição do fitoplâncton (CULLEN; NEALE, 1997) e inibição da fixação de carbono pelo fitoplâncton (BOUCHER; PRÉZELIN, 1996). Para tanto, os espectros de ação disponíveis nas referências foram normalizados e multiplicados pelos espectros incidentes, resultando em posterior integração para os cálculos das doses efetivas recebidas obtendo valores em  $kJ/m^2$  ( $mW/m^2$ )<sup>-1</sup> para inibição da fotossíntese e  $kJ/m^2$  ( $mg\ C$ ) ( $mg\ chl$ )<sup>-1</sup> ( $J/m^2$ )<sup>-1</sup> para inibição da fixação de carbono.

### 3.2.2 Quantificação de nutrientes

Ao chegar no laboratório, a água foi filtrada a vácuo em kit de filtração com microfiltro de fibra de vidro de 0,6  $\mu m$ . O líquido filtrado foi congelado em freezer ( $-20^\circ C$ ) para posterior análise de ortofosfato, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal por métodos colorimétricos descritos em GRASSHOFF & KREMLINGL (1985).



### 3.2.2.1 Ortofosfato

A reação feita para a quantificação de ortofosfato consistiu de 10 mL da amostra, 0,2 mL de solução de ácido ascórbico e 0,2 mL de reagente misto. A solução de ácido ascórbico é feita com 5 g de ácido ascórbico, 25 mL de água destilada e 25 mL de solução de ácido sulfúrico a 4,5 M. Já o reagente misto é composto por duas soluções preparadas separadamente, a primeira é feita com 2,5 g de heptamolibdato de amônio em 25 mL de água destilada, mais 70 mL de solução de ácido sulfúrico a 4,5 M; e a segunda é feita com 0,1 g de tartarato de antimônio e potássio em 4 mL de água destilada. Dez minutos após o preparo das reações, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 880 nm.

Uma curva padrão foi construída com concentrações conhecidas de ortofosfato de 0,5 a 10  $\mu\text{M}$  seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras. Tanto as amostras quanto a curva padrão foram lidas em triplicata.

### 3.2.2.2 Nitrito

A reação feita para a quantificação de nitrito compreendeu 5 mL da amostra, 0,2 mL de solução de sulfanilamida e 0,2 mL de solução de n-naftiletilenodiamina dihidrocloro. A solução de sulfanilamida é feita com a diluição de 10 mL de ácido clorídrico concentrado em 60 mL de água destilada, seguida pela dissolução de 1 g de sulfanilamida e o acréscimo de água destilada até o volume final de 100 mL. Já a solução de n-naftiletilenodiamina dihidrocloro é feita com a dissolução de 0,1 g de n-naftiletilenodiamina dihidrocloro em 100 mL de água destilada. Após 20 minutos do preparo das reações, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 540 nm.

Uma curva padrão foi construída com concentrações conhecidas de nitrito de 0,5 a 5  $\mu\text{M}$  seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras. Tanto as amostras quanto a curva padrão foram lidas em triplicata.

### 3.2.2.3 Nitrato

As amostras destinadas à quantificação de nitrato foram primeiramente reduzidas a nitrito. Esse procedimento consiste em diluir 15 mL de amostra em 15 mL de solução de tampão de amônio e passar essa diluição em uma coluna redutora construída com uma liga metálica de Cd-Cu acoplada a uma bomba peristáltica a um fluxo de 6 mL/min. Após descartar os primeiros 12 mL, recolheu-se 5 mL de cada amostra, a qual foi submetida a mesma reação feita para a quantificação de nitrito (**Seção 3.2.2.2**). A solução de tampão de amônio é feita pela dissolução de 20 g de cloreto de amônio em 2 L de água destilada, seguido do ajuste do pH a 8,5 por amoníaco concentrado ( $\text{NH}_4\text{OH}$  28-30%).

Os valores de absorvância obtidos são multiplicados por 2 (para a correção da diluição com tampão de amônio), aplicados à curva padrão de nitrito e da concentração obtida é subtraído a concentração de nitrito previamente obtida (**Seção 3.2.2.2**).

### 3.2.2.4 Nitrogênio amoniacal

A reação feita para a quantificação de nitrogênio amoniacal consistiu de 25mL da amostra, 1,0mL de solução fenólica, 0,5 mL de solução de citrato de sódio e 1,0mL de solução de trione. A solução fenólica é feita a partir da dissolução de 16 g de fenol em 60 mL de etanol e a adição de 120 mL de água destilada mais a dissolução de 120 mg de nitroprussiato dissódico dihidratado em 20 mL de água destilada. A solução de citrato de sódio é feita com 240 g de citrato dihidratado trissódico em 500 mL de água destilada, seguida por alcalinização com 10 mL de solução de hidróxido de sódio 1 M e fervura para a eliminação de amônia. Já a solução de trione é feita com 0,5 g de ácido dicloroisocianurico dihidratado e 100 mL de solução de hidróxido de sódio 0,8M. Após 30 minutos em banho-maria a 37°C, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 630 nm.

Uma curva padrão foi construída com concentrações conhecidas de nitrogênio amoniacal de 1 a 10  $\mu\text{M}$  seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras. Tanto as amostras quanto a curva padrão foram lidas em triplicata.

### 3.2.2.5 Nitrogênio dissolvido total

O total de nitrogênio dissolvido foi obtido pela soma das formas diluídas: nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal.

### 3.3 Determinação da diversidade algal

Em cada lagoa, uma amostra foi coletada com rede de plâncton com porosidade de 20 $\mu$ m (5 a 7 vezes) e fixada com formol 0,4%. Essas amostras concentradas destinaram-se às identificações.

As amostras foram visualizadas em microscópio óptico de luz (LEICA DM500), e fotos dos diferentes morfotipos foram tiradas com a câmera ANSCOPE 5.0.

De posse das imagens, as espécies ou morfotipos foram identificados com o auxílio de chaves de identificação (BICUDO; MENEZES, 2006; BORTOLINI *et al.*, 2009; DELLAMANO-OLIVEIRA *et al.*, 2008; ESTRELA; FONSECA; BICUDO, 2011; OLIVEIRA; BICUDO; MOURA, 2010a, b, 2017; RAMOS *et al.*, 2016; RAMOS; BICUDO; MOURA, 2015a, b, c; SOUZA; MELO, 2011).

Os táxons identificados foram confrontados com as informações disponíveis no banco de dados do site AlgaeBase (<http://www.algaebase.org/>) e a nomenclatura utilizada foi de acordo com esta referência.

### 3.4 Delineamento experimental

O experimento constou de três tratamentos, os quais permitiram que as algas recebessem diferentes qualidades espectrais de radiação como detalhado na **Tabela 3.2**.

**Tabela 3.2.** Relação dos tratamentos usados nos experimentos com suas respectivas qualidades espectrais recebidas e os filtros utilizados para a sua obtenção. PAR, radiação fotossinteticamente ativa; UV-A, radiação ultravioleta A; UV-B, radiação ultravioleta B.

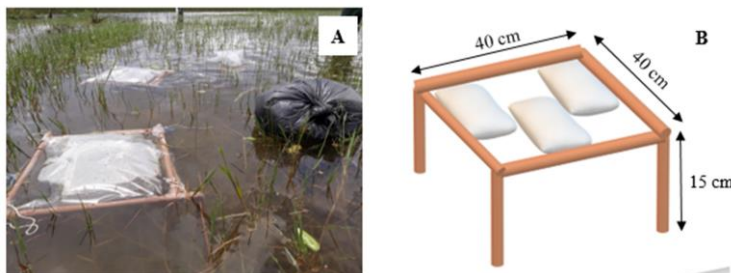
<b>Tratamento</b>	<b>Radiação recebida</b>	<b>Filtro utilizado</b>
<b>P</b>	PAR	Lee n° 226
<b>PA</b>	PAR + UV-A	Lee n° 130
<b>PAB (controle)</b>	PAR + UV-A + UV-B	Sem filtro

As algas filamentosas destinadas aos experimentos foram coletadas manualmente e filtradas em malha de rede de plâncton (malha de porosidade 20µm). Elas foram então incubadas em sacos plásticos transparentes à radiação na proporção de 100 mL de algas para 2 L de água da lagoa. Os sacos, devidamente lacrados, foram dispostos em triplicata sob estruturas quadriculares preparadas com tubos de PVC (40x40 cm) e colocados na lagoa de forma que os tubos flutuassem e os sacos de incubação ficassem logo a baixo da superfície da água (**Figura 3.2**).

No tratamento P, uma estrutura foi coberta com filtro de corte de radiação ultravioleta A e B (Lee n° 226); no tratamento PA, outra estrutura foi coberta com filtro de corte apenas da radiação ultravioleta B (Lee n° 130); e no tratamento PAB (controle), uma das estruturas não foi coberta por filtros, permitindo a passagem de todo o espectro de radiação do sol. A **Tabela 3.3** apresenta as porcentagens de corte por espectro de radiação de cada filtro. Adicionalmente aos tratamentos de radiação, três sacos plásticos com as mesmas proporções de algas e água foram colocados em um saco escuro cuja passagem de luz era completamente interrompida (**Figura 3.2**).

**Tabela 3.3.** Porcentagem de corte de radiação dos filtros Lee n° 130 e Lee n° 226 usados nos experimentos. UV-B, radiação ultravioleta B; UV-A, radiação ultravioleta A; PAR, radiação fotossinteticamente ativa.

Espectro de radiação	Porcentagem de corte	
	Lee n° 130	Lee n° 226
UVB	65	68
UVA	59	89
PAR	27	29



**Figura 3.2.** Organização das estruturas experimentais. A. Exemplo da disposição das estruturas durante os experimentos com as comunidades metafiticas de três lagoas de altitude. B. Desenho esquemático da estrutura construída para a incubação das algas. Ela foi construída com canos PVC com área de 40X40 cm, pés de sustentação de 15 cm e, dependendo do tratamento, foi coberta com filtro de corte de UV. As algas foram colocadas em sacos de incubação transparentes à radiação, os quais foram dispostos sob os filtros e dentro da área da estrutura.

Medidas de oxigênio dissolvido e temperatura (Instrutherm em Rancho Queimado e YSI 55-50 FT na Lagoa Bonita e Lagoa do Roncador) foram tomadas no início e no fim dos experimentos, em todos os sacos de incubação, permitindo medir a taxa de respiração das

comunidades submetidas ao escuro e estimar a fotossíntese líquida das comunidades nos três tratamentos de radiação (**Seção 3.5**).

Após aproximadamente seis horas de experimento (**Tabela 3.4**), as algas submetidas aos tratamentos foram filtradas em malha da rede de plâncton (porosidade de 20µm) e congeladas em nitrogênio líquido (-196°C). A água filtrada foi armazenada em garrafas plásticas e mantidas em gelo até a chegada ao laboratório, onde foi submetida ao procedimento de quantificação de nutrientes – ortofosfato, nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal (**Seção 3.2.2**). O mesmo procedimento foi replicado nas três localidades.

**Tabela 3.4.** Horários de início e finalização dos experimentos em cada localidade e a duração total de cada um. RQ, Rancho Queimado; LB, Lagoa Bonita; LR, Lagoa do Roncador.

Local	Data	Horário de início	Horário de finalização	Tempo total (h)
RQ	23/11/2017	11h00	18h20	7,33
LB	14/03/2018	12h20	17h00	4,70
LR	30/06/2018	10h30	16h45	6,25

### 3.5 Determinação das taxas de fotossíntese líquida (NP) e respiração (R)

A determinação da fotossíntese líquida (NP) e da respiração (R) no escuro foram realizadas pela fórmula da reação 1, com modificações daquela apresentada por SORDO *et al.* (2018):

#### Equação 1:

$$NP \text{ ou } R \left[ (\mu\text{mol} \times \text{mL} / \mu\text{g} \text{ clorofila} ) \times h \right] \\ = \left\{ \left[ \frac{(\Delta[O_2] \times V)}{C \times T} \right] \times 1000 \right\} / 15,9994$$

Onde:  $\Delta[O_2]$  é a diferença entre a concentração de oxigênio final pela concentração inicial (mg/L), V é o volume do saco de incubação (L), C é a concentração de clorofila *a* (µg/mL) nas amostras (**Seção 3.6.3**) e T é o tempo total de incubação (horas).

### 3.6 Análises bioquímicas

O material congelado foi macerado em nitrogênio líquido e dividido em três partes. Cada parte foi colocada em um criotubo, o qual foi pesado sem e com o material pulverizado, de forma que a massa colocada em cada era conhecida, e foi usada nos cálculos para o preparo dos extratos metanólicos usados na quantificação de compostos fenólicos totais (**Seção 3.6.1**) As outras duas partes foram submetidas a dois métodos de extração para a quantificação das enzimas: ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (**Seção 3.6.2**). Os precipitados provenientes das centrifugações das amostras de APX foram destinados às quantificações de clorofila *a* e carotenoides totais (**Seção 3.6.3**).

#### 3.6.1 Quantificação de compostos fenólicos

A quantidade de compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria pelo método de FOLIN & CIOCALTEAU (1927) em equivalência à concentração de ácido gálico. A reação foi preparada com solução de Folin a 10%, solução de carbonato de sódio a 2,5% e solução metanólica dos extratos macerados a uma concentração de 60 mg/mL de metanol. Após preparadas as reações, as soluções foram mantidas em banho-maria à 50°C por 10 minutos e as leituras foram realizadas em triplicata (com três sub-réplicas cada) em espectrofotômetro (Shimadzu CPS-100) a 760 nm. A curva padrão de ácido gálico foi construída da mesma forma com concentrações conhecidas de 0,1 a 1 mg/mL de ácido gálico em metanol 100%.

#### 3.6.2 Ensaio enzimáticos

Para a quantificação de ascorbato peroxidase (APX), o pulverizado obtido foi ressuspenso em tampão de extração preparado com 50 mL de tampão fosfato 50 mM pH 7,0, 5 g de polivinilpirrolidona, 4 mg de ácido ascórbico e 0,125 mL de Triton X-100. Após liquefeitas, as amostras foram centrifugadas (Mikro 200R,

Hettich) a 4°C, 15000 rpm por 10 minutos e os sobrenadantes separados e mantidos em gelo até a realização das leituras da atividade enzimática.

A reação preparada para as leituras foi feita com 925 µL de meio de reação (50 µL de tampão fosfato 50 mM pH 7,0, 4,4 mg de ácido ascórbico e 10 µL de solução de EDTA 0,5 M), 50 µL de peróxido de hidrogênio 2 mM e 25 µL do extrato centrifugado.

A atividade de APX foi então determinada por espectrofotometria (Shimadzu CPS-100) segundo BARROS *et al.* (2003) (com modificações), com leituras em intervalos de 15 segundos por nove minutos a 290 nm. As leituras foram feitas em triplicata com três sub-réplicas cada. Os valores de absorbância foram utilizados para o cálculo de inclinação, a qual foi relacionada à absorvidade molar do ácido ascórbico em 290 nm ( $2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e ajustada para o volume adicionado à reação obtendo Unidades de APX (U.APX) por mL. Este valor foi então normalizado pela concentração de proteínas totais (**Seção 3.6.2.1**) para a obtenção de U.APX/mg proteína.

Para a quantificação de catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), o pulverizado foi ressuspensionado em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4. O material liquefeito foi centrifugado (Mikro 200R, Hettich) a 4°C, 15000 rpm por 10 minutos e os sobrenadantes separados para as leituras das atividades enzimáticas (sempre mantidos em gelo).

A reação preparada para as leituras de CAT foi feita com 90 µL de tampão fosfato, 50 mM pH 7,4, 900 µL de peróxido de hidrogênio 10 mM e 10µL do extrato centrifugado.

A atividade foi determinada por espectrofotometria (Shimadzu CPS-100) segundo BARROS *et al.* (2003), com leituras em intervalos de 15 segundos por sete minutos a 230 nm. As leituras foram feitas em triplicata (três sub-réplicas cada). Os valores de absorbância foram utilizados para o cálculo de inclinação, a qual foi relacionada à absorvidade molar do peróxido de hidrogênio em 230 nm ( $0,071 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e ajustada para o volume adicionado à reação obtendo Unidades de CAT (U.CAT) por mL. Este valor foi então normalizado pela concentração de proteínas totais (**Seção 3.6.2.1**) para a obtenção de U.CAT/mg proteína.

A reação para as leituras de SOD foi feita com 25 µL do extrato centrifugado, 75 µL de tampão fosfato 50 mM pH 7,4, 800 µL de



solução NBT (1,6 mg de  $\beta$ -dinucleótido de nicotinamida e adenina hidratada, 4,9  $\mu\text{L}$  de solução de EDTA 0,5 M, 10 mg de azul de nitrotetrazólio e 24,5 mL de água Milli-Q) e 100  $\mu\text{L}$  de solução PMS (2,7 mg de fenazinametassulfato, 500  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato 50 mM pH 7,4, 1  $\mu\text{L}$  de solução de EDTA 0,5 M e 4950  $\mu\text{L}$  de água Milli-Q).

A atividade de SOD foi determinada por espectrofotometria (Shimadzu CPS-100) segundo BARROS *et al.* (2003), com leituras em intervalos de 15 segundos por cinco minutos a 560 nm. As leituras foram feitas em triplicata com três sub-réplicas. Os valores de absorbância foram utilizados para o cálculo de inclinação, a qual foi relacionada à redução de 50% na inclinação da cinética do branco e ajustada para o volume adicionado à reação obtendo Unidades de SOD (U.SOD) por mL. Este valor foi então normalizado pela concentração de proteínas totais (**Seção 3.6.2.1**) para a obtenção de U.SOD/mg proteína.

### **3.6.2.1 Normalização dos dados enzimáticos**

Os dados obtidos para as três enzimas foram normalizados pela quantidade de proteína total presente nos extratos resultantes da aplicação do método de BRADFORD (1976). A reação foi feita com 1,5 mL de reagente de Bradford a 25% e 50  $\mu\text{L}$  dos extratos utilizados para as quantificações das atividades enzimáticas. As leituras foram realizadas em triplicata (três sub-réplicas) a 595 nm. Uma curva padrão de proteína foi construída com concentrações conhecidas de albumina bovina de 20 a 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , as quais foram submetidas aos mesmos procedimentos de reação e leitura usados para as amostras.

### **3.6.3 Quantificação de clorofila *a* e carotenoides totais**

Os precipitados provenientes das centrifugações das amostras de APX foram ressuspendidos em dimetilformamida (DMF), homogeneizados em vortex e mantidos no escuro por 24h a 4°C. O material foi então centrifugado a 4°C a 15000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante colhido e o espectro de 400 a 700 nm das amostras foi

obtido em espectrofotômetro (Shimadzu CPS-100). Todo o procedimento foi realizado sob penumbra para evitar degradação dos pigmentos.

A concentração de clorofila *a* foi obtida pela Equação 2, adaptada de PORRA (2002):

**Equação 2:**

$$Chla (\mu g/mL) = (12 \times Abs_{664} - 3,11 \times Abs_{646}) \times V$$

Onde  $Abs_{664}$  é a absorbância a 664 nm,  $Abs_{646}$  é a absorbância a 646 nm e  $V$  é o volume de DMF utilizado para a ressuspensão.

A concentração de carotenoides totais foi obtida pela Equação 3, adaptada de WELLBURN (1994):

**Equação 3:**

$$Car (\mu g/mL) = \{ [1000 \times Abs_{480} - 0,89 \times (11,65 \times Abs_{664} - 2,69 \times Abs_{647}) - 52,02 \times (20,81 \times Abs_{647} - 4,53 \times Abs_{664})] / 245 \} \times V$$

Onde  $Abs_{480}$  é a absorbância a 480 nm,  $Abs_{664}$  é a absorbância a 664 nm,  $Abs_{647}$  é a absorbância a 647 nm e  $V$  é o volume de DMF utilizado para a ressuspensão.

### 3.7 Análises estatísticas

Testes de normalidade e homogeneidade de variâncias (teste de Cochran) foram realizados previamente à análise estatística da produção e concentração de compostos fenólicos, enzimas, clorofila *a* e carotenoides, além da fotossíntese líquida e dos nutrientes dissolvidos sob o efeito do corte de radiação para cada localidade, o qual foi feito por Análise de Variância com um fator (One-Way ANOVA). Foi testada também a interação dos fatores corte de radiação e localidade por Análise de Variância com dois fatores (Factorial ANOVA). Observando efeitos significativos ( $p < 0,05$ ), um teste *post-hoc* de Newman-Keuls foi aplicado. Matrizes de correlação de Pearson também foram geradas entre os dados fisiológicos e as doses totais recebidas de radiação.

Para visualizar o padrão multivariado das respostas fisiológicas das comunidades avaliadas, foi utilizada a Análise de Escalonamento Multi-dimensional Não Métrica (nMDS). E para testar o grau de semelhança entre as três lagoas em relação às doses de radiação recebida e as respostas fisiológicas das comunidades foi utilizada a Análise de Variância Multivariada por Permutação (PERMANOVA) pelo teste PAIR-WISE. Para identificar a relação entre as respostas fisiológicas obtidas como resposta pelas comunidades metafíticas foi usada a Análise de Componentes Principais (PCA). Para satisfazer o pressuposto de homogeneidade necessárias as três últimas análises, os dados de radiação recebida e respostas fisiológicas foram transformados ( $\log x+1$ ).

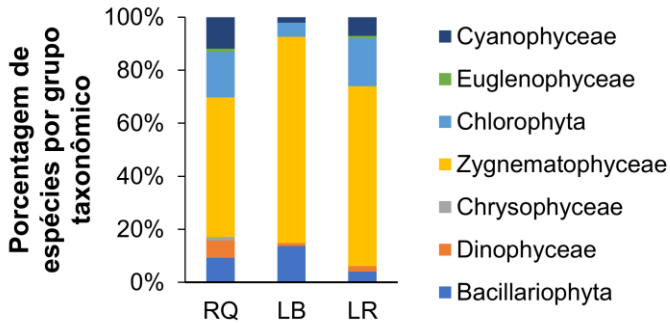
As análises ANOVA, Newman-Keuls e correlação foram desenvolvidas no software Statistica v.7 (StatSoft Inc., 2004). Enquanto nMDS, PERMANOVA e PCA foram feitas no software PRIMER 6 (PRIMER-E Ltd, Plymouth Marine Laboratory).



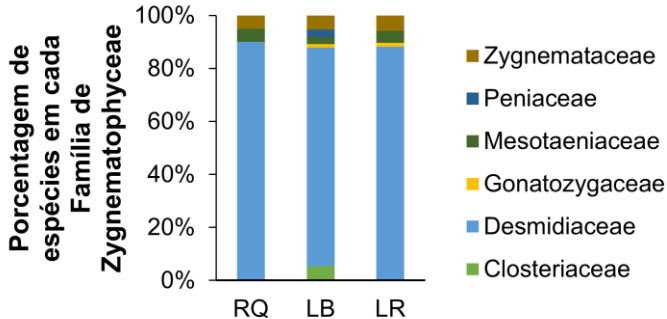
#### 4. RESULTADOS

Ao todo foram identificadas 228 espécies ou morfotipos nas três lagoas (**APÊNDICE A**). Em Rancho Queimado foram encontradas 76 espécies, na Lagoa Bonita foram 95 espécies, e na Lagoa do Roncador foram identificadas 100 espécies. Em todas as lagoas, a maioria das espécies pertencia à Classe Zygnematophyceae (**Figura 4.1**) com contribuição superior a 50% do total de espécies em cada local. Dentro desta Classe, a Família com maior representatividade foi Desmidiaceae (**Figura 4.2**), a qual teve contribuição de pelo menos 80% das espécies; embora as algas filamentosas formadoras de metafíton (Família Zygnemataceae) fossem visualmente mais representativas em termos de biomassa úmida (dados não mostrados).

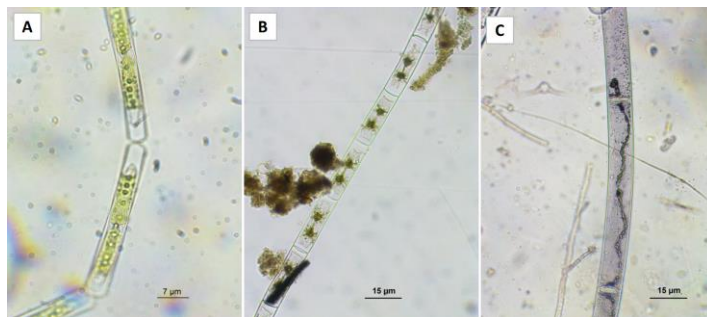
As comunidades metafíticas consistiram de misturas de cianobactérias, desmídias, diatomáceas, dinoflagelados e zygnefíceas filamentosas. Em Rancho Queimado a espécie dominante foi *Mougeotia* sp., na Lagoa Bonita foi *Zygnema* sp., que apresentou pigmentação vacuolar púrpura, e na Lagoa do Roncador foi *Temnogametum* sp., também com pigmentação púrpura (**Figura 4.3**).



**Figura 4.1.** Proporção do número de espécies ou morfotipos entre os grupos taxonômicos identificados em três lagoas de altitude. RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018).



**Figura 4.2.** Proporção do número de espécies por Família de Zygnematophyceae identificadas em três lagoas de altitude. RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018).



**Figura 4.3.** Espécies dominantes no metafítton de (A) Rancho Queimado, *Mougeotia* sp., (B) Lagoa Bonita, *Zygnema* sp., e (C) Lagoa do Roncador, *Temnogametum* sp.

As características físico-químicas da água das lagoas não tiveram grande variação diária e pouca diferença entre os três locais. A condutividade e os nutrientes dissolvidos foram baixos. O pH apresentou tendência de alcalinização e a temperatura aumentou durante o dia como esperado nos três locais, mas estes dois parâmetros apresentaram diferenças entre as lagoas, tendo a Lagoa Bonita a maior temperatura média e Rancho Queimado o menor pH médio (**Tabela 4.1**).

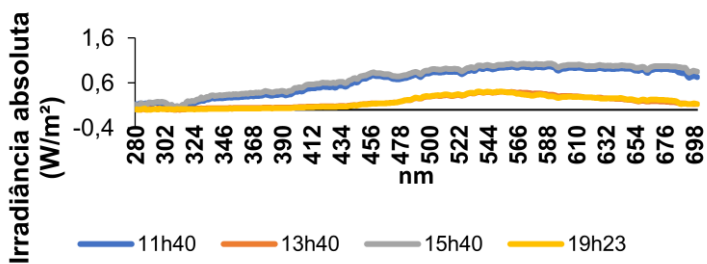
**Tabela 4.1.** Características físico-químicas da água nos dias de experimento nos três locais de estudo. Média  $\pm$  desvio padrão. \* N=9; \*\* N=3.

Parâmetro	Local		
	Rancho Queimado, 23/11/2017	Lagoa Bonita, 14/03/2018	Lagoa do Roncador, 30/06/2018
pH*	5,02 $\pm$ 0,83	7,71 $\pm$ 0,97	6,63 $\pm$ 0,61
Condutividade ( $\mu$ S/cm)*	12,24 $\pm$ 1,11	8,63 $\pm$ 2,04	6,96 $\pm$ 1,77
Oxigênio dissolvido (mg/L)*	7,78 $\pm$ 0,39	6,33 $\pm$ 0,62	6,50 $\pm$ 1,21
Temperatura ( $^{\circ}$ C)*	17,73 $\pm$ 1,11	29,41 $\pm$ 0,41	19,88 $\pm$ 0,70
Ortofosfato ( $\mu$ M)**	0,121 $\pm$ 0,036	0,353 $\pm$ 0,000	0,044 $\pm$ 0,000
Nitrogênio amoniacal ( $\mu$ M)**	0,263 $\pm$ 0,105	0,311 $\pm$ 0,104	0,094 $\pm$ 0,000
Nitrito ( $\mu$ M)**	0,027 $\pm$ 0,012	0,000 $\pm$ 0,000	0,020 $\pm$ 0,000
Nitrato ( $\mu$ M)**	0,131 $\pm$ 0,011	0,290 $\pm$ 0,000	0,368 $\pm$ 0,021
Nitrogênio total dissolvido ( $\mu$ M)**	0,421 $\pm$ 0,105	0,601 $\pm$ 0,104	0,482 $\pm$ 0,021

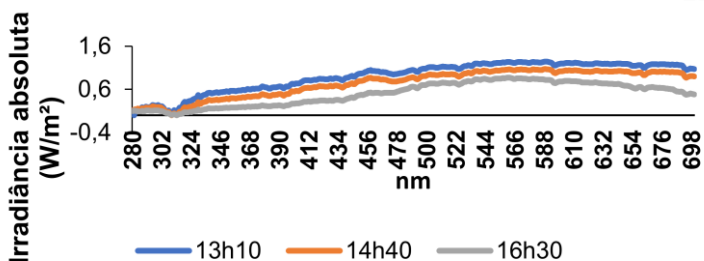
A irradiância absoluta total incidente em Rancho Queimado variou de 298,0 a 74,7 W/m<sup>2</sup>; na Lagoa Bonita de 380,7 a 211,9 W/m<sup>2</sup>; e na Lagoa do Roncador de 430,6 a 68,1 W/m<sup>2</sup> (**Figura 4.4; Tabela 4.2**).



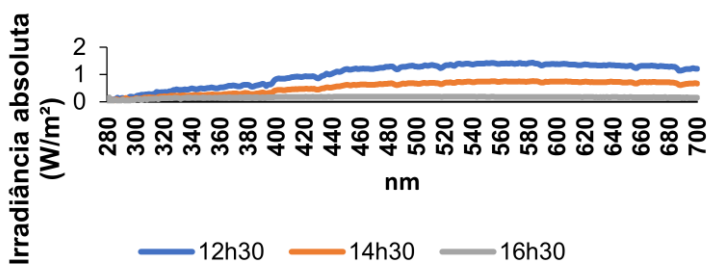
RQ



LB



LR



**Figura 4.4.** Irradiância absoluta incidente em  $\text{W/m}^2$  em diferentes horários nos dias de experimentos. RQ: experimento em Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB: experimento na Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); LR: experimento na Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018).

**Tabela 4.2.** Irradiância absoluta em W/m<sup>2</sup> por região espectral em cada horário de medida nas três localidades de estudo. PAR, radiação fotossinteticamente ativa (400 a 700 nm); UV-A, radiação ultravioleta A (320 a 400 nm); UV-B, radiação ultravioleta B (280 a 320 nm).

<b>Local</b>	<b>Horário</b>	<b>PAR (W/m<sup>2</sup>)</b>	<b>UV-A (W/m<sup>2</sup>)</b>	<b>UV-B (W/m<sup>2</sup>)</b>
Rancho Queimado, SC 23/11/2017	11h40	242,54	22,95	4,55
	13h40	71,92	3,47	0,65
	15h40	264,37	28,30	5,40
	19h23	71,72	2,38	0,61
	Média diária	162,64	14,27	2,80
Lagoa Bonita, DF 14/03/2018	13h10	328,68	45,45	6,54
	14h40	276,75	31,82	5,22
	16h30	194,19	14,59	3,11
	Média diária	266,54	30,62	4,96
	Lagoa do Roncador, DF 30/06/2018	12h30	379,17	43,14
14h30		200,31	22,01	4,68
16h30		52,84	12,07	3,21
Média diária		210,77	25,74	5,41

As doses totais recebidas de radiação nos três locais estão apresentadas na **Tabela 4.3**. As doses de PAR foram 60% maiores na Lagoa Bonita e 25% maiores na Lagoa do Roncador; as de UVA foram 100% maiores na Lagoa Bonita e 60% maiores na Lagoa do Roncador; e as de UV-B foram 70% maiores na Lagoa Bonita e 80% maiores na Lagoa do Roncador, todas as porcentagens são em relação às doses recebidas em Rancho Queimado. No entanto, a relação proporcional entre as regiões espectrais mostrou-se semelhantes nos três locais (**Tabela 4.4**), sendo a contribuição de UV-B para o todo o espectro de 20% em todos os locais de trabalho.

**Tabela 4.3.** Dose total recebida em  $\text{kJ/m}^2$  e dose recebida por hora em  $\text{kJ/m}^2/\text{h}$  nas três localidades de estudo. PAR, radiação fotossinteticamente ativa (400 a 700 nm); UVA, radiação ultravioleta A (320 a 400 nm); UVB, radiação ultravioleta B (280 a 320 nm).

Local	Dose recebida	PAR ( $\text{kJ/m}^2$ )	UVA ( $\text{kJ/m}^2$ )	UVB ( $\text{kJ/m}^2$ )
Rancho Queimado, SC 23/11/2017	Período total ( $\text{kJ/m}^2$ )	$4,62 \times 10^6$	$4,18 \times 10^5$	$8,13 \times 10^4$
	Por hora ( $\text{kJ/m}^2/\text{h}$ )	$6,00 \times 10^5$	$5,42 \times 10^4$	$1,05 \times 10^4$
Lagoa Bonita, DF 14/03/2018	Período total ( $\text{kJ/m}^2$ )	$3,19 \times 10^6$	$3,61 \times 10^5$	$5,92 \times 10^4$
	Por hora ( $\text{kJ/m}^2/\text{h}$ )	$9,57 \times 10^5$	$1,09 \times 10^5$	$1,78 \times 10^4$
Lagoa do Roncador, DF 30/06/2018	Período total ( $\text{kJ/m}^2$ )	$2,00 \times 10^6$	$3,57 \times 10^5$	$7,53 \times 10^4$
	Por hora ( $\text{kJ/m}^2/\text{h}$ )	$7,49 \times 10^5$	$8,93 \times 10^4$	$1,88 \times 10^4$

**Tabela 4.4.** Relação proporcional entre as regiões espectrais das irradiâncias médias de cada dia nos locais de experimentos. PAR, radiação fotossinteticamente ativa (400 a 700 nm); UVA, radiação ultravioleta A (320 a 400 nm); UVB, radiação ultravioleta B (280 a 320 nm).

Local	Proporção entre as regiões espectrais (PAR/UVA/UVB)
Rancho Queimado, SC 23/11/2017	90 / 8 / 2
Lagoa Bonita, DF 14/03/2018	88 / 10 / 2
Lagoa do Roncador, DF 30/06/2018	87 / 11 / 2

Com relação às doses de irradiâncias efetivas, Rancho Queimado obteve os maiores valores tanto para inibição da fotossíntese quanto para a inibição da fixação de carbono, enquanto a Lagoa do Roncador obteve os menores valores (**Tabela 4.5**).

**Tabela 4.5.** Integrais ponderadas das doses de radiação ultravioleta que efetivamente causam inibição da fotossíntese [ $\text{kJ/m}^2 (\text{mW/m}^2)^{-1}$ ] e inibição da fixação de carbono [ $\text{kJ/m}^2 (\text{mg C}) (\text{mg chl})^{-1} (\text{J/m}^2)^{-1}$ ] nos três locais de estudo. Os dados foram normalizados de acordo com os espectros de ação de Cullen & Neale 1997 e Boucher & Prézélin 1996.

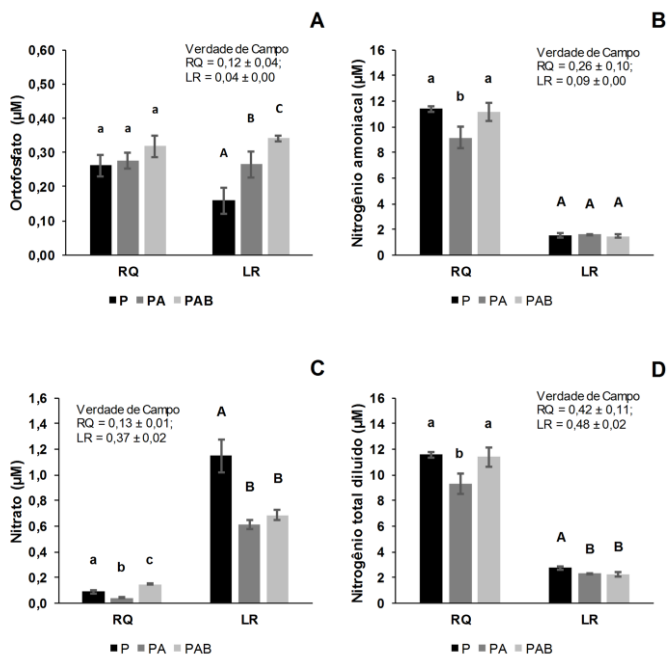
Local	Inibição da	
	Inibição da fotossíntese [ $\text{kJ/m}^2 (\text{mW/m}^2)^{-1}$ ]	fixação de C [ $\text{kJ/m}^2 (\text{mg C}) (\text{mg chl})^{-1} (\text{J/m}^2)^{-1}$ ]
Rancho Queimado, SC 23/11/2017	$1,34 \times 10^4$	$1,57 \times 10^4$
Lagoa Bonita, DF 14/03/2018	$1,03 \times 10^4$	$1,23 \times 10^4$
Lagoa do Roncador, DF 30/06/2018	$9,53 \times 10^3$	$1,02 \times 10^4$

Apesar de todos os nutrientes dissolvidos quantificados nos tratamentos (**APÊNDICE B**) terem concentrações mais elevadas que as concentrações do ambiente, as quantidades de nutrientes dissolvidos nos sacos de incubação nos esclarecem acerca das taxas de assimilação desses nutrientes em resposta à radiação, uma vez que menor concentração significa maior assimilação. No experimento de Rancho Queimado, houve diferença estatística entre os tratamentos em nitrogênio amoniacal, nitrato e nitrogênio total, enquanto que no experimento da Lagoa do Roncador, houve diferença em ortofosfato, nitrato e nitrogênio total (**Tabela 4.6, Figura 4.5**).

Os dados dos tratamentos, quando comparados entre si, mostram maior consumo de ortofosfato pelas comunidades submetidas apenas à PAR, o que é evidente na Lagoa do Roncador, e embora não tenha tido diferença estatística em Rancho Queimado, uma tendência parecida pode ser observada (**Figura 4.5-A**). O nitrogênio amoniacal nos tratamentos de Rancho Queimado foi mais consumido pelo tratamento com corte de UV-B (**Figura 4.5-B**). O nitrato foi mais consumido no tratamento com corte de UV-B e menos consumido no tratamento com incidência total de UV (PAB) em Rancho Queimado e mais consumido nos dois tratamentos com corte de UV na Lagoa do Roncador (**Figura 4.5-C**). O padrão de consumo do nitrogênio total refletiu o nitrogênio amoniacal em Rancho Queimado e o nitrato na Lagoa do Roncador (**Figura 4.5-D**).

**Tabela 4.6.** Resumo das análises de variância com um fator (One-Way ANOVA) nas quantidades de nutrientes nos tratamentos dos experimentos realizados em duas lagoas a aproximadamente 1000 metros de altitude. RQ, Rancho Queimado/SC; e LR, Lagoa do Roncador/DF.  $\alpha < 0,05$ . N=9. Negrito indica valores significativos em  $p < 0,05$ .

Nutriente	RQ		LR	
	<i>F</i> value	<i>p</i>	<i>F</i> value	<i>p</i>
Ortofosfato	2,899	0,10	<b>24,587</b>	<b>0,00</b>
Nitrogênio amoniacoal	<b>11,047</b>	<b>0,01</b>	1,000	0,42
Nitrito	0,096	0,96	2,263	0,18
Nitrato	<b>119,824</b>	<b>0,00</b>	<b>40,071</b>	<b>0,00</b>
Nitrogênio total dissolvido	<b>12,007</b>	<b>0,01</b>	<b>16,690</b>	<b>0,00</b>



**Figura 4.5.** Quantidade de nutrientes dissolvidos na água dos tratamentos. RQ, Lagoa de Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, corte de radiação ultravioleta A e B; PA, corte de radiação ultravioleta B; PAB, sem corte de radiação; Verdade de Campo, concentração de nutrientes na água não submetida à tratamento. A, quantidade de ortofosfato em  $\mu\text{M}$ ; B, quantidade de nitrogênio amoniacal em  $\mu\text{M}$ ; C, quantidade de nitrito em  $\mu\text{M}$ ; e D, quantidade de nitrogênio total dissolvido em  $\mu\text{M}$ . As letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística de acordo com o teste Newman-Keuls *post-hoc* (médias  $\pm$  desvio padrão, N=9); letras maiúsculas diferentes de minúsculas.

A fotossíntese líquida teve diferença estatística nos tratamentos de dois dos três experimentos (**Tabela 4.7; APÊNDICE C**). Em Rancho Queimado, houve uma redução no tratamento com corte total de UV e na Lagoa Bonita, que apresentou taxas fotossintéticas negativas, houve uma redução na fotossíntese no tratamento com corte de UV-B, ou seja, maior respiração entre os tratamentos (**Figura 4.6-A**). As taxas de fotossíntese foram diferentes entre as três localidades, sendo o experimento da Lagoa do Roncador o com maior taxa fotossintética líquida média (**Tabela 4.8; Figura 4.6-B**).

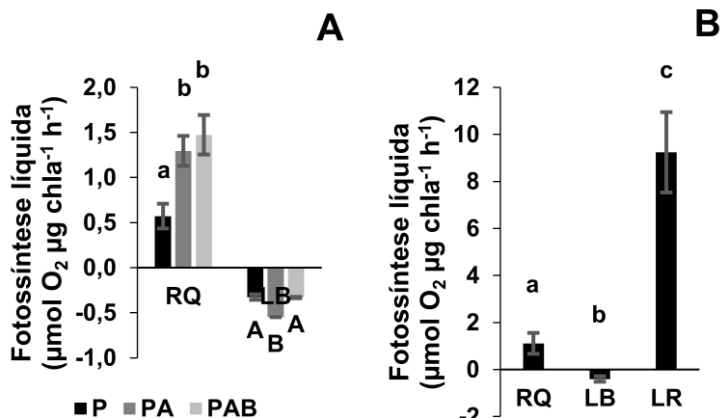


**Tabela 4.7.** Resumo das análises de variância (One-Way ANOVA) nas respostas fisiológicas das comunidades metafíticas de três localidades a 1000m de altitude. RQ, Rancho Queimado/SC; LB, Lagoa Bonita/DF; e LR, Lagoa do Roncador/DF. APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase.  $\alpha < 0,05$ . \*N=3; \*\*N=9. Negrito indica valores significativos em  $p < 0,05$ .

Resposta fisiológica	RQ		LB		LR	
	<i>F</i> value	<i>p</i>	<i>F</i> value	<i>P</i>	<i>F</i> value	<i>p</i>
Fotossíntese líquida*	<b>21,75</b>	<b>0,00</b>	<b>510,24</b>	<b>0,00</b>	1,14	0,38
Clorofila <i>a</i> **	2,61	0,15	0,82	0,48	0,31	0,74
Carotenoides totais**	<b>6,45</b>	<b>0,03</b>	0,73	0,52	<b>8,89</b>	<b>0,02</b>
Compostos fenólicos totais**	<b>207,89</b>	<b>0,00</b>	<b>6,84</b>	<b>0,03</b>	1,56	0,28
APX**	<b>6,78</b>	<b>0,03</b>	0,83	0,48	0,74	0,52
CAT**	0,05	0,95	0,83	0,48	0,66	0,55
SOD**	<b>10,71</b>	<b>0,01</b>	0,67	0,55	0,73	0,52

**Tabela 4.8.** Resumo das análises de variância com dois fatores (Factorial ANOVA) (tratamento de radiação e localidade) nas respostas fisiológicas das comunidades metafiticas de três experimentos a 1000m de altitude. APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase.  $\alpha < 0,05$ . \*N=3; \*\*N=9. Negrito indica valores significativos em  $p < 0,05$ .

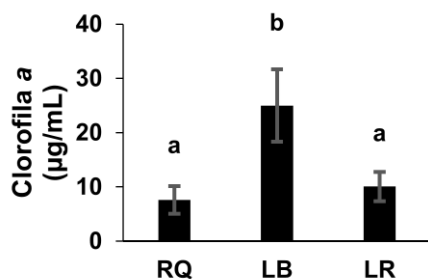
Resposta fisiológica	Radiação		Localidade		Radiação*Localidade	
	Fvalue	p	Fvalue	p	Fvalue	p
Fotossíntese líquida*	1,61	0,23	<b>253,20</b>	<b>0,00</b>	1,27	0,31
Clorofila a**	0,36	0,70	<b>39,67</b>	<b>0,00</b>	1,15	0,37
Carotenoides totais**	0,93	0,41	<b>36,71</b>	<b>0,00</b>	1,52	0,24
Compostos fenólicos totais**	0,17	0,84	<b>41,69</b>	<b>0,00</b>	<b>4,03</b>	<b>0,02</b>
APX**	<b>3,94</b>	<b>0,04</b>	<b>86,76</b>	<b>0,00</b>	<b>5,28</b>	<b>0,01</b>
CAT**	0,47	0,63	<b>21,39</b>	<b>0,00</b>	0,51	0,73
SOD**	<b>5,23</b>	<b>0,02</b>	<b>30,99</b>	<b>0,00</b>	2,66	0,07



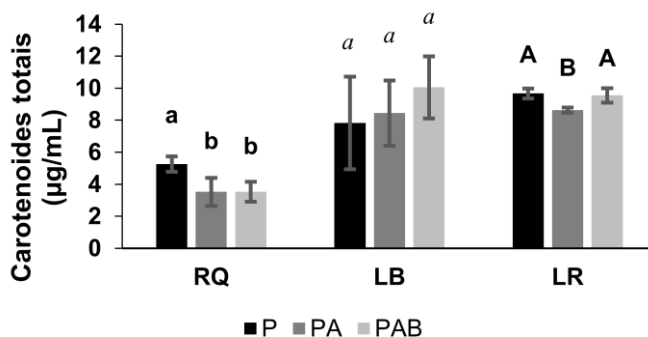
**Figura 4.6.** A, Taxa fotossintética líquida em  $\mu\text{mol O}_2 \mu\text{g chl a}^{-1} \text{h}^{-1}$  nos tratamentos de Rancho Queimado (RQ) e da Lagoa Bonita (LB) (N=3). B, Taxa fotossintética líquida média em cada local estudado (N=9). RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, corte de radiação ultravioleta A e B; PA, corte de radiação ultravioleta B; e PAB, sem corte de radiação. As letras indicam tratamentos diferentes de acordo com o teste Newman-Keuls *post-hoc*. (médias  $\pm$  desvio padrão), letras maiúsculas diferentes de letras minúsculas.

A quantidade de clorofila *a* não teve diferença estatística em nenhum tratamento nos três experimentos (**Tabela 4.7; APÊNDICE C**), mas foi diferente entre as localidades (**Figura 4.7**), tendo a Lagoa Bonita a maior concentração média. A quantidade de carotenoides variou em Rancho Queimado e na Lagoa do Roncador (**Tabela 4.7; APÊNDICE C**), mas de forma distinta, enquanto no primeiro houve aumento no tratamento com corte de UV total, no segundo houve redução com o corte de UVB. De modo geral, as quantidades de

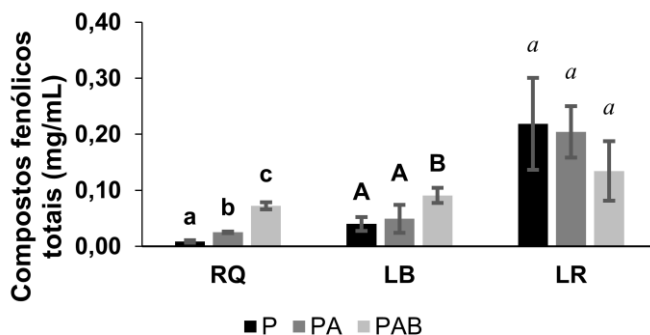
carotenoides totais foram menores em Rancho Queimado e maiores nas lagoas do Distrito Federal (**Figura 4.8**). Em relação à produção de compostos fenólicos, houve uma redução nos tratamentos com corte de radiação nos experimentos de Rancho Queimado e da Lagoa Bonita. A Lagoa do Roncador apresentou a maior produção média de compostos fenólicos totais, comparativamente às demais localidades, embora não tenha apresentado diferença estatística entre os tratamentos (**Tabela 4.7; Figura 4.9; APÊNDICE C**).



**Figura 4.7.** Quantidade de clorofila *a* média em µg/mL. RQ, Lagoa de Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). As letras diferentes indicam diferença estatística de acordo com o teste Newman-Keuls *post-hoc* (médias  $\pm$  desvio padrão,  $n=27$ ).



**Figura 4.8.** Quantidade de carotenoides totais em  $\mu\text{g/mL}$  dos tratamentos nos experimentos realizados. RQ, Lagoa de Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, corte de radiação ultravioleta A e B; PA, corte de radiação ultravioleta B; e PAB, sem corte de radiação. As letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística de acordo com o teste Newman-Keuls *post-hoc* (médias  $\pm$  desvio padrão,  $n=9$ ); letras maiúsculas diferentes de minúsculas e diferentes de itálico.

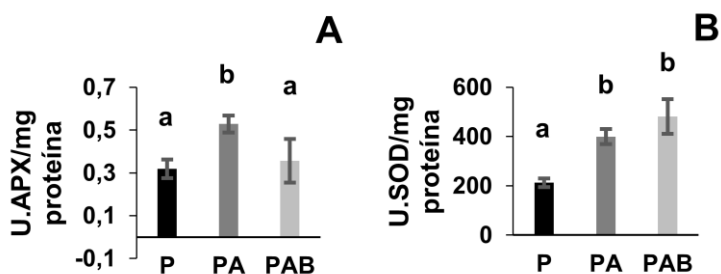


**Figura 4.9.** Quantidade de compostos fenólicos totais em mg/mL dos tratamentos nos experimentos realizados. RQ, Lagoa de Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017); LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018); e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, corte de radiação ultravioleta A e B; PA, corte de radiação ultravioleta B; e PAB, sem corte de radiação. As letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística de acordo com o teste Newman-Keuls *post-hoc* (médias  $\pm$  desvio padrão,  $n=9$ ); letras maiúsculas diferentes de minúsculas e diferentes de itálico.

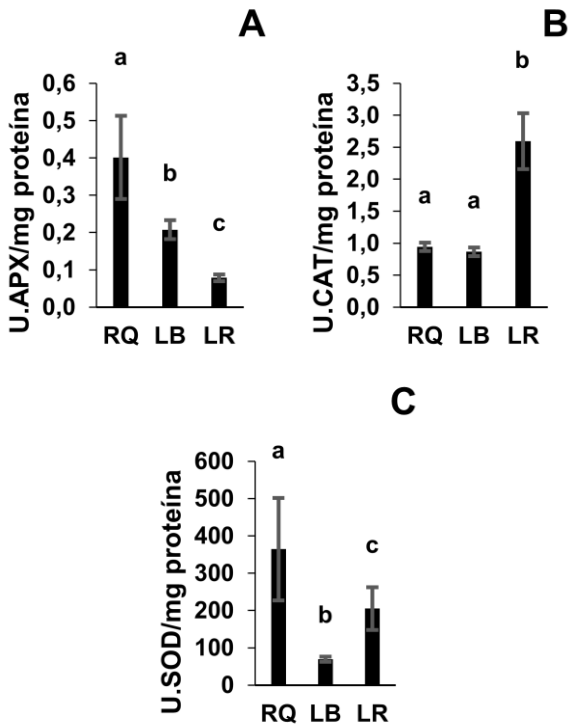
Quanto à concentração enzimática, das três localidades, apenas o experimento de Rancho Queimado mostrou diferença significativa na atividade de APX e de SOD (**Tabela 4.7; APÊNDICE C**). Enquanto APX teve maior atividade no tratamento sem UV-B, SOD apresentou maiores atividade nos tratamentos com maior incidência de radiação UV (**Figura 4.10**). No entanto, a atividade média das enzimas se mostrou diferente estatisticamente nos três locais (**Tabela 4.8; Figura 4.11**).

Diversas relações de correlação foram encontradas (**Tabela 4.9**). As doses totais recebidas de radiação tiveram correlação com todos os dados fisiológicos em geral de forma negativa - apenas as correlações com as enzimas APX e SOD foram positivas. Dentre os compostos relacionados a fotoproteção, houve correlação positiva entre carotenoides e fenólicos, fenólicos e CAT, APX e SOD, e negativa entre

carotenoides e APX, carotenoides e SOD, fenólicos e APX, e APX e CAT.



**Figura 4.10.** A, Atividade de ascorbato peroxidase (APX) em unidades de APX por mg de proteína nos três tratamentos com corte de radiação em Rancho Queimado, Santa Catarina. B, Atividade de superóxido dismutase (SOD) em unidades de SOD por mg de proteína nos três tratamentos com corte de radiação em Rancho Queimado, Santa Catarina. P, corte de radiação ultravioleta A e B; PA, corte de radiação ultravioleta B; e PAB, sem corte de radiação. As letras indicam tratamentos diferentes de acordo com o teste Newman Keuls *post-hoc*. (médias  $\pm$  desvio padrão, n=9).



**Figura 4.11.** Atividade média de cada enzima por localidade. RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina; LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal; e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal. A, atividade de ascorbato peroxidase (APX) média em unidades de APX por miligrama de proteína; B, atividade de catalase (CAT) média em unidades de CAT por miligrama de proteína; e C, atividade de superóxido dismutase (SOD) média em unidades de SOD por miligrama de proteína. As letras indicam tratamentos diferentes de acordo com o teste Newman Keuls *post-hoc*. (médias  $\pm$  desvio padrão, n=27).



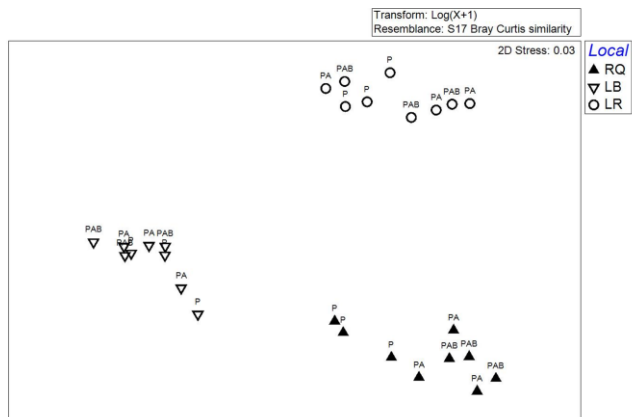
**Tabela 4.9.** Matriz de correlação de Pearson entre a dose total recebida de radiação e as respostas fisiológicas para cada tratamento nos experimentos realizados em Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase.  $\alpha < 0,05$ . N=27. Negrito indica valores significativos em  $p < 0,05$ .

	<b>Dose total recebida de radiação</b>	<b>Clorofila <i>a</i></b>	<b>Carotenoides totais</b>	<b>Compostos fenólicos totais</b>	<b>APX</b>	<b>CAT</b>	<b>SOD</b>
<b>Clorofila <i>a</i></b>	<b>-0,46</b>						
<b>Carotenoides totais</b>	<b>-0,84</b>	<b>0,60</b>					
<b>Compostos fenólicos totais</b>	<b>-0,56</b>	-0,19	<b>0,49</b>				
<b>APX</b>	<b>0,83</b>	-0,21	<b>-0,78</b>	<b>-0,68</b>			
<b>CAT</b>	<b>-0,41</b>	-0,37	0,36	<b>0,59</b>	<b>-0,51</b>		
<b>SOD</b>	<b>0,72</b>	<b>-0,72</b>	<b>-0,66</b>	-0,15	<b>0,53</b>	0,19	
<b>Fotossíntese líquida</b>	<b>-0,42</b>	<b>-0,45</b>	0,36	<b>0,81</b>	<b>-0,60</b>	<b>0,84</b>	0,13

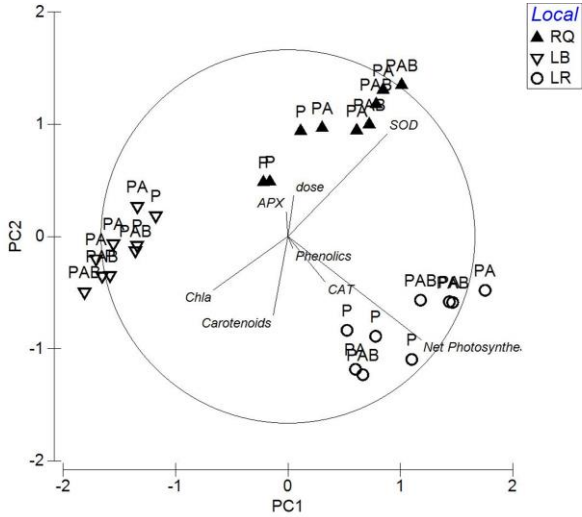
Por fim, as análises multivariadas (PERMANOVA, nMDS e PCA) mostram que as três lagoas são diferentes entre si (**Tabela 4.10; Figuras 4.12 e 4.13**), independente dos tratamentos de radiação. A PCA indica que os dois principais fatores que influem na separação das lagoas são fotossíntese líquida (PC1 = 0,714) e SOD (PC2 = 0,549). Os fatores fotossíntese líquida, CAT e compostos fenólicos são as principais respostas que agrupam a comunidade da Lagoa do Roncador; a dose total recebida e as enzimas SOD e APX, as que agrupam a lagoa de Rancho Queimado; e clorofila e carotenoides, as que agrupam a Lagoa Bonita (**Figura 4.13**).

**Tabela 4.10.** Tabela de resultados da Análise de Variância Multivariada por Permutação (PERMANOVA) pelo teste PAIR-WISE comparando, duas a duas, três comunidades metafiticas a 1000 m de altitude levando em consideração os dados de dose total recebida de radiação e as respostas fisiológicas das comunidades. RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018).  $\alpha < 0,05$ . N=9. Negrito indica valores significativos em  $p < 0,05$ .

	<i>t</i>	<i>p</i>
RQ, LB	11,35	<b>0,001</b>
RQ, LR	8,76	<b>0,001</b>
LB, LR	10,14	<b>0,001</b>



**Figura 4.12.** Análise de Escalonamento Multi-dimensional Não Métrica (nMDS) dos dados de dose recebida e respostas fisiológicas de três comunidadesmetafíticas a 1000m de altitude. RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). Valor de estresse = 0,03.



**Figura 4.13.** Relação entre as respostas fisiológicas obtidas como resposta pelas comunidades metafíticas de três lagoas a 1000m de altitude pelo método de Análise de Componentes Principais (PCA). RQ, Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), LB, Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e LR, Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). PC1 (fotossíntese líquida): 0,714; PC2 (Superóxido dismutase - SOD): 0,549.





## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Diversidade algal e características físico-químicas da água das lagoas

Em estudos taxonômicos realizados no Brasil é comum encontrar mais de 80 espécies de microalgas em corpos de água doce (DELLAMANO-OLIVEIRA *et al.*, 2008; LOPES; BICUDO; FERRAGUT, 2005; LOPES; BICUDO, 2002). Nas três lagoas avaliadas no presente estudo não foi diferente, sendo a riqueza de cada uma superior à 70 espécies.

O grupo taxonômico predominante nas três lagoas estudadas foi a Família Desmidiaceae, o que reforça que estes ambientes são oligotróficos, uma vez que as desmídias são citadas como indicadoras de ambientes pobres em nutrientes e com pH levemente ácido (LEE, 2008).

FONSECA *et al.* (2014) usaram as concentrações de amônia em torno de 0,039 mg/L (= 2,29  $\mu$ M), oxigênio dissolvido médio em torno de 5,2 mg/L e condutividade elétrica inferior a 10  $\mu$ S/cm como sendo fatores chaves para a classificação de lagoas como oligotróficas (e não impactadas pelas ações humanas). Portanto, no presente trabalho, tanto em Rancho Queimado, quanto nas lagoas do Distrito Federal, os dados de condutividade elétrica (inferior à 12  $\mu$ S/cm), a boa oxigenação da água (superior a 6 mg/L), as concentrações de nitrogênio amoniacal dissolvido extremamente baixas (inferior a 0,3  $\mu$ M, ou seja, 10% da concentração usada por FONSECA *et al.* (2014)) e a predominância de espécies da Família Desmidiaceae, somadas às colimitação de nitrogênio e ortofosfato corroboram que as três lagoas eram ultraoligotróficas.

### 5.2 Radiação

Embora à primeira vista, as lagoas pareçam diferentes em termos de irradiância absoluta e dose total recebida, as três apresentaram relação proporcional entre as regiões espectrais muito parecida; o que é uma importante informação, pois há um entendimento de que a proporção entre PAR, UVA e UVB podem determinar a sensibilidade de

estudos em campo (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014), e sendo as proporções semelhantes nos três locais, torna-se possível a comparação deles.

### 5.3 Dinâmica geral de nutrientes nos sacos de incubação

Embora o fato dos nutrientes dissolvidos terem aumentado dentro dos sacos de incubação precisar de melhor investigação, duas hipóteses podem ser citadas para explicar esse fato:

1. Mineralização da matéria orgânica pelo bacterioplâncton: como as bactérias desempenham importante papel ecológico na mineralização da matéria orgânica, disponibilizando-a na forma inorgânica (HÄDER *et al.*, 2011), é possível que este processo tenha se intensificado no ambiente fechado do saco de incubação em decorrência da elevação de temperatura dentro dos sacos em relação ao ambiente (dados não mostrados), ou ainda que os produtos da mineralização, que naturalmente se dispersa em um volume de água maior devido às proporções do lago, ficaram confinados no ambiente da incubação;
2. Fotorrespiração: como um dos subprodutos da fotorrespiração é a amônia (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005) e este foi o nutriente com maior aumento em Rancho Queimado, pode ser que esse processo tenha ocorrido de forma mais intensa nas algas desta lagoa.

Assim os dados de concentração de nutrientes dissolvidos serão discutidos em relação ao tratamento controle dentro de cada lagoa nos itens seguintes.

### 5.4 Respostas fisiológicas por localidade

Como as análises multivariadas revelaram que as três lagoas eram distintas em termos de respostas fisiológicas, estes serão aqui discutidos caso a caso como se segue:



### 5.4.1 Rancho Queimado, Santa Catarina

As doses totais de radiação recebida nos tratamentos de Rancho Queimado refletem nas maiores doses capazes de causar inibição da fotossíntese e da fixação de carbono, entre as lagoas avaliadas neste estudo. As doses de radiação mais deletérias deste local, somado ao fato da espécie dominante ser *Mougeotia*, que possui cloroplasto grande e laminar ocupando quase todo o diâmetro celular, e por não ter pigmentação vacuolar, que já citada como compostos fenólicos que exercem função fotoprotetora (HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010; REMIAS *et al.*, 2012), fazem com que esta comunidade esteja mais propensa aos efeitos da radiação UVE que invistam em sistemas antioxidantes enzimáticos (SOD e APX) como principal forma de fotoproteção.

O fato da comunidade de Rancho Queimado ter apresentado as maiores atividades médias de APX e SOD, comparada às demais lagoas, pode indicar que estas algas produzem naturalmente grandes concentrações de enzimas antioxidantes, sustentando a ideia de que este é seu principal mecanismo de fotoproteção.

A atividade de SOD teve a dinâmica esperada na hipótese do trabalho, ou seja, teve maior atividade nos tratamentos com maior incidência de UV, isso porque a radiação UV forma espécies reativas de oxigênio (BIANCHI; ANTUNES, 1999; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SHAMI; MOREIRA, 2004) e a SOD é a primeira linha de defesa contra elas (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002). Já APX, ao contrário do esperado, teve maior atividade no tratamento apenas com UV-A, e não no tratamento com UV integral. Duas possíveis causas podem ser citadas para explicar este fato. A primeira diz respeito à utilização de parte de UV-A na fotossíntese (HÄDER *et al.*, 2011; KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014), que, sem os efeitos deletérios de UV-B, pode ter sobrecarregado o aparato fotossintético formando mais O<sub>2</sub> e, conseqüentemente, mais espécies reativas. A segunda é em relação à própria produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Esta, segundo IMLAY (2003), parece ser idiossincrática, diferindo entre os locais de produção e de um indivíduo para outro, sendo possível que organismos no mesmo ambiente sofram diferentes quantidades de estresse por

espécies reativas, e as diferenças observadas no tratamento PA podem estar refletindo esta variabilidade entre organismos.

Assim como trabalhos anteriores citam a atuação de compostos fenólicos como fotoprotetores (LÔRDELO *et al.*, 2010; PICHRTOVÁ *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2017) e associam sua produção à incidência de radiação UV (PICHRTOVÁ *et al.*, 2013), mesmo em concentrações mais discretas, as algas de Rancho Queimado apresentaram produção de compostos fenólicos, a qual foi modulada por UV, embora sua ação nesses organismos não dispense a atuação de outros compostos de fotoproteção, como visto pela grande atividade do sistema antioxidante enzimático.

Quanto às concentrações de carotenoides totais, foi observada redução nos tratamentos com radiação total (PAB) e parcial (PA). Os carotenoides não atuam na mitigação direta da radiação UV (SINGH *et al.*, 2017; SOMMARUGA, 2001), sua ação de proteção é relacionada à eliminação de radicais livres de oxigênio e, portanto, na prevenção da oxidação de biomoléculas (GOIRIS *et al.*, 2012). Como sua principal função em seres fotossintetizantes é a atuação nos complexos fotossintéticos (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011), os carotenoides nas algas de Rancho Queimado podem ter atuado na proteção das estruturas essenciais para o funcionamento dos cloroplastos (p. ex., clorofila *a*), absorvendo diretamente a radiação UV e sendo destruídos neste processo. Esta hipótese pode ser sustentada pelo fato das concentrações de clorofila *a* não terem mudado entre as diferentes exposições à UV.

Trabalhos tem relacionado o aumento na incidência de radiação UV-B, como sendo inibidor da fotossíntese em algas (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009; CALLIERI *et al.*, 2001; CULLEN; NEALE, 1994). No entanto, as maiores taxas de fotossíntese líquida foram observadas no tratamento com total incidência de UV. Como as medidas de taxas fotossintéticas deste trabalho refletem a dinâmica do gás oxigênio da comunidade de algas e consumidores dentro do ambiente fechado dos sacos de incubação, o fato de as taxas terem reduzido com a redução de UV não pode ser relacionado com uma possível redução na fotossíntese pelas algas, pois devido às condições experimentais, não podemos ter certeza se de fato isso ocorreu. Como a radiação UV afeta o crescimento e a produtividade de diferentes organismos, e não somente algas (HÄDER *et al.*, 1998), a redução do oxigênio (taxas de fotossíntese

líquida) nos tratamentos com redução de UV podem estar indicando um aumento na respiração dos consumidores.

DÖHLER (1997) testou o efeito que diferentes comprimentos de onda causavam na assimilação de nitrato e amônia. Ele observou que UV-A era capaz de estimular as taxas de absorção desses nutrientes, mas o mesmo não ocorreu quando acrescentou UV-B, pois a combinação de UV-A e UV-B causou inibição da assimilação. Assim, o fato das taxas de assimilação de nitrato e nitrogênio amoniacal terem sido maiores no tratamento PA em Rancho Queimado está em conformidade com o que a literatura menciona. DÖHLER (1997) sugeriu duas possíveis explicações para isso, de que UV-B reduz o suprimento de ATP para a absorção de nitrogênio inorgânico, ou que desestrutura as membranas afetando o seu transporte.

#### **5.4.2 Lagoa Bonita, Distrito Federal**

As características que agruparam a comunidade da Lagoa Bonita como um grupo a parte foram clorofila *a* e carotenoides totais. Em relação à clorofila foi, entre as três localidades, a que teve as maiores quantidades médias, mas isso não foi expresso em produção líquida de oxigênio. As taxas de fotossíntese líquida foram negativas para todos os tratamentos, o que significa que independente da radiação, a comunidade apresentou maiores taxas de respiração do que de fotossíntese.

Embora essas taxas menores de fotossíntese poderem ser associadas a uma possível proporção de consumidores em relação aos produtores mais exacerbada na Lagoa Bonita do que as proporções das outras lagoas, mais provavelmente foi a variação das condições climáticas do dia de experimento que adicionaram um elemento extra de estresse resultando nas menores taxas fotossintéticas. Esse elemento pode ter sido a amplitude térmica diária, mas possivelmente foram os vários momentos de céus nublados ou chuvosos que influíram diretamente na produção de oxigênio, pois embora o aumento na incidência de UV-B ser recorrentemente citada como inibidora da fotossíntese (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009; CALLIERI *et al.*, 2001; CULLEN; NEALE, 1994), a ausência ou redução sensível na luz disponível também pode cessá-la.

Em relação aos carotenoides totais, não houve diferença entre os tratamentos de radiação, mas a correlação feita entre as respostas fisiológicas mostrou uma relação positiva entre estes e a clorofila. Como a clorofila teve os maiores valores na Lagoa Bonita, somado ao fato de que nesta lagoa, as algas apresentaram atividades de enzimas antioxidantes mais discretas que as demais, os carotenoides podem ter uma importância mais para esta lagoa, embora não tenha sido possível detectar seu mecanismo de ação. Como a radiação UV-B e as espécies reativas de oxigênio ativam e regulam as atividades de enzimas antioxidantes (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014; WANG, Q. FU *et al.*, 2009), é ainda possível que a redução da fotossíntese tenha gerado menos espécies reativas, fazendo-se menos necessária a atividade de antioxidantes, o que se refletiu nos valores discretos para atividade antioxidante enzimática.

Composto principalmente por *Zygnema* de coloração roxa, o metafítton da Lagoa Bonita, assim como o de Rancho Queimado, teve produção de compostos fenólicos modulada pela presença da radiação UV, sendo a maior produção no tratamento controle (PAB), fortalecendo o que diz a literatura no que diz respeito aos compostos fenólicos como fotoprotetores e com produção em resposta à incidência de radiação UV (LÔRDELO *et al.*, 2010; PICHRTOVÁ *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2017). O fato das algas terem coloração purpura também é um indicio da produção de compostos fenólicos comum em algas Zygnematophyceae (HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010; NEWSOME; MURPHY; VAN BREEMEN, 2013; PICHRTOVÁ *et al.*, 2013; REMIAS *et al.*, 2012). Este composto de tom arroxeado pode ser o mesmo isolado de *Zigogonium ericetorum* (NEWSOME; MURPHY; VAN BREEMEN, 2013), ou um tipo semelhante que deve exercer igualmente função fotoprotetora.

### **5.4.3 Lagoa do Roncador, Distrito Federal**

Para a Lagoa do Roncador, as respostas de fotossíntese líquida, compostos fenólicos totais e CAT são as predominantes que reúnem as comunidades dessa localidade em um grupo distinto. Dentre estes, o mais pronunciado é a fotossíntese, que quando colocada em um mesmo gráfico com as taxas fotossintéticas das demais lagoas, os dados destas são achatados e torna-se impossível visualizar as diferenças encontradas nos outros locais.

As taxas fotossintéticas (produção líquida de oxigênio) não foram afetadas pela incidência de radiação como previamente discutido em outros trabalhos com algas (CALLIERI *et al.*, 2001; CULLEN; NEALE, 1994). Essa eficiência da fotossíntese pode ser resultado de outro fator determinante para essa comunidade: a alta produção de compostos fenólicos totais.

As algas predominantes da Lagoa do Roncador são do gênero *Temnogametum*. Essas algas possuem um cloroplasto delgado centralizado na célula e envolto por vacúolos preenchidos de pigmentação arroxeada. Nessa localidade e em todo o Distrito Federal, nunca foi encontrado esse gênero algal em uma forma verde, ou seja, sem tal pigmentação marcante (dados não publicados). Esse pigmento assemelha-se a compostos fenólicos de tom púrpura encontrados em outras espécies de Zygnematophyceae (AIGNER *et al.*, 2013; HOLZINGER; TSCHAIKNER; REMIAS, 2010; PICHRTOVÁ *et al.*, 2013), e é possível afirmar que há grande possibilidade do pigmento encontrado em *Temnogametum* ser semelhante ou igual ao encontrado em espécies aparentadas, como o *Zigogonium ericetorum*.

Como o cloroplasto localiza-se envolvido pelos vacúolos preenchidos de compostos fenólicos, é possível que grande parte da radiação UV incidente nos filamentos de *Temnogametum* seja barrada ainda nos vacúolos e não alcance o cloroplasto, reduzindo assim os potenciais danos que UV poderia causar ao aparato fotossintético, e essa pode ser a explicação para as altas taxas fotossintéticas dessa comunidade. Claro que os consumidores (e as próprias algas) continuam utilizando o O<sub>2</sub> na respiração, mas a produtividade primária parece ser tão intensa que, diferentes das demais lagoas, o efeito da respiração torna-se irrisório no cálculo da fotossíntese líquida.

Outro fato importante acerca dos compostos fenólicos é que na Lagoa do Roncador, eles tiveram a maior produção média quando comparado com as lagoas de Rancho Queimado e Lagoa Bonita, e não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Analogamente à divisão proposta por HOYER *et al.* (2001) que separavam as algas produtoras de aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) em dois tipos básicos, as que produziam em resposta à radiação e as que sempre produziam em altas concentrações, a produção de compostos fenólicos em *Temnogametum* parece algo constitutivo da espécie e é encontrado sempre em grandes quantidades. Essa última afirmação é sustentada pelo fato de uma forma

verde (com pouco concentração de compostos fenólicos nos vacúolos) não ter sido encontrada até agora.

Assumindo os compostos fenólicos como sendo a linha de defesa prioritária para *Temnogametum*, as altas atividades de CAT, que reduz  $H_2O_2$  em diversos compartimentos celulares e menores atividades de APX, que reduz  $H_2O_2$  no cloroplasto (NOCTOR; FOYER, 1998; RAVEN, 2000), revelam que outros fatores, além da radiação, causam a formação de espécies reativas de oxigênio nesses organismos e não necessariamente está associada à fotossíntese.

Embora os carotenoides totais tenham reduzido em quantidade no tratamento PA, devido à ausência de mudança nas quantidades de clorofila *a* e pouca atividade de APX, é possível afirmar que a radiação não afetou substancialmente o aparato fotossintético, e como consequência, não era esperado que os carotenoides mudassem em concentração em nenhum dos tratamentos, visto que eles não exercem função absorvedora de UV (SINGH *et al.*, 2017), mas exercem funções nos complexos fotossintéticos (GUEDES; AMARO; MALCATA, 2011). Portanto, a diferença observada pode ser um vestígio da heterogeneidade quanto à produção de carotenoides pelas populações algais.

Em relação à assimilação de nutrientes dissolvidos, a maior concentração de ortofosfato presente no tratamento controle (PAB) na Lagoa do Roncador, sugere que as taxas de assimilação de fosfato por essas comunidades foram inibidas pela radiação, assim como observado em experimento realizado por AUBRIOT *et al.* (2004), onde eles constataram que, apesar de UV atuar tanto na estimulação quanto na inibição das taxas de assimilação de fosfato, a inibição era evidente.

Já em relação à assimilação das formas de nitrogênio dissolvido, diferentemente de DÖHLER (1997) que observou inibição pelo conjunto formado por UV-A e UV-B na assimilação de compostos nitrogenados inorgânicos por algas fitoplanctônicas, na Lagoa do Roncador houve aumento na assimilação de nitrato nos tratamentos com maior incidência de UV, o que significa que a radiação tem dualidade em questão de estímulo ou inibição da assimilação não apenas para fosfato (AUBRIOT *et al.*, 2004), como também para as formas nitrogenadas.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As três lagoas objeto de estudo deste trabalho apresentaram proporções entre PAR (radiação fotossinteticamente ativa), UV-A (radiação ultravioleta A) e UV-B (radiação ultravioleta B) semelhantes entre si, o que permite a comparação dessas em termos de radiação recebida.

Já em relação aos parâmetros físico-químicos da água, todas apresentaram-se como oligotróficas e apenas duas características possuíram diferenças entre os locais, a temperatura da Lagoa Bonita e o pH de Rancho Queimado, que podem ser peculiaridades locais e/ou associadas às estações do ano; mas que não representaram impedimentos nas análises de resposta à radiação, uma vez que tais parâmetros mantiveram-se estáveis entre os tratamentos para cada local.

Outro atributo que assemelha as três lagoas do estudo é a composição específica delas, as quais eram formadas majoritariamente pela Classe Zygnematophyceae, especialmente da Família Desmidiaceae, em número total de espécies, e da Família Zygnemataceae, em espécies dominantes do metafíton.

Quanto às respostas fisiológicas das comunidades associadas à radiação, nas três lagoas foram observadas respostas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas. Enquanto na comunidade de Rancho Queimado a fotoproteção parece estar associada ao sistema antioxidante enzimático (APX e SOD); as comunidades das lagoas do Distrito Federal parecem priorizar a produção de compostos fenólicos, ainda que as condições climáticas do dia de experimento em uma das lagoas possam ter disfarçado as respostas à UV. Estes compostos fenólicos, além de conferir fotoproteção, também são responsáveis pela pigmentação púrpura dessas algas e podem ser semelhantes ao composto púrpura encontrado em outras algas do grupo Zygnematophyceae.

As respostas de fotoproteção à UV, portanto, diferiram entre lagoas, possivelmente relacionadas às suas espécies dominantes. Conclui-se, então, que ambientes como estes podem se tornar foco de investigações futuras com o objetivo de isolamento de cepas destinadas à produção de compostos fotoprotetores e antioxidantes, visto a grande riqueza bioquímica das algas encontradas neles.





## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIGNER, S. *et al.* Unusual phenolic compounds contribute to ecophysiological performance in the purple-colored green alga *Zygonium ericetorum* (Zygnematophyceae, Streptophyta) from a high-alpine habitat. *Journal of Phycology*, v. 49, n. 4, p. 648–660, 2013.
- ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, n. 372, p. 1331–1341, 2002.
- ARAÚJO, S. A. DO C.; DEMINICIS, B. B. REVISÃO Fotoinibição da Fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 4849, n. 4, p. 463–472, 2009.
- AUBRIOT, L. *et al.* Phosphate uptake behavior of natural phytoplankton during exposure to solar ultraviolet radiation in a shallow coastal lagoon. *Marine Biology*, v. 144, p. 623–631, 2004.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.
- BARBIER, G.; ZIMMERMAN, M.; WEBER, A. Genomics of the thermoacidophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. *Astrobiology and Planetary Missions*, v. 5906, p. 1–12, 2005.
- BARROS, M. P. *et al.* Temporal mismatch between induction of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase correlates with high H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration in seawater from clofibrate-treated red algae *Kappaphycus alvarezii*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 420, n. 1, p. 161–168, 2003.
- BEN-AMOTZ, A; AVRON, M. Photosynthetic Activities of the Halophilic Alga *Dunaliella parva*. *Plant physiology*, v. 49, n. 2, p. 240–243, 1972.
- BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.
- BICUDO, C. E. D. M.; MENEZES, M. Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (chave para identificação e descrições), 2006.
- BLUMTHALER, M.; AMBACH, W.; ELLINGER, R. Increase in solar UV radiation with altitude. *Journal of Photochemistry and Photobiology B:*

*Biology*, v. 39, p. 130–134, 1997.

BOROWITZKA, M. A. High-value products from microalgae-their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology*, v. 25, p. 743–756, 2013.

BORTOLINI, J. C. *et al.* *Closterium* Nitzsch ex Ralfs (Desmidiaceae) em um lago artificial urbano, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 8, n. 3, p. 229–237, 2009.

BOUCHER, N.; PRÉZELIN, B. An in situ biological weighting function for UV inhibition of phytoplankton carbon fixation in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, v. 144, p. 223–236, 1996.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.

BROOK, A. J. Planktonic algae as indicators of lake types, with special reference to the Desmidiaceae. *Limnology and Oceanography*, v. 10, n. 3, p. 403–411, 1965.

BROWNE, N. *et al.* Cyanobacteria as bio-factories for production of UV-screening compounds. *OA Biotechnology*, p. 1–7, 2014.

CALLIERI, C. *et al.* Photosynthetic response of pico- and nanoplanktonic algae to UVB, UVA and PAR in a high mountain lake. *Aquatic Sciences*, v. 63, p. 286–293, 2001.

CARDOSO, A. DA S.; VIEIRA, G. E. G.; MARQUES, A. K. O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 9, n. 4, p. 542–549, 2011.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, v. 26, n. 3, p. 126–131, 2008.

COCKELL, C. S. Ultraviolet radiation and the photobiology of earth's early oceans. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, v. 30, p. 467–499, 2000.

COCKELL, C. S.; KNOWLAND, J. Ultraviolet radiation screening

compounds. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 74, p. 311–345, 1999.

CULLEN, J. J.; NEALE, P. J. Biological Weighting Functions for Describing the Effects of Ultraviolet Radiation on Aquatic Systems. *The Effects of Ozone Depletion on Aquatic Ecosystems*. [S.l.]: Elsevier, 1997. p. 97–118.

CULLEN, J. J.; NEALE, P. J. Ultraviolet radiation, ozone depletion, and marine photosynthesis. *Photosynthesis Research*, v. 39, p. 303–320, 1994.

DELLAMANO-OLIVEIRA, M. J. *et al.* Os gêneros *Staurastrum*, *Staurodesmus* e *Xanthidium* (Desmidiaceae, Zygnemaphyceae) da Lagoa do Caçó, Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil. *Hoehnea*, v. 35, n. 3, p. 333–350, 2008.

DESHMUKH, D. V.; PURANIK, P. R. Application of plackett-burman design to evaluate media components affecting antibacterial activity of alkaliphilic cyanobacteria isolated from lonar lake. *Turkish Journal of Biochemistry*, v. 35, n. 2, p. 114–120, 2010.

DÖHLER, G. Impact of UV radiation of different wavebands on pigments and assimilation of  $^{15}\text{N}$ -ammonium and  $^{15}\text{N}$ -nitrate by natural phytoplankton and ice algae in Antarctica. *Journal of Plant Physiology*, v. 151, n. 5, p. 550–555, 1997.

DRAAISMA, R. B. *et al.* Food commodities from microalgae. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 24, n. 2, p. 169–177, 2013.

DUARTE, R. T. D. *et al.* Brazilian research on extremophiles in the context of astrobiology. *International Journal of Astrobiology*, v. 11, n. 04, p. 325–333, 2012.

DUNLAP, W. C.; SHICK, J. M. Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: A biochemical and environmental perspective. *Journal of Phycology*, v. 34, n. 3, p. 418–430, 1998.

DUVAL, B.; SHETTY, K.; THOMAS, W. H. Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after exposure to UV light. *Journal of Applied Phycology*, v. 11, n. 6, p. 559–566, 1999.

EDREVA, A. *et al.* Stress-Protective Role of Secondary Metabolites : Diversity of Functions and Mechanisms. *General and Applied Plant*

*Physiology*, v. 34, n. 1–2, p. 67–78, 2008.

ERTUĞRUL, S.; BAKIR, M.; DÖNMEZ, G. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecological Engineering*, v. 32, n. 3, p. 244–248, 2008.

ESTRELA, L. M. B.; FONSECA, B. M.; BICUDO, C. E. DE M. Desmídias perifíticas de cinco lagoas do Distrito Federal, Brasil: I - Gênero *Cosmarium* Corda ex Ralfs. *Hoehnea*, v. 38, n. 4, p. 527–552, 2011.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FIGUEROA, F. L. *et al.* The effects of UV radiation on photosynthesis estimated as chlorophyll fluorescence in *Zygnemopsis decussata* (Chlorophyta) growing in a high mountain lake (Sierra Nevada, Southern Spain). *Journal of Limnology*, v. 68, n. 2, p. 206–216, 2009.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, v. 73, n. 2, p. 627–648, 1927.

FONSECA, B. M. *et al.* Nutrient baselines of Cerrado low-order streams: Comparing natural and impacted sites in Central Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 186, n. 1, p. 19–33, 2014.

GOIRIS, K. *et al.* Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology*, v. 24, n. 6, p. 1477–1486, 2012.

GRASSHOFF, K.; KREMLINGL, K. Methods of Seawater Analysis. *Water Research*, v. 19, n. 4, p. 542, 1985.

GUARNIERI, M. T.; PIENKOS, P. T. Algal omics: unlocking bioproduct diversity in algae cell factories. *Photosynthesis research*, v. 123, n. 3, p. 255–263, 2015.

GUEDES, A. C.; AMARO, H. M.; MALCATA, F. X. Microalgae as sources of carotenoids. *Marine Drugs*, v. 9, p. 625–644, 2011.

HÄDER, D.-P.; SINHA, R. P. Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 571, p. 221–233, 2005.

HÄDER, D. P. *et al.* Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on

- aquatic ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 46, p. 53–68, 1998.
- HÄDER, D. P. *et al.* Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Sciences*, v. 6, p. 267–285, 2007.
- HÄDER, D. P. *et al.* Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 10, p. 242–260, 2011.
- HANAGATA, N. *et al.* Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature. *Phytochemistry*, v. 31, n. 10, p. 3345–3348, 1992.
- HOLZINGER, A.; LÜTZ, C. Algae and UV irradiation: Effects on ultrastructure and related metabolic functions. *Micron*, v. 37, p. 190–207, 2006.
- HOLZINGER, A.; TSCHAIKNER, A.; REMIAS, D. Cytoarchitecture of the desiccation-tolerant green alga *Zygonium ericetorum*. *Protoplasma*, v. 243, n. 1, p. 15–24, 2010.
- HORST, M. A.; MORENO, F. S. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - Carotenoides. *Força-tarefa alimentos fortificados e suplementos*, v. 6. p. 1–13, 2009.
- HOYER, K. *et al.* Photoprotective substances in Antarctic macroalgae and their variation with respect to depth distribution, different tissues and developmental stages. *Marine Ecology Progress Series*, v. 211, p. 117–129, 2001.
- IMLAY, J. A. Pathways of Oxidative Damage. *Annual Review of Microbiology*, v. 57, n. 1, p. 395–418, 2003.
- KARLSSON, J. *et al.* Light limitation of nutrient-poor lake ecosystems. *Nature*, v. 460, p. 506–509, 2009.
- KATARIA, S.; JAJOO, A.; GURUPRASAD, K. N. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 137, p. 55–66, 2014.
- KOCIOLEK, J. P.; STOERMER, E. F. Oligotrophy: the forgotten end of an ecological spectrum. *ACTA BOT. CROAT.*, v. 68, n. 2, p. 465–472, 2009.
- LEE, R. E. *Phycology*. 4<sup>a</sup> ed., Cambridge University Press, 2008.

LOPES, M. R. M.; BICUDO, C. E. D. M.; FERRAGUT, M. C. Short term spatial and temporal variation of phytoplankton in a shallow tropical oligotrophic reservoir, southeast Brazil. *Hydrobiologia*, v. 542, n. 1, p. 235–247, 2005.

LOPES, M. R. M.; BICUDO, C. E. DE M. Desmidioflórula de um lago da planície de inundação do rio Acre, Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, v. 33, n. 2, p. 167–212, 2002.

LÔRDELO, M. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

LUNA, C. M. *et al.* Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 411, p. 417–423, 2005.

MACHU, L. *et al.* Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*, v. 20, n. 1, p. 1118–1133, 2015.

MAEDA, K. *et al.* CO<sub>2</sub> fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, v. 36, n. 6–9, p. 717–720, 1995.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.

MCKENZIE, R. *et al.* Geographical differences in erythemally-weighted UV measured at mid-latitude USDA sites. *Photochemical and Photobiological Sciences*, v. 5, p. 343–352, 2006.

MCKENZIE, R. L. *et al.* Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 6, p. 218–231, 2007.

MCKENZIE, R. L. *et al.* Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical and Photobiological Sciences*, v. 2, p. 5–15, 2003.

MORGAN-KISS, R. M. *et al.* Identity and physiology of a new psychrophilic eukaryotic green alga, *Chlorella* sp., strain BI, isolated from a transitory pond near Bratina Island, Antarctica. *Extremophiles*, v. 12, n. 5, p. 701–711, 2008.

NEWSOME, A. G.; MURPHY, B. T.; VAN BREEMEN, R. Isolation and

characterization of natural blue pigments from underexplored sources. *ACS Symposium Series; American Chemical Society*. Washington, p. 105–125, 2013.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. ASCORBATE AND GLUTATHIONE: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 49, n. 1, p. 249–279, 1998.

O'NEAL, S. W.; HOOVER, A. M. Comparison of UVB effects on growth and induction of UVB screening compounds in isolates of metaphytic algae from temperate zone streams and ponds. *Journal of Phycology*, v. 828, p. 818–828, 2018.

OHAD, I. *et al.* Light-induced changes within photosystem II protects *Microcoleus* sp. in biological desert sand crusts against excess Light. *PLoS ONE*, v. 5, n. 6, 2010.

OLIVEIRA, I. B. DE; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Contribuição ao conhecimento de *Cosmarium* Corda ex Ralfs (Desmidiaceae, Zygnematophyceae) para a Bahia e o Brasil. *Hoehnea*, v. 37, n. 3, p. 571–600, 2010a.

OLIVEIRA, I. B. DE; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Novas ocorrências de desmídias filamentosas (Desmidiaceae, Zygnematophyceae) para o estado da Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, v. 24, n. 4, p. 1017–1026, 2010b.

OLIVEIRA, I. B.; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Novos registros de táxons dos gêneros *Euastrum* Ehrenb. ex Ralfs e *Iheringia* - *Serie Botanica*, v. 72, n. 2, p. 295–313, 2017.

ONO, E.; CUELLO, J. L. Carbon Dioxide Mitigation using Thermophilic Cyanobacteria. *Biosystems Engineering*, v. 96, n. 1, p. 129–134, 2007.

PFEIFER, M. T.; KOEPKE, P.; REUDER, J. Effects of altitude and aerosol on UV radiation. *Journal of Geophysical Research*, v. 111, n. 1, p. 1–11, 2006.

PIAZENA, H. The effect of altitude upon the solar UV-B and UV-A irradiance in the tropical Chilean andes. *Solar Energy*, v. 57, n. 2, p. 133–140, 1996.

PICHRTOVÁ, M. *et al.* Changes in Phenolic Compounds and Cellular Ultrastructure of Arctic and Antarctic Strains of *Zygnema* (Zygnematophyceae, Streptophyta) after Exposure to Experimentally

Enhanced UV to PAR Ratio. *Microbial Ecology*, v. 65, n. 1, p. 68–83, 2013.

POLLIO, A.; GRETA, M. DELLA. Lipid composition of the acidophilic alga *Dunaliella acidophila* (Volvocales, Chlorophyta). *Science*, v. 963, p. 53–60, 1988.

PORRA R.J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, v. 73, p. 149–156, 2002.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 65, p. 635–648, 2004.

QIN, J. *et al.* Biotransformation of arsenic by a Yellowstone thermoacidophilic eukaryotic alga. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, n. 13, p. 5213–5217, 2009.

RAHMAN, A.; ELLIS, J.; MILLER, C. Bioremediation of Domestic Wastewater and Production of Bioproducts from Microalgae Using Waste Stabilization Ponds. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, v. 03, n. 06, 2012.

RAMOS, G. J. P. *et al.* Hydrodictyaceae (Chlorophyceae, Chlorophyta) do Pantanal dos Marimbus, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Iheringia (Série Botânica)*, v. 71, n. 1, p. 13–21, 2016.

RAMOS, G. J. P.; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Novos registros de algas verdes cocoides (Chlorophyceae, Chlorophyta) para o estado da Bahia e para o Brasil. *SITIANTIBUS série Ciências Biológicas*, v. 15, p. 1–13, 2015a.

RAMOS, G. J. P.; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Scenedesmaceae (Chlorophyta, Chlorophyceae) de duas áreas do Pantanal dos Marimbus (Baiano e Remanso), Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. *Hoehnea*, v. 42, n. 3, p. 549–566, 2015b.

RAMOS, G. J. P.; BICUDO, C. E. DE M.; MOURA, C. W. DO N. Trebouxiophyceae (Chlorophyta) do Pantanal dos Marimbus, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Iheringia - Serie Botanica*, v. 70, n. 1, p. 57–72, 2015c.

RAVEN, E. L. Peroxidase-Catalyzed Oxidation of Ascorbate - Structural, Spectroscopic and Mechanistic Correlations in Ascorbate Peroxidase. In: HOLZENBURG; SCRUTTON (Org.). *Subcellular Biochemistry*. Enzyme-Cat ed. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2000. v. 35. p.



317–349.

RAYMOND, J. A.; JANECH, M. G.; FRITSEN, C. H. Novel ice-binding proteins from a psychrophilic antarctic alga (Chlamydomonadaceae, Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, v. 45, n. 1, p. 130–136, 2009.

RAYMUNDO, M. DOS S.; HORTA, P.; FETT, R. Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 4, p. 495–503, 2004.

REMIAS, D. *et al.* Characterization of an UV- and VIS-absorbing, purpurogallin-derived secondary pigment new to algae and highly abundant in *Mesotaenium berggrenii* (Zygnematophyceae, Chlorophyta), an extremophyte living on glaciers. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 79, p. 638–648, 2012.

RESENDE, M.; SALGADO, S.; CHAVES, Z. Espécies Ativas de Oxigênio na Resposta de Defesa de Plantas a Patógenos. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 2, p. 123–130, 2003.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, v. 2, n. 4, p. 152–159, 1997.

RIVASSEAU, C. *et al.* An extremely radioresistant green eukaryote for radionuclide bio-decontamination in the nuclear industry. *Energy & Environmental Science*, v. 6, n. 4, p. 1230, 2013.

RIZWAN, M. *et al.* Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 92, p. 394–404, 2018.

ROTHSCHILD, L. J.; MANCINELLI, R. L. Life in extreme environments. *Nature*, v. 409, p. 1092–1101, 2001.

SAUNDERS, L. L. *et al.* Effects of small-scale environmental variation on metaphyton condition and community composition. *Freshwater Biology*, v. 57, p. 1884–1895, 2012.

SAUNDERS, L. L.; KILHAM, S. S.; VERB, R. Diatom responses to micro-environment structure within metaphyton mats. *Inland Waters*, v. 6, p. 224–233, 2016.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. *Plant*

*Physiology*, v. 101, p. 7–12, 1993.

SCHMUCKI, D. A.; PHILIPONA, R. UV radiation in the Alps: the altitude effect. *Optical Engineering*, v. 41, n. 12, p. 3090–3095, 2002.

SCHULZE, E.-D.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. *Plant Ecology*. Berlin, 2005.

SCOTT, J. T. *et al.* The role of N<sub>2</sub> fixation in alleviating N limitation in wetland metaphyton: Enzymatic, isotopic, and elemental evidence. *Biogeochemistry*, v. 84, p. 207–218, 2007.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, v. 17, n. 2, p. 227–236, 2004.

SINGH, R. *et al.* Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. 515, p. 1–37, 2017.

SMIRNOFF, N. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 9, p. 214–219, 1998.

SOMMARUGA, R. The role of solar UV radiation in the ecology of alpine lakes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 62, p. 35–42, 2001.

SOUZA, K. F.; MELO, S. Levantamento taxonômico de desmídias (Chlorophyta) do lago Novo (Amapá, Brasil): gêneros *Staurastrum*, *Staurodesmus* e *Xanthidium*. *Acta Amazonica*, v. 41, n. 3, p. 335–346, 2011.

TAMARU, Y. *et al.* Crucial Role of Extracellular Polysaccharides in Desiccation and Freezing Tolerance in the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc commune* Crucial Role of Extracellular Polysaccharides in Desiccation and Freezing Tolerance in the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc commune*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 11, p. 7327–7333, 2005.

TOHGE, T.; FERNIE, A. R. Leveraging Natural Variance towards Enhanced Understanding of Phytochemical Sunscreens. *Trends in Plant Science*, v. 22, n. 4, p. 308–315, 2017.

TREVES, H. *et al.* A newly isolated *Chlorella* sp. from desert sand crusts exhibits a unique resistance to excess light intensity. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 86, n. 3, p. 373–380, 2013.

UENOJO, M.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: Propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos

- de aroma. *Quimica Nova*, v. 30, n. 3, p. 616–622, 2007.
- VARSNEY, P. *et al.* Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresource Technology*, v. 184, p. 363–372, 2015.
- WANG, H. M. D. *et al.* Exploring the potential of using algae in cosmetics. *Bioresource Technology*, v. 184, p. 355–362, 2015.
- WANG, Q. FU *et al.* Effect of UV-B radiation on the growth and antioxidant enzymes of Antarctic sea ice microalgae *Chlamydomonas* sp. ICE-L. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 31, p. 1097–1102, 2009.
- WELLBURN, A. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, v. 144, p. 307–313, 1994.
- ZEESHAN, M.; PRASAD, S. M. Differential response of growth, photosynthesis, antioxidant enzymes and lipid peroxidation to UV-B radiation in three cyanobacteria. *South African Journal of Botany*, v. 75, n. 3, p. 466–474, 2009.



## APÊNDICE A – Lista de espécies e morfotipos identificados em três lagoas de altitude

**Tabela 1.** Relação de espécies e morfotipos identificados em três lagoas de altitude. RQ, Rancho Queimado; LB, Lagoa Bonita; e LR, Lagoa do Roncador.

Império	Filo - Classe	Família	Espécie ou Morfotipo	RQ	LB	LR
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Chroococcaceae	<i>Chroococcus</i> sp. 1			X
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Hapalosiphonaceae	<i>Hapalosiphon</i> sp.	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa</i> sp.	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Merismopediaceae	<i>Merismopedia</i> sp. 1	X		X
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Merismopediaceae	<i>Merismopedia</i> sp. 2			
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Nostocaceae	<i>Anabaena</i> sp.	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Oscillatoriaceae	<i>Lyngbya</i> sp.	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Stigonemataceae	<i>Stigonema</i> sp.	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae	Stigonemataceae	<i>Stigonema</i> sp.			X
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 1	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 2	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 3	X		
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 4			X
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 5		X	

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 6		X	
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 7			X
Prokaryota	Cyanobacteria - Cyanophyceae		Cyanophyceae 8			X
	Bacillariophyta -					
Eukaryota	Bacillariophyceae	Pinnulariaceae	<i>Pinnularia divergens</i>		X	
	Bacillariophyta -					
Eukaryota	Bacillariophyceae	Pinnulariaceae	<i>Pinnularia</i> sp.		X	
	Bacillariophyta -					
Eukaryota	Bacillariophyceae	Surirellaceae	<i>Surirella</i> sp.		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 1	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 2	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 3	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 4	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 5	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 6	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 7	X		
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 8		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 9		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 10		X	

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 11		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 12		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 13		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 14		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 15		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 16		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 17		X	
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 18			X
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 19			X
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 20			X
Eukaryota	Bacillariophyta		Bacillariophyta 21			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Closteriaceae	<i>Closterium diana</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Closteriaceae	<i>Closterium moniliferum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Closteriaceae	<i>Closterium striolatum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Closteriaceae	<i>Closterium</i> sp.		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Actinotaenium turgidum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Actinotaenium wollei</i>	X		

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Bambusina</i> sp. 1	X	X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Bambusina</i> sp. 2			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium abbreviatum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium angulosum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium bipunctatum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium connatum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium contractum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium denticulatum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium difficile</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium furcatum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium horridum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium lagoense</i>		X	
			<i>Cosmarium lagoense</i> var.			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>amoebum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium moniliforme</i>	X		
			<i>Cosmarium moniliforme</i> f.			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>elongatum</i>		X	
			<i>Cosmarium moniliforme</i> var.			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>ellipticum</i>		X	



<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium obsoletum</i>	X	X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium ocellatum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium pachydermum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium pericymatium</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium phaseolus</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium polymorphum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium porteanum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium praecisum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>pseudoconnatum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i>			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>pseudopyramidatum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium pyramidatum</i>	X	X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium quadrifarium</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium subspeciosum</i>	X	X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium subtriordinatum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium undulatum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium variolatum</i>			X

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium vitiosum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 1	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 2	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 3	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 4	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 5		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 6		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 7			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 8			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 9			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 10			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 11			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 12			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 13			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 14			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 15			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i> sp. 16			X

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Desmidium coarctatum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Desmidium</i> sp.	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum bidentatum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum binale</i>	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum brasiliense</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum crassicolle</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum cuspidatum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum didelta</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum evolutum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum luetkemuelleri</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum pseudotuddalense</i>	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum sublobatum</i>	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Euastrum</i> sp.			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Groenbladia</i> sp.	X	X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Haplotaenium</i> sp.		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Hyalotheca mucosa</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias alata</i>		X	

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias arcuata</i>	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias foliacea</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias furcata</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias laticeps</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias pinnatifida</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias radiosa</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Micrasterias truncata</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Octacanthium</i> sp.		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Pleurotaenium ehrenbergii</i>			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Pleurotaenium</i> sp.	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Spondylosium</i> sp.	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum anatinum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum bieneanum</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum brasiliense</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum dorsidentiferum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum grillatorium</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum leptacanthum</i>			X

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum leptocladum</i>		X	X
			<i>Staurastrum manfeldtii</i> var.			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>pseudosebaldi</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum margaritaceum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum paradoxum</i>		X	
			<i>Staurastrum</i>			
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>quadrangulare</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum rotula</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum setigerum</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum stelliferum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum teliferum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum trifidum</i>	X		X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 1	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 2		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 3		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 4		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 5		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematomyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 6		X	

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 7		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 8			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Staurastrum</i> sp. 9			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus connatus</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus cornutus</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus cuspidatus</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus dejectus</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus dickiei</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus extensus</i>			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus mamillatus</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus octocornis</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus tortus</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus triangularis</i>	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus</i> sp. 1		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus</i> sp. 2		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Stauroidesmus</i> sp. 3			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Teilingia</i> sp.	X		

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Tetmemorus</i> sp.	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Triploceras gracile</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium antilopaeum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium canadense</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium mamillosum</i>		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 1	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 2		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 3		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 4			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 5			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 6			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Desmidiaceae	<i>Xanthidium</i> sp. 7			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Gonatozygaceae	<i>Gonatozygon</i> sp.		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Mesotaeniaceae	<i>Cylindrocystis</i> sp.			X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Mesotaeniaceae	<i>Netrium digitus</i>	X	X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Mesotaeniaceae	<i>Netrium</i> sp.		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Mesotaeniaceae	<i>Roya</i> sp.			X

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Mesotaeniaceae	<i>Spirotaenia</i> sp.	X		
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Peniaceae	<i>Penium margaritaceum</i>		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Peniaceae	<i>Penium</i> sp.		X	
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Zygnemataceae	<i>Mougeotia</i> sp.	X	X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Zygnemataceae	<i>Spirogyra</i> sp.	X	X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Zygnemataceae	<i>Tennogametum</i> sp.		X	X
Eukaryota	Charophyta - Zygnematophyceae	Zygnemataceae	<i>Zygnema</i> sp.		X	X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 1	X		
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 2	X		
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 3	X		
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 4			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 5			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 6			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 7			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 8			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 9			X
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 10			X



<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Chlorophyta		Chlorophyta 11			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Cylindrocapsaceae	<i>Cylindrocapsa</i> sp.	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Cylindrocapsaceae	<i>Cylindrocapsa</i> sp. 2			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Hydrodictyceae	<i>Pediastrum</i> sp.		X	
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Microsporaceae	<i>Microspora</i> sp. 1	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Microsporaceae	<i>Microspora</i> sp. 2	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Oedogoniaceae	<i>Oedogonium</i> sp.	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Palmellaceae	<i>Palmella</i> sp.			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Radiococcaceae	<i>Gloeocystis</i> sp. 1	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Radiococcaceae	<i>Gloeocystis</i> sp. 2	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Radiococcaceae	<i>Gloeocystis</i> sp. 3			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Radiococcaceae	<i>Gloeocystis</i> sp. 4			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Radiococcaceae	<i>Gloeocystis</i> sp. 5			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Scenedesmaceae	<i>Coelastrum</i> sp.		X	X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae	Selenastraceae	<i>Ankistrodesmus</i> sp.		X	
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 1	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 2	X	X	

<b>Império</b>	<b>Filo - Classe</b>	<b>Família</b>	<b>Espécie</b>	<b>RQ</b>	<b>LB</b>	<b>LR</b>
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 3	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 4	X	X	X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 5	X		
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 6			X
Eukaryota	Chlorophyta - Chlorophyceae		Chlorococcales 7			X
Eukaryota	Euglenozoa - Euglenophyceae		Euglenophyceae 1	X		
Eukaryota	Euglenozoa - Euglenophyceae		Euglenophyceae 2			X
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae	Peridiniaceae	<i>Peridinium umbonatum</i>		X	X
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae		Dinophyceae 1	X		
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae		Dinophyceae 2	X		X
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae		Dinophyceae 3	X		
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae		Dinophyceae 4	X		
Eukaryota	Miozoa - Dinophyceae		Dinophyceae 5	X		
Eukaryota	Ochrophyta - Chrysophyceae	Dinobryaceae	<i>Dinobryon</i> sp.	X		

## APÊNDICE B – Quantidades de nutrientes dissolvidos nos tratamentos de corte de radiação

**Tabela 2.** Quantidades de nutrientes dissolvidos em  $\mu\text{M}$  em cada tratamento no final dos experimentos em Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017) e na Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, tratamento com radiação fotossinteticamente ativa; PA, tratamento com radiação fotossinteticamente ativa e ultravioleta A; PAB, tratamento controle, com radiação fotossinteticamente ativa e ultravioleta A e B. Média  $\pm$  desvio padrão. N=9.

	Ortofosfato ( $\mu\text{M}$ )	Nitrogênio amoniacal ( $\mu\text{M}$ )	Nitrito ( $\mu\text{M}$ )	Nitrato ( $\mu\text{M}$ )	Nitrogênio total ( $\mu\text{M}$ )
<b>Rancho Queimado</b>					
P	$0,262 \pm 0,032$	$11,401 \pm 0,237$	$0,084 \pm 0,012$	$0,088 \pm 0,011$	$11,573 \pm 0,221$
PA	$0,276 \pm 0,024$	$9,166 \pm 0,801$	$0,079 \pm 0,018$	$0,042 \pm 0,007$	$9,288 \pm 0,801$
PAB	$0,318 \pm 0,032$	$11,150 \pm 0,724$	$0,081 \pm 0,004$	$0,149 \pm 0,007$	$11,380 \pm 0,717$
<b>Lagoa do Roncador</b>					
P	$0,159 \pm 0,039$	$1,542 \pm 0,138$	$0,059 \pm 0,012$	$1,150 \pm 0,127$	$2,750 \pm 0,122$
PA	$0,265 \pm 0,039$	$1,619 \pm 0,009$	$0,084 \pm 0,011$	$0,610 \pm 0,034$	$2,313 \pm 0,032$
PAB	$0,342 \pm 0,009$	$1,490 \pm 0,138$	$0,062 \pm 0,021$	$0,686 \pm 0,042$	$2,239 \pm 0,159$

### APÊNDICE C – Relação de respostas fisiológicas de comunidades metafíticas em relação à radiação em três lagoas a 1000m de altitude

**Tabela 3.** Respostas fisiológicas das comunidades metafíticas nos experimentos realizados em Rancho Queimado, Santa Catarina (23/11/2017), na Lagoa Bonita, Distrito Federal (14/03/2018) e na Lagoa do Roncador, Distrito Federal (30/06/2018). P, tratamento com radiação fotossinteticamente ativa; PA, tratamento com radiação fotossinteticamente ativa e ultravioleta A; PAB, tratamento controle, com radiação fotossinteticamente ativa e ultravioleta A e B. APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase. Média  $\pm$  desvio padrão. \*N=3; \*\*N=9..

	Fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol O}_2 \mu\text{g chl a}^{-1} \text{h}^{-1}$ )*	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g/mL}$ )**	Carotenoides totais ( $\mu\text{g/mL}$ )**	Compostos fenólicos totais ( $\text{mg/mL}$ )**	APX (U.APX/mg proteína)**	CAT (U.CAT/mg proteína)**	SOD (U.SOD/mg proteína)**
<b>Rancho Queimado</b>							
P	0,57 $\pm$ 0,14	9,67 $\pm$ 2,19	5,26 $\pm$ 0,49	0,009 $\pm$ 0,002	0,319 $\pm$ 0,066	0,885 $\pm$ 0,429	212,61 $\pm$ 55,78
PA	1,29 $\pm$ 0,17	7,44 $\pm$ 2,67	3,53 $\pm$ 0,87	0,025 $\pm$ 0,002	0,529 $\pm$ 0,089	0,933 $\pm$ 0,711	339,68 $\pm$ 91,92
PAB	1,47 $\pm$ 0,22	5,64 $\pm$ 1,46	3,53 $\pm$ 0,62	0,072 $\pm$ 0,006	0,356 $\pm$ 0,065	1,013 $\pm$ 0,357	480,86 $\pm$ 65,93
<b>Lagoa Bonita</b>							
P	-0,33 $\pm$ 0,03	23,40 $\pm$ 9,93	7,83 $\pm$ 2,89	0,040 $\pm$ 0,012	0,237 $\pm$ 0,026	0,924 $\pm$ 0,146	74,34 $\pm$ 17,12

PA	$-0,55 \pm 0,00$	$22,46 \pm 4,66$	$8,45 \pm 2,04$	$0,049 \pm 0,025$	$0,192 \pm 0,040$	$0,885 \pm 0,152$	$72,60 \pm 11,57$
PAB	$-0,33 \pm 0,01$	$29,07 \pm 4,41$	$10,06 \pm 1,94$	$0,091 \pm 0,013$	$0,194 \pm 0,069$	$0,792 \pm 0,378$	$61,82 \pm 13,89$
<hr/>							
<b>Lagoa do Roncador</b>							
P	$8,43 \pm 2,67$	$11,16 \pm 4,40$	$9,67 \pm 0,31$	$0,218 \pm 0,082$	$0,080 \pm 0,014$	$2,116 \pm 0,478$	$143,15 \pm 38,08$
PA	$10,41 \pm 0,92$	$9,59 \pm 2,55$	$8,63 \pm 0,16$	$0,204 \pm 0,046$	$0,087 \pm 0,028$	$2,700 \pm 1,094$	$256,05 \pm 158,88$
PAB	$8,87 \pm 0,71$	$9,42 \pm 1,01$	$9,55 \pm 0,46$	$0,134 \pm 0,053$	$0,069 \pm 0,004$	$2,970 \pm 1,087$	$216,86 \pm 117,00$
<hr/>							