



EFEITOS DA DENSIDADE DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS NA ESTRUTURA FUNCIONAL FITOPLANCTÔNICA

Yasmin Rodrigues de Souzar¹; Douglas Costa de Souza²; Luzia Cleide Rodrigues³; Rômulo Diego de Lima Behrend⁴; Luiz Felipe Machado Velho⁵

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, UNICESUMAR, Maringá-PR. Bolsista PIBIC/UNICESUMAR.

² Mestre em Ciências Ambientais Universidade Estadual de Maringá.

³ Bióloga Nucleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – UEM. Maringá-PR.

⁴ Orientador, Prof. dr. do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNICESUMAR, Maringá-PR.

⁵ Coorientador, Prof. Dr. Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência Tecnologia e Inovação (ICETI), UNICESUMAR, Maringá-PR.

RESUMO: Em lagos rasos, a alternância de dominância entre fitoplâncton e macrófitas devido à competição pode ser refletida em estados alternativos. Macrófitas aquáticas podem afetar negativamente a comunidade fitoplanctônica através da competição por nutrientes, alelopatia e sombreamento. Além disso, devido ao fato de poderem aumentar a estabilidade da coluna de água, as perdas por sedimentação do fitoplâncton podem aumentar. Nós testamos se a complexidade do habitat (maior densidade de macrófitas) influenciará positivamente a riqueza fitoplanctônica. Além disso, acreditamos que as menores formas de tamanho do fitoplâncton serão selecionadas em ambientes com maior disponibilidade de nutrientes (menor densidade de macrófitas). O experimento foi realizado com três níveis de densidades de macrófitas 0, 3 e 12 indivíduos por mesocosmo, criando um gradiente de biomassa e com dois níveis de concentração de matéria orgânica (alta e baixa concentração). Cruzando cada nível dos dois fatores, serão obtidos seis tratamentos, que serão replicados três vezes, totalizando 18 unidades experimentais, para cada unidade foram feitas três coletas, totalizando um n = 54. As unidades experimentais foram mesocosmos (60 litros com 50 cm de diâmetro), com camadas de 7 cm de sedimento e uma coluna de água de 80 cm. As amostras de fitoplâncton foram coletadas no início, meio e fim do experimento e fixadas com a solução de Lugol. O fitoplâncton foi contado seguindo os métodos de Utermohl (1958) e Lund et al. (1958). Será realizada uma análise de variância (ANOVA) para avaliar se existe diferença entre os tratamentos de acordo com as variáveis limnológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Densidade, Fitoplancton, Heterogeneidade ambiental.

1 INTRODUÇÃO

Produtores primários (fitoplâncton, perifítona macrófitas aquáticas) constituem a base das teias alimentares nos ambientes aquáticos (ESTEVES, 2011). A comunidade fitoplanctônica possui alta variabilidade morfológica e é influenciada pela luz, a temperatura, a disponibilidade de nutrientes e pela estrutura física da coluna de água (BORTOLINI; TRAIN; RODRIGUES, 2016; MARGALEF, 1978; REYNOLDS, 1998).

Macrófitas aquáticas são muitas vezes consideradas os principais produtores primários em ambientes lênticos, e possuem um papel fundamental na ciclagem de nutrientes e como fonte abundante de matéria orgânica (THOMAZ et al., 2009). Além disso, contribuem para o aumento da complexidade estrutural, proporcionando maior diversidade de *habitat* e estabilidade das demais comunidades bióticas (AGOSTINHO; GOMES; PELICICE, 2007).

Em lagos rasos, a alternância na dominância entre fitoplâncton e as macrófitas devido a competição, pode ser refletida em estados alternativos. Assim, as características desses ambientes



podem variar entre estados de água clara dominados por macrófitas e de água turva dominados por fitoplâncton (KOSTEN et al., 2011; SCHEFFER, 1998).

Devido as macrófitas aquáticas possuem alta capacidade de sobrevivência, elevada taxa de dispersão e rápida adaptação, têm alto potencial de invasão. Sua chegada em ambientes exóticos podem alterar a estrutura do habitat e influenciar diretamente na dinâmica das comunidades aquáticas, como verificado em lagos de inundação e reservatórios (MICHELAN et al., 2010; THOMAZ; MORMUL; MICHELAN, 2014). Podem afetar negativamente a comunidade fitoplanctônica por meio da competição por nutrientes, de alelopatia e sombreamento. Além disso, devido ao fato de poderem aumentar a estabilidade da coluna de água, podem aumentar as perdas por sedimentação do fitoplâncton (FONSECA; BICUDO, 2010). Mudanças no nível basal das teias tróficas (produtores primários) podem ter efeitos negativos na configuração dos níveis superiores. Contudo, a chegada de macrófitas invasoras pode afetar o fluxo da energia e o funcionamento do ecossistema.

A variabilidade morfológica do fitoplâncton está diretamente associada à sua adaptação à variabilidade ambiental (LEWIS, 1976; MARGALEF, 1978). A disponibilidade de recursos (luz e nutrientes), as características hidrodinâmicas e a herbivoria podem afetar a diversidade morfológica do fitoplâncton (Morabito et al., 2007; Naselli-Flores & Barone, 2011). Das características morfológicas fitoplanctônicas, o tamanho é um traço funcional facilmente mensurável que pode ser relacionado com processos de absorção de nutrientes, crescimento, herbivoria e taxas de sedimentação (FINKEL et al., 2010; LITCHMAN; KLAUSMEIER, 2008). Devido ao curto tempo de geração do fitoplâncton, a análise da dinâmica do tamanho pode ajudar a determinar o efeito da introdução de espécies sobre os sistemas naturais, e ajudar a entender o efeito sobre o funcionamento (e.g., ciclagem de nutrientes) e os serviços do ecossistema (e.g., sequestro de carbono, biodiversidade).

Assim, o objetivo desse estudo é analisar a influência de macrófitas aquáticas sobre a comunidade fitoplanctônica. Testaremos, por meio de experimentos, a hipótese de que a densidade de macrófitas afetará a estrutura de tamanho do fitoplâncton, sendo menores tamanhos encontrados em maiores densidades de macrófitas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esse experimento foi realizado entre 14 de março a 13 de abril de 2016. Nele foram usados três níveis de densidade de macrófitas aquáticas para criar um gradiente de biomassa e dois níveis para a concentração de matéria orgânica (alta e baixa concentração). Foram utilizadas as seguintes densidades: 0, 3 e 12 indivíduos de *E. naja* por mesocosmo. Três propágulos de *H. verticillata* medindo 15 cm foram liberados em cada unidade experimental. Cruzando cada nível dos dois fatores, foram obtidos seis tratamentos, que foram replicados três vezes, totalizando 18 unidades experimentais, para cada unidade foram feitas três coletas, totalizando um N=54.

Egeria najas é uma macrófita submersa nativa dominante na planície de inundação do alto rio Paraná, sua ocorrência varia de ambientes lóticos a lênticos, sendo mais abundante em ambientes lênticos, onde a taxa de MO é maior (Sousa, 2010). *Hydrilla verticillata* é uma espécie não-nativa (Madeira et al., 2007). Essa espécie invadiu a planície de inundação do alto rio Paraná habitando principalmente os ambientes lóticos, onde a concentração de MO é menor (Sousa, 2010).

As unidades experimentais foram mesocosmos (60 Litros com 50 cm de diâmetro), com camadas de 7 cm de sedimento e uma coluna de água de 80 cm. O sedimento utilizado foi coletado em lagoas da planície de inundação do alto rio Paraná (alta concentração de MO) e na calha do rio (baixa concentração de MO).



Ao longo do experimento, foram medidos a temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido e turbidez. Foram determinadas as concentrações de nutrientes na água (nitrogênio e fósforo) a partir de espectrofotometria simultânea (MACKERETH; HERON; TALLING, 1978) e a concentração de matéria orgânica foi determinada a partir da queima de 10 g de material seco em mufla a 560°C por quatro horas (Merrittand Cummins, 2002).

Esse experimento foi realizado no Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPELIA) no Laboratório de Ecologia de Macrófitas Aquáticas, pelo Me. Douglas Costa de Souza e o Dr. Sidinei Magela Thomaz.

As amostras de fitoplâncton foram coletadas no início, meio e fim do experimento e fixadas com solução de lugol acético (BICUDO; MENEZES, 2006).

A abundância (densidade) fitoplanctônica foi estimada, seguindo o método de Utermöhl (1958), utilizando o microscópio invertido em aumento de 400x. O volume sedimentado foi definido de acordo com a concentração de algas e/ou detritos presentes na amostra, com sedimentação prévia de pelo menos três horas para cada centímetro de altura da câmara de sedimentação (MARGALEF, 1983). A contagem foi realizada aleatoriamente, por campos, com o auxílio de bibliografia especializada para identificação dos táxons, até a obtenção de 100 indivíduos do taxa mais abundante, com erro inferior a 20%, e um intervalo de confiança de 95% (LUND; KIPLING; LE CREN, 1958). O cálculo da densidade fitoplanctônica foi realizado de acordo com (APHA, 2005), e o resultado foi expresso em indivíduos (células, cenóbios, colônias ou filamentos) por mililitro. A estrutura de tamanho do fitoplâncton foi avaliado por meio do volume celular, que será calculado a partir de formas geométricas que mais se aproximam a forma dos organismos fitoplanctônicos(SUN; LIU, 2003).

Para verificar se existe diferença na estrutura de tamanho entre os tratamentos, será realizada uma análise de variância (ANOVA) utilizando o software RStudio (RStudio, 2015).

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir de amostras obtidas diretamente com frascos (quantitativas), a comunidade fitoplanctônica foi representada por 75 táxons. O número de táxons ocorrentes variou de 2 no tratamento SRD0- primeira coleteta (densidade de zero macrófitas e baixa concentração de nutrientes) e 25 no tratamento SLD0- primeira coleta (densidade de zero macrófitas e alta concentração de nutrientes) (**Figura 1**).

Os táxons foram distribuídos entre onze grupos taxonômicas. Os grupos que apresentaram maior contribuição de táxons foram Chlorophyceae (24), Zygnemaphyceae (14), Cyanobacteria (12) e as Diatomáceas (6). A representatividade desses grupos variou entre as coletas analisadas. Como a ocorrência dos grupos fitoplanctônicos no ambiente é influenciada pelos requerimentos ecológicos dos organismos e as características ambientais (REYNOLDS, 2006), a representatividade dos grupos fitoplanctônicos pode revelar características físicas e químicas das estações analisadas.

As clorófitas, por exemplo, apresentam alta variabilidade morfológica e são favorecidas em uma ampla variabilidade ambiental (HAPPEY-WOOD, 1988), principalmente em condições de alta concentração de nutrientes e alta disponibilidade de luz (JENSEN et al., 1994; REYNOLDS et al., 2002). As diatomáceas, por serem pesadas devido a parede celular ser composta de sílica e portanto, possuírem alta taxa de sedimentação, geralmente ocorrem em ambientes com mistura da coluna de água, sendo comuns em sistemas lóticos. Além disso, possuem características morfológicas, como forma alongada e pigmentos acessórios, que otimizam a absorção de luz e as favorecem em condições de baixa transparência da água (KRUK; SEGURA, 2012; REYNOLDS et al., 2002). De forma geral, a alta contribuição de Chlorophyceae e Bacillariophyceae para os valores de ocorrência é comum em reservatórios e lagos



Brasileiros (BORGES; TRAIN; RODRIGUES, 2008; BORTOLINI; TRAIN; RODRIGUES, 2016, 2017; DEVERCELLI, 2010; IZAGUIRRE et al., 2012).

A ocorrência de diversos táxons de Zygnemaphyceae pode ser atribuído a presença de macrófitas submersas que foram usadas no experimento (CHIBA DE CASTRO; CUNHA-SANTINO; BIANCHINI JR., 2013). As zignemafíceas são consideradas metafíticas, ou seja, vivem associados a essas plantas (SIPAÚBA-TAVARES; DIAS, 2014). Este grupo de algas é tolerante a baixa concentração de nutrientes e requerem condições de alta transparência e mistura da coluna de água para seu desenvolvimento (REYNOLDS et al., 2002).

As cianobactérias são tolerantes a uma ampla variabilidade ambiental e podem formar grandes florações (blooms) em condições de altas temperaturas, elevadas concentrações de nutrientes e estabilidade da coluna de água (PAERL; HUISMAN, 2008; PAERL; PAUL, 2012).

Grupos considerados mixotróficos (i. e., além da fotossíntese, utilizam matéria orgânica como fonte de energia) como Cryptophyceae, Chrysophyceae, Dinophyceae e Euglenophyceae, que contribuíram com menor número de táxons, são organismos flagelados e em sua maioria unicelulares que ocorrem geralmente em baixo número de táxons no plâncton (WATSON; MCCAULEY; DOWNING, 1997). As criptofíceas são consideradas oportunistas por apresentarem pequenas dimensões e ciclo de vida rápido, sendo registradas em todos os tipos de ambientes e condições ambientais (REYNOLDS, 2006).

As euglenofíceas são favorecidas em ambientes com elevada turbidez e matéria orgânica sendo comuns em lagos rasos com altas concentrações de compostos húmicos (ALVES-DE-SOUZA; MENEZES; HUSZAR, 2006; SANDGREN, 1988; WATSON; MCCAULEY; DOWNING, 1997).

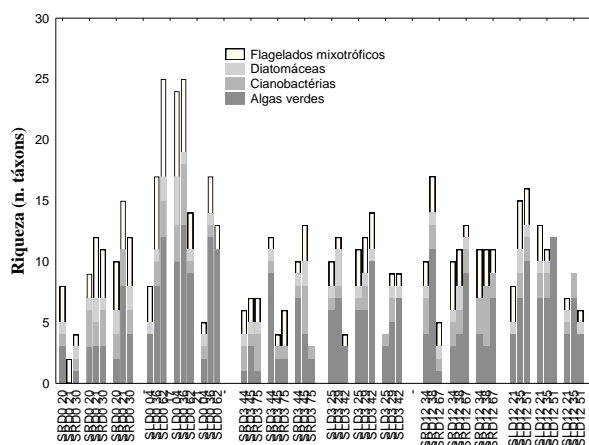


Figura 1 – Variação espacial da riqueza fitoplanctônica entre os tratamentos e coletas.

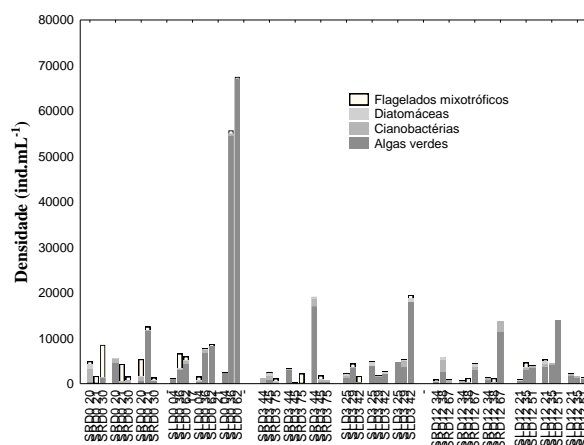


Figura 2 – Variação espacial da densidade fitoplanctônica entre os tratamentos e coletas.

A densidade fitoplanctônica apresentou alta variação entre os tratamentos. Os valores de densidade foram altos (**Figura 2**), com média de 6492 ind.mL⁻¹ por amostra. Maior valor de densidade ocorreu no tratamento SLD0 – 3 coleta (67487 ind.mL⁻¹) e menor no tratamento SRD3 – 2 coleta (192 ind.mL⁻¹).

O alto valor de densidade fitoplanctônica pode ser respondido pela concentração de nutrientes maior nesse tratamento e pela menor concentração de macrófitas aquáticas, o que dimuni a competição por esses nutrientes e disponibiliza uma menor zona sombreada.e que são favoráveis ao desenvolvimento fitoplanctônico.

Por outro lado, no tratamento com menor densidade temos que levar em consideração que ele estava com uma menor concentração de nutrientes e uma maior biomassa de macrófitas, o que aumentava a disputa por recursos e também baixa disponibilidade de luz (REYNOLDS, 1999), com isso, o



desenvolvimento do fitoplâncton é limitado (ELLIOTT; JONES; PAGE, 2009), e destruição celular associada com choque mecânico (FRAISSE; BORMANS; LAGADEUC, 2015; REYNOLDS; DESCY; PADISÁK, 1994).

3 CONCLUSÃO

Considerando os atributos de riqueza e densidade, podemos derivar mudanças no padrão dos grupos e até mesmo do tamanho do fitoplâncton, ainda é necessária a descrição dos grupos funcionais e rodar a análise estatística (ANOVA) para vermos se estatisticamente nossos tratamentos apresentam diferença no tamanho do fitoplâncton pela concentração de macrófitas e nutrientes.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. **Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2007.
- ALVES-DE-SOUZA, C.; MENEZES, M.; HUSZAR, V. Phytoplankton composition and functional groups in a tropical humic coastal lagoon, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 3, p. 701–708, 2006.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington DC (USA): American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, 2005.
- BICUDO, C. E. M. C. E.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. Rima ed. São Carlos: Editora RIMA, 2006.
- BORGES, P. A. F.; TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C. Spatial and temporal variation of phytoplankton in two subtropical Brazilian reservoirs. **Hydrobiologia**, v. 607, n. 1, p. 63–74, 2008.
- BORTOLINI, J. C.; TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C. Extreme hydrological periods: effects on phytoplankton variability and persistence in a subtropical floodplain. **Hydrobiologia**, v. 763, p. 223–236, 2016.
- BORTOLINI, J. C.; TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C. The variability in the hydrosedimentological regime supports high phytoplankton diversity in floodplain: a 12-year survey of the Upper Paraná River. **Journal of Limnology**, 2017.
- CHIBA DE CASTRO, W. A.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR., I. Anaerobic decomposition of a native and an exotic submersed macrophyte in two tropical reservoirs. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 73, n. 2, p. 299–307, 2013.
- DEVERCELLI, M. Changes in phytoplankton morpho-functional groups induced by extreme hydroclimatic events in the Middle Paraná river (Argentina). **Hydrobiologia**, v. 639, n. 1, p. 5–19, 2010.
- ELLIOTT, J. A.; JONES, I. D.; PAGE, T. The importance of nutrient source in determining the influence of retention time on phytoplankton: An explorative modelling study of a naturally well-flushed lake. **Hydrobiologia**, v. 627, p. 129–142, 2009.
- ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.
- FINKEL, Z. V. et al. Phytoplankton in a changing world: Cell size and elemental stoichiometry. **Journal of Plankton Research**, v. 32, n. 1, p. 119–137, 2010.
- FONSECA, B. M.; BICUDO, C. E. D. M. How important can the presence/absence of macrophytes be in determining phytoplankton strategies in two tropical shallow reservoirs with different trophic status? **Journal of Plankton Research**, v. 32, n. 1, p. 31–46, 2010.
- FRAISSE, S.; BORMANS, M.; LAGADEUC, Y. Turbulence effects on phytoplankton morphofunctional traits selection. **Limnology and Oceanography**, v. 60, n. 3, p. 872–884, 2015.
- HAPPEY-WOOD, C. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. In: **Ecology of freshwater planktonic green algae**. [s.l.] Cambridge, 1988. p. 175–226.



- IZAGUIRE, I. et al. Comparison of morpho-functional phytoplankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. **Hydrobiologia**, v. 698, n. 1, p. 203–216, 2012.
- JENSEN, J. P. et al. Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 51, p. 1692–1699, 1994.
- KOSTEN, S. et al. Ambiguous climate impacts on competition between submerged macrophytes and phytoplankton in shallow lakes. **Freshwater Biology**, v. 56, p. 1540–1553, 2011.
- KRUK, C.; SEGURA, A. M. The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. **Hydrobiologia**, v. 698, n. 1, p. 191–202, 2012.
- LEWIS, W. M. Surface/Volume ratio: implications for phytoplankton morphology. **Science**, v. 192, n. 4242, p. 885–887, 1976.
- LITCHMAN, E.; KLAUSMEIER, C. A. Trait-Based Community Ecology of Phytoplankton. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 39, p. 615–639, 2008.
- LUND, J. W. G.; KIPLING, C.; LE CREN, E. D. E. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. **Hydrobiologia**, v. 11, n. 2, p. 980–985, 1958.
- MACKERETH, F. Y. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Freshwater Biological Association**, v. 36, p. 1–120, 1978.
- MARGALEF, R. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. **Oceanologica Acta**, v. 1, n. 4, p. 493–509, 1978.
- MARGALEF, R. **Limnología**. Barcelona: Omega, 1983.
- Merritt, R. W., Cummins, K. W., Berg, M. B., Novak, J. A., Higgins, M. J., Wessell, K. J., & Lessard, J. L., 2002. Development and application of a macroinvertebrate functional-group approach in the bioassessment of remnant river oxbows in southwest Florida. *Journal of the North American Benthological Society*, 21(2), 290-310
- MICHELAN, T. S. et al. Effects of an exotic invasive macrophyte (tropical signalgrass) on native plant community composition, species richness and functional diversity. **Freshwater Biology**, v. 55, p. 1315–1326, 2010.
- MORABITO, G. et al. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). **Hydrobiologia**, v. 578, n. 1, p. 47–57, 2007.
- NASELLI-FLORES AND BARONE, R. Fight on plankton! Or, phytoplankton shape and size as adaptive tools to get ahead in the struggle for life. **Cryptogamie, Algologie**, v. 32, n. 2, p. 157–204, 2011.
- PAERL, H. W.; HUISMAN, J. Blooms Like It Hot. **Science**, v. 320, p. 57–58, 2008.
- PAERL, H. W.; PAUL, V. J. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. **Water Research**, v. 46, n. 5, p. 1349–1363, 2012.
- REYNOLDS, C. S. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiologia**, v. 369/370, p. 11–26, 1998.
- REYNOLDS, C. S. Phytoplankton assemblages in reservoirs. In: TUNDISI, J.G., STRAŠKRABA, M. (Ed.). **Theoretical Reservoir Ecology and its applications**. São Carlos: International Institute of Ecology, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers, 1999. p. 439–456.
- REYNOLDS, C. S. **The Ecology of phytoplankton**. New York, USA: Cambridge University Press, 2006.
- REYNOLDS, C. S.; DESCY, J. P.; PADISÁK, J. Are phytoplankton dynamics in rivers so different from those in shallow lakes? **Hydrobiologia**, v. 289, n. 1–3, p. 1–7, 1994.
- SANDGREN, C. The ecology of chrysophyte flagellates: Their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. In: **Growth and Reproductive Strategies of Freshwater Phytoplankton**. [s.l.: s.n.]. p. 9–105.
- SCHEFFER, M. **Ecology of Shallow Lakes**. [s.l.] Springer US, 1998.



SIPAÚBA-TAVARES, L.; DIAS, S. Water quality and communities associated with macrophytes in a shallow water-supply reservoir on an aquaculture farm. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 2, p. 420–428, 2014.

SOUSA, W. T. Z. et al. Environmental predictors of the occurrence of exotic *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle and native *Egeria najas* Planch. in a sub-tropical river floodplain: the Upper River Paraná, Brazil.

Hydrobiologia, v. 632, n. 1, p. 65-78, 2009.

SUN, J.; LIU, D. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton.

Journal of Plankton Research, v. 25, n. 11, p. 1331–1346, nov. 2003.

TEAM, RStudio. RStudio: integrated development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com>, 2015.

THOMAZ, S. M. et al. Temporal and spatial patterns of aquatic macrophyte diversity in the Upper Paraná River floodplain. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 2, p. 617–625, 2009.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 9, p. 1–38, 1958.

WATSON, S. . B.; MCCAULEY, E.; DOWNING, J. A. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of different trophic status. **Limnol. Oceanogr.**, v. 42, n. 3, p. 487–495, 1997.