

**ESTUDO DE CIANOBACTÉRIAS EM RESERVATÓRIO  
COM ELEVADO GRAU DE TROFIA (RESERVATÓRIO  
DE SALTO GRANDE - AMERICANA - SP)**

Gina Luísa Boemer Deberdt

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos,  
Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Doutor em Ciências da Engenharia  
Ambiental.

ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup> Assoc. Maria do Carmo Calijuri

CO-ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra M. F. O. Azevedo

São Carlos

2002

*Dedico este trabalho*

*ao meu marido, por estar sempre ao meu lado;*

*à minha filha Luísa, por me mostrar a importância de saber  
vencer as dificuldades e transformar a vida em momentos felizes;*

*à minha mãe, por me apoiar em todas as etapas da minha vida com muito amor.*

## AGRADECIMENTOS

À professora Assoc. Maria do Carmo Calijuri, pela valiosa orientação e grande amizade que vem crescendo a cada dia.

À professora Dra. Sandra M. F. O. Azevedo, por quem eu tenho grande admiração pela competência e dinamismo profissional.

Ao professor Dr. Armando H. A. Vieira, pelas valiosas críticas e sugestões e por ceder o laboratório para realização dos experimentos.

Ao professor Dr. Pedro A. Senna (*in memoriam*), pelo incentivo ao estudo de cianobactérias e exemplo de luta e força de vontade.

Ao professor Dr. M. Straskraba (*in memoriam*), pelo incentivo às pesquisas limnológicas e por me ensinar, com muita dedicação, um pouco do seu vasto conhecimento.

Ao professor Dr. Marco Reali, pela participação na banca do exame de qualificação, contribuindo com grande experiência.

A professora Dra. Elizabeth Moraes pela grande ajuda nas análises cromatográficas e revisão da tese.

Ao professor Dr. Dietrich Schiel e a Dra. Leila Maria Beltramini pelo apoio e amizade.

Aos técnicos e funcionário do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada - CRHEA: Amândio, Luci, Miro, Marcelo, Beto Ivan, Paulo, Catarina, Regina, Mara e Claudete pela dedicação e amizade em todos estes anos.

A todos os colegas do Laboratório de Biotoxicologia de Águas Continentais e Efluentes da EESC – USP: André, Adriana, Ana Luiza, Anna Paola, Davi, Murilo, Patrícia e Simone, por trazerem muita alegria ao dia a dia do laboratório.

A todos os colegas do Laboratório de Processos Biológicos e do Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso de Águas pela agradável convivência, e principalmente a Janja e a Flávia pelas deliciosas risadas frente ao temperamental HPLC.

A todos os colegas do Laboratório de Ficologia da UFSCar: Luis, Sandra, Danilo, Ana Lombardi, Vanessa, Pedro, Caverna e Thais, que sempre me ajudaram muito durante os experimentos com cultivos.

A todos os colegas do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia do Instituto de Biofísica da UFRJ: Valéria, Ana Cláudia, Marcelo, João, Elis, Raquel, Simone e Patrícia, que me deram muito apoio e amizade durante as viagens ao Rio de Janeiro.

Ao colega Alexandre Silveira pelo auxílio na utilização da ferramenta Solver do Excell.

Ao colega Arnaldo pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao colega Fernando Pinzón pela amizade e ajuda na revisão bibliográfica via internet.

À Celina, Elisa e Tati por me receberem com muita festa e amizade em Brasília.

Ao amigo Alfredo pelos cafezinhos e bate bapo.

À Sílvia Cláudia pelo enorme carinho e amizade com que me recebeu em Brasília.

A todos os meus colegas da Agência Nacional de Águas pela amizade e compreensão.

Às amigas Adriana, Alessandra, Betina, Cristina e Pazu, que sempre deram muito apoio e carinho a mim e a Luísa durante todos esses anos.

A todos os colegas que de uma forma ou de outra proporcionaram o bom desenvolvimento deste trabalho.

Ao Departamento de Hidráulica e Saneamento e ao Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada – CRHEA, pela infraestrutura oferecida para o desenvolvimento dos trabalhos de laboratório.

À Companhia Paulista de Força e Luz – CPFL, pela infraestrutura oferecida para o desenvolvimento do trabalho de campo.

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de estudo concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio financeiro ao projeto, processo número 99/02892-7 e 00/12744-4.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>I</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>III</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMO</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
2.1. CIANOBACTÉRIAS	3
2.2. CIANOTOXINAS	4
2.3. PREJUÍZOS A SAÚDE	6
2.4. FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM AS FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS	13
2.5. FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE CIANOTOXINAS	16
2.6. RAZÃO N/P E CARGA DE FÓSFORO	19
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>27</b>
3.1. HIPÓTESE	27
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
<b>4. CARACTERIZAÇÃO DO AMBIENTE DE ESTUDO</b>	<b>31</b>
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>34</b>
5.1. COLETAS MENSAS EM DOIS PERÍODOS DISTINTOS (MACROCOSMO)	34
5.2. EXPERIMENTOS EM TANQUES (MESOCOSMOS)	41
5.3. EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO (MICROCOSMOS)	42
5.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO DO MACROCOSMO (CAMPO)</b>	<b>47</b>
6.1. VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS	47
6.2. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS	58
6.3. RECURSOS	68

6.4.	COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA	73
6.5.	RAZÃO N/P	85
6.6.	CONCLUSÕES SOBRE O MACROCOSMO	98
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS MESOCOSMOS (TANQUES)</b>	<b>99</b>
7.1.	VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS	99
7.2.	VARIÁVEIS BIOLÓGICAS	100
7.3.	RECURSOS	110
7.4.	COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA	111
7.5.	CONCLUSÕES SOBRE OS MESOCOSMOS	127
<b>8.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS MICROCOSMOS (EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO)</b>	<b>128</b>
8.1.	IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DA MICROCISTINA	128
8.2.	ISOLAMENTO E CULTIVO DAS CEPAS DE <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i> (KÜTZING) KÜTZING	129
8.3.	EXPERIMENTOS DE REDUÇÃO DE FÓSFORO EM CULTURAS DAS CEPAS DE <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i> (KÜTZING) KÜTZING	129
8.4.	CONCLUSÕES SOBRE OS MICROCOSMOS	141
<b>9.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>142</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXO 1: Fotos de florações e colônia de <i>Microcystis aeruginosa</i> do reservatório de Salto Grande</b>	<b>143</b>
<b>11.</b>	<b>ANEXO 2: Controle de florações de cianobactérias</b>	<b>144</b>
11.1.	MEDIDAS PREVENTIVAS	146
11.2.	CONTROLES OPERACIONAIS	163
11.3.	MÉTODOS QUÍMICOS PARA ERRADICAÇÃO DA FLORAÇÃO	165
11.4.	PANORAMA NACIONAL DO CONTROLE DE FLORAÇÕES	170
11.5.	TRATAMENTO DA ÁGUA BRUTA PARA REMOÇÃO DE CÉLULAS E TOXINAS	173
<b>12.</b>	<b>ANEXO 3: Curva-padrão para microcistina-LR, espectros e cromatogramas</b>	<b>175</b>
<b>13.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>184</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características gerais das cianotoxinas.	<b>5</b>
<b>Tabela 2.</b> Composição química das algas e abundância relativa dos componentes, segundo as razões de Redfield, atômica e de massa, em relação ao fósforo.	<b>21</b>
<b>Tabela 3.</b> Características do reservatório de Salto Grande (Americana – SP).	<b>32</b>
<b>Tabela 4.</b> Métodos e equipamentos utilizados.	<b>36</b>
<b>Tabela 5.</b> Médias mensais das vazões turbinada, vertida e total e tempo médio de residência da água no reservatório, em 1999.	<b>48</b>
<b>Tabela 6.</b> Médias diárias das vazões turbinada, vertida e total e tempo médio de residência da água no reservatório, vazão total do dia de coleta e porcentagem de água efluente em relação ao volume total do reservatório.	<b>48</b>
<b>Tabela 7.</b> Radiação solar, profundidade do disco de Secchi ( $Z_{DS}$ ), coeficiente de extinção da luz ( $E$ ), profundidade máxima ( $Z_{m\acute{a}x}$ ), limite da zona eufótica ( $Z_{euf}$ ), zona de mistura ( $Z_{mix}$ ), relações $Z_{euf}/Z_{m\acute{a}x}$ , $Z_{m\acute{a}x}/Z_{euf}$ e $Z_{euf}/Z_{mix}$ nos dias de verão e de inverno nas estações 1 e 2 do Reservatório de Salto Grande.	<b>53</b>
<b>Tabela 8.</b> Densidade das classes fitoplanctônicas ( $org.mL^{-1}$ ) e respectivas porcentagens de contribuição (%) nas estações de coleta, médias da zona eufótica, no Reservatório de Salto Grande.	<b>59</b>
<b>Tabela 9.</b> Porcentagem de cianobactérias em relação aos demais grupos fitoplanctônicos (%) e densidade de espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas ( $org.mL^{-1}$ ), nas estações de coleta, na superfície da coluna d'água e na zona eufótica.	<b>62</b>
<b>Tabela 10.</b> Concentrações de microcistinas em $\mu g.L^{-1}$ de água bruta e em $\mu g.mg^{-1}$ de massa seca do séston nas estações de coleta, na superfície da coluna d'água e na zona eufótica.	<b>66</b>
<b>Tabela 11.</b> Médias ( $\bar{x}$ ) e desvios padrões ( $\overline{sx}$ ) dos valores obtidos nas amostragens dos dias de verão e inverno e nas estações 1 e 2.	<b>67</b>
<b>Tabela 12.</b> Concentrações médias anuais de fósforo e clorofila $a$ em lagos e reservatórios tropicais.	<b>90</b>
<b>Tabela 13.</b> Média das densidades das classes fitoplanctônicas ( $org.mL^{-1}$ ) e respectivas porcentagens de contribuição (%) do inóculo, do primeiro (1) e último (11) dia de amostragem nos mesocosmos.	<b>106</b>

- Tabela 14.** Porcentagem de cianobactérias em relação aos demais grupos fitoplanctônicos (%) e densidade de espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas ( $\text{org.mL}^{-1}$ ), nos mesocosmos, no último dia de amostragem. **107**
- Tabela 15.** Concentrações de microcistinas ( $\mu\text{g}$ ) por litro de água bruta e por massa seca (mg), nos mesocosmos, no último dia de amostragem. **107**
- Tabela 16.** Valores médios das concentrações de nitrogênio e fósforo totais e dissolvidos [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA. **122**
- Tabela 17.** Valores médios das concentrações de clorofila *a* [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] e densidades fitoplanctônicas [ $\text{org.mL}^{-1}$ ] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA. **122**
- Tabela 18.** Valores médios das densidades das classes fitoplanctônicas [ $\text{org.mL}^{-1}$ ] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA. **123**
- Tabela 19.** Valores médios das abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas [%] no último dia de amostragem nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA. **123**
- Tabela 20.** Valores médios da constante relativa de crescimento (*r*) e do tempo de duplicação da biomassa (*G*) das cepas MASGV3 e MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo e teste de Tukey. **130**
- Tabela 21.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] por volume de cultura da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA. **135**
- Tabela 22.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA. **135**
- Tabela 23.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA. **135**
- Tabela 24.** Variações nas concentrações celulares de microcistina em *Microcystis aeruginosa* provocadas por alterações físicas e químicas no meio (modificada de SIVONEN & JONES, 1999). **140**
- Tabela 25.** Resumo das estratégias de controle de florações. **145**
- Tabela 26.** Resumo do desempenho do tratamento da água para remoção de microcistinas (HRUDEY et al., 1999). **174**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização do município de Americana no Estado de São Paulo.  
Localização das estações de coleta no reservatório de Salto Grande. **35**
- Figura 2.** Esquema do experimento em mesocosmos. **42**
- Figura 3.** Experimento em microcosmos. **45**
- Figura 4.** Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa, valores de coeficiente de extinção da luz [ $m^{-1}$ ] e profundidade da zona eufótica [m] nas estações 1 e 2, nos dias de coletas de verão e de inverno, no Reservatório de Salto Grande. **49**
- Figura 5.** Perfis de oxigênio dissolvido e temperatura nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **51**
- Figura 6.** Isolinhas da densidade da água nas diferentes profundidades (a); frequência de Brunt-Vaisála (b); profundidade máxima ( $Z_{m\acute{a}x}$ ), coeficiente de extinção da luz e relação entre  $Z_{m\acute{a}x}/Z_{euf}$  e  $Z_{euf}/Z_{mix}$  (c), nas estações 1 e 2, nos dias de verão e de inverno, no Reservatório de Salto Grande. **52**
- Figura 7.** Perfis de pH e condutividade nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **54**
- Figura 8.** Valores de pH e alcalinidade (a), concentrações de carbono total (TC), inorgânico (IC) e orgânico total (TOC) (b) e concentrações de carbono inorgânico,  $CO_2$  total,  $CO_2$  livre,  $HCO_3^-$  e  $CO_3^{2-}$  (c) da zona eufótica, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **55**
- Figura 9.** Concentrações: de nitrogênio orgânico total (a); de nitrato ( $N-NO_3^-$ ), nitrito ( $N-NO_2^-$ ) e nitrogênio amoniacal ( $N-NH_4^+$ ) (b); de fósforo total (TP), fósforo total dissolvido (DTP) e fósforo dissolvido inorgânico (DIP) (c) e razões TN/TP e DIN/DIP (d) nas duas estações de coleta, no reservatório de Salto Grande. **57**
- Figura 10.** Concentrações de material em suspensão total (MST), inorgânico (MSI) e orgânico (MSO) (a), massa seca, após liofilização, de amostras coletadas na superfície da coluna água (b) e concentrações de clorofila a e feofitina (c) nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **58**
- Figura 11.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), densidade dos organismos fitoplanctônicos na superfície (c) e na zona eufótica (d), durante os dias de verão, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **60**
- Figura 12.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), densidade dos

organismos fitoplanctônicos na superfície (c) e na zona eufótica (d), durante os dias de inverno, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.

**61**

**Figura 13.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas e abundância relativa das espécies de cianobactérias em relação ao grupo. **63**

**Figura 14.** Densidade das diferentes espécies de cianobactérias na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), durante os dias de verão, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **64**

**Figura 15.** Densidade das diferentes espécies de cianobactérias na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), durante os dias de inverno, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande. **65**

**Figura 16.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de material particulado total em suspensão na água e limite da zona eufótica ( $Z_{euf}$ ) (a) e coeficiente de extinção da luz (E) (b). **86**

**Figura 17.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de oxigênio dissolvido e clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b) e entre os valores de pH e concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d). **87**

**Figura 18.** Análises de regressões lineares entre as densidades fitoplanctônicas e as concentrações de bicarbonato (a) e carbonato (b). **88**

**Figura 19.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidades fitoplanctônicas (b). **88**

**Figura 20.** Comparação entre a previsão proposta por REYNOLDS (1997) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* no reservatório de Salto Grande nos anos de 1995 a 1996 e 1999. **89**

**Figura 21.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e material em suspensão no reservatório de Salto Grande nos anos de 1995 a 1996 e 1999. **89**

**Figura 22.** Comparação entre a previsão proposta por REYNOLDS (1997) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais. **92**

**Figura 23.** Comparação entre a previsão proposta pela OECD (1982) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais. **92**

- Figura 24.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e o coeficiente de extinção da luz (a) e relação  $Z_{euf}/Z_{mix}$  (b), nos dias de verão. **93**
- Figura 25.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e frequência de Brunt Vaisála (a) e coeficiente de extinção da luz (b), nos dias de inverno. **94**
- Figura 26.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e razão N/P de Redfield nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b). **95**
- Figura 27.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e razão de massa DIN/DIP nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b). **96**
- Figura 28.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e razão de massa TN/TP nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b). **97**
- Figura 29.** Mudanças de temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, pH e condutividade nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias. **101**
- Figura 30.** Variações da razão entre as concentrações de nitrogênio e fósforo totais (TN/TP), concentração de nitrogênio total (TN) e fósforo total (TP), razão entre as concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânicos dissolvidos (DIN/DIP), concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) e fósforo inorgânico dissolvido (DIP) nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias. **102**
- Figura 31.** Mudanças nas concentrações de carbono total, inorgânico e orgânico, material em suspensão total, inorgânico e orgânico, clorofila *a* e densidade de organismos fitoplanctônicos nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias. **105**
- Figura 32.** Abundância relativa das diferentes classes fitoplanctônicas nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias. **108**
- Figura 33.** Densidade das espécies de cianobactérias nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias. **109**
- Figura 34.** Análises de regressões exponenciais entre os valores de pH e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b), e regressão linear entre as concentrações de oxigênio dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d). **119**

- Figura 35.** Relação entre as concentrações de carbono orgânico e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b), e regressão linear entre as concentrações de material em suspensão orgânico e as concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d). **120**
- Figura 36.** Relação entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b), e entre as concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d). **121**
- Figura 37.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplanctônicas e os dias de amostragem na condição controle (a), razão N/P alta (b) e razão N/P baixa (c), sem os valores do inóculo. **124**
- Figura 38.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplanctônicas e as concentrações de nitrogênio total (a) e fósforo total (b). **125**
- Figura 39.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplanctônicas e os valores das razões TN/TP condição controle (a), razão N/P alta (b) e razão N/P baixa (c). **126**
- Figura 40.** Concentrações de clorofila *a* das culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 21 e 30 dias, respectivamente. **131**
- Figura 41.** Concentrações de células nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias (as setas indicam os dias em que foram determinadas as concentrações de microcistina). **132**
- Figura 42.** Concentrações de clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] por células nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias (as setas indicam os dias em que foram determinadas as concentrações de microcistina). **132**
- Figura 43.** Variações nas concentrações de microcistina [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] (a), microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula (b) e microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] (c) nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias e regressão polinomial de segunda ordem. **134**
- Figura 44.** Variações nas concentrações de microcistina [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] (a), microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula (b) e microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] por concentração celular [ $\text{cel.L}^{-1}$ ] (c) nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo e regressão polinomial de segunda ordem. **136**

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

Chl <i>a</i>	clorofila <i>a</i>
D	dissolvido
E	coeficiente de extinção da luz
I	inorgânico
MS	material particulado em suspensão
O	orgânico
ODS	octadecilsilano
Q	vazão efluente
RFA	radiação fotossinteticamente ativa
T	total
TR	tempo médio de residência da água
V	volume
Z	profundidade
Z <sub>DS</sub>	profundidade do disco de secchi
Z <sub>euf</sub>	profundidade da zona eufótica
Z <sub>max</sub>	profundidade máxima
Z <sub>med</sub>	profundidade média
Z <sub>min</sub>	profundidade mínima
Z <sub>mix</sub>	profundidade da zona de mistura

**LISTA DE SÍMBOLOS**

C	carbono
Fe	ferro
H	hidrogênio
N	nitrogênio
Na	sódio
O	oxigênio
P	fósforo
S	enxofre
Si	sílica
°C	graus Celsius
cel.	célula
cel.mL <sup>-1</sup>	célula por mililitro
cm	centímetro
E	Einsten
g.L <sup>-1</sup>	grama por litro
h	hora
km	quilômetro
km <sup>2</sup>	quilômetro quadrado
L	litro
m	metro
m <sup>2</sup>	metro quadrado
m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup>	metro cúbico por segundo
m <sup>3</sup>	metro cúbico
meq.L <sup>-1</sup>	miliequivalente por litro

meq	miliequivalente
mg.L <sup>-1</sup>	miligrama por litro
mg	miligrama
mgC.m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	miligrama de carbono por metro quadrado por hora
mL	mililitro
mm	milímetro
mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup>	milímetro cúbico por litro
N <sup>2</sup> .10 <sup>-6</sup> radians s <sup>-1</sup>	Frequência de Brunt-Vasäla
ng	nanograma
ng.mg <sup>-1</sup>	nanograma por miligrama
ng.mL <sup>-1</sup>	nanograma por milímetro
nm	nanômetro
org.	organismo
org.mL <sup>-1</sup>	organismo por mililitro
pH	potencial hidrogeniônico
s	segundo
$\overline{sx}$	desvio padrão
$\bar{x}$	média
μ	mícron
μE.m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	microeinsten por metro quadrado por segundo
μg	micrograma
μg.L <sup>-1</sup>	micrograma por litro
μg.mg <sup>-1</sup>	micrograma por miligrama
μm	micrômetro
μS.cm <sup>-1</sup>	microsiemens por centímetro
μS	microsiemens

## RESUMO

DEBERDT, G. L. B. (2002). **Estudo de cianobactérias em reservatório com elevado grau de trofia (Reservatório de Salto Grande - Americana - SP)**. São Carlos, 2002. 207p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

O estudo das florações de cianobactérias potencialmente tóxicas é de fundamental importância, principalmente se tratando de um reservatório de grande valor econômico e social, devido a seus usos múltiplos e localização próxima a grandes centros urbanos como é o reservatório de Salto Grande (Americana – SP). Assim, este trabalho visou fornecer subsídios para formulação de prognóstico da ocorrência de cianobactérias e produção de toxinas em ambientes aquáticos com elevado grau de eutrofização. Para isto, a pesquisa foi desenvolvida em três escalas: em macrocosmo (represa), foi determinada a variação da ocorrência das espécies de cianobactérias e das demais classes fitoplanctônicas, e analisado o potencial tóxico das amostras coletadas nos meses chuvosos (janeiro, fevereiro e março / 98) e de estiagem (junho, julho, agosto e setembro / 98) em duas estações de coleta no reservatório de Salto Grande; em mesocosmo (tanques), verificou-se, durante o período de seca, as variações na ocorrência das classes fitoplanctônicas e das espécies de cianobactérias e produção de toxinas, em função da manipulação da razão N/P através da dosagem de nitrogênio e fósforo na água; em microcosmo (garrações de vidro, em laboratório), foi testado o efeito da redução de fósforo e conseqüente aumento da razão N/P sobre o crescimento e produção de toxinas em culturas de cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, isoladas a partir de amostras de florações desta espécie no reservatório de Salto Grande, durante os meses chuvosos e os secos. No ambiente foi detectada a presença de microcistinas na água de todos os dias de coleta, exceto em 25/02/99. Em geral, as concentrações estiveram abaixo do limite de aceitabilidade ( $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), com exceção da estação 2 nos dias 27/01/99 ( $39,53 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e 22/03/99 ( $3,98 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Nos experimentos em mesocosmos notou-se um aumento da densidade fitoplanctônica nas 3 condições

distintas. Na condição controle (sem manipulação), ocorreu um sensível aumento da porcentagem de contribuição das cianobactérias e diminuição dos demais grupos ao longo dos 11 dias. Na condição de razão N/P baixa, houve um pequeno aumento na porcentagem de contribuição das cianobactérias e clorofíceas, uma diminuição das criptofíceas e os demais grupos não apresentaram grandes alterações. Sob razão N/P alta, as cianobactérias tiveram um aumento, as clorofíceas mantiveram-se constantes e as criptofíceas diminuíram em relação às porcentagens iniciais. As condições dos tanques mantidos com razão N/P baixa foram mais favoráveis às clorofíceas. As cianobactérias apresentaram um aumento de biomassa nas condições dos tanques mantidos com razão N/P alta. Em microcosmos, a fase exponencial teve início no 8<sup>o</sup> dia de cultivo em todos os testes. Ao completar aproximadamente 18 dias de experimento, notou-se uma diminuição no rendimento das culturas em meio ASM-1 com redução de fósforo. Em todas as escalas estudadas constatou-se que a concentração de microcistina esteve relacionada a fatores favoráveis ao desenvolvimento das espécies tóxicas. Entretanto, os fatores determinantes para o crescimento de cianobactérias tóxicas, apresentaram diferentes papéis em cada escala estudada. No macrocosmo, a estabilidade da coluna d'água foi fundamental para o estabelecimento de maiores densidades de espécies tóxicas. Nos mesocosmos, o enriquecimento foi responsável pelo aumento da densidade de espécies tóxicas. Nos microcosmos, a disponibilidade de fósforo esteve diretamente relacionada à taxa de crescimento de *Microcystis aeruginosa* e conseqüentemente, ao aumento da concentração de microcistina.

Palavras-chave: fitoplâncton; cianobactéria; *Microcystis*; toxinas; fósforo; razão nitrogênio fósforo; reservatório eutrófico.

## ABSTRACT

DEBERDT, G. L. B. (2002). **Cyanobacterial study in high trophic degree reservoir (Salto Grande Reservoir - Americana - SP)**. São Carlos, 2002. 207p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

The study of the bloom of potential toxic cyanobacteria is of paramount significance, mainly when a reservoir endowed with great social and economical values due to both its multiple uses and its nearness to big urban centres — such as the Salto Grande reservoir, located near the city of Americana in the inland of the State of São Paulo, Brazil — is concerned. Based on such actuality, this work was aimed at supplying resources to devise forecasting the occurrence of cyanobacteria as well as the production of toxins in aquatic environments in which high eutrophication levels are observed. Towards this target, the research was carried out in the three steps that follow. In macrocosmic level (reservoir), the variations of the occurrence of both the cyanobacteria species and the remaining phytoplankton classes were found out, and then the toxic potentiality of the samples collected during the rainy season (January, February and March 1998) and the dry season (June, July, August and September 1998) in two sampling stations at the Salto Grande reservoir was analysed. In mesocosmic scale (tanks), the variations in the occurrences of the classes of phytoplankton and of the cyanobacteria species — as well as the variations in production of toxins as a function of the ratio N/P that was dealt with by means of dosing nitrogen and phosphorus in the water — were observed during the dry season. In microcosmic level (glass bottles “in lab”), the effect of reducing phosphorus (and consequently increasing the ratio N/P) on the growth and the production of toxins in cultures of *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing strains — isolated from bloom samples of this species at the Salto Grande reservoir, during the wet and the dry seasons — was tested. At the environment, the presence of microcystin in the water of all the samples, with the exception of the 25<sup>th</sup>

of February 1999, was detected. Apart from the station 2 during January 27<sup>th</sup> 1999 ( $39.53 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) and March 22<sup>th</sup> 1999 ( $3.98 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), the concentrations stayed below the limit of acceptability ( $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). At the experiments in mesocosmic scale, in 3 different conditions, increasing in phytoplankton density was observed. At the control condition (without manipulation), both reasonable augmentation of the percentage of the cyanobacteria contribution and diminishment of the other groups during the 11 days were detected. Under the condition of low N/P ratio, a slight rise of the percentage of the cyanobacteria and chlorophyceae contribution and a decrease of the cryptophyceae were observed; the other groups did not present much change. Under the condition of high N/P ratio, it was seen that the cyanobacteria increased, the chlorophyceae remained unaffected and the cryptophyceae decreased in comparison to the initial percentages. The conditions of the tanks that had been maintained at low N/P ratio favoured more the chlorophyceae. The cyanobacteria presented biomass augmentation under the conditions of the tanks that had been maintained with high N/P ratio. For every test at the microcosmic level, the exponential stage had begun at the 8<sup>th</sup> development day. After being experimented for nearly 18 days, yield decrease of the cultures at the environment ASM-1 with phosphorus reduction was observed. In every scale that had been studied, it was noted that the microcystin concentration is related to unfavourable factors as far as the development of the toxic species is concerned. However, the determining causes for the growth of toxic cyanobacteria played different roles in each scale studied. At the macrocosmic level, enrichment was the responsible for increasing the density of the toxic species. At the microcosmic level, phosphorus availability had been directly related to *Microcystis aeruginosa* growth rate and, therefore, to the increase of microcystin concentration.

Keywords: Phytoplankton; cyanobacteria, *Microcystis*; toxins; phosphorus; nitrogen-phosphorus ratio; eutrophic reservoir.

## 1. INTRODUÇÃO

A degradação da qualidade da água vem criando situações insustentáveis do ponto de vista de desenvolvimento, principalmente em regiões metropolitanas. Muitos rios e reservatórios encontram-se comprometidos pelos anos que serviram como meios de descarga e transporte de efluentes antropogênicos. No Brasil, os reservatórios eutróficos vêm recebendo águas altamente poluídas com esgoto sanitário e industrial. Em algumas regiões mais populosas do país, mesmo que todos os lançamentos de esgotos sejam interrompidos, serão necessários muitos anos e altos investimentos em ecotecnologias para que esses ecossistemas sejam recuperados.

O Brasil possui um grande número de reservatórios, a maioria deles localizada na região sudeste do país. Construídos no último século com o objetivo de gerar energia elétrica, fornecer água para abastecimento, irrigação, piscicultura ou recreação, os reservatórios desempenham importantes papéis ecológicos, econômicos e sociais.

Nas últimas décadas, muitos reservatórios vêm sofrendo freqüentes descargas de despejos domésticos e rejeitos industriais, principalmente nas regiões próximas aos grandes aglomerados urbanos. Nas demais regiões, o intenso desmatamento favorece o carreamento de solo para dentro dos corpos d'água, juntamente com uma série de subprodutos oriundos de atividades agropecuárias. Em consequência dessas alterações tem-se aumento da poluição orgânica, da eutrofização e da toxicidade no sistema.

No mundo inteiro, a eutrofização é condutora dos problemas de qualidade da água e os corpos d'água são classificados, principalmente, de acordo com seu grau de trofia. O processo de eutrofização cultural ocorre como resultado do aumento de nutrientes, da atividade biológica (produtividade), da matéria orgânica e

sedimentos oriundos da bacia de drenagem (CARMICHAEL, 1996). Em resposta ao enriquecimento de nutrientes, há um aumento na produtividade da comunidade fitoplanctônica, que passa a apresentar um crescente aumento na dominância, principalmente por espécies de cianobactérias, sendo cada vez mais comum a ocorrência de crescimento intenso de cianobactérias na superfície dos corpos d'água (anexo 1).

O estudo das florações de cianobactérias potencialmente tóxicas é de fundamental importância, principalmente se tratando de um reservatório de grande valor econômico e social, devido a seus usos múltiplos e localização próxima a grandes centros urbanos como é o reservatório de Salto Grande (Americana – SP). Portanto, este trabalho visou fornecer subsídios para formulação de prognóstico da ocorrência de cianobactérias e produção de toxinas em ambientes aquáticos com elevado grau de eutrofização.

Este estudo iniciou-se com uma revisão bibliográfica sobre cianobactérias, produção de toxinas e fatores ambientais que influenciam na ocorrência de florações. A partir destas informações foram levantadas hipóteses que foram testadas através de análises em campo e experimentos. De forma complementar, foi feita uma revisão sobre os métodos aplicáveis no gerenciamento de florações em mananciais (ver anexo 2).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CIANOBACTÉRIAS

Algas azuis (“blue-green algae”), mixofíceas, cianoprocaríotes, cianofitas, cianobactérias e cianofíceas são algumas das sinonímias usadas para denominar um mesmo grupo de organismos que apresentam uma combinação de propriedades encontradas em algas e bactérias. Os nomes cianobactéria, cianofíceas e algas azuis são válidos e compatíveis aos termos sistemáticos (BARTRAM et al., 1999).

As cianobactérias pertencem a um antigo grupo de organismos, presentes no planeta há 3 bilhões de anos (YOO et al. 1995). Constituem um grupo bastante ubíquo, seus habitats variam desde fontes termais, a águas geladas dos pólos. Existem espécies em águas continentais e marinhas, algumas também podem habitar ambientes terrestres, crescendo bem no solo ou sobre rochas (SMITH, 1955).

Constituem um extenso grupo de organismos que possuem células do tipo procarionte (ausência de núcleo individualizado) (GEITLER, 1932), clorofila *a* e produzem oxigênio através da fotossíntese associada aos fotossistemas I e II (CASTENHOLZ & WATERBURY, 1989 apud MUR et al., 1999); também apresentam pigmentos acessórios denominados ficobiliproteínas: a ficocianina, de coloração verde-azulada e a ficoeritrina, de coloração vermelha.

As cianobactérias podem ser unicelulares, coloniais e filamentosas, também pode ocorrer organização parenquimatosa simples. Não ocorrem células flageladas em nenhum estágio do ciclo de vida. Como outras bactérias, estes organismos não apresentam mitocôndrias, núcleo celular, complexo de golgi, retículo

endoplasmático e vacúolo limitado pelo tonoplasto (membrana unitária que limita o vacúolo) (VAN DER HOEK et al., 1995).

Em suma, as cianobactérias possuem uma série de características que as permitem dominar os ambientes lacustres eutróficos, tais como: capacidade de produção de pigmentos acessórios necessários para absorção mais eficiente da luz em qualquer habitat, habilidade em armazenar nutrientes essenciais e metabólitos em seu citoplasma, fixar nitrogênio atmosférico e acumular gás em vesículas (vacúolos gasosos ou aerótopos) que permitem movimento e ajuste de posição na coluna d'água (BARTRAM et al., 1999).

Em condições naturais, as cianobactérias convivem de forma equilibrada com os demais organismos presentes em lagos e reservatórios, não sendo comum a ocorrência de dominância de uma espécie sobre as demais. Porém, aumentos na carga de nutrientes no corpo d'água podem resultar no processo de eutrofização e favorecer a dominância de cianobactérias.

Relatos da ocorrência de florações de cianobactérias têm sido obtidos em vários estados do país, sendo *Microcystis aeruginosa* a espécie mais comum (TUNDISI & MATSUMURA-TUNDISI, 1992; BEYRUTH, et al. 1992; CALIJURI, 1999; CALIJURI et al., 1999; HUSZAR et al. 2000 e BEYRUTH et al. 2000).

## 2.2. CIANOTOXINAS

As toxinas produzidas por cianobactérias são divididas em três grupos, com relação à estrutura química: peptídeos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos (tabela 1). Os alcalóides podem ser neurotóxicos (anatoxinas e saxitoxinas), citotóxicos (cylindrospermopsinas) ou dermatotóxicos (aplysiatoxinas e lyngbyatoxina). São produzidos por espécies dos gêneros: *Anabaena*, *Planktothrix/Oscillatoria*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya*, *Schizothrix*, *Cylindrospermopsis* e *Umezakia*. Os lipopolissacarídeos (LPS) são toxinas irritantes e alergênicas, produzidas pela maioria dos gêneros de cianobactérias. Os peptídeos cíclicos hepatotóxicos (microcistinas e nodularinas) são as cianotoxinas encontradas com maior frequência em florações de água doce e salobra por todo mundo. As

microcistinas têm sido caracterizadas a partir de espécies de *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix/Oscillatoria*, *Nostoc*, *Anabaenopsis* e *Hapalosiphon*. A nodularina é exclusiva da *Nodularia spumigena* (SIVONEN & JONES, 1999).

Foram caracterizadas cerca de 65 variedades de microcistinas, a partir de amostras de florações e cepas isoladas de cianobactérias. Elas diferem em suas combinações de um de seus dois L-aminoácidos (SIVONEN & JONES, 1999). Muitas dessas variedades são altamente tóxicas, apresentando DL<sub>50</sub> (i.p.) entre 50 µg.kg<sup>-1</sup> e 300 µg.kg<sup>-1</sup> de massa corpórea de camundongos. Após a exposição aguda, através de injeção intravenosa (i.v.) ou intra-peritonal (i.p.) de microcistina, ocorrem graves danos ao fígado, caracterizados pelo rompimento de suas estruturas celulares (devido a danos no citoesqueleto), perda na estrutura sinusoidal, aumento da sua massa devido à hemorragia intra-hepática, alteração da circulação sanguínea, parada cardíaca e morte (KUIPER-GOODMAN et al., 1999).

**Tabela 1.** Características gerais das cianotoxinas.

GRUPO DA TOXINA	ALVO PRIMÁRIO EM MAMÍFEROS	GÊNEROS DE CIANOBACTÉRIA
<b>Peptídeo cíclico</b>		
Microcistinas	Fígado	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Anabaenopsis</i>
Nodularina	Fígado	<i>Nodularia</i>
<b>Alcalóides</b>		
Anatoxina-a	Nervo sináptico	<i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i> , <i>Aphanizomenon</i>
Anatoxina-a (S)	Nervo sináptico	<i>Anabaena</i>
Aplisiotoxina	Pele	<i>Lyngbya</i> , <i>Schizothrix</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i>
Cylindrospermopsinas	Fígado	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Umezakia</i>
Lyngbyatoxina-a	Pele, trato gastrointestinal	<i>Lyngbya</i>
Saxitoxinas	Nervo axônico	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i>
<b>Lipopolissacarídeos (LPS)</b>	Potencial irritante; afeta qualquer tecido exposto	Todos

Estudos do mecanismo de ação das hepatotoxinas demonstraram que várias microcistinas e a nodularina são potentes inibidores da proteína fosfatase 1 e 2A em células eucariontes. A proteína fosfatase funciona como importante regulador que mantém a homeostasia da célula. A inibição da proteína fosfatase resulta em mudança no equilíbrio celular, aumentando a fosforilação das proteínas, podendo resultar em proliferação celular, mutação e promoção de tumor (FUJIKI et al., 1996).

Em ambientes aquáticos essas toxinas normalmente permanecem contidas nas células das cianobactérias e são liberadas em quantidade considerável após a lise celular, que ocorre durante a fase de senescência (morte natural), estresse celular, uso de algicidas, como sulfato de cobre ou cloração. Portanto, a ocorrência de espécies potencialmente produtoras dessas substâncias, em nossos ambientes aquáticos, precisa ser muito bem investigada e monitorada a fim de evitar danos à saúde animal, humana e ao próprio ecossistema como um todo.

### **2.3. PREJUÍZOS A SAÚDE**

As florações de cianobactérias causam amplos impactos sociais, econômicos e ambientais, não apenas por sua biomassa contribuir para problemas estéticos como as “natas” verdes na superfície e o odor desagradável, mas também por dar sabor à água tratada para abastecimento. A decomposição dessas florações leva à desoxigenação, alterando a química da água e afetando a capacidade de sobrevivência de muitos organismos aquáticos. A produção de metabólitos secundários bioativos, com propriedades altamente tóxicas, pode afetar, direta ou indiretamente, a saúde de muitos animais, inclusive do homem (CARMICHAEL, 1996).

Um crescente aumento no número de registros de danos causados à saúde da população e do ambiente, pelo desenvolvimento de populações de cianobactérias, tem sido relatado ao longo dos anos, dentre eles, casos graves de intoxicação humana ocorridos no Canadá (DILLENBERG & DEHNEL, 1960), Austrália (BYTH, 1980 e PILOTTO et al., 1997) e no Reino Unido (TURNER et al. 1990). Inúmeros são os casos de intoxicação seguidos de morte de animais silvestres

e domésticos, sendo que o caso mais antigo encontrado na literatura ocorreu em 1878, que se reporta a envenenamento em lago australiano (FRANCIS, 1878 apud YOO et al. 1995).

### 2.3.1. Envenenamento Humano

Registros de casos de doenças gastrointestinais e hepáticas, que podem ser atribuídas à presença de toxinas de cianobactérias na água, coincidem com a morte natural de florações de cianobactérias ou com a lise artificial da floração devido à aplicação de sulfato de cobre. Ambos mecanismos levam à liberação de cianotoxinas das células em decomposição. As opções de tratamentos para remoção de cianotoxinas contidas em células intactas não são eficientes na remoção de cianotoxinas dissolvidas na água.

TISDALE (1931) reportou um dos primeiros casos de gastroenterite causado por cianobactérias, que ocorreu numa série de cidades ao longo do Rio Ohio em 1931. Devido à diminuição das chuvas, houve desenvolvimento de uma floração de cianobactérias em um dos braços do rio, que se espalhou por vários rios. Conforme esta água foi percorrendo rio abaixo, vários casos de doenças foram sendo relatados, os quais não foram atribuídos a um agente infeccioso.

Em Harare, Zimbabwe, crianças que viviam numa área abastecida por um determinado reservatório de água, desenvolviam gastroenterites todo ano, sempre no período em que a floração natural de *Microcystis* morria no reservatório. Outras crianças da cidade, que recebiam diferente abastecimento de água, não foram afetadas. Nenhum agente infeccioso foi encontrado (ZILBERG, 1966).

Exemplos de doenças, seguidas do uso de sulfato de cobre para controle de florações de cianobactérias em reservatórios de água para abastecimento, têm sido descritos nos Estados Unidos e na Austrália. Em cada um destes casos o gênero de cianobactéria tem sido identificado. Em um dos incidentes, 62% da população abastecida por um suprimento de água filtrada e clorada, desenvolveu sintomas de gastroenterite por um período de cinco dias. Nenhum patógeno foi encontrado e concluiu-se que uma floração de cianobactérias no reservatório com

mais de 100000 células por mL de *Schizothrix calcola*, *Plectonema*, *Phormidium* e *Lyngbya* foram as responsáveis. O reservatório tinha acabado de receber aplicações de sulfato de cobre (LIPPY & ERB, 1976).

Segundo BOTES et al. (1985), em Armidale, Austrália, o reservatório de água para abastecimento tem sido monitorado devido a ocorrência de florações tóxicas de *Microcystis* por vários anos. Quando uma floração particularmente densa ocorreu, durante três semanas a água do reservatório foi tratada com 1 ppm (parte por milhão) de sulfato de cobre, que matou a floração. Um estudo epidemiológico da população local indicou que ocorreram danos no fígado simultaneamente com o termino da floração.

O caso mais severo de morte de cianobactérias tóxicas ocorreu numa ilha na costa nordeste da Austrália. Devido a reclamações sobre o gosto e odor na água tratada, que foi atribuído a floração de cianobactérias, o reservatório foi tratado com sulfato de cobre. Dentro de uma semana, várias crianças desenvolveram graves hepatoenterites, e um total de 140 crianças e 10 adultos necessitaram internação hospitalar (BYTH, 1980). *Cylindrospermopsis raciborskii* foi identificada como a cianobactéria responsável por este episódio.

Dentre a população humana, por uma série de razões, existem indivíduos que correm um risco muito maior de intoxicação por cianotoxinas do que outros. As crianças são o exemplo mais óbvio, porque elas bebem um volume de água, para o seu peso corpóreo, proporcionalmente maior se comparado a um adulto. Indivíduos que já apresentaram injúrias em órgãos susceptíveis a toxinas de cianobactérias também correm maiores riscos, como pessoas com hepatite, cirrose hepática, problemas hepáticos por causas diversas ou problemas nos rins. Pacientes de hemodiálise, se expostos a microcistinas dissolvidas na água usada para diálise, são especialmente vulneráveis porque o tratamento os expõe de forma intravenosa a grandes volumes de água.

No Brasil, o caso mais grave ocorreu em Caruaru, em fevereiro de 1996, quando cinquenta pessoas submetidas a hemodíalises morreram por intoxicação hepática causada pela microcistina, toxina produzida por cianobactérias, documentadas em detalhes por JOCHIMSEN et al. (1998) e CARMICHAEL et al.

(2001). Na clínica de hemodiálise 117 dos 136 pacientes (86%) sofreram distúrbios visuais, náuseas, vômitos, fraqueza muscular e dolorida hepatomegalia, após receber o tratamento de hemodiálise de rotina. Subseqüentemente, 100 pacientes desenvolveram insuficiência hepática aguda e 50 pessoas morreram. Em outubro de 1997, 49 mortes foram atribuídas a uma causa comum chamada de “Síndrome de Caruaru”. Esta síndrome inclui:

- Sintomas: dolorosa hepatomegalia, icterícia e sangramento manifestado através de equimoses (manchas), epistaxe (hemorragia nasal) e metrorragia (hemorragia no útero).
- Quadro clínico: elevada transaminase, hiperbilirrubinemia variável, protrombina prolongada e hipertrigliceridemia.
- Histopatologia: microscopia comum – ruptura e deformidade das células do fígado, necrose, colestase, infiltração de leucócitos e hepatócitos multinucleados; microscopia eletrônica – edema intracelular, mudanças nas mitocôndrias, alterações no retículo endoplasmático, vacúolos lipídicos e corpos residuais.

O padrão de ruptura da estrutura do fígado foi idêntico ao obtido previamente em experimentos com animais de laboratório expostos a microcistina.

Com relação aos casos de Caruaru as notícias iniciais, no começo de março de 1996, de médicos e profissionais da área da saúde de Pernambuco, implicavam em vários organismos estranhos como possíveis responsáveis pelo conjunto das fatalidades humanas. Entretanto, comparações com os conhecimentos prévios sobre cianotoxicoses, de outras partes do mundo, sugeriram que toxinas de cianobactérias poderiam ser responsáveis. Como as contagens das células fitoplanctônicas não estavam sendo feitas pelos órgãos regionais durante o período desta floração, a presença de cianobactérias tóxicas ou microcistina não pode ser confirmada ou evitada. As avaliações das contagens anteriores das células fitoplanctônicas mostraram que as cianobactérias eram dominantes no reservatório durante os meses de verão desde 1990, com os gêneros mais comuns sendo *Microcystis*, *Anabaena* e *Anabaenopsis* (*Cylindrospermopsis*). Amostras coletadas no dia 29 de março de 1996 mostraram que as cianobactérias mais comuns presentes

foram *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* e *Spirulina* (24500 células por mL) (JOCHIMSEN et al., 1998).

O carvão ativado do sistema de tratamento de água da clínica de hemodiálise apresentou picos cromatográficos característicos das microcistinas quando analisado através de cromatografia líquida. Análises posteriores do carbono, da areia e dos filtros de troca iônica indicaram a presença de microcistinas na faixa de ppm. O soro sanguíneo dos pacientes afetados e monitorados, e amostras do tecido do fígado dos pacientes mortos, apresentaram concentrações de microcistina acima de  $10 \text{ ng.mL}^{-1}$  no soro e de  $0,1$  a  $0,5 \text{ ng.mg}^{-1}$  no tecido hepático. Todas as amostras de soro ou tecido dos pacientes expostos apresentaram presença de microcistinas (JOCHIMSEN et al., 1998).

Outro episódio que se destacou, foi a epidemia de gastroenterite na região de Paulo Afonso na Bahia após a construção do reservatório de Itaparica em 1988. Dos 2000 casos de gastroenterite, 88 resultaram em mortes (TEIXEIRA et al., 1993). Os dados clínicos e as análises das amostras de água foram revistos. Amostras de sangue e fezes dos pacientes de gastroenterite foram submetidos a testes bacteriológicos, virológicos e toxicológicos e amostras de água foram submetidas a análises de microorganismos e metais pesados. Os resultados indicaram que a presença de toxinas produzidas por cianobactérias foi o agente responsável. Nenhum outro agente infeccioso ou toxina foi identificado. Ocorreram casos em pacientes que só bebiam água filtrada. Os casos foram restritos a áreas abastecidas com água desta barragem. Os gêneros *Anabaena* e *Microcystis* estiveram presentes na água bruta numa concentração de 1104 a 9755 colônias por mL (a conversão de unidade de colônia para células por mL depende de seu tamanho, mas um mínimo de 100 células por colônia é comum numa floração mista deste gênero) (KUIPER-GOODMAN et al., 1999).

Enquanto a toxicidade aguda é o problema de envenenamento mais óbvio, o risco a longo prazo também está presente. Curtas exposições a toxinas podem resultar em danos em longo prazo. Exposições crônicas a baixas concentrações podem causar efeitos adversos à saúde. Experimentos com animais têm apresentado danos hepáticos crônicos a partir de exposição oral contínua a

microcistinas. A possibilidade de aparecimento de tumor e câncer deve ser avaliada cuidadosamente, porque ambos ocorreram em experimentos com animais (KUIPER-GOODMAN et al., 1999).

O incidente na China com o aparecimento de carcinoma hepatocelular foi um dos maiores do mundo. Estudos têm indicado que toxinas de cianobactérias são parte de um complexo de fatores de risco que aumentam a incidência de doenças. A distribuição de carcinoma hepatocelular varia geograficamente. No sudeste da China, taxas menores que 15 incidentes por 100000 pessoas foram observadas em alguns distritos, comparadas com mais de 60 incidentes por 100000 pessoas em localidades adjacentes. Dois prováveis fatores de risco são infecção pelo vírus da hepatite B e a ingestão de aflatoxina através de itens alimentícios, como grãos. O terceiro elemento associado foi a água de abastecimento. Em um povoado, baixas taxas de mortalidade por câncer foram obtidas quando a água foi retirada de poços profundos, comparadas com as altas taxas obtidas quando a água vinha de açudes e represas. As cianobactérias são abundantes na superfície da água no sudeste da China onde a incidência de carcinoma hepático é maior. Tem sido proposto que microcistinas na água de abastecimento são responsáveis pelas altas incidências de câncer sobre as pessoas que bebem água de açudes e represas. Atualmente, os três fatores de risco estão sendo reduzidos na China e as taxas de câncer no fígado parecem estar diminuindo (YU, 1995).

Repetitivas descrições de conseqüências adversas à saúde em pessoas que nadaram em locais com florações de cianobactérias têm ocorrido. Até mesmo o menor contato com cianobactérias em banhos pode levar a irritações na pele e aumentar a probabilidade de sintomas gastrointestinais (PILOTTO et al., 1997). Alguns casos de graves reações na pele têm sido relatados, principalmente pelo contato com a cianobactéria marinha, *Lyngbya majuscula*, que causou bolhas quando presa sob os trajes de banho dos banhistas (GRAUER, 1961).

A sensibilidade a cianobactérias em água de banho varia muito, porque elas podem causar reações alérgicas ou reações diretas a toxina. Os pigmentos de cianobactérias podem causar graves reações alérgicas em indivíduos sensíveis (COHEN & REIF, 1953). Cianobactérias tem características em comum

com alergênicos aéreos. Estudos têm demonstrado respostas alérgicas a cianobactérias em pacientes com alergia nasal ou bronquial (MITTAL et al., 1979).

### 2.3.2. Envenenamento Animal

Numerosos casos de envenenamento animal (freqüentemente letal) comprovam a preocupação com os riscos à saúde humana exposta a cianobactérias. Os primeiros relatos de envenenamento por cianobactérias foram as mortes de gado, carneiros, cachorros, cavalos e porcos após beberem uma nata de *Nodularia spumigena* no Lago Alexandrina, Austrália (FRANCIS, 1878). Francis confirmou a causa do envenenamento através de um bezerro com resquícios de floração do lago, que subseqüentemente causou a morte do animal. Desde aquela época, têm ocorrido freqüentes casos de envenenamento de animais de fazendas por florações de cianobactérias e também de animais de estimação após nadarem ou ingerirem cianobactérias. Outros animais afetados são patos, marrecos e outras aves aquáticas, mamíferos silvestres em geral, e até mesmo rinocerontes (CARMICHAEL, 1992). Além do consumo de cianobactérias da água, tem sido sugerido que uma forma adicional de intoxicação para animais terrestres são as cianotoxinas que bioacumulam na cadeia alimentar. Por exemplo, os mexilhões acumulam microcistinas (PREPAS et al., 1997) e saxitoxinas (NEGRI & JONES, 1995), e os moluscos são importante fonte alimentícia para aves e roedores.

Para que se possa provar a causa da intoxicação é necessário identificar a substância tóxica no corpo da vítima. Um dos casos mais convincentes de envenenamento de mamíferos foi à morte de um carneiro que bebeu água de uma represa contaminada com *Anabaena circinalis* neurotóxica na Austrália (NEGRI et al., 1995). Os autores detectaram a presença de altas concentrações de saxitoxinas de cianobactérias na represa e nos fluidos do rumem do carneiro morto.

Outra causa de morte de gado e animais domésticos, devido à toxina de cianobactérias, têm sido a neurotoxicidade aguda, que leva à falência respiratória, sem indícios de danos nos órgãos depois da morte. Em um dos casos a neurotoxina, anatoxina-a, foi isolada do conteúdo estomacal de um cachorro (GUNN et al., 1992).

HENRIKSEN et al. (1997) demonstrou a mortandade de patos devido à anatoxina-a(S). As cianobactérias associadas com as mortes por neurotoxicidade foram *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon flos-aquae* e *Oscillatoria* spp.

#### 2.4. FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM AS FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS

Os fatores que promovem florações de algas tóxicas geralmente são os mesmos para a maioria das espécies de cianobactérias; todavia, a produção de toxinas pode não ser influenciada por esses fatores na mesma dimensão que as florações (YOO et al., 1995). A identificação dos fatores ambientais específicos promotores de florações tem sido objeto de muitas pesquisas. Sabe-se, entretanto, que um fator isolado não age como um promotor real. Em geral, as condições ambientais que favorecem as cianobactérias incluem: (1) moderadas a altas concentrações de nutrientes inorgânicos essenciais, como nitrogênio e fósforo, (2) temperatura da água entre 15°C e 30°C, e (3) pH entre 6 e 9 ou maior (SKULBERG et al. 1984 apud YOO et al., 1995).

YOO et al. (1995) apresentam uma série de fatores que influenciam o desenvolvimento de florações, tais como: temperatura, disponibilidade de luz, nitrogênio, fósforo, micronutrientes, pH, alcalinidade, condições hidrológicas (turbulência) e meteorológicas, morfometria do reservatório e características próprias das espécies, como produção de toxinas e flutuabilidade. Com relação às características morfométricas de um corpo d'água, de acordo com BARTRAM et al. (1999), após o represamento de um rio, os aumentos do tempo de residência e da área de superfície exposta à radiação solar, mudam as condições de crescimento dos organismos e promovem oportunidades para o crescimento de cianobactérias e a formação de florações.

Para REYNOLDS (1980), considerando os aspectos físicos do ambiente, as cianobactérias, frequentemente, exibem crescimento e características reprodutivas favoráveis sob condições consideradas “extremas”. Um exemplo é a

progressão de florações em águas estratificadas. Geralmente, as florações dos gêneros *Microcystis*, *Anabaena* e *Aphanizomenon* se estabelecem na superfície da água, ocorrem preferencialmente em situações de estabilidade térmica e, às vezes, química ou coluna d'água estratificada. Para esses gêneros, a posição vertical na coluna d'água pode ser rapidamente ajustada através de alteração na flutuabilidade.

Sob condições de mistura, a capacidade de flutuar ou estabilizar-se é ineficiente para manter a cianofíceas nas profundidades preferidas. A mistura turbulenta movimentada as cianobactérias livremente ao longo da coluna d'água, juntamente com os outros grupos fitoplanctônicos. Essas mudanças físicas forçam as cianobactérias a competirem mais diretamente pelos regimes de temperatura, radiação e nutrientes com os demais grupos fitoplanctônicos que prosperam sob condições de mistura completa, incluindo as clorofíceas, diatomáceas, crisofíceas e alguns gêneros de microflagelados (TALLING, 1982). Mudanças na dominância fitoplanctônica como respostas à periodicidade e magnitude das misturas verticais são, freqüentemente, mais marcantes em reservatórios eutróficos que podem apresentar maciças florações de cianobactérias em situações de calmaria (FOGG, 1968).

Segundo ROBARTS (1984), sob condições de estratificação vertical, a radiação fotossinteticamente ativa, CO<sub>2</sub> e nutrientes inorgânicos podem, freqüentemente, ser limitantes ao longo de gradientes verticais bem definidos. A capacidade de alterações da orientação da célula ao longo desses gradientes é de grande importância, até mesmo essencial. A velocidade de migração de algumas cianobactérias na coluna d'água é superior à de eucariontes flagelados. Sendo assim, em coluna d'água fortemente estratificada, mantendo gradientes estáveis de radiação fotossinteticamente ativa, CO<sub>2</sub>, e concentrações de nutrientes, a habilidade de compensar rapidamente a flutuabilidade e se estabilizar, é uma grande vantagem sobre as espécies eucariontes que não possuem meios eficientes de migração vertical. A flutuação positiva persistente leva ao acúmulo de uma "nata" de população em estabilidade, próxima às camadas superiores da coluna d'água (ROBARTS, 1984). Essas populações podem, efetivamente, captar mais radiação fotossinteticamente ativa incidente e recursos atmosféricos como CO<sub>2</sub> e nutrientes inorgânicos enquanto sombreiam as populações da sub-superfície que não flutuam. Espécies de

cianobactérias que formam florações podem possuir meio efetivo de proteção aos seus aparatos fotossintéticos e outros constituintes celulares contra a fotooxidação na superfície de água que recebe muita radiação ultravioleta. A formação de “nata” na superfície pode ser vista como um forte mecanismo adaptativo direcionado à utilização ótima de vários recursos ambientais, enquanto, ao mesmo tempo, restringe a transmitância da radiação fotossinteticamente ativa (e porventura a difusão do CO<sub>2</sub>) para a população fitoplanctônica da sub-superfície, potencialmente competitiva. O controle da flutuabilidade em colunas d’água estratificadas também proporciona um importante mecanismo para manutenção de gêneros metalimnéticos (PEARL, 1988).

De acordo com a revisão feita por PEARL (1988), as algumas cianobactérias possuem vários meios de utilização da matéria orgânica para satisfazer os requerimentos de energia, crescimento e produção de metabólitos. Vários estudos sistemáticos e ecológicos têm relacionado a promoção do crescimento e dominância de cianobactérias com ambientes que apresentam enriquecimento de matéria orgânica. Águas eutróficas e hipereutróficas, ricas em matéria orgânica dissolvida, são particularmente suscetíveis a florações de cianobactérias.

Outro fator de grande importância é a disponibilidade de nutrientes na água. As cianobactérias apresentam alta afinidade por compostos de nitrogênio e de fósforo, favorecendo-as na competição com outros organismos fitoplanctônicos sob limitação de nitrogênio ou fósforo (MUR et al., 1999). Além disso, as cianobactérias possuem um mecanismo de estoque de fosfato (“luxury uptake”), que lhes permite armazenar fosfato suficiente para realizar de 3 a 4 divisões celulares; sendo assim, uma célula pode se multiplicar em 8 ou 16 células sem necessidade de assimilar mais fosfato, e a biomassa pode ser multiplicada por dez ou mais vezes quando fosfato dissolvido estiver completamente exaurido do meio (CHORUS & MUR, 1999).

Para SCHREURS, 1992 apud MUR et al., 1999, o desenvolvimento de florações de cianobactérias pode ser favorecido pela baixa razão entre as concentrações de nitrogênio e fósforo. A razão N/P ótima para algas eucariontes situa-se entre de 16 e 23 átomos de N para 1 átomo de P, enquanto que para a formação de florações de cianobactérias, entre 10 e 16 átomos de N para 1 átomo de P. Todavia, as cianobactérias dominantes sob razões N/P baixas, nem sempre são

fixadoras de nitrogênio, indicando que a habilidade de algumas espécies em assimilar nitrogênio orgânico (seja pelo seu próprio metabolismo ou por associação com bactérias) é importante no estabelecimento da dominância de uma espécie de cianobactéria (YOO et al., 1995).

Em geral, a biomassa fitoplanctônica necessita apenas cerca de 1/7 da quantidade de fósforo comparada à de nitrogênio. No entanto, fósforo é o recurso que mais frequentemente limita o crescimento fitoplanctônico em ambientes aquáticos tropicais (CHORUS & MUR, 1999). Porém, se as concentrações de nutrientes estiverem em excesso, a biomassa fitoplanctônica será limitada pela luz (a menos que outros fatores como fluxo hidrológico previna o crescimento).

## **2.5. FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE CIANOTOXINAS**

De acordo com SIVONEN & JONES (1999), estudos em laboratório com cepas puras de cianobactérias têm mostrado que fatores ambientais podem induzir mudanças na toxicidade ou concentração de toxinas por unidade de biomassa, por fator normalmente inferior a três ou quatro. Essas observações suportam a suposição de que a maioria das variações na toxicidade de uma floração natural monoespecífica é decorrente de um conjunto de cepas de uma mesma espécie, mas com variações nas cotas de toxina. Os fatores que controlam o crescimento e a produção de toxinas das cepas individuais ainda não são conhecidos, mas sabe-se da existência de regulação genética da produção de cianotoxinas.

Tanto cepas tóxicas como não tóxicas coexistem entre muitas espécies de cianobactérias. Quando crescem em laboratório, uma determinada cepa sempre produz mais toxina do que outra, com diferenças, na ordem de três vezes ou mais (BOLCH et al., 1997). Entretanto, até o momento não foram encontradas diferenças morfológicas entre cepas tóxicas e não tóxicas, para isso tem-se utilizado métodos de biologia molecular (SIVONEN & JONES, 1999).

Vários experimentos com cultivo têm sido realizados a fim de se compreender como os fatores ambientais afetam o crescimento e a produção de

toxinas em cianobactérias. Os parâmetros normalmente avaliados são: idade da cultura em sistema tipo “Batch”, temperatura, intensidade luminosa, nutrientes, salinidade, pH e micronutrientes.

UTKILEN & GJOLME (1992) estudaram os efeitos da intensidade e qualidade da luz sobre a produção de toxina em culturas contínuas de *Microcystis aeruginosa*. A toxicidade e a taxa de produção de toxina aumentaram com intensidades luminosas até  $40 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e diminuiu em intensidades luminosas superiores, enquanto que a razão entre toxina e proteína foi constante a partir de intensidade luminosas maiores que  $40 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Os autores concluíram que a intensidade luminosa é um importante fator no controle da taxa de produção de toxinas peptídicas em *Microcystis aeruginosa* e que mudanças neste fator físico pode desassociar a produção de toxinas da síntese protéica convencional.

LUKAC & ANGERTER (1993) descreveram o efeito de vários metais traço na taxa de crescimento e produção de toxina em cultura de *Microcystis aeruginosa* em meio BG11. Os autores não observaram nenhum efeito significativo do Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Sn sobre a produção de toxinas sob concentrações não tóxicas destes metais. Entretanto, obtiveram efeitos significativos do Zn e Fe sobre a quantidade de toxina produzida. Com relação ao Zn, sob concentrações de 0,01-0,25  $\mu\text{M}$ , que é menor que a concentração normal do meio BG11 (0,77  $\mu\text{M}$  Zn), os autores observaram uma taxa de crescimento 1,5 vezes maior que na condição BG11 padrão e um aumento da produção de toxina de aproximadamente 30%. O Fe apresentou efeitos mais pronunciados sobre a taxa de crescimento e produção de toxinas, pois sob concentração de Fe de 0,1-2,5  $\mu\text{M}$  a produção de toxina aumentou para 138% em relação ao controle (28  $\mu\text{M}$  Fe), apesar de não ter ocorrido mudanças na taxa de crescimento (LUKAC & ANGERTER, 1993).

As espécies não fixadoras de nitrogênio produzem mais toxinas sob condições de maior concentração de nitrogênio (CODD & POON, 1988; UTKILEN & GJOLME, 1995; WATANABE & OISHI, 1985; ORR & JONES, 1998). Já as espécies fixadoras de nitrogênio não dependem deste nutriente no meio para produzir toxina (LEHTIMÄKI et al., 1997).

Os experimentos com culturas contínuas do tipo “batch”, realizadas por LONG et al. (2000), mostraram que o conteúdo de microcistina em células de *Microcystis aeruginosa* sob condições limitantes de nitrogênio pode ser prognosticado a partir da taxa de crescimento, sendo que, com rápido crescimento, a célula contém maiores concentrações intracelulares de microcistina. Os autores propõem um modelo no qual o  $Q_{MCYST}$  (concentração de microcistina por célula) é dependente das constantes  $Q_{MCYSTmax}$ ,  $Q_{MCYSTmin}$  e  $\mu_{max}$  (taxa de crescimento específico) calculados a partir de culturas com nitrogênio limitante e saturado (a uma certa temperatura e luminosidade). Além disso, pode ser determinada a taxa líquida de produção de microcistina ( $R_{MCYST}$ ).

A descoberta de LONG et al. (2000) demonstrou quantitativamente que, sob limitação de nitrogênio, a cota de microcistina em células de *Microcystis aeruginosa* é uma função da taxa de crescimento e como esta taxa é controlada pela cota celular de nitrogênio sob condições de limitação de nitrogênio, conseqüentemente a cota de microcistina também é regulada pela cota de nitrogênio.

As observações de LONG et al. (2000) são contraditórias ao modelo de regressão antecipado por OH et al. (2000), que prognosticou uma produção líquida de microcistina a taxa de crescimento zero ( $\mu = 0$ ), o que implicaria numa contínua produção de microcistina mesmo quando a divisão celular para, resultando num aumento de toxina em células sem divisão.

OH et al. (2000) obteve uma correlação negativa entre a razão MCYST/massa seca e a taxa de crescimento em condição de fósforo limitante. O conteúdo de microcistina na célula, encontrado pelos autores, a uma taxa de crescimento de  $0,1 \text{ dia}^{-1}$  foi  $1113 \mu\text{g.g}^{-1}$ , o dobro de  $555 \mu\text{g.g}^{-1}$  a uma taxa de crescimento de  $0,8 \text{ dia}^{-1}$ , isso significou que mais microcistina por unidade de massa seca foi produzida em condições mais limitadas por fósforo.

A massa seca das cianobactérias é afetada diferentemente pela limitação de nitrogênio ou fósforo, demonstrando que a regulação fisiológica da produção de massa seca muda sob a limitação de diferentes nutrientes, pois cada um deles é necessário para sínteses distintas. Pode ser que a diferença observada entre os

resultados obtidos por OH et al. (2000) e LONG et al. (2000) seja resultante da diferença das mudanças de peso sob limitação de nitrogênio e fósforo.

Baseado na teoria de que a microcistina é um metabólito secundário e não essencial (CARMICHAEL, 1992), para ORR & JONES (1998) a cota de microcistina por célula deveria ser dramaticamente reduzida durante a limitação de nitrogênio para divisão celular, com o nitrogênio sendo desviado para os aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos essenciais. Portanto, isto provavelmente sugeriria que a cota de microcistina, que pode variar de três a quatro vezes a ordem de magnitude entre cepas, é controlada amplamente por fatores genéticos dentro de uma cepa (CARMICHAEL, 1997).

Contudo, o efeito de qualquer parâmetro ambiental na concentração de microcistina de uma população em cultura ou de cepas específicas numa população mista em campo, é influenciado principalmente pelos efeitos globais sobre a taxa de aumento ou declínio da cultura ou cepa, não pela influencia individual e específica na biossíntese de microcistina ou caminhos catabólicos (ORR & JONES, 1998).

## **2.6. RAZÃO N/P E CARGA DE FÓSFORO**

Existem diversas formas de determinar a razão N/P. Originalmente, REDFIELD (1958) propôs o cálculo da razão N/P utilizando o número de átomos de N presentes na concentração de nitrato e o número de átomos de P presentes na concentração de fosfato na água. Este mesmo autor constatou uma coincidência entre a composição elementar do plâncton marinho e a proporção de nitrogênio e fósforo disponível na água do mar. Muitos trabalhos utilizaram a razão atômica N/P proposta por Redfield, dentre eles, PADISÁK & ISTVÁNOVICS (1997) e KRIENITZ et al. (1996).

HECKY (1993) calculou a razão N/P levando em conta o número de átomos de N e de P presentes em material particulado. Para isso, as amostras foram filtradas e determinaram-se as concentrações de N e de P que ficaram retidas nos filtros. HEANEY et al. (1996) utilizaram a razão de HECKY (1993) e compararam à razão de REDFIELD (1958). MACKAY & ELSER (1998) utilizaram a razão de

HECKY (1993) e a razão atômica  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ : SRP (fósforo reativo solúvel) para discutir a reciclagem de nutrientes por *Daphnia*.

BARICA (1990) definiu várias formas de calcular a razão N/P e as expressa em massa atômica. Para determinar a razão entre as espécies particuladas (Part. N/ Part. P), este autor analisou a porção retida do filtro após a digestão da matéria orgânica. Na obtenção da razão entre os nutrientes inorgânicos dissolvidos (DIN: DIP), o filtrado foi analisado, sendo que para o nitrogênio inorgânico dissolvido foi considerada a soma de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato, e o fósforo inorgânico dissolvido foi o fósforo solúvel reativo (SRP). Na determinação da razão entre as espécies totais dissolvidas (TDN: TDP), o autor analisou o filtrado irradiado com UV, para obtenção dos nutrientes inorgânicos dissolvidos mais os orgânicos dissolvidos. Para calcular a razão entre os nutrientes totais (TN: TP), foram somados os nutrientes particulados com os totais dissolvidos. O autor (op. cit.) concluiu que existe uma flutuação sazonal da razão N/P. As razões particulada e total parecem ser as formas que menos flutuam e estão próximas da verdadeira razão celular. A razão DIN: DIP apresentou a maior flutuação. A razão entre as formas dissolvidas parece ser a mais usada para experimentos de enriquecimento, mas sua validade para caracterização de lagos é questionável. A razão N/P particulada é mais trabalhosa e a razão N/P total parece ser a mais prática.

KÖHLER (1994) utilizou a razão de massa DIN: DRP ou DIN: DIP. ELSER et al. (1990), SCHÖLLHORN & GRANÉLI (1993 e 1997) e DASÍ et al. (1998) adotaram a razão atômica DIN: DIP. MICHARD et al. (1996) trabalharam com razão de massa TN: TP. TAKAMURA et al. (1992) calculou a razão TN: TP, mas não informou se foi por número de átomos ou massa atômica. Notou-se que não há um consenso na maneira de se determinar a razão N/P, mas é fundamental que cada autor esclareça como encontrou tais razões para que comparações sejam possíveis. Muitos trabalhos discutem a influência da razão N/P sobre a comunidade fitoplanctônica, mas não especificam a forma com ela que foi calculada. Existe uma diferença significativa no cálculo da razão através do número de átomos ou da massa atômica. A razão atômica é sempre maior que a razão de massas atômicas, pois o átomo de fósforo ( $30,9738 \text{ g.mol}^{-1}$ ) é mais pesado que o de nitrogênio ( $14,0067 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

De acordo com CALIJURI (1999), as concentrações de nutrientes na água refletem o balanço entre as variações temporais das taxas de absorção e de mineralização. A autora (op. cit.) ressalta que os ciclos dos macro e micro-nutrientes estão intimamente ligados aos processos biológicos, e as proporções atômicas na biota refletem o modo pelo qual os nutrientes são processados no sistema aquático.

Seis elementos (carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre) são classificados como macro-nutrientes, pois cada um compreende mais de 0,5% da biomassa do citoplasma íntegro e pelo menos 1% de sua massa (REYNOLDS, 1997). A estequiometria mais aceita, proposta por STUMM & MORGAN (1981), está apresentada na tabela 2. Seguindo práticas estabelecidas e de acordo com a razão de Redfield de taxa de absorção (REDFIELD, 1958), os valores estão relacionados ao conteúdo de fósforo das células. Isso significa que, para a manutenção do citoplasma da maior parte dos organismos fitoplanctônicos, são assimilados por volta de 1 mol de fósforo e 16 mols de nitrogênio por cada 106 mols de carbono incorporado.

**Tabela 2.** Composição química das algas e abundância relativa dos componentes, segundo as razões de Redfield, atômica e de massa, em relação ao fósforo.

	C	H	O	N	P	S	Fe
Atômica	106	263	110	16	1	0,7	0,05
Massa	42	8,5	57	7	1	0,7	0,1

Fonte: REYNOLDS (1997).

Segundo REYNOLDS (1997), o papel do fósforo como regulador da produtividade biológica em sistemas aquáticos foi suposto mesmo antes que suas concentrações na água pudessem ser medidas precisamente. A quantidade de fósforo disponível, freqüentemente, está acima do limitante para produtividade de biomassa. As algas fitoplanctônicas possuem elaborados mecanismos para seqüestrar e armazenar fósforo disponível, o que dificulta julgar a disponibilidade a partir de concentrações de fósforo solúvel na água. Alguns pesquisadores acham mais praticável usar a concentração de fósforo total (TP) para descrever a fertilidade de

um rio ou lago, que contempla o fósforo intracelular, disponível para a célula algal (REYNOLDS, 1997).

Normalmente existe uma forte relação entre a biomassa algal em campo e a quantidade de fósforo presente (REYNOLDS, 1992). REYNOLDS (1997) propôs uma equação de regressão para previsão da produção de algas em lagos e rios, baseada em uma série de lagos ingleses:

$$\log [\text{chl } a]_{\text{max}} = 0,585 \log [P]_{\text{max}} + 0,801$$

onde  $[\text{chl } a]_{\text{max}}$  é a máxima produção de biomassa algal que pode ser atingida em campo pela concentração de fósforo solúvel originalmente presente e disponível.

Uma relação entre a concentração de clorofila *a* e a concentração de fósforo total formulada a partir de observações em lagos europeus foi proposta por OECD (1982) e consiste na regressão potencial:

$$[\text{chl } a] = 0,28 [\text{TP}]^{0,96}$$

onde  $[\text{chl } a]$  é a concentração de clorofila *a* que pode ser atingida em campo pela concentração de fósforo total.

Para REYNOLDS (1997), uma combinação reconhecida é de 1,0 mg de clorofila *a* para 1,0 mg de fósforo, esta relação 1:1 pode ser melhor sob baixas concentrações de fósforo, mas progressivamente menos aplicada sob concentrações altas. Entretanto, em lagos onde o suprimento de fósforo é baixo e substancialmente excedido pelo equivalente estequiométrico suplementar de nitrogênio, a capacidade suporte pode ser assumida como sendo determinada pela entrada de fósforo. Essa sutil diferença no balanço de nitrogênio e fósforo descreve lagos, tanto limitados por fósforo, se a razão atômica N/P for maior que 16 (maior que 7 por massa), ou limitados por nitrogênio se for o contrário. Além disso, enquanto fósforo solúvel for mensurável na água (concentrações maiores que 2 a 3  $\mu\text{gP.L}^{-1}$ ), assume-se que a atividade celular não está sendo limitada por esse elemento. Para o autor (op. cit.), os pesquisadores que aplicam o conceito de que organismos fitoplanctônicos competem por nutrientes e são selecionados de acordo com vantagens competitivas, freqüentemente ignoram essa simples dedução, pois as espécies diferem em suas afinidades por nutrientes em baixas concentrações e em suas taxas de assimilação.

Com base em alguns dados experimentais, REYNOLDS (1990) sugeriu que concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânico dissolvido menores que  $100 \mu\text{gN.L}^{-1}$  e  $3 \mu\text{gP.L}^{-1}$ , respectivamente, não seriam suficientes para suprir as necessidades do crescimento fitoplanctônico, ou seja, essas seriam as concentrações limitantes.

A idéia de que a razão entre as concentrações de nutrientes seria determinante para co-existências de espécies fitoplanctônica, surgiu a partir dos experimentos de TILMAN & KILHAM (1976). Os autores (op cit.) demonstraram que a taxa de crescimento da *Asterionella formosa* foi saturada sob menores concentrações de fósforo do que outra diatomácea, *Cyclotella meneghiniana*. Mas por outro lado, os autores obtiveram que *C. meneghiniana* era melhor competidora sob baixas concentrações de sílica do que *A. formosa*. Essa relação é explicada porque a absorção de fósforo correlaciona-se com a taxa de incorporação de carbono, mas a maior parte da sílica é estrutural (citoesqueleto) e o requerimento específico da célula correlaciona-se à sua área superficial (REYNOLDS, 1986).

RHEE (1982) apresentou evidências semelhantes às de TILMAN & KILHAM (1976), no sentido de que as concentrações de nitrogênio e fósforo limitam o crescimento de espécies de cianobactérias e diatomáceas sob razões moleculares menores (7 a 15 N/P) que para clorofíceas (15 a 30 N/P). Essas descobertas foram compatíveis com o que alguns pesquisadores de campo estavam obtendo sobre a predominância de cianobactérias em relação à razão N/P em lagos naturais.

Para REYNOLDS (1997), esse conhecimento gerou um conjunto de novas filosofias sobre adaptação de espécies; muitos limnólogos assumiram que a razão entre os nutrientes direcionava a seleção de espécies. De acordo com o autor (op cit.), a competição por nutrientes é de fato um diferencial sensível em condições sub-ideais. Quando dois organismos são capazes de satisfazer suas necessidades imediatas por suprimentos externos, raramente vão competir. Quando um segundo nutriente é considerado, o mesmo argumento é aplicado. Quando um dos nutrientes for reduzido a concentrações limitantes, deve ser diferenciado entre os dois, mas é por sua disponibilidade e não pela razão entre um e outro. O autor (op cit.) concluiu que a razão é consequência da absorção, não o seu condutor, e que razões entre

recursos não limitantes não fazem sentido. A idéia errônea sobre a razão entre nutrientes não limitantes não vem das investigações originais, mas daqueles que as interpretaram equivocadamente.

Apesar disso, muitos autores têm encontrado relações entre a razão N/P e grupos fitoplanctônicos mesmo em ambientes com elevado grau de trofia. TAKAMURA et al. (1992) sugeriram que mudanças surpreendentes na espécie dominante no verão no Lago Kasumigaura no Japão coincidem com as mudanças na razão N/P na água. Segundo esses mesmos autores, geralmente, é aceito que a razão N/P é um importante fator determinante da composição de espécies de populações naturais em lago, e que mudanças substanciais na composição de espécies fitoplanctônicas em função de mudanças na razão N/P, têm sido demonstradas em experimentos em lagos.

BICUDO et al. (1999), estudando a dinâmica de populações fitoplanctônicas no lago das Graças, ambiente eutrófico no município de São Paulo, correlacionaram o aumento de cianobactérias na primavera com a diminuição da razão N:P (7,06), sugerindo uma possível limitação relativa do nitrogênio pelo esgotamento da forma inorgânica dissolvida, embora as espécies dominantes não fossem fixadoras de nitrogênio. Os autores (op. cit.) também encontraram relação positiva entre o aumento de clorofíceas e bacilariofíceas e a razão N:P (> 16), sugerindo que, nesse caso, houve limitação por fósforo no ambiente. Entretanto, esse trabalho não apresentou as concentrações dos nutrientes mencionados.

PAERL (1988) considera que existem dois fatores importantes que interferem na influência da razão N/P. Existe variação da razão N/P entre o epilímnion e o hipolímnion em ambientes estratificados. Entretanto, os organismos capazes de migrar na coluna d'água ficam expostos a ambas as razões. Alguns sistemas que estratificam por curtos períodos podem apresentar uma razão N/P relativamente alta durante os períodos de estratificação, e de acordo com os prognósticos, não deveriam apresentar dominância de cianobactérias. Entretanto, cianobactérias oportunistas não fixadoras de N<sub>2</sub>, como *Microcystis* e *Oscillatoria*, podem rapidamente tirar vantagem da disponibilidade intermitente de nitrogênio, formando "blooms" próximos à superfície quando a razão N/P propicia a não

dominância de cianobactérias. Esse paradoxo é evidente em sistemas eutróficos ou hipereutróficos, onde a razão N/P pode ser alta, mas as concentrações totais de N e P biologicamente disponíveis não são fatores limitantes (PAERL, 1983, 1987, 1988). A reciclagem efetiva de nitrogênio e fósforo por bactérias, protozoários e crustáceos zooplantônicos associados aos organismos fitoplanctônicos podem garantir nitrogênio e fósforo suficientes por longos períodos.

De acordo com OLRİK (1994), em lagos ricos em nutrientes podem ocorrer limitações, reais ou relativas, por fósforo ou nitrogênio. A limitação efetiva pelo fósforo provavelmente ocorre quando a concentração de fósforo total é menor que  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  e de ortofosfato abaixo do limite de detecção. Mas no caso das espécies mais eficientes, valores limitantes efetivos encontram-se bem abaixo do limite de detecção. A limitação relativa por fósforo para algumas espécies pode ocorrer quando a razão N/P, por massa, excede aproximadamente 10. A real limitação por nitrogênio provavelmente ocorre quando nitrogênio inorgânico dissolvido não pode ser detectado na água. A limitação relativa por nitrogênio pode ocorrer quando a razão de massa N/P cai abaixo de 5 – 6. A real limitação por nitrogênio pode causar o crescimento de cianobactérias fixadoras de  $\text{N}_2$  atmosférico. É necessário distinguir entre escassez de nutrientes dissolvidos na água (fração inorgânica) e limitação nutricional do fitoplâncton, que é dependente da reserva de nutrientes no interior das células fitoplanctônicas (OLRIK, 1994).

A quantidade e forma disponíveis de nitrogênio e fósforo em lago ou reservatório dependem de características físicas e químicas da água e são influenciadas por processos externos ou internos, que interferem na razão N/P. QUIRÓS (2000) propôs duas formas de mudança da razão N/P em lagos:

1. predominantemente alóctone – a razão TN/TP diminui sob condições de enriquecimento devido à relação das cargas de entrada dos nutrientes.
2. predominantemente autóctone – há uma compensação das altas cargas de fósforo através da ciclagem do nitrogênio aberta para atmosfera.

O autor (op. cit.) concluiu que a razão TN/TP depende do estado trófico e da morfometria do lago.

A derrubada de florestas, lixiviação de áreas agrícolas e efluentes de estações de tratamento secundário de esgoto podem contribuir com o aumento das concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânico dissolvido nos corpos d'água. Na maioria das vezes, a quantidade de nitrogênio e fósforo disponíveis torna-se suficiente para aliviar a limitação do desenvolvimento fitoplanctônico. Por isso, existe um grande interesse em determinar-se a capacidade suporte de entrada, pontual ou difusa, de nutrientes em rios e lagos.

REYNOLDS (1997) ressaltou que o efluente do tratamento secundário de esgoto doméstico apresenta uma razão atômica DIN/DIP por volta de 5, com uma carga de  $25 \pm 15 \text{ g SRP.m}^{-3}$ ; a estimativa da produção per capita supera  $1 \text{ kgP.ano}^{-1}$ . Isto é agravado pela utilização do detergente derivado de tripolifosfato de sódio, que aumenta a geração de SRP per capita de 10 a 50%. Através da correlação entre as cargas de fósforo enviadas para os rios e a densidade populacional e exposição à influência do esgoto tratado sobre a razão N/P da água do rio, CARACO (1995) concluiu que nitrogênio extra tem origem, principalmente, da agricultura e que fósforo extra, do esgoto doméstico.

### 3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral fornecer subsídios para formulação de prognóstico da ocorrência de cianobactérias e produção de toxinas em ambientes aquáticos com elevado grau de eutrofização. Para isso foram avaliados uma hipótese geral e três objetivos específicos.

#### 3.1. HIPÓTESE

A alterações nos parâmetros físicos e químicos da água durante os meses de chuva e de seca, principalmente devido ao aumento da concentração de fósforo na água no período de chuva, com conseqüente diminuição da razão N/P, leva a mudanças na composição da comunidade fitoplanctônica, aumentando a densidade de cianobactérias e concentrações de microcistinas presentes na coluna d'água. A diminuição da concentração de fósforo na água e conseqüente aumento da razão N/P estão diretamente associados ao crescimento da *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing e à produção de microcistina.

Estudos em curtos períodos de tempo realizados por DEBERDT (1997) no reservatório de Salto Grande constataram abundância relativa de cianobactérias de 84% no período de chuva e de 35% no período de seca; as criptofíceas, a segunda classe mais abundante, apresentaram-se com 10% no período de chuva e 37% no período de seca. Durante o estudo citado, verificou-se um grande aporte de fósforo no reservatório de Salto Grande durante o período chuvoso, o que fez com que houvesse uma diminuição na razão N/P de 26 para 18; nesse mesmo período houve um aumento de cianobactérias.

### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### **Objetivo 1:**

Estudar a variação da ocorrência das espécies de cianobactérias e das demais classes fitoplanctônicas e analisar o potencial tóxico das amostras coletadas nos meses de seca e de chuva no reservatório de Salto Grande.

#### **Metas:**

- a) determinar algumas variáveis: físicas (radiação solar incidente e subaquática, coeficiente de atenuação do contraste vertical e temperatura); químicas (oxigênio dissolvido, pH, condutividade, alcalinidade,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , material particulado em suspensão, fósforo total e dissolvido, orgânico e inorgânico, nitrogênio orgânico total, nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal); e biológicas (clorofila *a* e feofitina) nos meses de seca e de chuva no reservatório de Salto Grande;
- b) determinar a abundância relativa das classes fitoplanctônicas e das espécies de cianobactérias nos mesmos períodos;
- c) determinar as concentrações de microcistinas na água e no seston durante os meses de seca e de chuva no reservatório de Salto Grande.

**Objetivo 2:**

Verificar experimentalmente em mesocosmos, durante o período de seca, variações na ocorrência das classes fitoplanctônicas e das espécies de cianobactérias e seu potencial tóxico, em função da manipulação da razão N/P após a quantificação de nitrogênio e fósforo na água.

**Metas:**

- a) determinar a concentração e a frequência de adições de nitrogênio ou fósforo necessárias para manter razões N/P constantes e próximas a 30 e 10, em tanques, por um período de 11 dias;
- b) determinar as alterações dos parâmetros físicos, químicos e biológicos nos tanques mantidos em condições controle e nos que receberam adição de nitrogênio ou fósforo durante o intervalo de 11 dias;
- c) determinar a abundância relativa das classes fitoplanctônicas e das espécies de cianobactérias amostradas nos tanques;
- d) determinar as concentrações de microcistinas na água e no seston amostrados nos tanques.

**Objetivo 3:**

Testar o efeito da redução de fósforo e conseqüente aumento da razão N/P sobre o crescimento e produção de toxinas em culturas de cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, isoladas a partir de amostras de florações desta espécie no reservatório de Salto Grande, durante os meses de chuva e de seca.

**Metas:**

- a) isolar e cultivar diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, a partir de amostras de florações coletadas no reservatório de Salto Grande, durante os meses de chuva e de seca;
- b) determinar as alterações na taxa de crescimento, concentração de clorofila *a* e produção de microcistina, em culturas de cepas, mantidas em meio ASM-1 padrão e em meio ASM-1 com diminuição da concentração de fósforo.

#### 4. CARACTERIZAÇÃO DO AMBIENTE DE ESTUDO

As características do reservatório de Salto Grande estão apresentadas na tabela 3. A localização geográfica e os aspectos climáticos fazem com que o funcionamento desse sistema esteja sujeito a duas estações bem marcadas, uma mais fria e seca (de abril a setembro) e outra mais quente e chuvosa (de outubro a março) (COELHO, 1993).

A tomada d'água para o abastecimento da cidade de Sumaré é feita no rio Atibaia, a aproximadamente 700 metros a montante do reservatório. Várias cidades (de montante a jusante: Campinas - 455 mil habitantes, Sumaré - 214 mil habitantes, Americana - 144 mil habitantes, Santa Bárbara d'Oeste - 118 mil habitantes, Limeira - 197 mil habitantes, Rio Claro - 134 mil habitantes, Piracicaba - 282 mil habitantes) preenchem essa bacia com poluição urbana e industrial (têxtil, química, papel, alimentícia, tinta, bebida, petroquímica, açúcar e álcool) (SÃO PAULO (ESTADO). SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE, 1994). A qualidade da água é insatisfatória para suprir os usos múltiplos, só servindo para geração de energia. Ao redor do reservatório há pastos, plantações agrícolas e áreas de lazer, com instalações parciais de coleta e tratamento de efluentes.

A superfície do reservatório está parcialmente coberta por vegetação flutuante, como *Pistia stratiotes* L. e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, que nas partes rasas crescem juntamente com a gramínea *Brachiaria arrecta* (Hack. ex th. Dur & Schinz) Stent., fixando os bancos flutuantes ao fundo (MORAES & CALIJURI, 1998). *Cyperus sesquiflorus* (Tor.) Mattf. et Kük também é encontrado junto aos bancos. *Egeria densa* e *Myriophyllum* sp têm sido encontrados em algumas partes rasas desse reservatório (MORAES & CALIJURI, op. cit.). Os bancos de macrófitas flutuantes movem-se com o vento ao longo do reservatório.

**Tabela 3.** Características do reservatório de Salto Grande (Americana – SP).

Características	Valores	Comentários
Latitude	22 <sup>o</sup> 43 '	
Longitude	47 <sup>o</sup> 16 '	
Elevação [m]	530	
Nome do rio	Rio de Atibaia	
Área da bacia do Rio Piracicaba [10 <sup>6</sup> m <sup>2</sup> ] <sup>1)</sup>	11378,6	
Área da sub-bacia do Rio Atibaia [10 <sup>6</sup> m <sup>2</sup> ] <sup>1)</sup>	2960,6	
Área da superfície do reservatório [10 <sup>6</sup> m <sup>2</sup> ]	11,5	Poucas flutuações no nível da água
Comprimento máximo [10 <sup>3</sup> m]	17	
Orientação	Oeste-noroeste	
Volume do reservatório, V [10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup> ]	106	
Profundidade máxima, Z <sub>max</sub> [m]	19	
Profundidade média, Z <sub>med</sub> [m]	9,2	
Vazão, Q [m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> ] <sup>2)</sup>	37,1	Média mensal entre janeiro/1995 - julho/1997
Tempo teórico de residência da água, TR [dias] <sup>2)</sup>	45,6	Média mensal entre janeiro/1995 - julho/1997
Uso principal	Geração de energia elétrica	Abastecimento e irrigação
Número de habitantes da bacia [10 <sup>3</sup> pessoas] <sup>1)</sup>	2213,6	Estimativa/1990
Tipo de circulação	Polimítico	Efeito da vegetação flutuante
Carga específica de P [g.m <sup>-2</sup> .ano <sup>-1</sup> ] <sup>3)</sup>	23	

1) Dados de São Paulo (Estado) - Secretaria do Meio Ambiente (1994)

2) Dados de Leite (1998) e Minote (1999)

3) Dados de Rios (1999)

Em 1995 e 1996, DEBERDT (1997) e CALIJURI et al. (1999) encontraram no reservatório densas florações de algas compostas principalmente por cianobactérias (de 27% a 89%), sendo *Microcystis* o gênero predominante, chegando a atingir uma abundância relativa de 80% (21/5/1996).

O reservatório de Salto Grande foi concluído em 1949, mas os primeiros estudos só foram realizados a partir da década de 70. O primeiro trabalho publicado (FROEHLICH et al., 1978) estudou estratificações térmica e de oxigênio.

Posteriormente, foram feitas observações durante o estudo da tipologia de 52 reservatórios no estado de São Paulo (TUNDISI, 1981). No mesmo período, a composição química da água foi determinada por ARCIFA et al. (1981a) e as condições de mistura da água foram estudadas por ARCIFA et al. (1981b). O reservatório mostrou-se polimítico, com ausência de oxigênio no fundo e aumento de ferro. As análises naquela época apresentaram valores altos de fósforo total ( $192 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e um nível de amônia elevado ( $800 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), em comparação aos outros 10 reservatórios estudados simultaneamente. GIANESELLA-GALVÃO (1985) discutiu a produção primária de 10 reservatórios no sudeste do Brasil. Os valores mais elevados, segundo a autora, foram encontrados no Reservatório de Americana.

Nos últimos 30 anos, várias teses e dissertações foram desenvolvidas no reservatório de Salto Grande. Com a comunidade fitoplanctônica, destacam-se os trabalhos de GIANISSELLA-GALVÃO (1981), DEBERDT (1997), MINOTE (1999), DEBERDT (1999), FALCO (2000) e SOUZA (2000); com a comunidade de macrófitas aquáticas, destacam-se os trabalhos de BITAR (1998), MORAES (1999) e FERREIRA (2000); com a comunidade zooplanctônica, destacam-se os trabalhos de CARVALHO (1979) e ZANATA (1999); com a comunidade bentônica, destacam-se os trabalhos de ROCHA (1972), SHIMIZU (1978) e SHIMIZU (1981); com a ictiofauna, o trabalho de ROMANINI (1989); com assoreamento, os trabalhos de COELHO (1993) e LEITE (1998); e outros estudos com temas variados como BOTTURA (1998), TONISSI (1999), RIOS (1999), TEIXEIRA (2000) e CARMO (2000).

Até o momento, as pesquisas realizadas em Salto Grande, demonstraram, de forma comprobatória, que esse reservatório apresenta elevado e contínuo grau de deterioração, colocando em risco a saúde e o bem-estar da população que dele se utiliza. Dessa forma, acredita-se ser de fundamental importância a realização de pesquisa que enfatizasse a ocorrência de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas, visando melhor compreensão desse processo para que no futuro seja possível a tomada de medidas mitigadoras necessárias.

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi constituído de três etapas: 1. coletas mensais em dois períodos distintos (macrocosmo), 2. experimentos em tanques (mesocosmos) e 3. experimentos em laboratório (microcosmos).

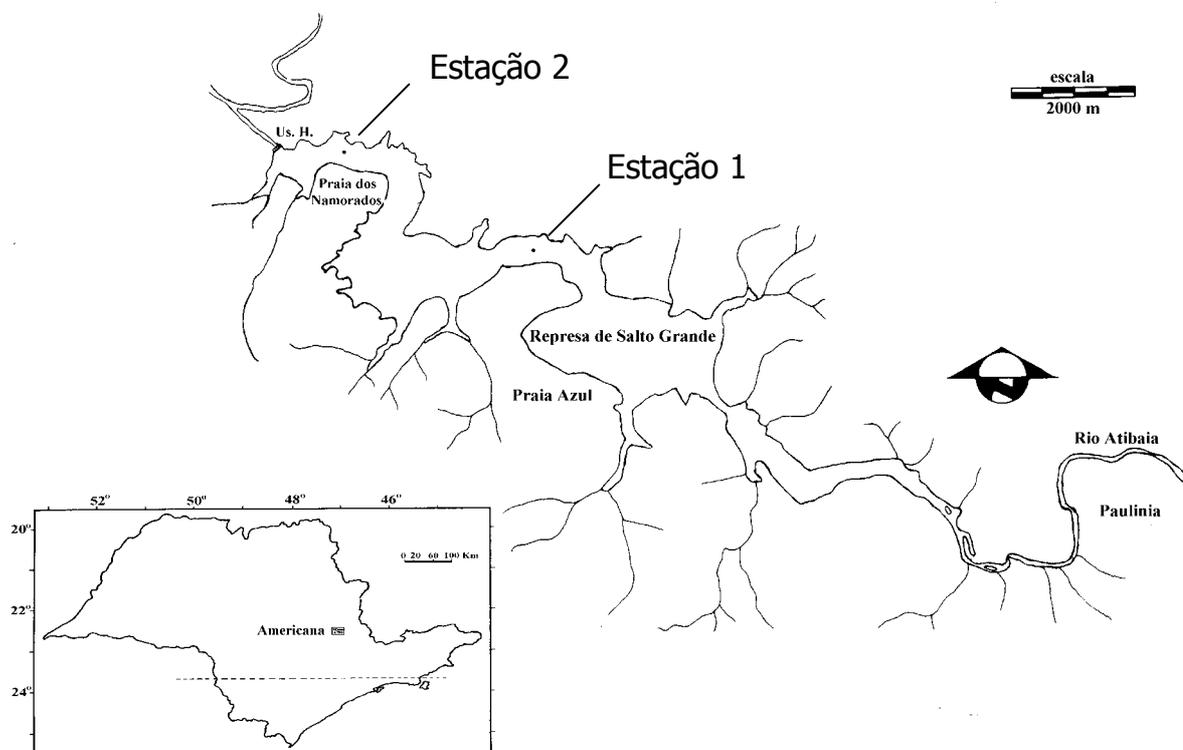
Neste estudo, optou-se por trabalhar com razões de massa atômica e calcular DIN: DIP e TN: TP. Nos experimentos em mesocosmos e microcosmos foi manipulada a razão TN: TP, devido à capacidade de armazenar fósforo que as cianobactérias apresentam e a rápida reciclagem dos nutrientes que ocorre em ambientes tropicais com avançado grau de trofia.

### **5.1. COLETAS MENSAIS EM DOIS PERÍODOS DISTINTOS (MACROCOSMO)**

Foram realizadas coletas mensais durante o período chuvoso (janeiro, fevereiro e março) e durante o período de estiagem (junho, julho, agosto e setembro) em duas estações de coleta: 1. entre os dois compartimentos principais do reservatório, local onde frequentemente são visualizadas florações de algas e 2. próxima a barragem (figura 1).

As coletas de água para as análises químicas e biológicas, foram feitas através de um tubo de acrílico graduado que foi introduzido verticalmente na água, a fim de possibilitar a obtenção de amostras integradas da zona eufótica. Dessa mesma forma foi coletado 1 L de água para a análise de microcistina dissolvida na zona eufótica e presente nas células fitoplancônicas. Também foram coletados volumes entre 5 L a 100 L de água da superfície, que filtrados através de rede de 20  $\mu\text{m}$  geraram massas de células para posterior análise da microcistina presente na floração de algas na superfície.

O material coletado foi transportado para o laboratório em galões de plástico e foi imediatamente analisado, fixado ou congelado.



**Figura 1.** Localização do município de Americana no Estado de São Paulo. Localização das estações de coleta no reservatório de Salto Grande.

### 5.1.1. Variáveis Limnológicas

Os valores de vazão do reservatório foram obtidos na Usina da Companhia Paulista de Força e Luz (CPFL) do Reservatório de Salto Grande.

Os métodos que foram utilizados para a determinação das variáveis limnológicas durante o estudo, estão apresentados na tabela 4.

**Tabela 4.** Métodos e equipamentos utilizados.

Variáveis	Métodos/Equipamentos	Autores
radiação solar incidente e subaquática	"Quanta-Meter" Ly-Cor entre 400-700 nm de sensibilidade	
coeficiente de atenuação do contraste vertical	"Disco de Secchi"	KIRK, 1986
temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade	Multi-sonda HORIBA U-10	
alcalinidade e CO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	pHmetro, acidificação e cálculo	MACKERETH et al., 1978
carbono orgânico, inorgânico e total	analisador de carbono	
material particulado em suspensão	técnica gravimétrica	TEIXEIRA et al., 1965
fósforo total	espectrofotometria	AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1985
fósforo total dissolvido e fosfato inorgânico	espectrofotometria	STRICKLAND & PARSONS, 1960
nitrogênio orgânico total	espectrofotometria	GOLTERMAN et al., 1978
nitrato e nitrito	espectrofotometria	MACKERETH et al., 1978
nitrogênio amoniacal	espectrofotometria	KOROLEFF, 1976

### 5.1.2. Variáveis Biológicas

#### 5.1.2.a. Clorofila *a* e Feofitina

As concentrações de clorofila *a* e feofitina foram determinadas segundo a técnica descrita em LORENZEN (1967).

Após a coleta, as amostras foram filtradas a vácuo através de fibra de vidro, AP 40 (Millipore). O volume filtrado foi 500 mL. Os filtros, após a filtragem, foram acondicionados em envelopes de papel, colocados em frascos escuros, com sílica gel, e conservados à temperatura de -20°C.

A extração do pigmento foi feita utilizando-se como solvente 7,0 mL de metanol 100%, sob baixa iluminação. Após 3 horas sob refrigeração, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 4000 rpm.

As absorvâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda 665 nm e 750 nm. Após essa primeira leitura, as amostras foram acidificadas com HCl 0,3 M (~ 7 µL) para atingirem um pH entre 2,3 – 2,8. Foram realizadas novas leituras.

Para o cálculo foram utilizadas a seguinte equação:

$$\text{Clorofila } a = 26,73 \cdot (E_b - E_a) \cdot V$$

$$\text{Feofitina} = 26,73 \cdot [(1,7 E_a) - E_b] \cdot V$$

Onde:

$E_b$  = diferença das leituras entre 665 nm – 750 nm antes da acidificação

$E_a$  = diferença das leituras entre 665 nm – 750 nm depois da acidificação

$V = \frac{\text{volume de solvente usado para extrair a amostra, em mL (7 mL)}}{\text{volume de água filtrada (L)} \cdot \text{caminho óptico da cubeta do espectrofotômetro (1cm)}}$

Os resultados estão expressos em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

#### **5.1.2.b. Análise Qualitativa das Espécies de Cianobactérias**

Para a análise qualitativa, as amostras de água foram coletadas em duplicata com auxílio de um balde (superfície) e do tubo de acrílico (zona eufótica), sendo que uma passou por rede com malha de 20 micrômetros e outra não, ambas foram acondicionadas em frascos Erlenmeyers previamente autoclavados, para observação do material vivo, e em frascos de vidro, fixadas com formol 4%, para posterior análise das diferentes espécies de cianobactérias.

A identificação das espécies de cianobactérias foi realizada com um microscópio binocular, pesquisa em literatura especializada (GEITLER, 1932; KOMÁREK, 1991; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ & CRONBERG, 1994) e

auxílio do Prof. Dr. Pedro Américo Senna do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos.

#### **5.1.2.c. Análise Quantitativa do Fitoplâncton**

Para a análise quantitativa foram diferenciadas as espécies de cianobactérias e as demais classes fitoplanctônicas. As amostras integradas da zona eufótica e da superfície, foram imediatamente acondicionadas em frascos de vidro e fixadas com lugol (10 g de iodo, 20 g de KI, 200 mL de água destilada com 20 mL de ácido acético). Todas as amostras foram guardadas em local escuro até o momento da identificação e contagem.

A análise quantitativa foi feita utilizando o método descrito em UTHERMÖHL (1958), que consiste na distribuição, ao acaso, dos indivíduos no fundo das câmaras de sedimentação. Foram utilizadas câmaras com volumes de 10,0 mL e 5,0 mL. O tempo de sedimentação em horas foi, no mínimo, três vezes a altura da câmara, em cm (WETZEL & LIKENS, 1991).

Para a contagem foi utilizado um microscópio invertido ZEISS, com aumento de 400x. O número de organismos por unidade de volume foi calculado segundo WETZEL & LIKENS (1991), sendo a unidade fundamental de contagem, o campo do microscópio. Cada organismo unicelular, filamentosos, colonial ou cenóbio foi considerado como um indivíduo.

#### **5.1.3. Análise de Microcistinas**

A determinação da concentração de microcistinas dissolvidas na água e no seston, foi feita através da utilização de técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), após as microcistinas terem sido extraídas seguindo-se o método de KRISHNAMURTHY et al. (1986).

### **5.1.3.a. Microcistinas Dissolvidas na Água**

As amostras integradas da zona eufótica foram filtradas através de borosilicato. Um litro de cada amostra filtrada foi concentrada em coluna de ODS (C-18), após ter sido ativada com 20 mL de metanol 100% e 20 mL de água deionizada. Logo após, a coluna de ODS foi lavada com 20 mL de água deionizada, 20 mL de metanol 20%. Então 20 mL de metanol 100%, eluiu a toxina, se presente na amostra.

A solução metanólica da amostra foi evaporada e o resíduo foi ressuspensão em 10 mL de metanol 100%. Essa solução então percolou por uma coluna de sílica, previamente ativada com 20 mL de metanol 100%. Impurezas de amostra foram eluídas da coluna de sílica com 30 mL de metanol 100%. Então 20 mL de solução de água: TFA (ácido trifluoracético): metanol 100% (10:0,1:89,9, v/v) eluiu a microcistina, quando presente. Essa solução foi evaporada totalmente e o resíduo ressuspensão em 1 mL de água deionizada, colocada em repouso por 1 hora, filtrada em filtro de nylon com porosidade de 0,45 µm, e armazenada até o momento de análise por HPLC com o auxílio de um fotodetector de diiodo (DAD).

### **5.1.3.b. Microcistinas nas Células Fitoplanctônicas**

As extrações de microcistinas das células fitoplanctônicas foram feitas a partir das massas de células obtidas através da filtração das amostras integradas da zona eufótica e das amostras das florações de superfície que foram liofilizadas e pesadas. Para a extração da microcistina, as células filtradas e as liofilizadas, foram imersas em volume de aproximadamente 20 mL de solução de butanol: metanol: água (5:20:75, v/v), com agitação constante por uma hora, à temperatura ambiente.

A suspensão obtida foi centrifugada a 3500 g por 15 minutos e o sobrenadante foi recolhido. Após repetir esse processo por mais 3 vezes, os sobrenadantes foram evaporados por um fluxo de ar quente a 1/3 de seu volume inicial. Posteriormente, foi feita uma pré-purificação passando-se o extrato

concentrado em coluna de ODS (Bond Elut C<sub>18</sub>), previamente ativada com 20 mL de metanol 100% e 20 mL de água deionizada.

A coluna foi lavada com 20 mL de água deionizada, 20 mL de metanol 20% (v/v) em água. Então a fração tóxica foi eluída com 20 mL de metanol 100%. Esta última fração foi evaporada totalmente e, logo após, ressuspensa em 1 mL de água deionizada. Após 1 hora em repouso, essas frações aquosas foram filtradas através de nylon, com porosidade de 0,45 µm, sendo o filtrado armazenado, para análise posterior por HPLC.

### 5.1.3.c. Análise por HPLC

A análise das frações metanólicas obtidas, segundo os procedimentos descritos em 5.1.3.a. e 5.1.3.b., foi feita por técnica de HPLC, em condições isocráticas utilizando-se coluna de fase reversa: Supelcosil LC-18 (C<sub>18</sub>), 5 µm, 250 mm x 10 mm. A fase móvel de acetonitrila/acetato de amônio 20 mM (28:72, v/v), pH 5, foi bombeada sob condições isocráticas com fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>. O fotodetector de diodo (DAD) foi usado a 238 nm.

O espectro de absorção entre 195 e 300 nm de cada pico obtido nos cromatogramas, foi analisado e comparado com o espectro de solução-padrão de microcistina-LR.

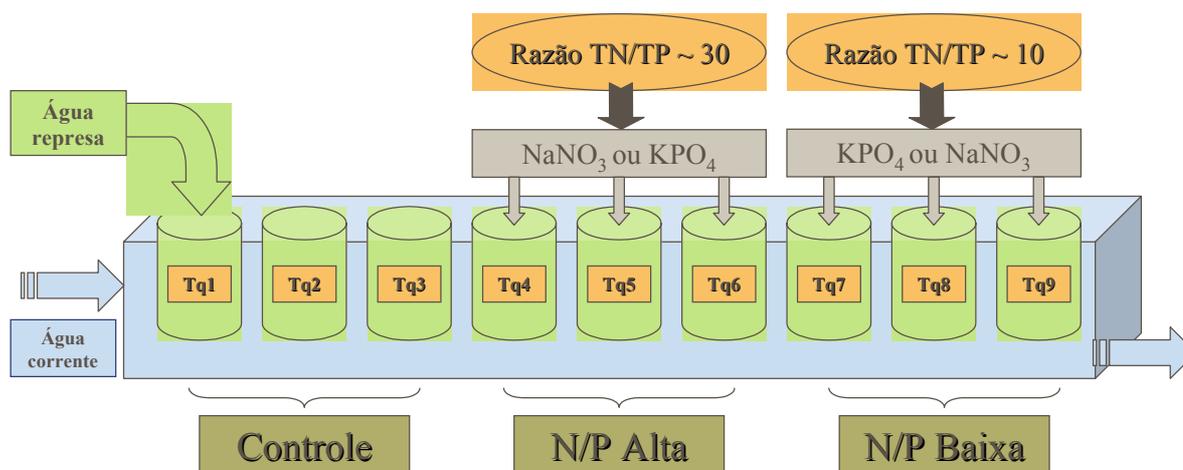
## 5.2. EXPERIMENTOS EM TANQUES (MESOCOSMOS)

Experimentos com adição de nitrogênio e fósforo foram realizados em tanques preenchidos com água coletada na estação 2 (descrita no item 5.1) durante o período de estiagem (julho). Tanques cilíndricos com capacidade para 64 L, foram colocados dentro de uma piscina com água corrente, para manter a temperatura próxima à do reservatório.

Amostragens no local de coleta permitiram determinar as concentrações dos nutrientes fosfatados e nitrogenados, descritos na tabela 4. Em dois tanques preenchidos com a água coletada na estação 2 foram feitas amostragens diárias para determinação das concentrações dos nutrientes nitrogenados e fosfatados, a fim de determinar a redução das concentrações de nitrogênio e fósforo naquele período. A partir desse estudo prévio, foram iniciados os experimentos em mesocosmos.

Primeiramente, foi feita uma coleta na estação 2 (figura 1), semelhante a descrita no item 5.1, incluindo o transporte de aproximadamente 1000 L de água, que foram coletados através de bomba de sucção a vácuo, integrando a coluna de 0 a 1 m de profundidade. Essa água foi analisada imediatamente, para determinar as concentrações dos nutrientes, e distribuída em 9 tanques, sendo que 3 foram mantidos em condição de controle, ou seja, receberam apenas água natural do reservatório, sem adição de nutrientes (razão N/P natural próxima de 20); 3 foram mantidos com alta razão N/P, próxima de 30; e 3 foram mantidos com baixa razão N/P, próxima de 10, por um período de 11 dias (figura 2). Nesses tanques foram feitas coletas de amostras de água, em dias alternados, da mesma forma descrita no item 5.1. Também foram realizadas as mesmas análises descritas nesse item, sendo que a determinação das concentrações dos nutrientes foi feita logo após a coleta, para que fosse feito o cálculo da quantidade de nitrogênio ou de fósforo necessária para manutenção das razões N/P constantes.

Para as manipulações das concentrações de nitrogênio e de fósforo foram utilizadas soluções de nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) e de fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), respectivamente.



**Figura 2.** Esquema do experimento em mesocosmos.

### 5.3. EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO (MICROCOSMOS)

#### 5.3.1. Isolamento e Cultivo de Cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing

A partir de amostras do fitoplâncton vivo, obtidas durante as coletas referentes ao item 5.1, foram isoladas cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, utilizando-se a técnica de plaqueamento em meio sólido, para a obtenção de culturas unialgais.

Essas cepas foram mantidas em culturas unialgais, utilizando-se o meio de cultivo ASM-1 (GORHAM et al., 1964), à temperatura de aproximadamente 21°C, com fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 30  $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

### 5.3.2. Experimentos com Redução de Fósforo em Culturas de Cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing

Foram selecionadas duas cepas de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing em função do crescimento e da produção de toxinas, uma isolada durante as coletas realizadas no verão, nos meses de chuva (MASGV3) e outra no inverno, meses de estiagem (MASGI4). Para cada cepa foi testada a influência da diminuição da concentração de fósforo a 10% da concentração original do meio ASM-1 e conseqüente aumento da razão N/P, sobre o crescimento e a produção de toxinas.

Cada cultura foi iniciada com um inóculo exaurido de fósforo para garantir que não houvesse armazenamento desse nutriente nas células. Para cada cepa foram utilizados 6 frascos de mariote contendo 7 litros de meio de cultivo, sendo 3 mantidos em condição controle, ou seja, meio ASM-1 padrão e 3 em meio ASM-1 com diminuição da concentração de fósforo. As culturas foram desenvolvidas em sistema fechado (tipo “Batch”) com aeração, fotoperíodo de 12 horas e pH tamponado igual a 7,8 (figura 3).

No meio de cultivo ASM-1, nitrogênio foi introduzido através do sal  $\text{NaNO}_3$ , numa concentração equivalente a 2 mM ou  $0,17 \text{ g.L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ , o que disponibilizou para o meio uma concentração de massa atômica de nitrogênio equivalente a  $0,028 \text{ gN.L}^{-1}$ . Fósforo foi introduzido através de dois sais  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , ambos em concentração 0,1 mM, ou seja,  $0,0174 \text{ g.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $0,0141 \text{ g.L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , os dois sais disponibilizaram ao meio uma concentração de massa atômica de fósforo equivalente a  $0,00619 \text{ gP.L}^{-1}$ .

As concentrações iniciais de nitrogênio (N- $\text{NO}_3$ ) e de fósforo (P- $\text{PO}_4$ ) do meio de cultivo ASM-1 foi  $28,014 \text{ mgN.L}^{-1}$  (2 mM) e  $6,195 \text{ mgP.L}^{-1}$  (0,2 mM), respectivamente, o que proporcionou uma razão de massa N/P equivalente a 4,5 e razão atômica igual a 10. Já no meio ASM-1 modificado, com apenas 10% da concentração original de fósforo, a concentração de nitrogênio foi mantida e a de fósforo foi  $0,6195 \text{ mgP.L}^{-1}$ , o que proporcionou razão N/P de massa equivalente a 45 e razão atômica igual a 100.

Foi realizado experimento preliminar utilizando a cepa MASGV3. Esse experimento foi iniciado com um inóculo de  $7,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de clorofila *a* e mantido durante 21 dias. Baseado nos resultados apresentados pelo experimento preliminar, o segundo experimento, utilizando a cepa MASGI4, foi iniciado com um inóculo de  $53,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de clorofila *a* e mantido durante 30 dias.

A curva de crescimento de cada uma das culturas foi obtida por determinação da concentração de clorofila *a* (item 5.1.2.a) e determinação do número de  $\text{cél.mL}^{-1}$ , através da contagem das células em câmara de Fuchs-Rosenthal.

Para a estimativa do número de células de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, a mucilagem foi dissolvida para soltar as células das colônias e possibilitar a contagem. Para isso, uma alíquota de 5 mL de cada amostra foi aquecida a  $80^\circ\text{C}$  durante 15 minutos, em seguida agitada durante 30 segundos em agitador tipo vortex, seguindo as recomendações de BOX (1981).

Os pontos da curva de crescimento foram ajustados à curva logística, pois esse ajuste considera a influência da concentração de biomassa no crescimento populacional para calcular a constante relativa de crescimento e o tempo de duplicação da biomassa na cultura. Para esse ajuste não linear foi utilizado o algoritmo de Levenberg-Marquadt e a ferramenta Solver do programa Excel. A constante relativa de crescimento e o tempo de duplicação foram calculados com as seguintes fórmulas (KREBS, 1972):

$$N = \frac{K}{1 + e^{a-rt}}$$

Onde:

N = concentração de clorofila *a* da população, no tempo t

K = concentração média máxima de clorofila *a* da população (valor máximo de N)

e = 2,71828 (base dos logaritmos naturais)

a = constante de integração =  $\ln(K - N / N)$

r = constante relativa de crescimento

t = tempo

$$G = \frac{\ln 2}{r}$$

Onde:

G = tempo de duplicação da biomassa

r = constante relativa de crescimento



**Figura 3.** Experimento em microcosmos.

Quando as culturas atingiram o início, o meio e o final da fase exponencial de crescimento, aproximadamente um litro de cultura foi liofilizado para a extração, purificação e determinação da concentração das toxinas (item 5.1.3).

#### **5.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

As análises estatísticas dos resultados foram apresentadas através da elaboração de gráficos e tabelas. Foram calculadas as médias aritméticas e os desvios padrões. Foram feitas análises de regressão linear e polinomial de segunda ordem utilizando o programa computacional Excel. Foram feitos ajustes das curvas de crescimento utilizando a ferramenta Solver do programa Excel. Foi aplicado o teste de Tukey e ANOVA (análise de variância) utilizando o programa computacional Origin 5.0.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO DO MACROCOSMO (CAMPO)

### 6.1. VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS

Os maiores valores de vazão foram obtidos nos dias de verão. Os meses de janeiro e fevereiro foram os que apresentaram as maiores vazões do ano de 1999. As menores vazões foram obtidas nos dias de inverno. Como consequência, os maiores tempos de residência da água foram obtidos nos dias de inverno e os menores no verão (tabela 5 e 6).

A radiação fotossinteticamente ativa que atingiu a superfície da coluna d'água variou de  $760 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (27/1/99) a  $1900 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (25/2/99) nos meses de verão e de  $910 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (26/7/99) a  $1550 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (5/7 e 20/9/99) nos meses de inverno (tabela 7). No verão, a média das profundidades da zona eufótica foi 1,67 m na estação 1 e 1,50 m na estação 2, com uma média dos coeficientes de extinção da luz de  $2,40 \text{ m}^{-1}$  na estação 1 e de  $2,80 \text{ m}^{-1}$  na estação 2. No inverno, a média das profundidades da zona eufótica foi 2,81 m na estação 1 e 3,25 m na estação 2, com uma média dos coeficientes de extinção da luz de  $1,35 \text{ m}^{-1}$  na estação 1 e de  $1,18 \text{ m}^{-1}$  na estação 2 (figura 4 e tabela 7).

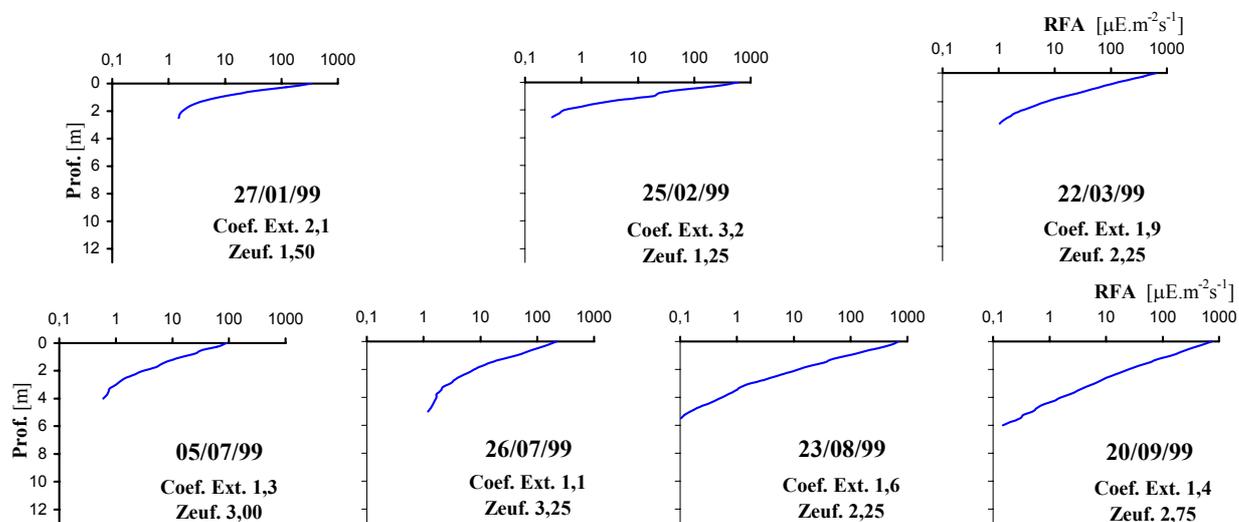
**Tabela 5.** Médias mensais das vazões turbinada, vertida e total e tempo médio de residência da água no reservatório, em 1999.

Meses	Vazão Média Mensal [m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> ]			TR [dias]
	Turbinada	Vertida	Total	
Janeiro	89,2	10,1	99,3	11,7
Fevereiro	86,8	0	86,8	13,3
Março	55,0	0,2	55,2	21,0
Abril	29,3	0	29,3	39,5
Mai	19,6	0	19,6	59,1
Junho	23,7	0	23,7	48,8
Julho	12,4	0	12,4	93,3
Agosto	11,3	0,1	11,4	101,5
Setembro	13,1	0	13,1	88,4
Outubro	11,4	0	11,4	101,5
Novembro	10,8	0,5	11,3	102,4
Dezembro	23,1	0	23,1	50,1

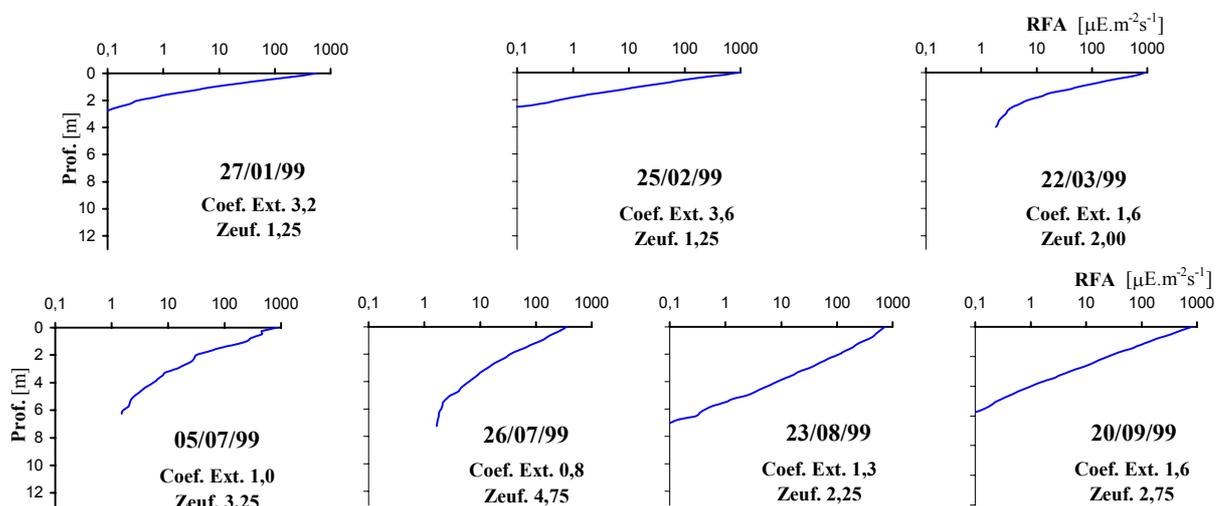
**Tabela 6.** Médias diárias das vazões turbinada, vertida e total e tempo médio de residência da água no reservatório, vazão total do dia de coleta e porcentagem de água efluente em relação ao volume total do reservatório.

Datas	Vazão Média do Dia [m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> ]			TR [dias]	Vazão do Dia [m <sup>3</sup> ]	Porcentagem do Reservatório [dias <sup>-1</sup> ]
	Turbinada	Vertida	Total			
27/01/99	68,9	6,9	75,8	15,3	6549120	6,5%
25/02/99	85,9	0	85,9	13,5	7421760	7,4%
22/03/99	38,6	0	38,6	30,0	3335040	3,3%
05/07/99	16,8	0	16,8	68,9	1451520	1,4%
26/07/99	11,3	0	11,3	102,4	976320	1%
23/08/99	11,4	0	11,4	101,5	984960	1%
20/09/99	13,9	0	13,9	83,3	1200960	1,2%

### ESTAÇÃO 1



### ESTAÇÃO 2



**Figura 4.** Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa, valores de coeficiente de extinção da luz [ $m^{-1}$ ] e profundidade da zona eufótica [m] nas estações 1 e 2, nos dias de coletas de verão e de inverno, no Reservatório de Salto Grande.

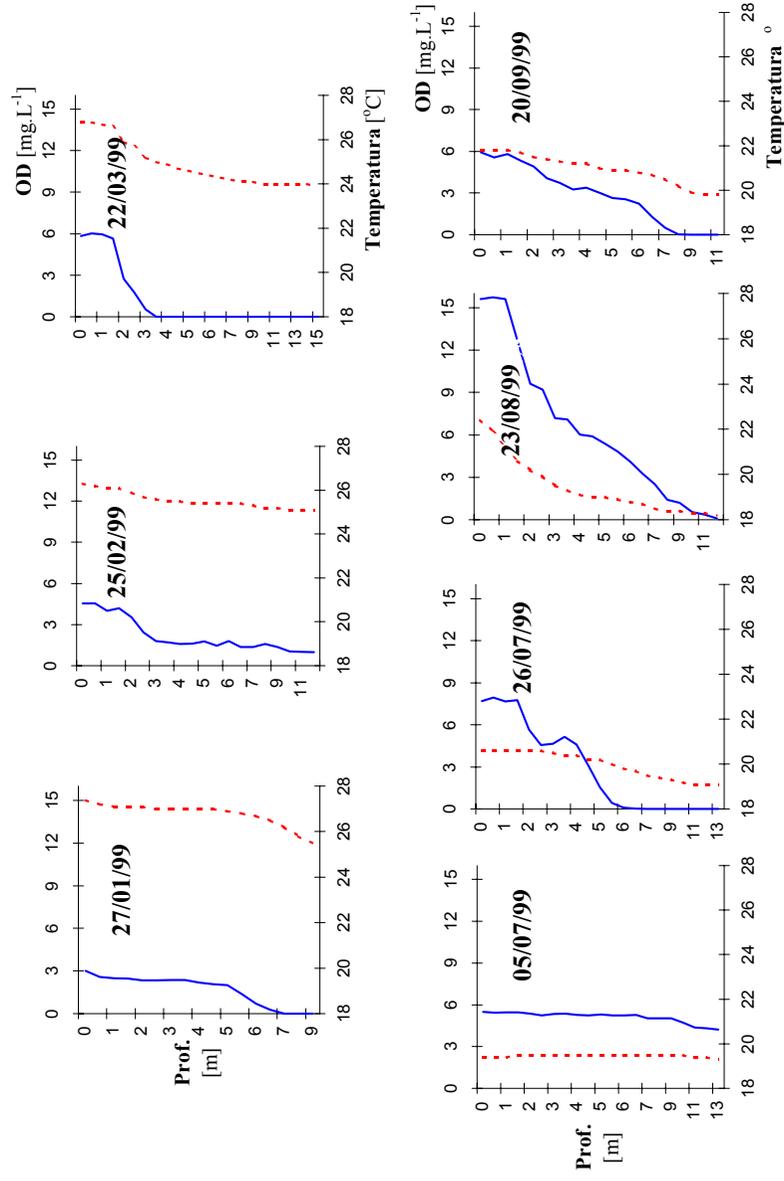
Nos dias de coletas de verão a temperatura média da água foi 27,0°C na superfície e 24,9°C no fundo (considerando as duas estações de amostragem:  $Z_{\text{máx}}$  entre 9 m e 15 m). No inverno, a temperatura média da água foi 21,1°C na superfície e 19,1°C no fundo (considerando as duas estações de amostragem:  $Z_{\text{máx}}$  entre 10 m e 13 m) (figura 5). Em ambos períodos, a diferença de temperatura entre a superfície e o fundo da coluna d'água foi de aproximadamente 2 °C. Termoclinas foram encontradas na estação 1 nos dias 22/3 e 23/8/99 e na estação 2 nos dias 22/3 e 23/8/99. Através dos perfis térmicos foi possível observar que a zona de mistura foi maior nos dias de inverno, comparada aos de verão. A coluna de água em 5/7/99, apresentou-se praticamente desestratificada, com mistura turbulenta na estação 1 (tabela 7).

Em geral, as concentrações de oxigênio dissolvido foram maiores no período de inverno do que no verão (figura 5). A saturação média de oxigênio da coluna d'água nos dias de coleta de verão foi 17% e nos de inverno foi 45%. A estação 1 apresentou concentrações de oxigênio dissolvido e porcentagem de saturação superiores às encontradas na estação 2. Condição de anoxia no fundo do reservatório foi encontrada nos dois períodos em ambas estações, exceto nos dias 25/2 e 5/7/99 na estação 1 e no dia 23/8/99 na estação 2.

A densidade da água foi maior nos dias de inverno do que nos dias de verão. Observando a figura 6 a, nota-se que a coluna d'água esteve mais estratificada durante os dias de verão, se comparada aos de inverno. Comparando as isolinhas de densidade da água entre as duas estações, observa-se que a estação 2 apresentou um perfil mais homogêneo abaixo de 9 m. A frequência de Brunt-Vaisála foi maior nos dias de verão do que nos de inverno e maior na estação 2 do que na estação 1, exceto nos dias 25/2/99 e 23/8/99 (figura 6 b).

Em geral, a relação  $Z_{\text{máx}}/Z_{\text{euf}}$  foi maior nos dias de verão do que nos dias de inverno e a relação  $Z_{\text{euf}}/Z_{\text{mix}}$  apresentou padrão contrário. Ambas relações foram maiores na estação 1 do que na estação 2 (figura 6 c e tabela 7).

## Estação 1



## Estação 2

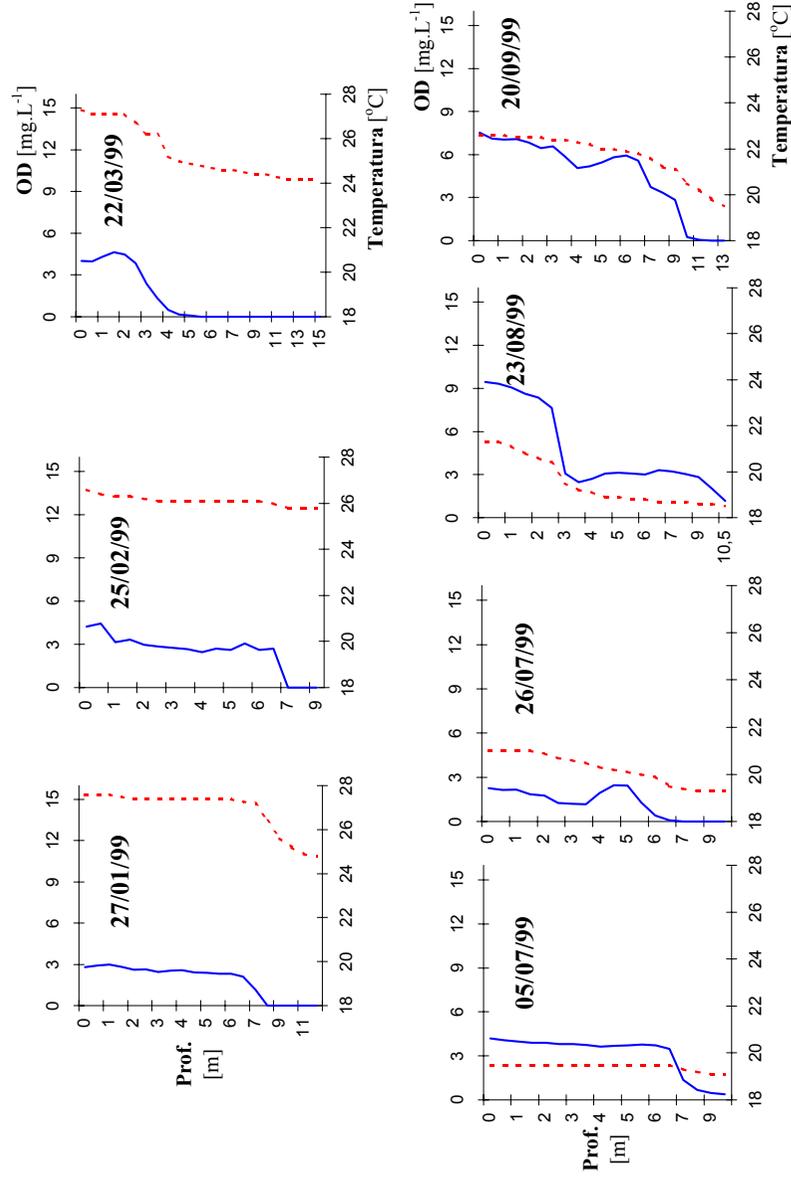
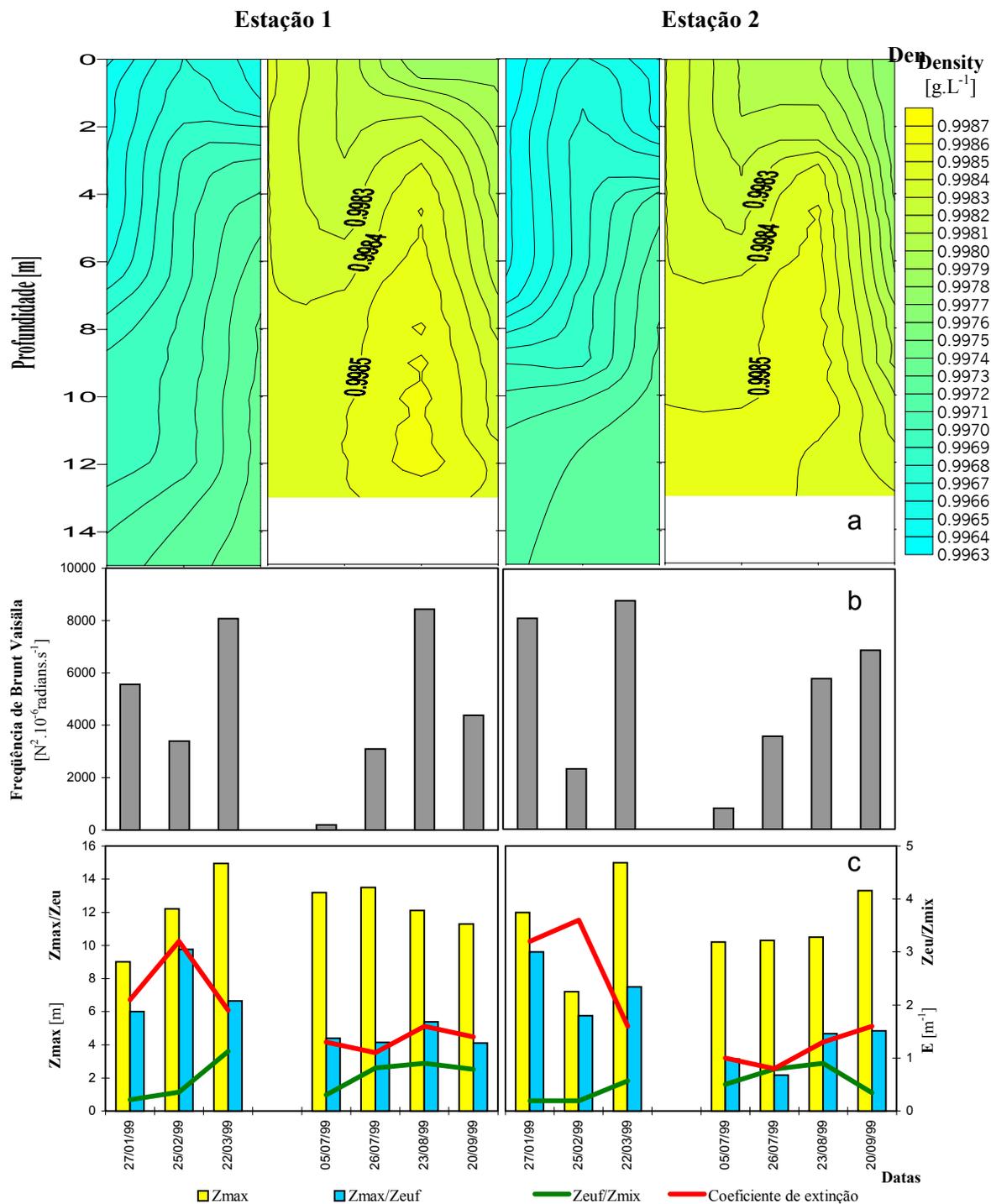


Figura 5. Perfis de oxigênio dissolvido (—) e temperatura (---) nas duas estações de coleta.



**Figura 6.** Isolinhas da densidade da água nas diferentes profundidades (a); frequência de Brunt-Vaisála (b); profundidade máxima ( $Z_{\text{máx}}$ ), coeficiente de extinção da luz e relação entre  $Z_{\text{máx}}/Z_{\text{euf}}$  e  $Z_{\text{euf}}/Z_{\text{mix}}$  (c), nas estações 1 e 2, nos dias de verão e de inverno, no Reservatório de Salto Grande.

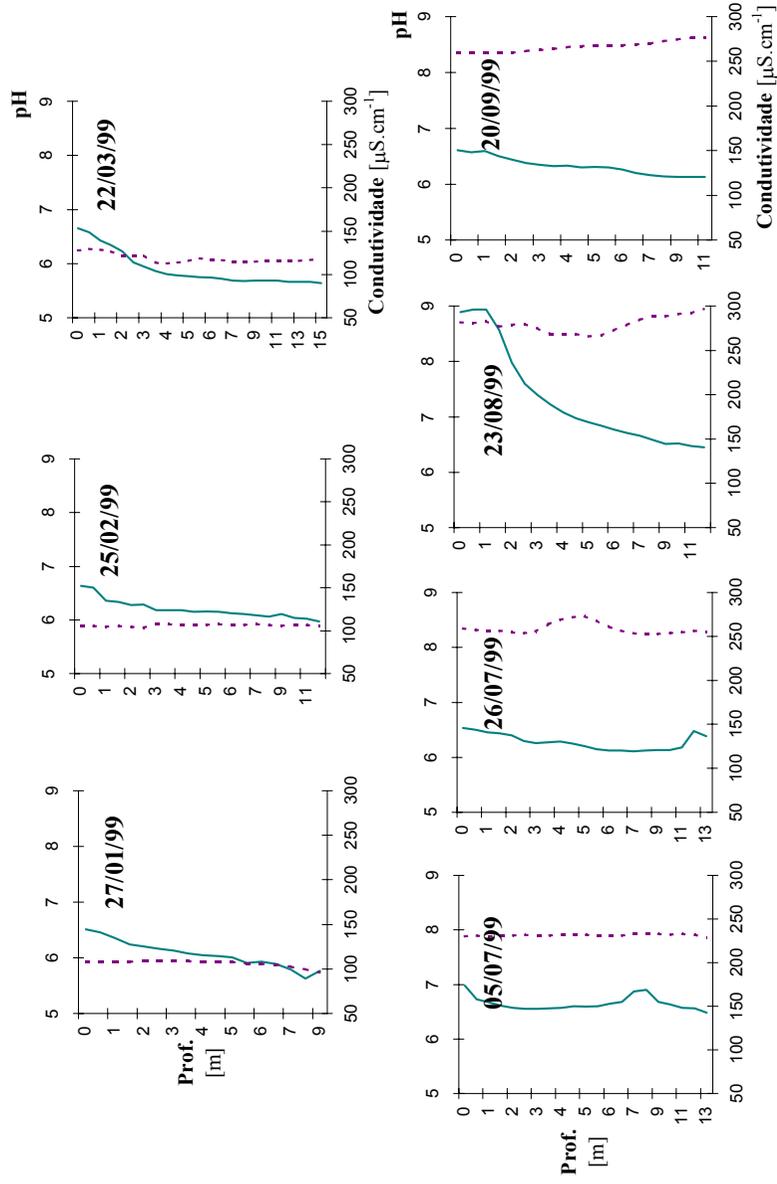
**Tabela 7.** Radiação solar, profundidade do disco de Secchi ( $Z_{DS}$ ), coeficiente de extinção da luz (E), profundidade máxima ( $Z_{m\acute{a}x}$ ), limite da zona eufótica ( $Z_{euf}$ ), zona de mistura ( $Z_{mix}$ ), relações  $Z_{euf}/Z_{m\acute{a}x}$ ,  $Z_{m\acute{a}x}/Z_{euf}$  e  $Z_{euf}/Z_{mix}$  nos dias de verão e de inverno nas estações 1 e 2 do Reservatório de Salto Grande.

Estação	Data	Radiação solar [ $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ ]	$Z_{DS}$ [m]	E [ $m^{-1}$ ]	$Z_{m\acute{a}x}$ [m]	$Z_{euf}$ [m]	$Z_{mix}$ [m]	$Z_{euf}/Z_{m\acute{a}x}$	$Z_{m\acute{a}x}/Z_{euf}$	$Z_{euf}/Z_{mix}$
1	27/01/99	760	0,40	2,10	9,00	1,50	7,00	0,13	6,00	0,21
1	25/02/99	1100	0,40	3,20	12,20	1,25	3,50	0,10	9,76	0,36
1	22/03/99	1250	0,80	1,90	14,95	2,25	2,00	0,16	6,64	1,13
2	27/01/99	1350	0,30	3,20	12,00	1,25	6,50	0,08	9,60	0,19
2	25/02/99	1900	0,30	3,60	7,20	1,25	6,50	0,13	5,76	0,19
2	22/03/99	1650	0,70	1,60	15,00	2,00	3,50	0,14	7,50	0,57
1	05/07/99	980	0,90	1,30	13,20	3,00	10,00	0,20	4,40	0,30
1	26/07/99	910	1,20	1,10	13,50	3,25	4,00	0,27	4,15	0,81
1	23/08/99	1400	0,90	1,60	12,10	2,25	2,50	0,22	5,38	0,90
1	20/09/99	1450	1,25	1,40	11,30	2,75	3,50	0,33	4,11	0,79
2	05/07/99	1550	1,70	1,00	10,20	3,25	6,50	0,50	3,14	0,50
2	26/07/99	1100	1,80	0,80	10,30	4,75	6,00	0,52	2,17	0,79
2	23/08/99	1450	1,75	1,30	10,50	2,25	2,50	0,50	4,67	0,90
2	20/09/99	1550	1,05	1,60	13,30	2,75	8,00	0,24	4,84	0,34

Os valores de pH e condutividade foram menores nos dias de verão do que nos de inverno (figura 7). Na estação 1 foram obtidos valores mais elevados tanto de pH como de condutividade, quando comparados com os valores obtidos na estação 2.

A alcalinidade e as concentrações de carbonato e bicarbonato foram mais altas no inverno do que no verão e a estação 1 apresentou valores mais elevados que a estação 2. As concentrações de carbono total e orgânico total foram menores nos dias de verão, quando comparadas às concentrações encontradas nos dias de inverno. Na estação 1 foram encontradas as maiores concentrações de carbono total e orgânico total. Nos dias de verão, as concentrações de carbono inorgânico e  $CO_2$ total foram maiores na estação 2, e nos dias de inverno, foram maiores na estação 1. As concentrações de  $CO_2$ livre tiveram valores mais elevados no verão e na estação 2 (figura 8).

## Estação 1



## Estação 2

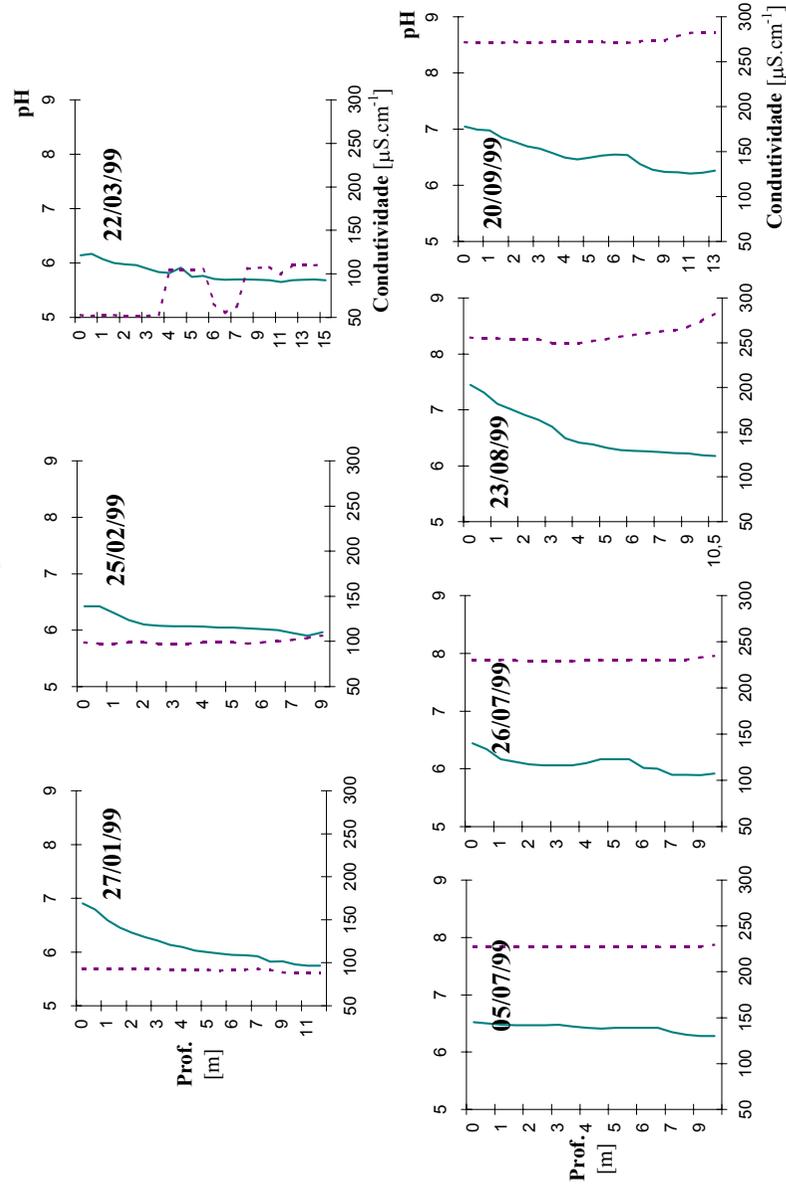
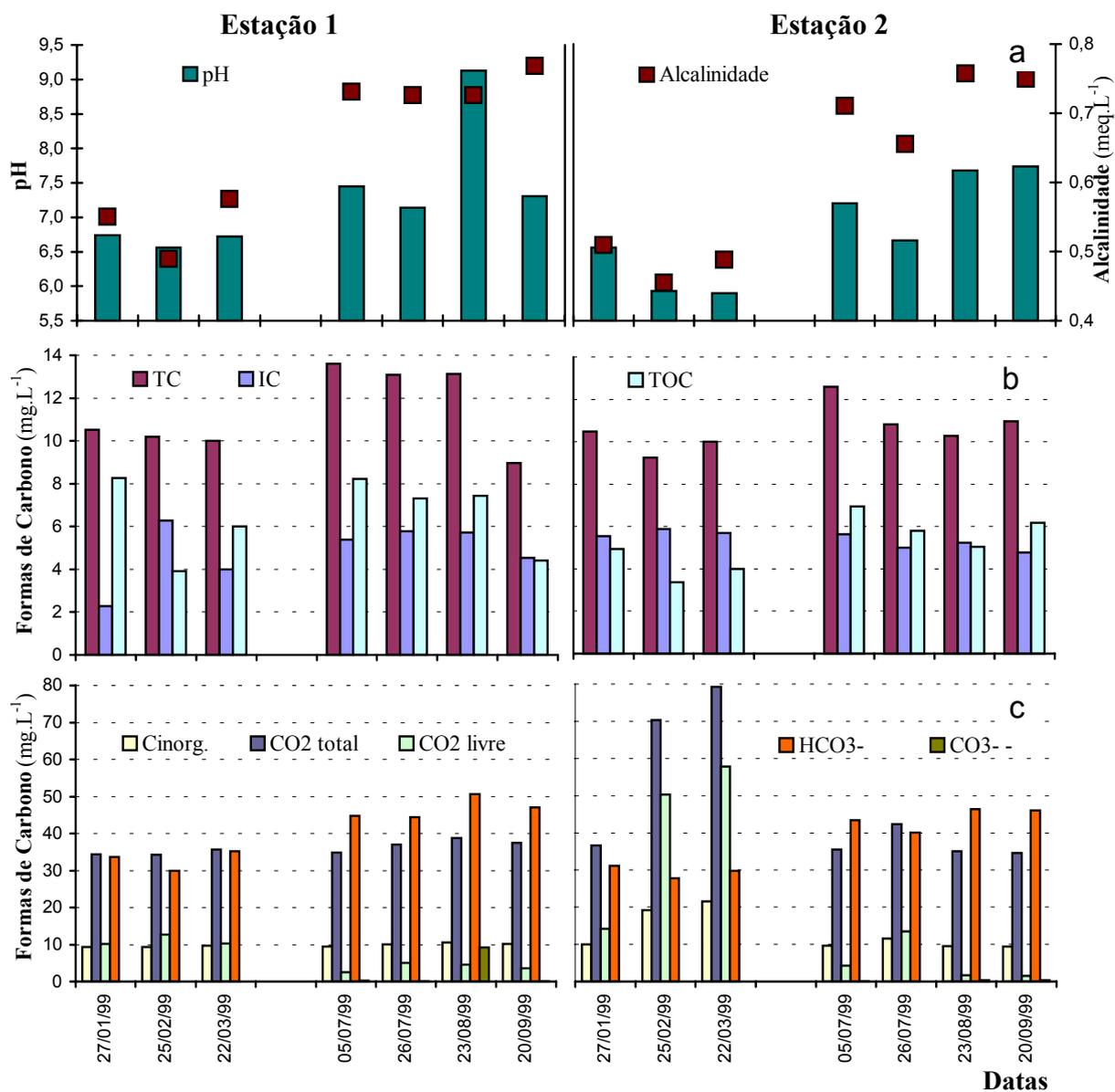


Figura 7. Perfis de pH (-----) e condutividade (- - - -) nas duas estações de coleta.

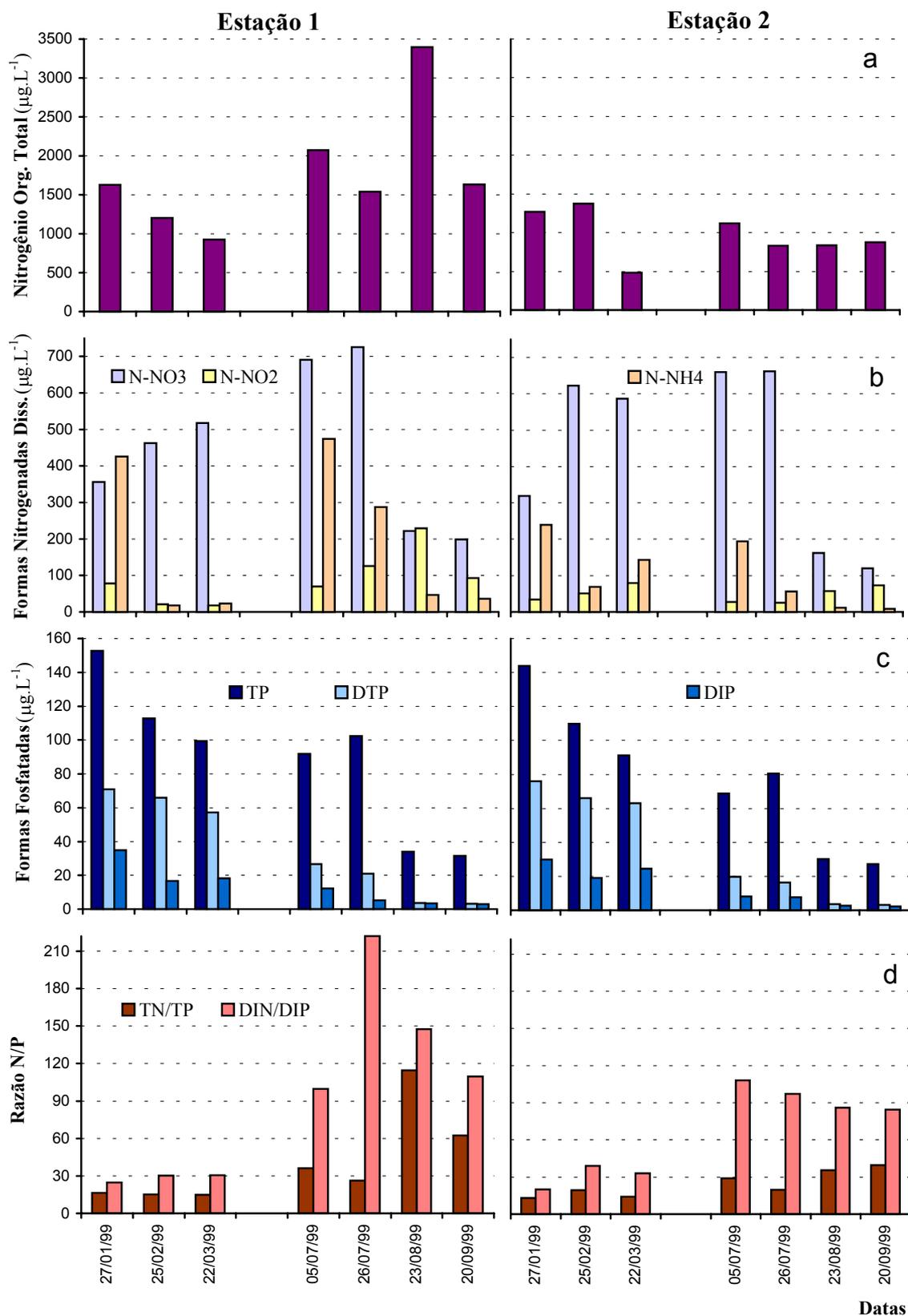


**Figura 8.** Valores de pH e alcalinidade (a), concentrações de carbono total (TC), inorgânico (IC) e orgânico total (TOC) (b) e concentrações de carbono inorgânico, CO<sub>2</sub> total, CO<sub>2</sub> livre, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>--</sup> (c) da zona eufótica, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.

Com relação ao nitrogênio orgânico total e às formas nitrogenadas dissolvidas, as maiores concentrações, na estação 1, foram observadas durante os dias de inverno e na estação 2, durante os de verão (figura 9 a e b). Para as concentrações de fósforo total, notou-se um aumento de praticamente 50% nos dias de verão; as formas dissolvidas aumentaram, aproximadamente, 450% (figura 9 c). A estação 1 sempre apresentou maiores concentrações de fósforo que a 2, exceto pelas formas dissolvidas nos dias de verão.

As duas formas calculadas de razão N/P (TN/TP e DIN/DIP) foram mais altas no inverno que no verão (figura 9 d). No verão, as razões foram muito semelhantes nas duas estações de coleta; no inverno, as razões tiveram uma redução de aproximadamente 50% da estação 1 para a 2. A diminuição da razão TN/TP, na estação 2 em relação à estação 1 no inverno, ocorreu, principalmente, devido à redução de 51,7% da concentração de nitrogênio total contra uma redução de apenas 20,3% da concentração de fósforo total. Para a diminuição da razão DIN/DIP, houve uma redução de 35,7% da concentração total das formas nitrogenadas dissolvidas e uma redução de apenas 13,3% da concentração de fosfato. Isso pode significar que, no inverno, a redução de nitrogênio da estação 1 para a 2 foi de, pelo menos, 2,6 vezes maior do que a redução de fósforo, o que levou a uma diminuição natural da razão N/P da estação 1 para a 2.

A concentração total de material em suspensão foi maior nos dias de verão, comparados aos de inverno (figura 10 a). No verão houve predomínio das formas inorgânicas de material em suspensão, representando 73,3% da concentração total de material em suspensão. No inverno, as formas orgânicas predominaram, com representatividade de 68,3% do total. Em geral, as maiores concentrações de material em suspensão foram obtidas na estação 1.

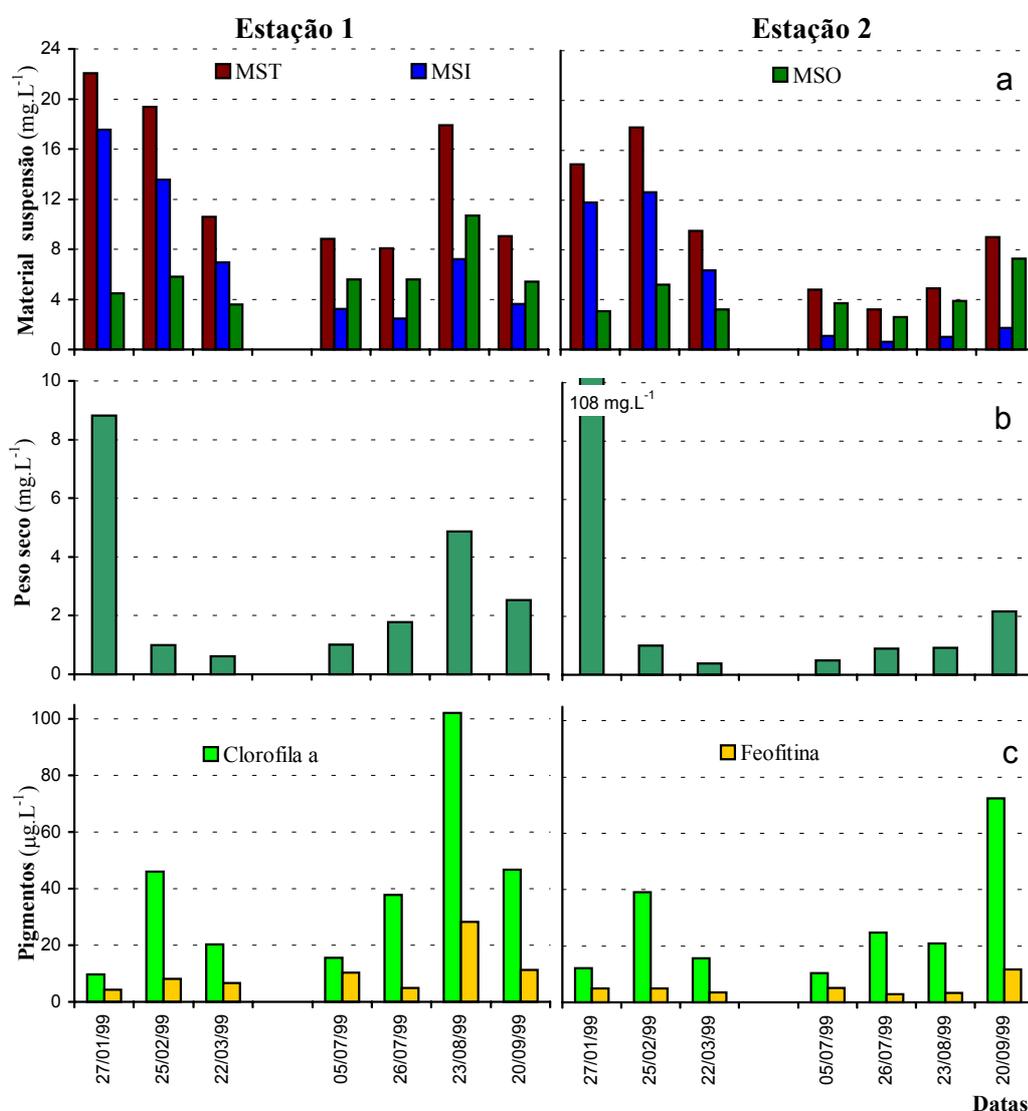


**Figura 9.** Concentrações: de nitrogênio orgânico total (a); de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) e nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) (b); de fósforo total (TP), fósforo total dissolvido (DTP) e fósforo dissolvido inorgânico (DIP) (c) e razões TN/TP e DIN/DIP (d) nas duas estações de coleta, no reservatório de Salto Grande.

## 6.2. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

### 6.2.1. Clorofila *a* e Feofitina

As maiores concentrações de clorofila *a* e feofitina foram obtidas durante os dias de inverno, em ambas as estações de coleta. A estação 1 sempre apresentou valores mais elevados para os dois pigmentos determinados (figura 10 c).



**Figura 10.** Concentrações de material em suspensão total (MST), inorgânico (MSI) e orgânico (MSO) (a), massa seca, após liofilização, de amostras coletadas na superfície da coluna água (b) e concentrações de clorofila *a* e feofitina (c) nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.

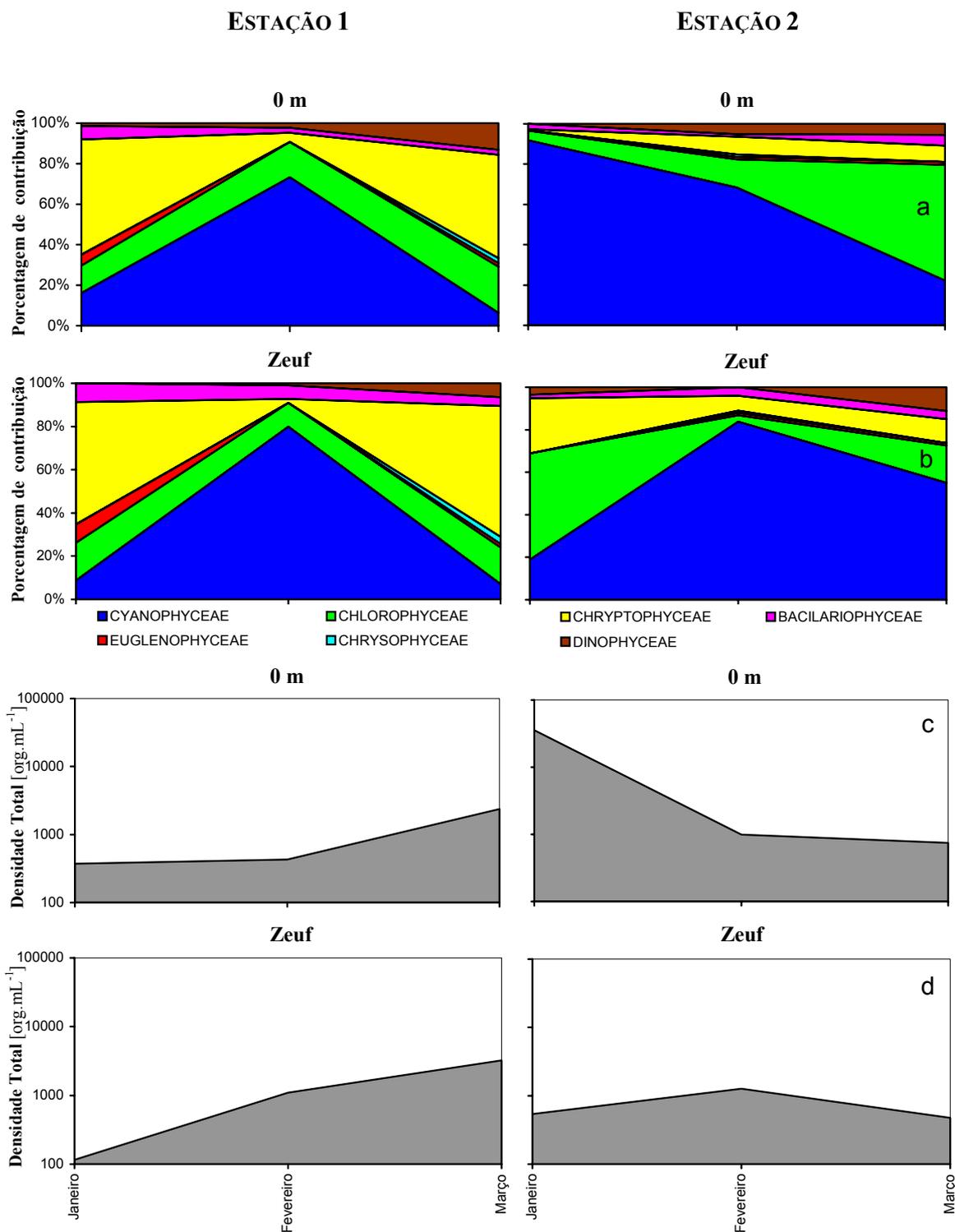
### 6.2.2. Análise do Fitoplâncton

Em ambas estações de coleta, as maiores densidades fitoplanctônicas foram obtidas nos dias de inverno (tabela 8). Durante os dias de verão, a estação 2 apresentou maiores densidades fitoplanctônicas do que a estação 1. Nos dias de inverno, a estação 1 apresentou as maiores densidades fitoplanctônicas (tabela 8 e figuras 11 e 12).

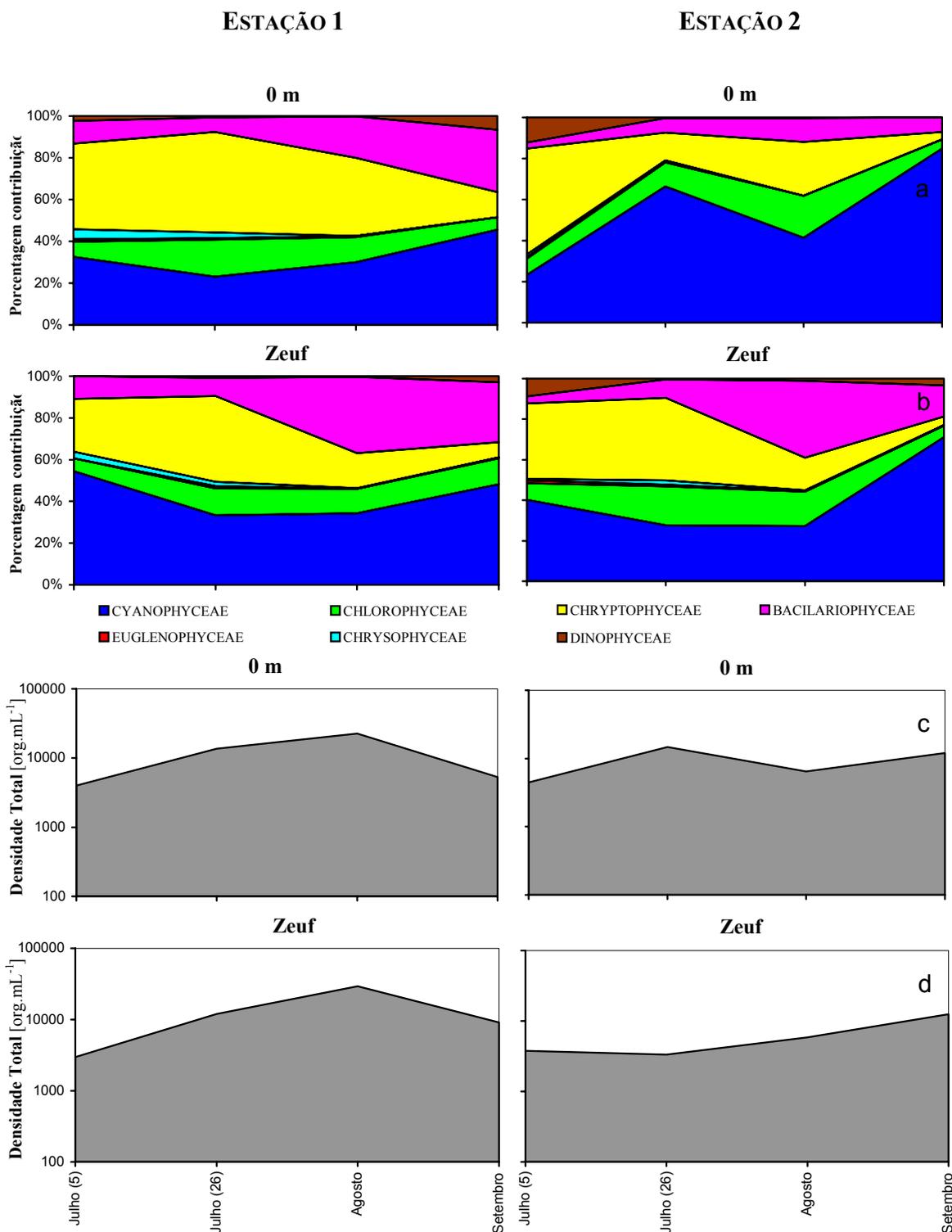
Em geral, o grupo predominante foi o das cianobactérias, exceto na estação 1 nos dias de verão (tabela 8). As cianobactérias, durante os dias de verão, na estação 1, tiveram a maior abundância relativa no dia 25/2/99; na estação 2, a maior abundância relativa na superfície ocorreu no dia 27/1/99, e na zona eufótica, no dia 25/2/99 (figura 11 e tabela 9). Durante os dias de inverno, na estação 1, a maior abundância relativa na superfície foi obtida no dia 20/9/99 e na zona eufótica no dia 5/7/99; na estação 2, a maior abundância relativa foi no dia 20/9/99, tanto na superfície como na zona eufótica (figura 12 e tabela 9).

**Tabela 8.** Densidade das classes fitoplanctônicas ( $\text{org.mL}^{-1}$ ) e respectivas porcentagens de contribuição (%) nas estações de coleta, médias da zona eufótica, no Reservatório de Salto Grande.

	Verão				Inverno			
	Estação 1		Estação 2		Estação 1		Estação 2	
	$\text{org.mL}^{-1}$	%	$\text{org.mL}^{-1}$	%	$\text{org.mL}^{-1}$	%	$\text{org.mL}^{-1}$	%
BACILARIOPHYCEAE	51	4	178	3	2771	22	916	12
CHLOROPHYCEAE	226	17	441	7	1509	12	825	10
CHRYPTOPHYCEAE	581	43	103	2	3585	29	1338	17
CHRYSOPHYCEAE	85	6	13	0	125	1	33	0
DINOPHYCEAE	109	8	41	1	135	1	182	2
EUGLENOPHYCEAE	30	2	21	0	52	0	29	0
XANTOPHYCEAE	10	1	5	0	0	0	0	0
CYANOPHYCEAE	274	20	5816	88	4229	34	4579	58
<b>TOTAL</b>	<b>1.366</b>		<b>6.617</b>		<b>12.407</b>		<b>7.901</b>	



**Figura 11.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), densidade dos organismos fitoplanctônicos na superfície (c) e na zona eufótica (d), durante os dias de verão, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.



**Figura 12.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), densidade dos organismos fitoplanctônicos na superfície (c) e na zona eufótica (d), durante os dias de inverno, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.

**Tabela 9.** Porcentagem de cianobactérias em relação aos demais grupos fitoplanctônicos (%) e densidade de espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas (org.mL<sup>-1</sup>), nas estações de coleta, na superfície da coluna d'água e na zona eufótica.

	Estação 1				Estação 2			
	Superfície		Zeuf		Superfície		Zeuf	
	%	org.mL <sup>-1</sup>	%	org.mL <sup>-1</sup>	%	org.mL <sup>-1</sup>	%	org.mL <sup>-1</sup>
27/01/99	16	55	9	10	92	32063	19	103
25/02/99	73	315	80	880	68	675	84	1064
22/03/99	6	140	7	220	22	165	55	262
05/07/99	33	1298	54	1622	23	1051	40	1521
26/07/99	23	3125	33	3996	66	9844	28	922
23/08/99	30	6803	34	10121	41	2074	27	1615
20/09/99	46	2389	48	4424	85	10176	71	8817

Através da análise qualitativa da comunidade de cianobactérias, foram identificadas 19 táxons, listados a seguir:

*Anabaena circinalis* Rabenhorst ex Bornet & Flahault 1888

*Anabaena crassa* (Lemmermann) Komárek - Legn. & Cronb. 1992

*Anabaena* sp Bory ex Bornet & Flahault 1886

*Anabaenopsis* sp (Woloszynska) Mill. 1923

*Aphanocapsa* cf. *koordersii* Strom, Nyt Mag.

*Aphanothece* sp Nägeli 1849

*Borzia* sp Cohn ex Gom. 1892

*Chroococcus limneticus* Lemmermann 1898

*Cyanosarcina* sp Kovácik 1988

*Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & S. Raju. 1972

*Geitlerinema acutissimum* (Kuffer) Anagn. & Ko 1989

*Merismopedia glauca* (Ehrenberg) Kützing 1845

*Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846

*Microcystis cf. lamelliformis* Holsinger 1954

*Planktothrix mougeotii* Kützing ex Lemmerman 1907

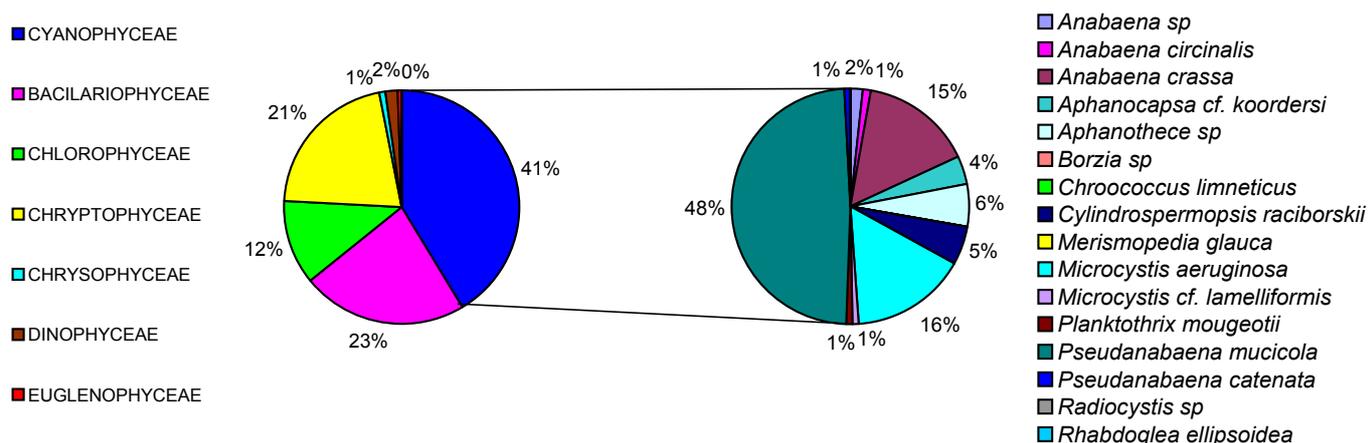
*Pseudanabaena catenata* Lauterborn 1916

*Pseudanabaena mucicola* (Naumann & Huber - Pestalozzi) Bourrelly 1970

*Radiocystis* sp Skuja 1948

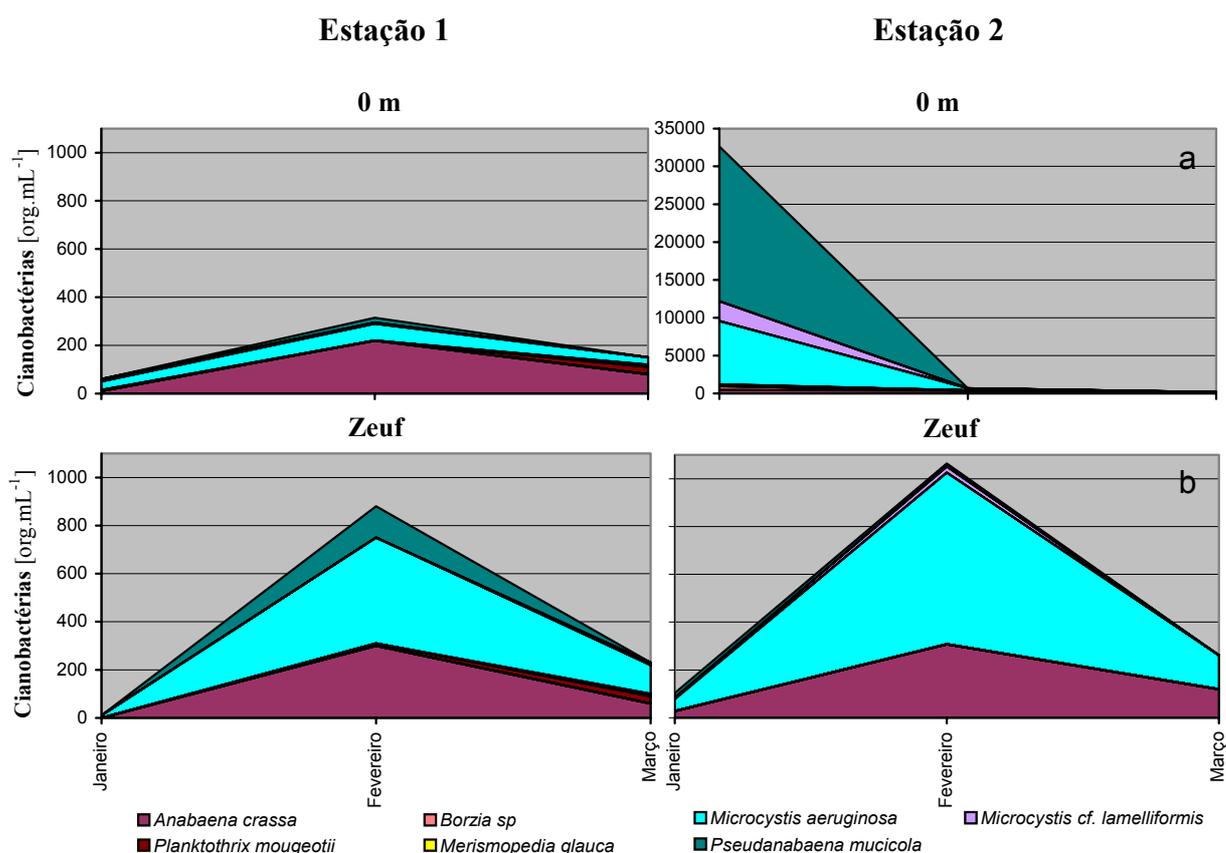
*Rhabdogloea ellipsoidea* Schröder 1917

Em relação à densidade fitoplanctônica total, as cianobactérias mais abundantes, em ordem decrescente foram: *Pseudanabaena mucicola* (comum – 20,1%), *Microcystis aeruginosa* (ocasional – 6,5%), *Anabaena crassa* (ocasional – 6,3%), *Aphanothece* sp (ocasional – 2,4%), *Cylindrospermopsis raciborskii* (ocasional – 2,2%), *Aphanocapsa cf. koordersii* (ocasional – 1,6%). As demais espécies de cianobactérias encontradas foram consideradas raras, ou seja, estiveram abaixo de 1% na média geral. A figura 13 mostra a abundância relativa das espécies de cianobactérias dentro do grupo.

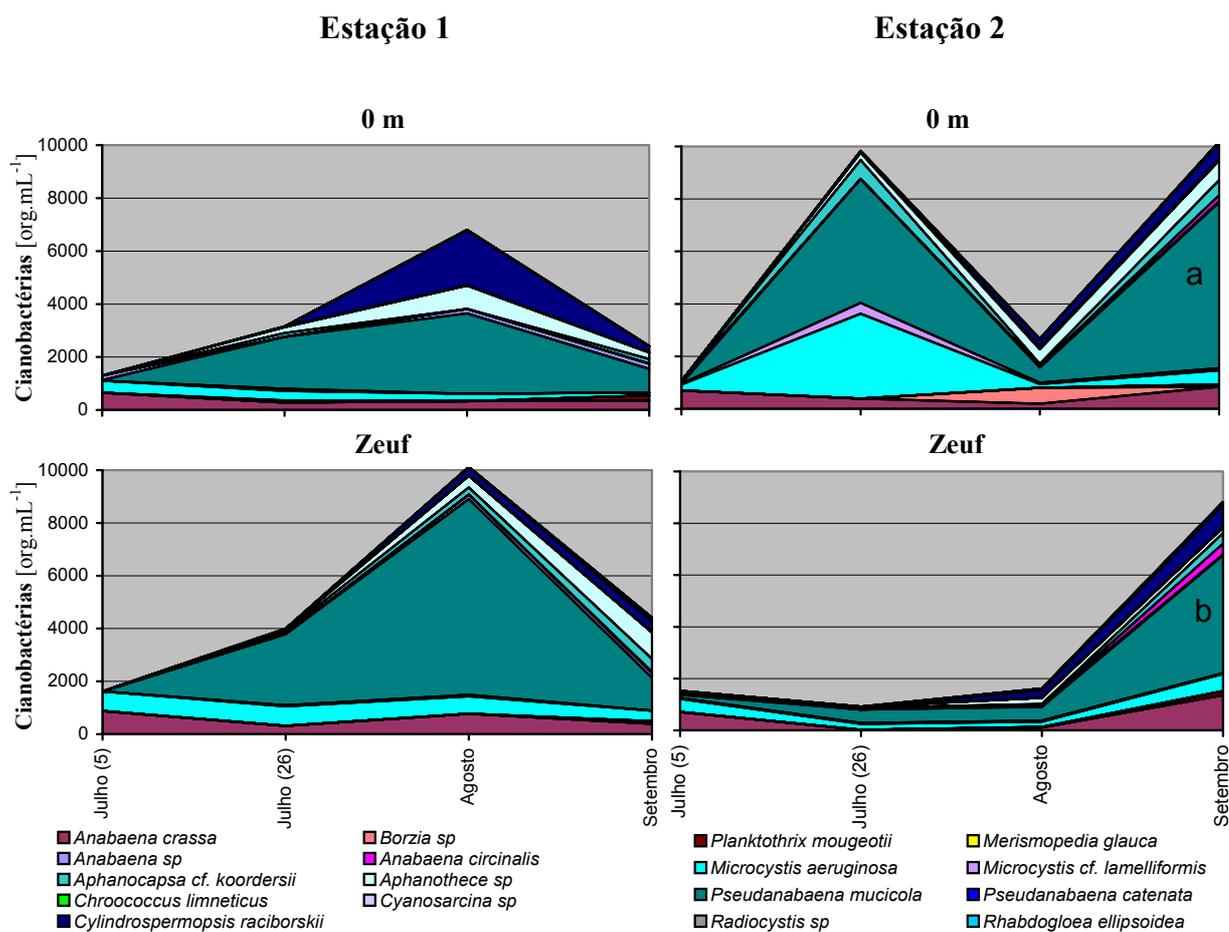


**Figura 13.** Porcentagem de contribuição das diferentes classes fitoplanctônicas e abundância relativa das espécies de cianobactérias em relação ao grupo.

As espécies de cianobactérias mais abundantes, em ambos períodos, foram *Pseudanabaena mucicola* e *Microcystis aeruginosa*. As demais espécies que ocorreram com frequência no verão, foram: *Microcystis cf. lamelliformis*, *Anabaena crassa* e *Planktothrix mougeotii* (figura 14) e no inverno, foram: *Anabaena crassa*, *Aphanothece* sp e *Cylindrospermopsis raciborskii* (figura 15).



**Figura 14.** Densidade das diferentes espécies de cianobactérias na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), durante os dias de verão, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.



**Figura 15.** Densidade das diferentes espécies de cianobactérias na superfície da coluna d'água (a) e na zona eufótica (b), durante os dias de inverno, nas duas estações de coleta, no Reservatório de Salto Grande.

### 6.2.3. Análise de Microcistinas

Nas amostras de água filtrada não foram identificadas substâncias com as características de microcistinas. Nas amostras contendo as células fitoplanctônicas, foram obtidas concentrações de microcistinas em quase todos os dias de amostragem, exceto nas amostras dos dias 22/3/99 e 5/7/99 (tabela 10). No verão, na estação 1, não foi detectada a presença de microcistinas; na estação 2, foram encontradas microcistinas em amostras de séston coletado na superfície da coluna d'água no dia 27/1/99 e na zona eufótica no dia 25/2/99. No inverno, foram obtidas concentrações de microcistinas apenas na superfície da coluna d'água, na estação 1 nos dias 26/7/99 e 20/9/99, e na estação 2 no dia 23/8/99.

**Tabela 10.** Concentrações de microcistinas em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de água bruta e em  $\mu\text{g.mg}^{-1}$  de massa seca do séston nas estações de coleta, na superfície da coluna d'água e na zona eufótica.

	Estação 1				Estação 2			
	Superfície		Zeuf		Superfície		Zeuf	
	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$
27/01/99	-	-	-	-	39,5	0,4	-	-
25/02/99	-	-	-	-	-	-	4,0	3,2
22/03/99	-	-	-	-	-	-	-	-
05/07/99	-	-	-	-	-	-	-	-
26/07/99	0,21	0,12	-	-	-	-	-	-
23/08/99	-	-	-	-	0,15	0,16	-	-
20/09/99	0,26	0,05	-	-	-	-	-	-

A tabela 11 apresenta um resumo dos dados obtidos durante o estudo de campo. As médias e desvios padrões calculados indicam apenas uma tendência das variáveis e facilitam a discussão dos resultados.

**Tabela 11.** Médias ( $\bar{x}$ ) e desvios padrões ( $\bar{sx}$ ) dos valores obtidos nas amostragens dos dias de verão e inverno e nas estações 1 e 2.

	Verão		Inverno		Estação 1		Estação 2	
	$\bar{x}$	$\bar{sx}$	$\bar{x}$	$\bar{sx}$	$\bar{x}$	$\bar{sx}$	$\bar{x}$	$\bar{sx}$
RFA 0 m [ $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ]	676,7	244,8	558,7	292,7	477,1	422,3	741,4	225,2
E [ $\text{m}^{-1}$ ]	2,6	0,9	1,26	0,3	1,8	0,7	1,9	1,1
Zeuf [m]	1,6	0,4	3,0	0,8	2,3	0,8	2,5	1,2
Temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ]	25,9	1,1	20,1	1,1	22,4	3,0	22,9	3,1
Zmix [m]	4,8	2,1	5,4	2,7	4,6	2,9	5,6	1,9
Frequência Brunt-Vaisála [ $\text{N}^2.10^{-6}\text{radians s}^{-1}$ ]	6039	2722	4144	2850	4733	2906	5180	3024
OD [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	1,7	1,6	4,0	3,1	3,2	3,1	2,8	2,3
% saturação OD	17		45		36		33	
Condutividade [ $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ]	100,7	17,2	253,3	20,2	196,0	74,7	177,2	81,3
pH (média perfil)	6,0	0,3	6,5	0,5	6,4	0,6	6,2	0,4
pH (média Zeuf)	6,4	0,4	7,5	0,7	7,3	0,9	6,8	0,8
Alcalinidade [ $\text{meq.L}^{-1}$ ]	0,51	0,04	0,73	0,04	0,65	0,11	0,62	0,13
TC [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	10,1	0,5	11,7	1,7	11,4	1,9	10,6	1,0
IC [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	4,9	1,5	5,3	0,5	4,9	1,4	5,4	0,4
TOC [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	5,1	1,8	6,4	1,3	6,5	1,8	5,2	1,2
C inorgânico [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	13,2	5,6	10,1	0,7	9,8	0,5	13,0	5,2
CO <sub>2</sub> total [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	48,4	20,7	37,0	2,6	36,1	1,8	47,7	18,9
CO <sub>2</sub> livre [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	25,9	22,0	4,6	3,8	7,0	4,0	20,5	23,6
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	31,2	2,7	45,4	3,1	40,8	7,8	37,8	8,0
CO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	0,02	0,01	1,32	3,21	1,40	3,47	0,12	0,16
MST [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	15,7	5,0	8,2	4,5	13,7	5,9	9,2	5,5
MSI [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	11,5	4,2	2,6	2,1	7,8	5,7	5,0	5,3
MSO [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	4,2	1,1	5,6	2,5	5,9	2,3	4,1	1,6
DTP [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	66,5	6,4	12,2	9,7	35,5	28,9	35,4	31,7
DIP [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	23,9	7,3	5,6	3,5	13,4	11,4	13,5	11,0
TP [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	118,3	24,6	58,3	31,0	89,2	43,3	78,8	41,8
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	477,6	121,8	430,2	274,5	453,5	209,4	447,5	240,2
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	47,0	27,4	87,8	66,0	90,9	72,2	49,8	21,5
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	153,1	157,4	139,2	167,8	187,1	203,2	103,2	90,6
TON [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	1148,2	398,4	1539,1	874,4	1772,2	802,0	970,9	306,4
SiO <sub>2</sub> [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	6,0	1,8	3,9	3,3	4,9	3,0	4,7	2,9
TN/TP	15,5	2,2	45,4	30,7	40,8	36,7	24,3	10,5
DIN/DIP	29,6	6,6	119,4	45,9	94,9	73,5	66,8	35,2
Clorofila <i>a</i> [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	23,8	15,1	41,3	5,9	39,8	16,5	27,9	13,8
Feofitina [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ]	5,4	1,7	9,7	8,3	10,5	8,2	5,2	3,0
Densidade fitoplanctônica [ $\text{org.mL}^{-1}$ ]	3930	9983	10154	7482	7635	8994	7338	9403
% Cianobactérias (0 m)	46	36	43	22	32	22	57	28
% Cianobactérias (Zeuf)	42	35	42	15	38	26	46	24
Cianobactérias potenc. tóxicas [ $\text{org.mL}^{-1}$ ] (0 m)	5569	12981	4595	3787	2018	2417	8007	11443
Cianobactérias potenc. tóxicas [ $\text{org.mL}^{-1}$ ] (Zeuf)	423	438	4130	3539	3039	3577	2043	3041

### 6.3. RECURSOS

A disponibilidade de luz na coluna d'água é um dos parâmetros de maior importância para o desenvolvimento de comunidades fitoplanctônicas. Durante este estudo, a intensidade de radiação solar subaquática esteve influenciada pela presença de material em suspensão na água, entre outros fatores não abordados. As análises de regressão linear do limite da zona eufótica e do coeficiente de extinção da luz com as concentrações do material particulado total em suspensão na água apresentaram valores de  $R^2$  significativos, 0,63 e 0,57, respectivamente (figura 16). O limite da zona eufótica apresentou uma relação negativa à presença de material em suspensão na água e o coeficiente de extinção da luz apresentou uma relação positiva.

Nos dias de verão foram obtidas as menores profundidades de zona eufótica e os maiores coeficientes de extinção da luz, já nos dias de inverno ocorreu o contrário. Essas diferenças foram devidas às variações na entrada de material através escoamento superficial na bacia de drenagem e, possivelmente, da ressuspensão do sedimento ocasionada pela turbulência da água devida ao aumento da vazão. CALIJURI (1988; 1999) demonstrou que em Barra Bonita, o aumento do material em suspensão na água, na época de grande precipitação, é o principal responsável pela redução da zona eufótica e leva a interferências na fisiologia e composição da comunidade fitoplanctônica.

As menores relações  $Z_{\text{máx}}/Z_{\text{euf}}$  obtidas nos dias de inverno indicaram um ambiente opticamente mais profundo durante esse período, quando comparado aos dias de verão, ou seja, quanto menor a relação  $Z_{\text{máx}}/Z_{\text{euf}}$ , maior a profundidade ótica do sistema. Segundo LEITE (1998), no reservatório de Salto Grande, devido às entradas pontuais e difusas de material alóctone e à elevada produção autóctone, os valores de transparência da água raramente ultrapassam 1 metro, limitando a zona eufótica em profundidades inferiores a 50% da coluna d'água, ou seja, a relação  $Z_{\text{máx}}/Z_{\text{euf}}$  raramente é menor que 2.

De acordo com MORRIS et al. (1995), o coeficiente total de atenuação da luz num lago é a soma dos coeficientes de atenuação da água, do

carbono orgânico dissolvido, dos pigmentos (especialmente clorofila), do material particulado e do coeficiente de extinção residual, devido a outros fatores na água como material inorgânico dissolvido. HODOKI & WATANABE (1998), estudando 5 lagos eutróficos no Japão (Lago Biwa, Okutama, Senzoku, Inogashira e Zenpukuji) demonstraram que a atenuação da radiação solar foi fortemente correlacionada às concentrações de carbono particulado orgânico e de clorofila *a* do séston, sugerindo que o fitoplâncton é mais importante na atenuação da luz do que o material orgânico dissolvido em ambientes com alto grau de trofia.

Neste estudo, o aumento da concentração de material em suspensão no verão, esteve relacionado à presença de chuvas, que fizeram o carreamento de material da bacia de drenagem para o corpo d'água. Em geral, as maiores concentrações de material em suspensão foram obtidas na estação 1 pois, normalmente há um gradiente de sedimentação em direção à barragem.

Apesar de terem sido avaliadas apenas duas estações de amostragem, pela experiência baseada em estudos anteriores (LEITE, 1998), pode-se sugerir que, no período de inverno, o gradiente horizontal de sedimentação de partículas no sentido montante a jusante é mais evidente devido ao aumento no tempo de residência da água no reservatório. Nesse período, em reservatórios tropicais, ocorre a diminuição da vazão. Esse é um dos fatores que faz com que ocorra um aumento da transparência da água em direção à barragem. Embora não tenha sido avaliado, não se deve esquecer que, no verão, a presença de chuvas ocasionou entradas difusas de materiais alóctones para o corpo d'água; com isso, ocorreu um incremento nos gradientes horizontais no sentido região litorânea e região limnética. Sendo assim, na presença de chuvas, a transparência da água vai depender das condições do entorno do corpo d'água. Tais observações corroboram o conceito apresentado por THORTON et al. (1990) sob a existência de gradientes longitudinais em reservatórios.

O aumento de praticamente 50% nas concentrações de fósforo total e 450% das formas dissolvidas nos dias de verão pode estar relacionado ao processo de lixiviação do solo pelas chuvas, que leva para o corpo d'água substâncias como fertilizantes e agrotóxicos oriundos de cultivos agrícolas realizados próximos ao

reservatório. O fato da estação 1 sempre ter apresentado maiores concentrações de fósforo que a estação 2, exceto pelas formas dissolvidas nos dias de verão, talvez possa ser justificado pela existência de um gradiente de redução de fósforo em direção a barragem (RIOS, 1999).

Os nutrientes foram encontrados em altas concentrações em ambos períodos. No entanto, as razões de massa N/P sofreram mudanças consideráveis, principalmente relacionadas às concentrações de fósforo. A alta concentração de fósforo encontrada no verão pode ser devida à entrada de efluentes antrópicos, carreamento pela chuva de substâncias fosfatadas utilizadas principalmente na agricultura e liberação de fosfato do sedimento uma vez que houve anoxia no hipólímnion. CALIJURI & TUNDISI (1990) confirmaram a importância dos sólidos em suspensão no transporte de fosfato adsorvido, aumentando, consideravelmente, as concentrações de fosfato no período das chuvas, no reservatório de Barra Bonita.

BARBOSA et al. (1999), estudando os reservatórios em cascata na Bacia do Tietê, São Paulo, constataram uma rápida diminuição da turbidez (especialmente da fração inorgânica) e do fósforo inorgânico no primeiro reservatório (reservatório de Barra Bonita). Os autores não obtiveram a mesma dinâmica de redução para o nitrogênio. A eficiência de retenção do fósforo pelo reservatório depende do tempo de residência da água e da sua concentração de fósforo, aumentando de forma assintótica com o tempo de residência e com aumento da concentração de fósforo (STRASKRABA, 1999).

ISTVÁNOVIC & SOMLYÓDY (1999), estudando o pré-reservatório Kis-Balaton e o Lago Balaton na Hungria, constataram gradientes longitudinais de retenção de fósforo, nitrato, carbonato e silte e verificaram que essas retenções dependem primeiramente das cargas (externas + internas) e do tempo de residência da água. Também ressaltaram que, tanto as características morfométricas (gradientes longitudinais) como a composição das espécies fitoplanctônicas, modificam a eficiência de retenção dos nutrientes. Concluíram que a dinâmica dos fatores limitantes (nutrientes e luz) é função do tempo de residência da água, morfometria e exposição ao vento de lagos e reservatórios rasos, fatores que determinam a composição das espécies fitoplanctônicas.

Com relação aos perfis térmicos, segundo CALIJURI et al. (1999), o reservatório de Salto Grande apresenta tendência à formação de termoclinas tanto no inverno como no verão. Frequentemente são encontradas oxiclina bem acentuadas nesse reservatório, mesmo com ausência de estratificação térmica. Neste trabalho, as concentrações de oxigênio dissolvido sempre foram maiores na superfície da coluna d'água. A ausência de um perfil de oxigênio estratificado só ocorreu no dia 5/7/99 na estação 1 devido a vento muito forte (observação em campo do autor).

Reservatórios eutróficos, geralmente, estão sujeitos à maior depleção de oxigênio dissolvido durante o verão, devido à entrada de matéria orgânica das zonas limnética e litorânea, e da bacia de drenagem para a região mais profunda do sistema (CALIJURI, 1999). No inverno, as maiores concentrações de oxigênio dissolvido, possivelmente, ocorreram devido à diminuição da temperatura da água, que leva a um aumento da porcentagem de saturação de oxigênio dissolvido e uma redução do metabolismo dos organismos aquáticos, com conseqüente redução no consumo de oxigênio dissolvido. As maiores concentrações de oxigênio dissolvido também podem estar relacionadas a um aumento da produtividade fitoplanctônica, pois nesse período foram determinadas as maiores concentrações de clorofila *a*. CALIJURI et al. (1999) encontraram em Salto Grande, valores de produção primária mais baixos nos meses de janeiro, fevereiro e março ( $51,3 \text{ mgC.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ ) do que em junho, julho e agosto ( $81,3 \text{ mgC.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ ). Pela análise de regressão linear entre as concentrações de oxigênio dissolvido e clorofila *a* ( $R^2 = 0,55$ ) e densidade fitoplanctônica ( $R^2 = 0,77$ ) (figura 17 a e b), como já era esperado, houve uma relação positiva entre estas variáveis.

Duas alternativas podem justificar o fato da estação 2 manter-se mais estratificada que a estação 1. Em primeiro lugar, por estar próxima à barragem, e sofrer maior influência da tomada d'água realizada em torno dos 6 m de profundidade. Pela figura 6 a, nota-se que abaixo de 9 m de profundidade encontra-se uma água com maior densidade e praticamente sem estratificação quando comparada a essa mesma camada da estação 1. Secundariamente, por estar sempre localizada próxima a bancos de macrófitas, o que pode ter desfavorecido a mistura da coluna d'água e contribuído para o consumo de oxigênio, principalmente devido à fauna associada e biomassa em decomposição.

Embora a atuação do vento seja reconhecida como uma das mais importantes funções de força que atuam nos sistemas aquáticos, por promover a mistura parcial ou completa da coluna d'água, neste reservatório especificamente, nos períodos de coletas, devido ao seu estado trófico, o vento não atuou de forma marcante, provavelmente, devido à extensa cobertura de macrófitas aquáticas (cerca de 20% da superfície da água). Esta barreira natural à força do vento pode ter impedido a mistura completa da coluna d'água, favorecendo as estratificações térmica, química e biológica em ambos os períodos estudados.

As observações em campo indicaram que, neste ambiente, as macrófitas atuaram como: barreira física, interferindo na hidrodinâmica e disponibilidade de luz no corpo d'água, e barreira química, competindo pelos nutrientes e, possivelmente, produzindo efeitos alelopáticos. Provavelmente, esses foram os motivos pelos quais não ocorreram florações permanentes durante o período estudado.

O aumento do pH no período de inverno, possivelmente, esteve relacionado ao aumento da produtividade fitoplanctônica, pois foi nesse período que foi encontrada maior biomassa fitoplanctônica. Em ambas estações, notou-se uma relação positiva entre os valores de pH e as concentrações de clorofila *a* ( $R^2 = 0,52$ ) e a densidade fitoplanctônica ( $R^2 = 0,72$ ) (figura 17 c e d). Também houve uma relação positiva entre as concentrações de bicarbonato ( $R^2 = 0,53$ ) e carbonato ( $R^2 = 0,75$ ) com a densidade de organismos fitoplanctônicos (figura 18 a e b).

A diminuição dos valores de condutividade no período de verão, pode ter ocorrido devido ao efeito de diluição pela água da chuva. A condutividade mais baixa na estação 2, provavelmente ocorreu em função dos processos de absorção, adsorção, troca iônica e principalmente, sedimentação de partículas iônicas ao longo do eixo horizontal longitudinal.

## 6.4. COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA

### 6.4.1. Biomassa Total

A maior densidade fitoplanctônica foi encontrada no período de inverno, principalmente na estação 1. Maior número de espécies de cianobactérias também foi encontrado nesse período. Isso tudo foi devido às diferentes condições ambientais encontradas nos dois períodos, observadas através dos resultados obtidos. O crescimento e dominância de um grupo particular de organismos podem ser associados às interações entre fatores estressantes e distúrbios. A intensidade e a frequência de ambos variam conforme a influência de flutuações sazonais no comprimento do dia, aquecimento solar e resfriamento, ação do vento, intensidade de chuva, carga de nutrientes, e fluxo hidráulico (REYNOLDS, 1988). No período de inverno, o ambiente esteve mais favorável à permanência dos diferentes grupos fitoplanctônicos. De um modo geral, a densidade de organismos fitoplanctônicos também foi maior nesse período. Talvez, a ausência de chuva tenha possibilitado condições ambientais mais favoráveis que as encontradas no período de verão. As intensas chuvas de verão levaram ao aumento da vazão do reservatório e também das taxas de carreamento de material em suspensão e de nutrientes.

Para NASELLI-FLORES (1999), a quantidade de biomassa fitoplanctônica pode ser uma consequência previsível do aumento da disponibilidade de nutrientes em ecossistemas aquáticos; por outro lado, os fatores que governam a estrutura do grupo ou tendências de mudanças das taxas da comunidade através de gradientes tróficos são questões abertas para ecologia do fitoplâncton. Considerando as interações entre fatores, segundo REYNOLDS (1998), a comunidade planctônica que um lago em determinado estado trófico suporta, não está relacionada exclusivamente à disponibilidade qualitativa e quantitativa de nutrientes, mas a um conjunto de fatores que incluem morfometria, dinâmica de mistura (clima local, latitude, altitude e exposição ao vento), transparência da água e alcalinidade.

Um grande número de trabalhos tem demonstrado que a clorofila fitoplanctônica é estritamente dependente da quantidade de fósforo presente num

determinado corpo d'água e que a biomassa fitoplanctônica parece ser uma consequência previsível do aumento da disponibilidade de nutrientes no ecossistema aquático (NASELLI-FLORES, 1999 e SEIP et al. 2000). No entanto, este trabalho obteve uma relação inversa entre a disponibilidade de fósforo e as concentrações de clorofila *a* e densidade fitoplanctônica (figura 19).

Como era de se esperar, a equação de regressão para previsão da produção de algas em lagos e rios proposta por REYNOLDS (1997) (ver item 4.6.) não se adequou aos valores obtidos no Reservatório de Salto Grande. Para reforçar ainda mais essa observação, foram utilizados os dados produzidos por DEBERDT (1997), juntamente com os obtidos neste trabalho. A figura 20 indica uma previsão contrária, devido ao fato das cargas de fósforo solúvel aumentarem nesse sistema paralelamente às de material em suspensão advindo da lixiviação da bacia de drenagem, como sugere a figura 21.

A ausência de uma relação direta entre a disponibilidade de nutrientes e a biomassa fitoplanctônica pode ser justificada pelo elevado grau de trofia do ambiente, ou seja, concentrações de nitrogênio e fósforo bem acima do limitante. Mas o fato das concentrações de clorofila *a* apresentarem uma relação negativa com as concentrações de fosfato principalmente no verão (figura 19 a) pode também estar relacionado à forma com que este nutriente chega ao corpo d'água, muitas vezes juntamente com uma grande quantidade de material em suspensão que dificulta a penetração da luz. A importância dos sólidos em suspensão no transporte de fosfato para o corpo d'água foi destacada por CALIJURI & TUNDISI (1990).

A tabela 12 apresenta valores médios anuais de fósforo e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais. Com relação às concentrações de fósforo inorgânico dissolvido, os valores de clorofila *a* apresentaram tendência inferior à proposta por REYNOLDS (1997) (figura 22), o que sugere que outros fatores, e não o fósforo, foram limitantes ao crescimento fitoplanctônico na maior parte dos ambientes comparados. Entretanto, há de se considerar que essa tendência não foi significativa devido à heterogeneidade dos ambientes analisados.

Comparando os valores de clorofila *a* em função da concentração de fósforo total esperados pela equação de OECD (1982) (ver item 4.6.) com a

tendência obtida através dos dados de reservatórios tropicais (figura 23), notou-se uma maior concentração de clorofila *a* por fósforo total, que indica uma razão chl *a*/TP maior que a proposta por OECD (1982).

CALIJURI & DOS SANTOS (2001), estudando a comunidade fitoplanctônica de um reservatório eutrófico em Barra Bonita, São Paulo, concluíram que os efeitos limitantes da penetração da luz são mais fortes que a disponibilidade de nutrientes, principalmente fósforo. Todos os resultados apresentados NASELLI-FLORES (1999) sobre os reservatórios da Sicília, na Itália, sugerem a possibilidade de que a influência dos nutrientes na estrutura da comunidade seja maior em ambientes com menores graus de trofia ou com grande estabilidade da água durante o ano. Em contraste, com o aumento do grau de trofia ou drenagem da água, os parâmetros físicos são realçados e tornam-se mais importantes na promoção do desenvolvimento de uma comunidade fitoplanctônica adaptada a ambiente fisicamente modificado. Talvez o fato de serem obtidas altas concentrações de nutrientes durante todo ano no Reservatório de Salto Grande acentue a importância dos parâmetros físicos, como luz e estabilidade da coluna d'água para esse ambiente.

Nos dias de verão, a função de força que esteve diretamente relacionada ao aumento da densidade fitoplanctônica foi a relação  $Z_{euf}/Z_{mix}$ . Entretanto, analisando as regressões lineares entre essa variável e as densidades dos diferentes grupos fitoplanctônicos, nota-se que essa relação positiva foi válida para todos os grupos, exceto para as cianobactérias (figura 24 b). Para estas, a função de força de maior influência foi o coeficiente de extinção da luz, que apresentou uma forte relação positiva somente com o aumento da densidade desse grupo, e nenhuma relação com os demais (figura 24 a).

Nos dias de inverno, as funções de força de maior influência no aumento da densidade de cianobactérias foram a frequência de Brunt-Vaisála e o coeficiente de extinção da luz (figura 25), considerando-se que a própria densidade de cianobactérias interferiu nesse coeficiente. Para os demais grupos, não foi definida uma variável de maior influência; certamente um conjunto de fatores determinou a ocorrência das espécies. Provavelmente, a ocorrência de uma maior profundidade óptica (menor  $Z_{max}/Z_{euf}$ ) possibilitou a coexistência dos grupos fitoplanctônicos, pois

nesse período foram encontradas as menores abundâncias relativas das cianobactérias e as maiores dos demais grupos.

Essas observações deixam clara a preferência das cianobactérias por uma coluna d'água termicamente mais estável, enquanto os demais grupos dependem da mistura para se manterem na zona eufótica. CALIJURI et al. (2002) demonstraram que o tamanho da colônia de *Microcystis aeruginosa* correlaciona-se positivamente com a frequência de Brunt-Vaisälä, ou seja, com a estabilidade da coluna d'água. Segundo os autores (op. cit.), a freqüente ocorrência de pequenas colônias de *Microcystis aeruginosa* no reservatório eutrófico de Barra Bonita, deve-se ao comportamento polimítico do sistema.

Muitos trabalhos indicam os padrões de mistura e estratificação como importantes fatores que governam a estrutura da comunidade fitoplanctônica. Para REYNOLDS, (1997), distúrbios, na forma de mistura e turbulência, são importantes na ecologia das comunidades planctônicas. BERMAN & SHTEINMAN (1998) indicaram que mudanças na turbulência do Lago Kinneret foram importantes fatores de influência na sucessão da comunidade fitoplanctônica. Mudanças similares, relacionadas à mistura, foram identificadas como importantes na explicação de alterações da diversidade fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita (CALIJURI & DOS SANTOS, 1996). NASELLI-FLORES (1999) observou aumentos na diversidade da comunidade fitoplanctônica coincidentes com mudanças no nível de água e na relação  $Z_{mix}/Z_{euf}$  em 21 reservatórios na Sicília. As estratégias operacionais, que influenciam na intensidade e frequência da turbulência e mistura, podem ser responsáveis pelas diferenças entre os reservatórios na sucessão sazonal da comunidade planctônica e da ocorrência de associações particulares de algas (REYNOLDS, 1999).

A relação  $Z_{mix}/Z_{euf}$  pode determinar a presença de espécies fitoplanctônicas (LIND & DÁVALOS-LIND, 1999). Essa relação pode ser alterada não apenas devido à turbidez, mas também pelo nível da água ou profundidade de estratificação. SHERMAN & WEBSTER (1998) constataram alternância entre diatomáceas e cianobactérias dependentes dessa relação que, alterada pela presença de estratificação, favoreceu o desenvolvimento das cianobactérias quando seu valor

aproximou-se de 1. LIND & DÁVALOS-LIND (1999) encontraram, em lago tropical com alta turbidez, no México (Lago Chapala), ocorrência de florações de filamentos de cianobactérias também relacionadas à  $Z_{mix}/Z_{euf}$  de aproximadamente 1. De acordo com os autores, essa relação é resultado da pequena profundidade de mistura e aumento na turbidez causada pela ressuspensão do sedimento e redução da profundidade do lago, devido ao uso urbano excessivo da água. Entretanto, nesse estudo, apenas a relação  $Z_{euf}/Z_{mix}$  apresentou influência considerável na comunidade fitoplanctônica.

#### 6.4.2. Cianobactérias

Neste trabalho, as maiores densidades de cianobactérias foram obtidas durante os dias de inverno, período em que foram obtidos os menores valores de vazão, correspondentes a, praticamente, 1% do volume do reservatório, por dia. Também nesse período foram obtidos os maiores tempos de residência da água (tabela 6).

PADISÁK et al. (1999), estudando os efeitos das mudanças na vazão sobre o desenvolvimento de populações de cianobactérias no lago Müggelsee, em Berlim, na Alemanha, mostraram que a intensidade dos distúrbios tem um significativo papel na prevenção do desenvolvimento de comunidades dominadas por cianobactérias ou até mesmo do desenvolvimento de florações. Entretanto, para os autores, a continuidade dos distúrbios também é qualificada como constância ambiental, e podem ser menos efetivos do que se forem aplicados como pulsos. PADISÁK et al. (1999) concluíram que se a vazão for menor que 1% do volume do reservatório por dia, pode ocorrer um grande desenvolvimento de cianobactérias, entretanto, alterações repentinas da vazão entre 1% a 2% do volume do lago por dia são muito efetivas na quebra ou reversão do aumento populacional. Desta forma, reservatórios submetidos a pulsos são menos propensos ao desenvolvimento de cianobactérias se esses ocorrerem em frequência suficiente (20 - 30 dias) e suas intensidades estiverem na faixa de 1% - 2% do volume do reservatório por dia. Entretanto, para que essa teoria seja válida, deve ser considerada a morfometria do

lago ou reservatório, pois essas conclusões apresentadas pelos autores (op. cit.) foram baseadas nos estudo de um lago raso com 7,7 km<sup>2</sup> de área de superfície e 36.10<sup>6</sup> m<sup>3</sup> de volume.

Com relação aos aspectos físicos do ambiente, REYNOLDS (1980), ressalta que as cianobactérias, freqüentemente, exibem crescimento e características reprodutivas favoráveis sob condições consideradas “extremas”, como estabilidade térmica e, às vezes, química, por se estabelecerem na superfície da coluna d’água. Segundo ROBARTS (1984), sob condições de estratificação vertical, a radiação fotossinteticamente ativa e a concentração de CO<sub>2</sub> freqüentemente podem ser limitantes ao longo de gradientes verticais bem definidos. A capacidade de migração da célula ao longo desses gradientes é de grande importância, até mesmo essencial. Essas populações podem, efetivamente, captar mais radiação fotossinteticamente ativa incidente e recursos atmosféricos como CO<sub>2</sub>, enquanto sombreiam as populações da sub-superfície que não flutuam. Isto justifica o fato de ter sido encontrada uma relação positiva entre a densidade de cianobactérias e o coeficiente de extinção da luz nos dias de verão, quando o ambiente esteve com menor zona eufótica, pois os organismos se mantiveram na superfície da coluna d’água para captar energia solar. Os demais grupos dependeram da zona de mistura dentro da zona eufótica.

A mistura movimentava as cianobactérias livremente ao longo da coluna d’água juntamente com os outros grupos fitoplanctônicos, o que torna sua capacidade de flutuar e estabilizar-se, ineficiente. Essas mudanças físicas forçam as cianobactérias a competirem mais diretamente pelos regimes de temperatura, radiação e nutrientes com os demais grupos fitoplanctônicos que prosperam sob condições de mistura completa (TALLING, 1982). Nos dias de inverno, apesar da ocorrência de menor estratificação da coluna d’água que nos dias de verão, as cianobactérias aproveitaram-se de sua capacidade de flutuabilidade e melhor absorção da luz (BARTRAM et al., 1999) para competir e sombrear os demais grupos, o que justificaria a relação positiva com o coeficiente de extinção da luz e a freqüência de Brunt Vaisála.

Pode-se dizer que o grupo das cianobactérias foi o que mais se destacou neste estudo. No geral, elas representaram 41% da comunidade fitoplanctônica. As espécies de cianobactérias mais abundantes foram: *Pseudanabaena mucicola*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis cf. lamelliformis*, *Anabaena crassa*, *Aphanothece* sp e *Cylindrospermopsis raciborskii*.

*Pseudanabaena mucicola* apresentou correlação positiva significativa ( $p > 0,05$ ) com as concentrações de oxigênio dissolvido, carbonato, bicarbonato, material particulado orgânico em suspensão, nitrito, pH, razão de massa TN/TP e concentrações de microcistinas. *Pseudanabaena mucicola*, em geral, foi encontrada associada a colônias de *Microcystis*. *Microcystis aeruginosa* apresentou correlação positiva com as concentrações de material particulado orgânico em suspensão, razão de massa DIN/DIP e concentrações de microcistinas. *Anabaena crassa* apresentou correlação positiva com a profundidade da zona de mistura e as concentrações de material particulado orgânico em suspensão. *Microcystis cf. lamelliformis* apresentou correlação positiva com os valores de condutividade, razão de massa DIN/DIP e concentrações de microcistinas; correlação negativa com as concentrações de fósforo dissolvido total e inorgânico. *Aphanothece* sp apresentou correlação positiva com as concentrações de oxigênio dissolvido, carbonato, bicarbonato, material particulado orgânico em suspensão, pH, condutividade e razão de massa TN/TP; correlação negativa com as concentrações de fósforo total e dissolvido. *Cylindrospermopsis raciborskii* apresentou correlação positiva com as concentrações de oxigênio dissolvido, material particulado orgânico em suspensão, nitrogênio orgânico total, pH e razão de massa TN/TP; correlação negativa com as concentrações de nitrato, fósforo total e silicato reativo.

Segundo PAERL (1988), o gênero *Microcystis* é comum em águas mesotróficas à hipereutróficas. As espécies planctônicas de *Microcystis* são comumente distribuídas em todo o mundo, e representam uma importante função em corpos d'água eutróficos. O desenvolvimento de biomassa e significado ecológico (florações e toxicidade) desse gênero torna-o um dos mais importantes organismos fitoplanctônicos. Esse é um dos motivos pelo qual as condições que influenciam o desenvolvimento e os ciclos vegetativos das florações de *Microcystis* são investigados intensivamente. *Microcystis* é considerada K estrategista, típica de final

de sucessão (REYNOLDS, 1984 e CALIJURI & DOS SANTOS, 1996). REYNOLDS (1988), classificou *Microcystis* como S – estrategista, ou seja, espécie que suporta o “stress” (CALIJURI, 1999). *Pseudanabaena mucicola* pode ser considerada R – estrategista (ruderal).

O gênero *Anabaena* pode formar “blooms” em águas eutróficas, especialmente as ricas em fósforo e matéria orgânica, preferem águas estratificadas durante os períodos quentes. Por pertencer à ordem Nostocales, o gênero *Anabaena* pode apresentar heterocitos, estruturas que possibilitam a fixação de N<sub>2</sub>. Porém, no ambiente estudado, praticamente não foram encontrados filamentos contendo tal estrutura, provavelmente devido às altas concentrações de nitrogênio disponível e pelo fato desse processo de fixação de N<sub>2</sub> ser altamente dispendioso energeticamente (PAERL, 1988).

De acordo com a classificação proposta por REYNOLDS (1996) a comunidade de cianobactérias no reservatório de Salto Grande foi composta por gêneros do tipo:

- H, *Anabaena* e *Cylindrospermopsis*, típicos de ambientes com boa insolação, rico em nutrientes, mas tolerantes a baixa concentração de nitrogênio;
- K, *Aphanocapsa* e *Aphanothece*, típicos de águas calmas, com níveis moderados de nutrientes;
- M, *Microcystis*, típico de ambientes quentes, com boa insolação e eutróficos;
- R, *Planktothrix*, típico de ambiente misturado, com pouca insolação.

Os gêneros do tipo K e R quase não ocorreram nos dias de verão, já os gêneros do tipo H e M ocorrem em ambos períodos. Para DOKULIL & TEUBNER (2000) as conseqüências da dominância de cianobactérias não depende apenas do enriquecimento de nutrientes, mas também das espécies de cianobactérias envolvidas. Características ecológicas e fisiológicas, assim como competição entre espécies e interações com o nível trófico, devem ser consideradas.

Em suma, a ocorrência das cianobactérias neste estudo é explicada pelas características intrínsecas desse sistema, tais como: a alta disponibilidade de

nutrientes, temperaturas entre 19° e 28°C, zona eufótica reduzida entre 1,25 m e 4,75 m, pH entre 6 e 8 e freqüentes períodos com ausência de mistura completa da coluna d'água, levando a estabilidades térmica e química. Embora muitos estudos realizados no Reservatório de Salto Grande comprovem a ocorrência de florações de cianobactérias, neste trabalho a formação de “nata” na superfície só ocorreu no dia 27/1 na estação 2. A variável que melhor se correlacionou com a ocorrência de cianobactérias na superfície foi a temperatura da água (no verão  $R = 0,65$  e no inverno  $R = 0,63$ ).

A presença de microcistinas na água bruta manteve-se em níveis aceitáveis, abaixo de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , na maior parte dos dias avaliados, exceto nos dias 27/1 e 25/2 na estação 2. Foram obtidas correlações positivas entre as concentrações de microcistinas e as densidades das espécies *Microcystis aeruginosa* ( $R = 0,93$ ), *Microcystis cf. lamelliformis* ( $R = 0,99$ ) e *Pseudanabaena mucicola* ( $R = 0,93$ ). Provavelmente, as espécies de *Microcystis* foram as responsáveis pela produção da toxina. Embora não existam relatos da produção de toxinas por cepas de *Pseudanabaena mucicola*, sua relação positiva com a presença de microcistinas deveu-se ao fato dessa espécie crescer associada a colônias de *Microcystis*, principalmente na superfície.

#### 6.4.3. Demais Grupos

As bacilariofíceas, segundo grupo de maior abundância, tiveram uma representatividade de 23%, sua maior abundância relativa foi obtida nos dias de verão e foram favorecidas principalmente pelo aumento da relação  $Z_{\text{euf}}/Z_{\text{mix}}$ , pois é o grupo que mais depende da mistura para se manter na zona eufótica.

Segundo SOMMER (1988), a frústula de sílica parece ser contra-adaptativa à sobrevivência planctônica, pois torna a diatomácea dependente de um nutriente adicional mais lentamente reciclado que nitrogênio e fósforo, deixa a célula mais pesada e mais propensa a perdas por sedimentação que outros organismos fitoplanctônicos, outros grupos são pouco dependentes ou totalmente independentes de sílica. Apesar do aparente “custo” das frústulas para o crescimento e

sobrevivência das diatomáceas, estas algas estão entre as taxa de crescimento de maior sucesso do fitoplâncton, sugerindo que os “custos” estão balanceados com os “benefícios” que estão diretamente ou indiretamente relacionados à frústula. Estudos sobre competição têm demonstrado que a desvantagem de serem dependentes de sílica é contrabalançada pelo fato das diatomáceas serem boas competidoras por outros nutrientes, especialmente por fósforo.

De acordo com SOMMER (1988), a mistura profunda é vantajosa não apenas para evitar o afundamento e facilitar a nutrição das diatomáceas, mas também para levá-las à exposição a intensidades luminosas mais baixas que se permanecessem próximas à superfície da água, em situações de forte estratificação térmica. Segundo esse mesmo autor, a transparência da água também regula a abundância das diatomáceas, pois alta transparência compensa oticamente o aumento da zona de mistura e também permite um maior tempo de residência na zona eufótica para uma alga que afunda sob condições de estabilidade.

As criptofíceas formaram o terceiro grupo mais abundante neste estudo. No geral representaram 21% da comunidade fitoplanctônica e sua ocorrência esteve relacionada ao aumento da relação  $Z_{euf}/Z_{mix}$ . De acordo com KLAIVENESS (1988), tem sido registrado o aumento de criptofíceas quando outras populações estão declinando, como se um “nicho” temporário fosse aberto. Isso demonstra que elas são oportunistas, uma estratégia possível porque as criptofíceas têm sido consideradas distintas de r-estrategistas (SOMMER, 1981), embora essa terminologia descritiva não tenha contribuído para o real entendimento da sazonalidade ou ausência de populações de criptofíceas em diferentes locais (KLAIVENESS, op. cit.). Este mesmo autor indica uma preferência das criptofíceas por temperaturas mais amenas, dominando nos períodos de inverno e primavera.

REYNOLDS (1996) afirmou que as criptofíceas conseguem se manter em uma grande variedade de condições ambientais, sobrevivendo entre as espécies comuns, tanto no período de mistura quanto no de estratificação da coluna d'água. CASCO & TOJA (1994), estudando a flora algal do reservatório La Minilla (Sudoeste da Espanha), encontraram populações densas de Cryptomonadales formadas durante os períodos mais frios do ano, com relativamente pouca

intensidade luminosa. Segundo esses autores, a mobilidade permite que as Cryptomonadales permaneçam nas camadas superiores da coluna d'água, quando a intensidade de luz é baixa, embora implique em um gasto de energia. No ambiente estudado pelos autores, essa é a estratégia mais bem sucedida no inverno, quando movimentos da água não favorecem a suspensão das células algais na zona fótica e a forte turbidez restringe a disponibilidade de luz.

Com relação à transparência da água, PADISÁK (1991) observou a ocorrência de espécies de *Cryptomonas* durante a fase de águas claras no lago Balaton, na Hungria. No reservatório de Salto Grande, as maiores densidades de criptofíceas ocorreram no período de inverno, quando as águas estiveram mais frias e menos turvas.

CALIJURI & DOS SANTOS (1996) e DOS SANTOS & CALIJURI (1998) mencionaram que o Reservatório de Barra Bonita, no período de inverno (10 dias consecutivos), mostrou uma constância na população de *Cryptomonas tetrapyrenoidosa*, porém nunca com domínio sobre outras espécies. Essa constância, segundo CALIJURI et al. (2002), foi devida à disponibilidade de nutrientes, boas condições de luz, altas taxas de crescimento desses organismos e mistura da coluna d'água.

As clorofíceas constituíram o quarto grupo mais abundante do ambiente estudado, representando 12% da comunidade fitoplanctônica. As clorofíceas não dominaram nenhum dos períodos estudados, entretanto, o inverno apresentou as condições mais apropriadas ao seu desenvolvimento. Sua ocorrência no verão esteve relacionada ao aumento da relação  $Z_{euf}/Z_{mix}$ .

Os organismos fitoplanctônicos sem movimento próprio, como as cianobactérias desprovidas de aerótopos, as clorococales e as bacilariofíceas, não flutuam e nem possuem flagelo, por isso são completamente dependentes da turbulência para serem mantidas em suspensão. Segundo HAPPEY-WOOD (1988), sob condições de estabilidade térmica, células ou colônias tenderão a sedimentar, saindo da zona eufótica. Apenas quando a taxa de crescimento dos sobreviventes da zona eufótica for maior que a taxa de sedimentação da população na coluna d'água, haverá crescimento expresso por aumento líquido da população fitoplanctônica.

Sendo assim, o crescimento da população depende das mudanças no balanço entre a fotossíntese expressa como aumento de células e processos de perda como respiração e sedimentação da população. De acordo com esse mesmo autor, o crescimento líquido depende de condições adequadas de luz e nutrientes. A taxa de crescimento líquido normalmente aumenta durante períodos de mistura da coluna d'água, o que enfatiza a importância do movimento passivo ou transporte por circulação em águas turbulentas para algas sem movimento próprio.

Os demais grupos juntos apresentaram abundância relativa inferior a 5%. Essa baixa representatividade pode indicar que, independentemente das mudanças sazonais dos fatores físicos e químicos que ocorreram nesse sistema, as condições no reservatório de Salto Grande não favoreceram o crescimento de espécies de crisofíceas, euglenofíceas e dinofíceas. No entanto, todos os organismos encontrados certamente apresentam importantes estratégias de sobrevivência que lhes permitiu manterem-se na coluna d'água. Estes organismos também apresentaram uma relação positiva com os valores de  $Z_{euf}/Z_{mix}$ .

REYNOLDS (1999) concluiu que a seleção da composição da comunidade fitoplanctônica depende da habilidade das espécies de serem mais eficientes ou mais rápidas do que outras quando as condições estão próximas das ideais, ou de suas habilidades relativas de adequarem-se sob condições sub-ideais de disponibilidade de recursos ou energia. De acordo com o autor, águas quentes, dias longos, céu claro, disponibilidade de nutrientes e taxas favoráveis de troca gasosa, obviamente conduzem a metabolismos ativos. A agitação física da água é favorável à renovação por difusão de todos os recursos dissolvidos e o movimento convectivo é essencial para a contínua suspensão de espécies sem movimento próprio.

Para REYNOLDS (1997), a composição específica da comunidade fitoplanctônica é sensível à profundidade da zona de mistura, disponibilidade de luz e da relação entre hidrogênio iônico e carbono disponível. Os recursos nutricionais são freqüentemente críticos na regulação que a biomassa coletiva atingem, em cada caso eles contribuem para competição e seleção da população específica ao conjunto de recursos.

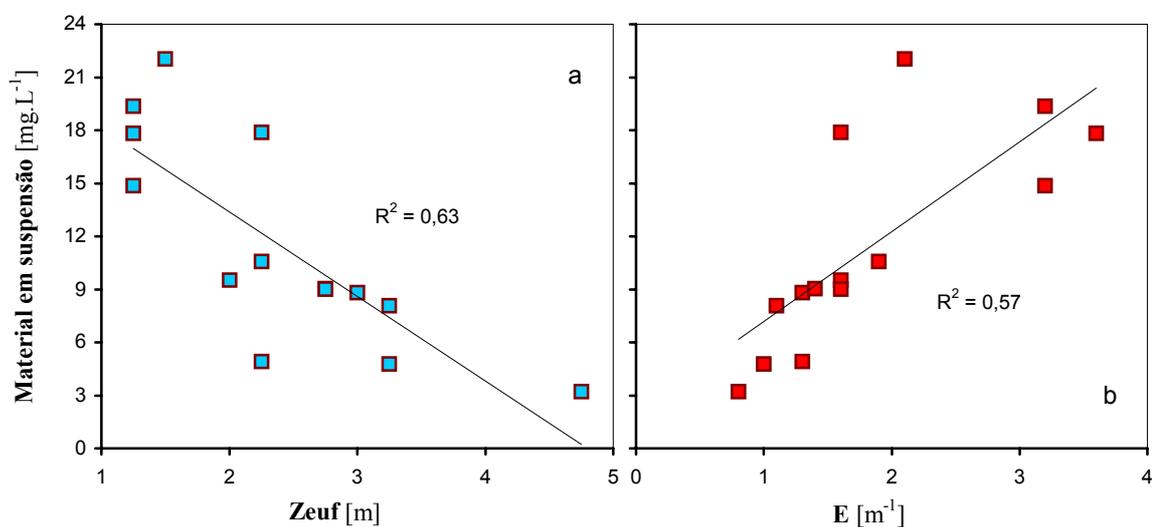
Contudo, os fatores ambientais são importantes na determinação da presença de grupos fitoplanctônicos. Movimentos da água causados pelas flutuações no nível d'água ou pela turbulência são definitivos para presença de alguns táxons em diferentes posições no corpo d'água. Fatores estressantes determinam o sucesso de certas estratégias do fitoplâncton num reservatório, como: altas taxas de crescimento para dominar o epilimnion, mobilidade para permanecer na zona fótica, variabilidade morfológica para colonizar diferentes habitats e desenvolvimento de longos talos mucilaginosos para competir pela luz e nutrientes. Essas estratégias são resultados da habilidade de cada espécie em responder às mudanças das combinações dos fatores físicos e químicos do ambiente (CASCO & TOJA, 1994).

### 6.5. RAZÃO N/P

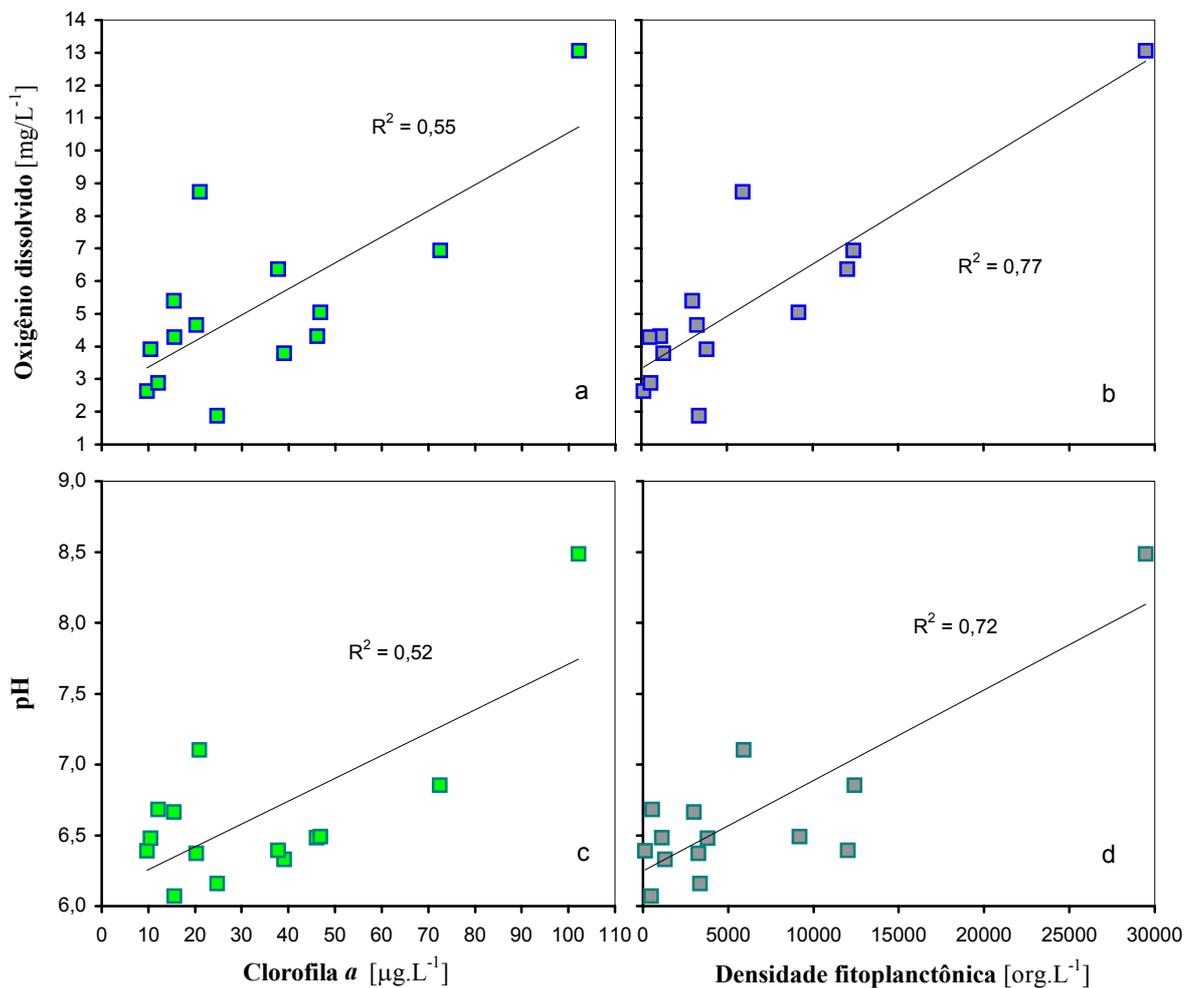
Com relação às razões N/P, ao contrário do esperado, não foram obtidas correlações que justificassem as alterações nas abundâncias relativas dos grupos fitoplanctônicos. As cianobactérias apresentaram uma relação positiva com os valores da razão N/P de Redfield ( $R^2 = 0,62$ ) no verão (figura 26 a); as bacilariofíceas e as clorofíceas apresentaram uma relação positiva com a razão TN/TP ( $R^2 = 0,92$  e  $R^2 = 0,73$ , respectivamente) no inverno (figura 28 b); as criptofíceas e as crisofíceas apresentaram uma relação positiva com a razão DIN/DIP ( $R^2 = 0,77$  e  $R^2 = 0,83$ , respectivamente) no inverno (figura 27 b); as euglenofíceas e as crisofíceas com a razão N/P de Redfield ( $R^2 = 0,76$  e  $R^2 = 0,68$ , respectivamente) no inverno (figura 26 b).

As análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e as diferentes alternativas de se calcular a razão N/P mostraram que dependendo da forma com que se determina a razão N/P, podem ser obtidas correlações com determinados grupos, dependendo da preferência de cada um. O fato de terem sido obtidos elevados coeficientes de determinação ( $R^2 > 0,6$ ) entre algumas formas de se calcular a razão N/P e algumas classes fitoplanctônicas, certamente não significou que tais razões N/P foram determinantes na predominância das respectivas classes correlacionadas, mas simples coincidências.

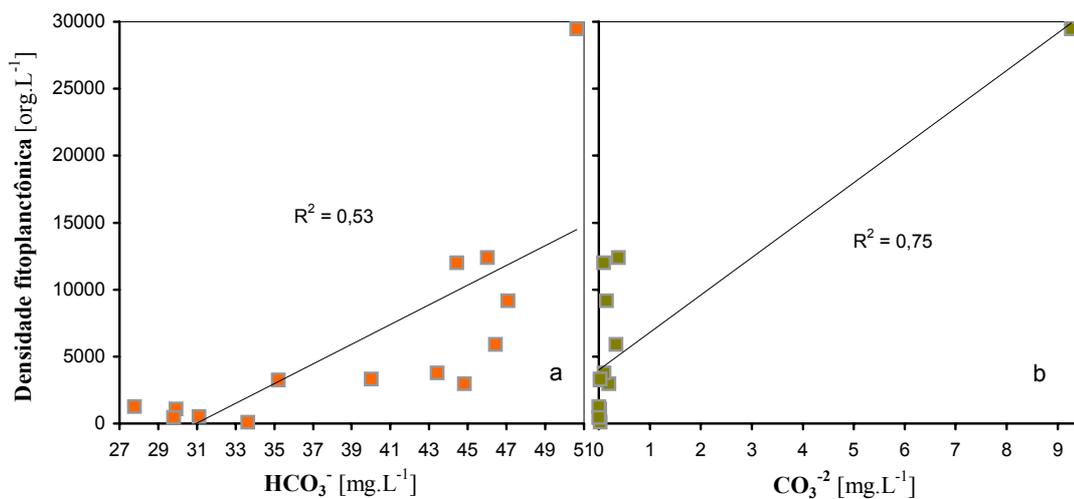
Estas constatações sobre a influencia da razão N/P na determinação de grupos fitoplanctônicos corroboram a idéia proposta por REYNOLDS (1997). Após uma série de argumentações sobre o tema (descrita no item 2.6.), o autor (op.cit.) concluiu que é um equívoco supor que a razão entre nutrientes não limitantes possa definir a predoninância de determinados grupos fitoplanctônicos. Sendo assim, a razão N/P seria muito mais uma conseqüência da absorção de nutrientes, do que uma causa da ocorrência de espécies, em condições nutricionais não limitantes.



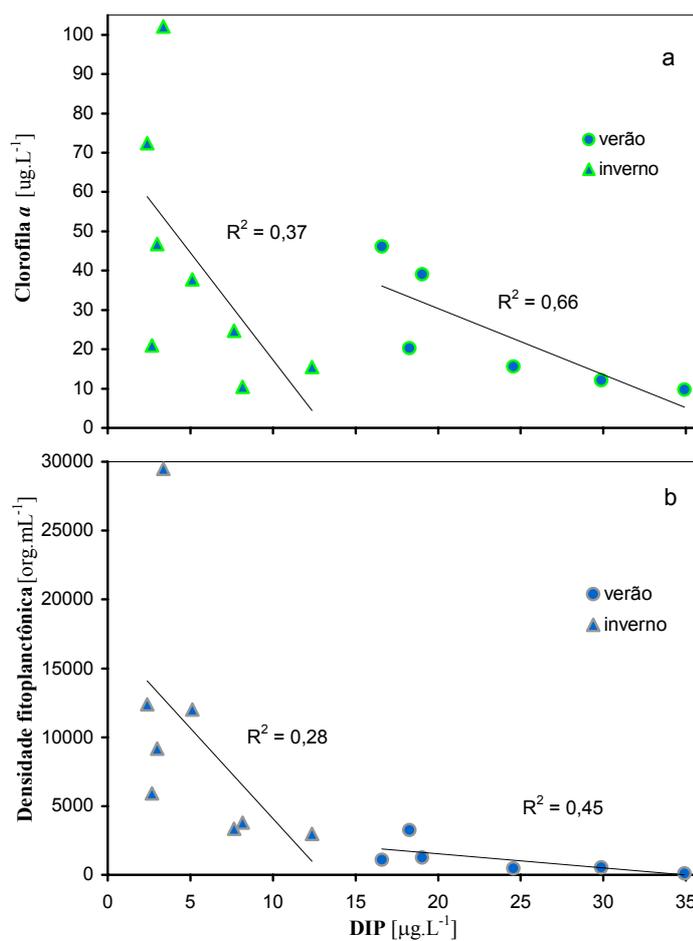
**Figura 16.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de material particulado total em suspensão na água e limite da zona eufótica ( $Z_{euf}$ ) (a) e coeficiente de extinção da luz (E) (b).



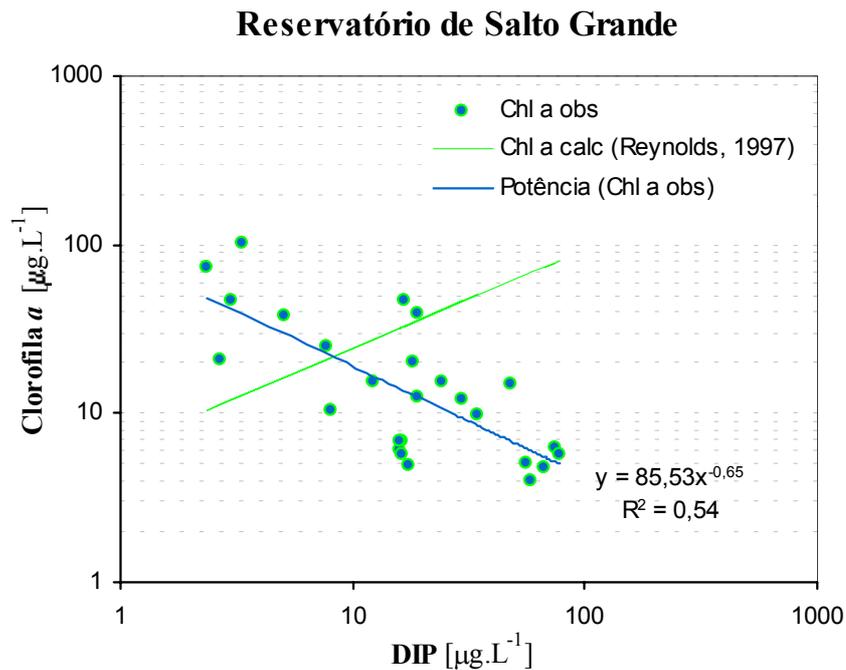
**Figura 17.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de oxigênio dissolvido e clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b) e entre os valores de pH e concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d).



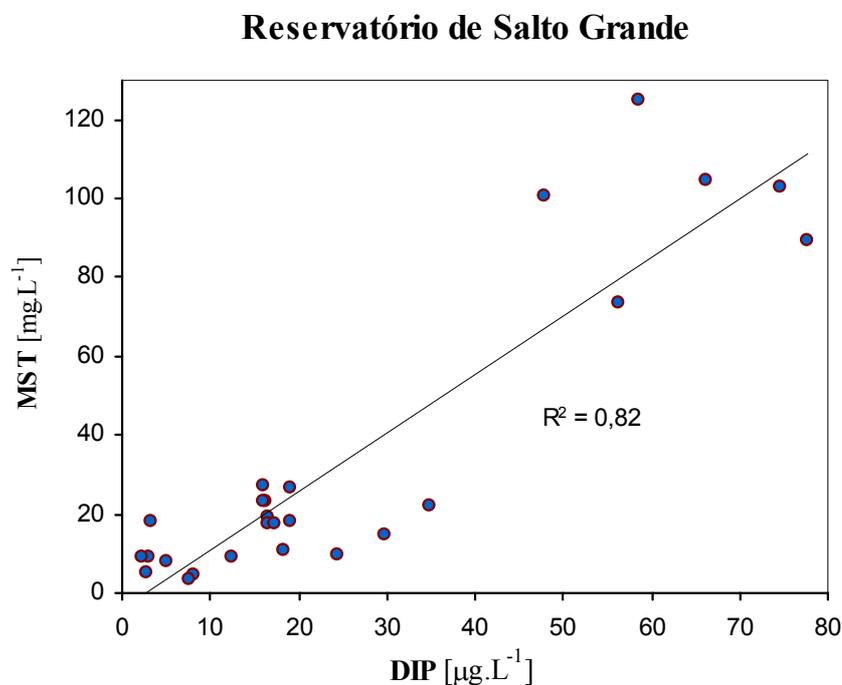
**Figura 18.** Análises de regressões lineares entre as densidades fitoplanctônicas e as concentrações de bicarbonato (a) e carbonato (b).



**Figura 19.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidades fitoplanctônicas (b).



**Figura 20.** Comparação entre a previsão proposta por REYNOLDS (1997) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* no reservatório de Salto Grande nos anos de 1995 a 1996 e 1999.



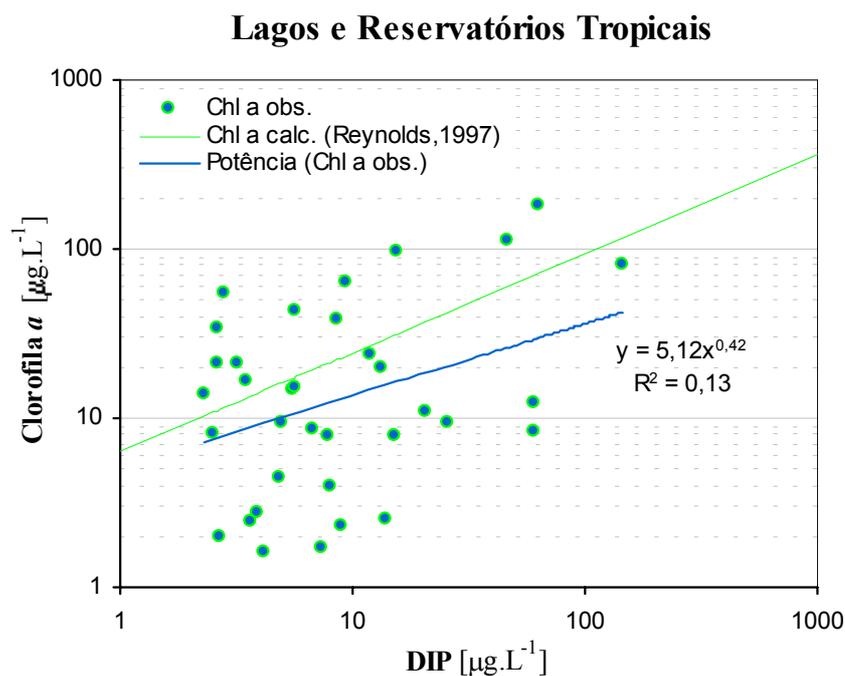
**Figura 21.** Análises de regressões lineares entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e material em suspensão no reservatório de Salto Grande nos anos de 1995 a 1996 e 1999.

**Tabela 12.** Concentrações médias anuais de fósforo e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais.

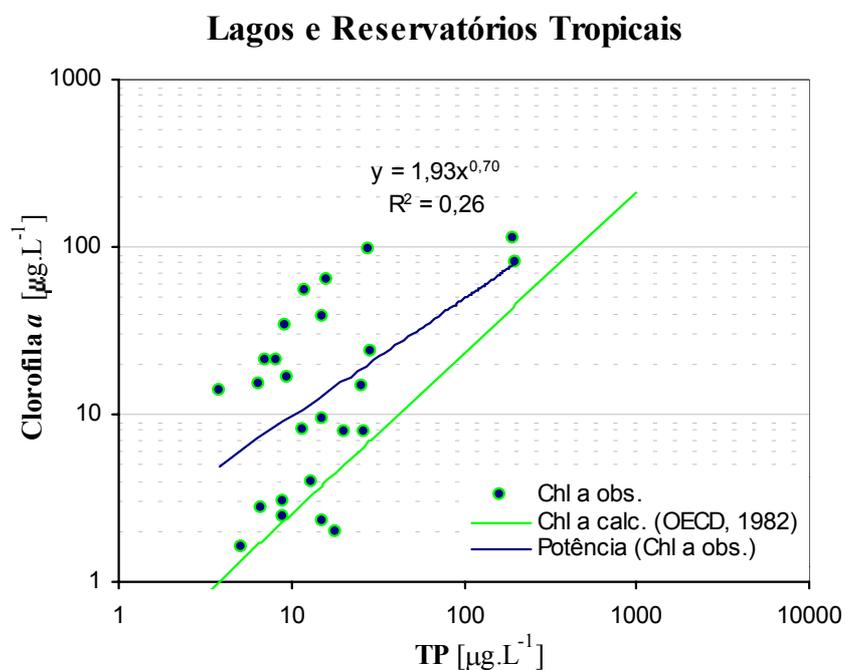
Lago ou Reservatório		Área [10 <sup>6</sup> m <sup>2</sup> ]	Profundidade Máxima [m]	Ano	TP [µg.L <sup>-1</sup> ]	DIP [µg.L <sup>-1</sup> ]	Chl. <i>a</i> [µg.L <sup>-1</sup> ]	Referências Bibliográficas
<b>SUDESTE DO BRASIL</b>								
Água Vermelha	R	6.44	42 estações	1979	6.6	3.9	2.8	Gentil (1984)
Atibainha	R	27.79	30	1979	15.2	8.5	38.5	Gianesella-Galvão (1981)
Bariri	R	62.5	19 estações	1979			20.3 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Barra	L		16					Tundisi & Musarra (1986)
Barra Bonita	R	324.85	25	1979	20.2	7.8	7.9	Gentil (1984)
				1983 – 1984		13.4	20	Tundisi & Matsumura-Tundisi (1990)
				1986		13.3*	28.8	Calijuri (1988)
				1993 – 1994	26.2	15.2	7.8	Matsumura-Tundisi & Tundisi (1997)
Broa	R	6.8	12	1972-1973	13.2	8	4	Tundisi (1977)
				1986	6.5	5.6	15.4	Calijuri (1988)
				1990-1991	18	2.7	2	Oliveira (1993)
Buritizal	L	4.02	4.2	1977-1978		60.3	8.3	Silva (1980)
Cabuçu	R			1979	9.3	2.6	34	Arcifa et al. (1981)
Cachoeira	R	12.94	20	1979	28.3	15.6	97.2	Gianesella-Galvão (1981)
Caconde	L					25.5*	9.4	Güntzel (unpubl.)
Capivara	R	5.15	46 estações	1979	15.3	8.9	2.3	Gentil (1984)
Carioca	L	0.132	11.8	1977 – 1978		60.1	12.3	Barbosa (1979)
Chacororé	L	64.92	4	1977-1978		20.6	11.1	Silva (1980)
D. Helvécio	L	68.72	32.5	1977 – 1978	9		3	Tundisi & Musarra (1986)
				1978 – 1979	9			Pontes (1980)
						3.62*	2.47	Okano (1980)
Emboaba	L					4.85*	4.47	Spohr-Bacchin (1995)
Estreito	R	0.46	52 estações	1979			25.1 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Euclides da Cunha	R	0.015	18.5 estações	1979			3.8 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Graminha	R	0.35	29 estações	1979			34.4 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Guarapiranga	R	33.9	13	1991 – 1992	25.5	5.5	14.9	Pereira (1994)
Ibitinga	R	1.15	21 estações	1979			29.8 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Ilha Solteira	R	12.31	34 estações	1979			20.2mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Jacaré	L		9.8					Tundisi & Musarra (1986)
Jacaré-Pepira	R	3.7 km2	12	1977 – 1978		7.3	1.71	Franco (1982)
Jaguará	R	0.33	22 estações	1979	5.2	4.2	1.6	Gentil (1984)
Jaguari	R	69	60	1979	7	2.6	20.9	Gianesella-Galvão (1981)
Jupiaá	R	3.52	18 estações	1979			15.5 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Jurumirim	R	446.03	40	1979			9.7 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
				1988 – 1989	15	5	9.3	Henry (1993)
Lagoa Dourada	R	0.079	6.3	1989-1990	11.5	2.5	8	Pompêo (1991)
Limoeiro	R	0.032	7 estações	1979			22.3 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Lobo	R	6.8	12	1972 – 1973				Tundisi et al. (1997)
Marimbondo	R	4.38	33.5 estações	1979			37.5 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Monjolinho	R					6.8*	8.69	Nogueira (1990)
Pampulha	R	0.026	16	1994			17.5	Araujo & Pinto-Coelho (1998)

Paraibuna	R	188	90	1979	9.4	3.5	16.8	Gianesella-Galvão (1981)
Paranoá	R						32.4*	Branco (1991), Toledo & Hay (1998)
Pedreira	R						5.67*	Talamoni (1995)
Pedreira (Billings)	R			1979	200	145	80.9	Gentil (1984)
Pedro Beicht	R	3.38	12.5	1979	16.3	9.3	64.8	Gianesella-Galvão (1981)
Piraju	R			1979			11.9 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Porto Colômbia	R	1.4	21 estações	1979			40.2 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Promissão	R	6.05	21 estações	1979			68.7 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Recreio	L	0.75	2.3	1977-1978		63	182.5	Silva (1980)
Ribeirão do Campo	R	2	18	1979	3.8	2.3	14	Gianesella-Galvão (1981)
Rio Novo	R			1979			12.1 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Rio Pari	R			1979			13.3 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Salto de Avanhandava	R		2.5 estações	1979			14.9 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Salto Grande (Paranapanema)	R	0.135	8 estações	1979			5.7 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Salto Grande (Americana)	R	11.5	19	1979	192.7	46.2	113.8	Gianesella-Galvão (1981)
Sá-Mariana	L	11.25km <sup>2</sup>	4.75	1995 – 1996	28.9	11.8	23.6	Deberdt (1997)
Santa Branca	R	27	46	1977-1978			2.5	Silva (1980)
Santa Branca	R			1979	8.1	3.2	21.2	Gianesella-Galvão (1981)
Taiapuêba	R			1979	12.1	2.8	55.4	Arcifa et al. (1981)
Volta Grande	R	0.425	25 estações	1979			31.7 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
Xavantes	R	4	59.5 estações	1979			20.8 mg.m <sup>-3</sup>	Tundisi (1983)
<b>ÁFRICA</b>								
Lanao	L	357	112				6.9	Vicent et al. (1986)
Victoria	L	66,250	79				3.1	Vicent et al. (1986)
Titicaca	L	8,100	281				2.3	Vicent et al. (1986)

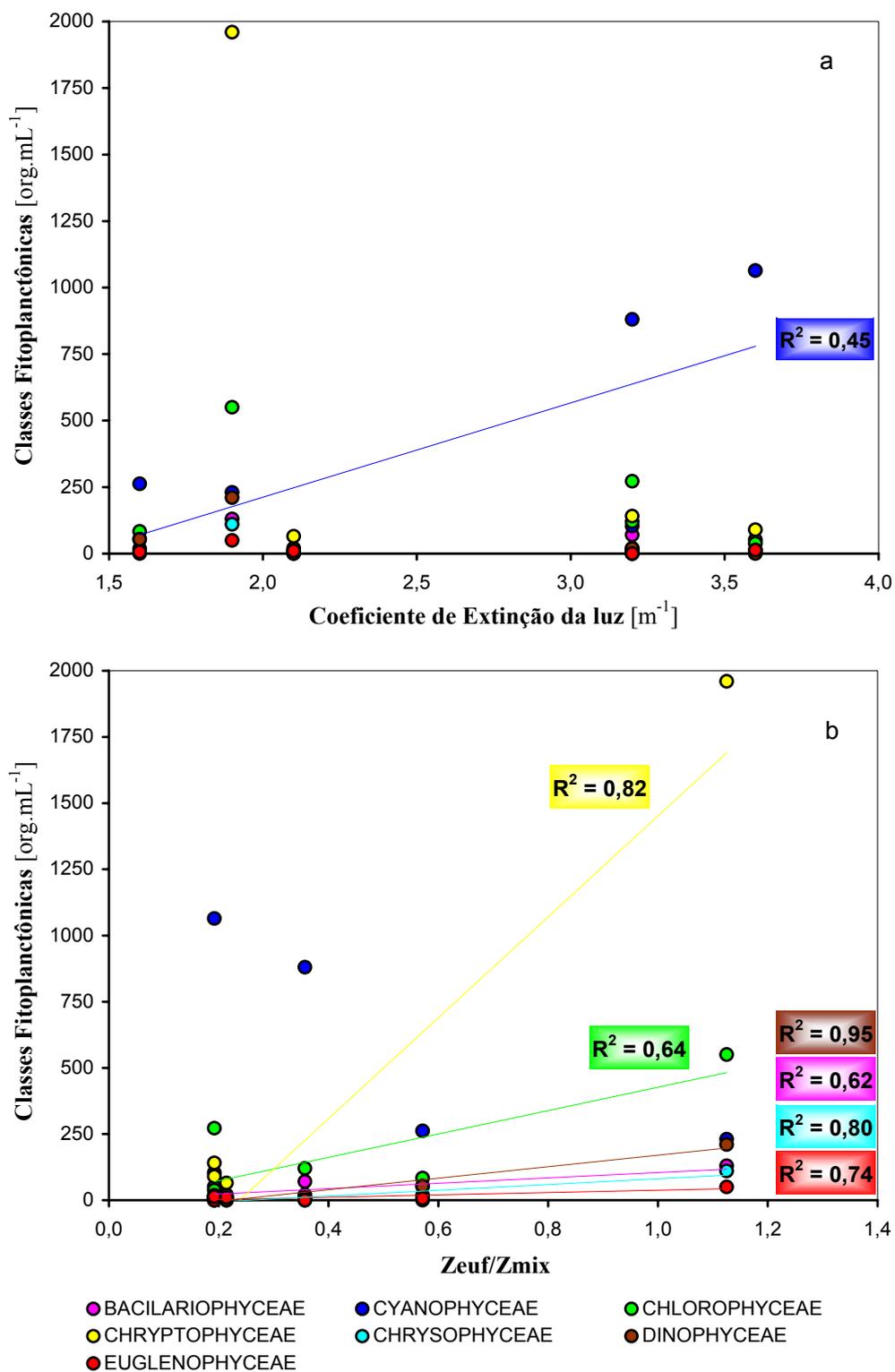
\*TDP



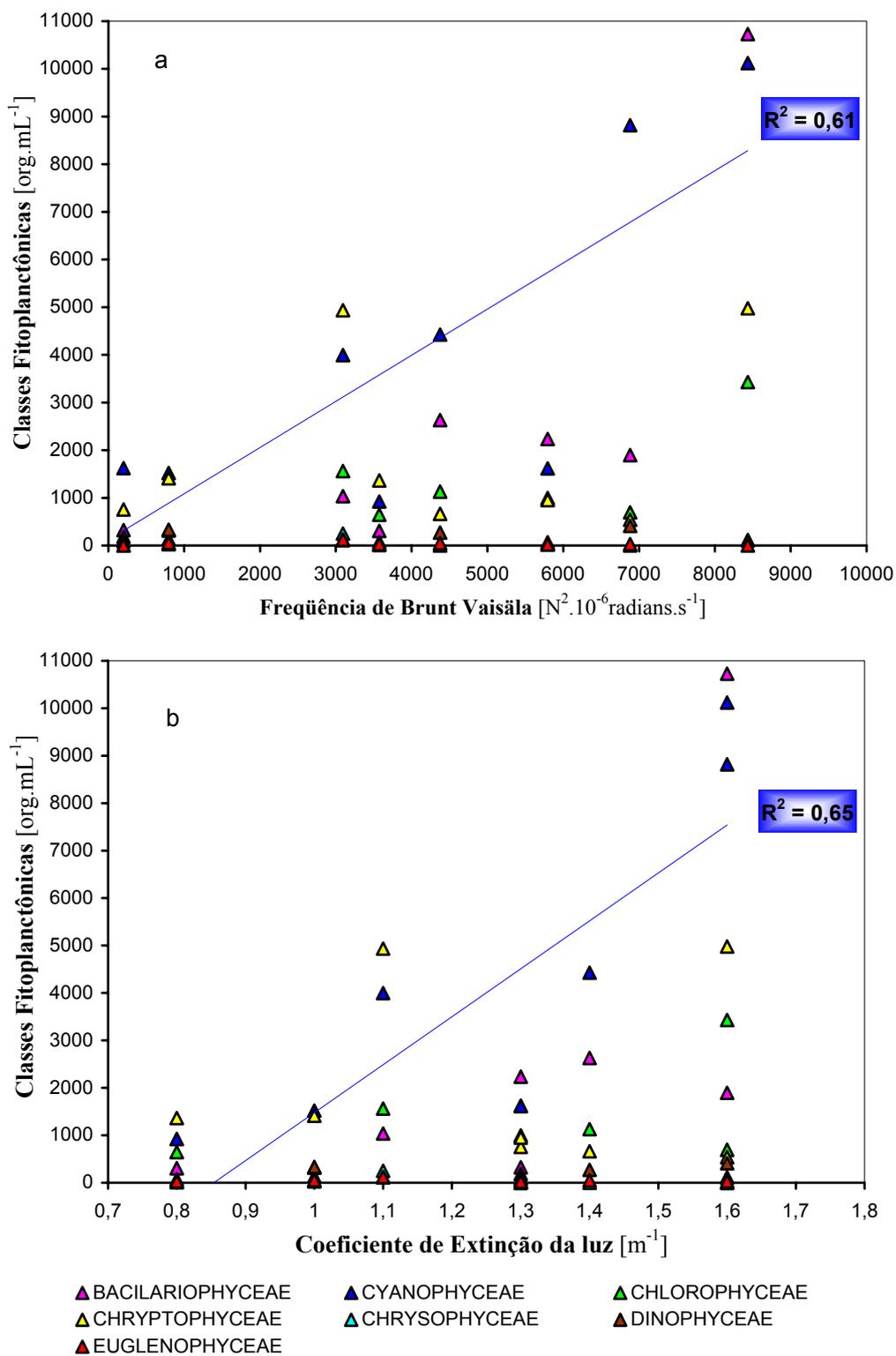
**Figura 22.** Comparação entre a previsão proposta por REYNOLDS (1997) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais.



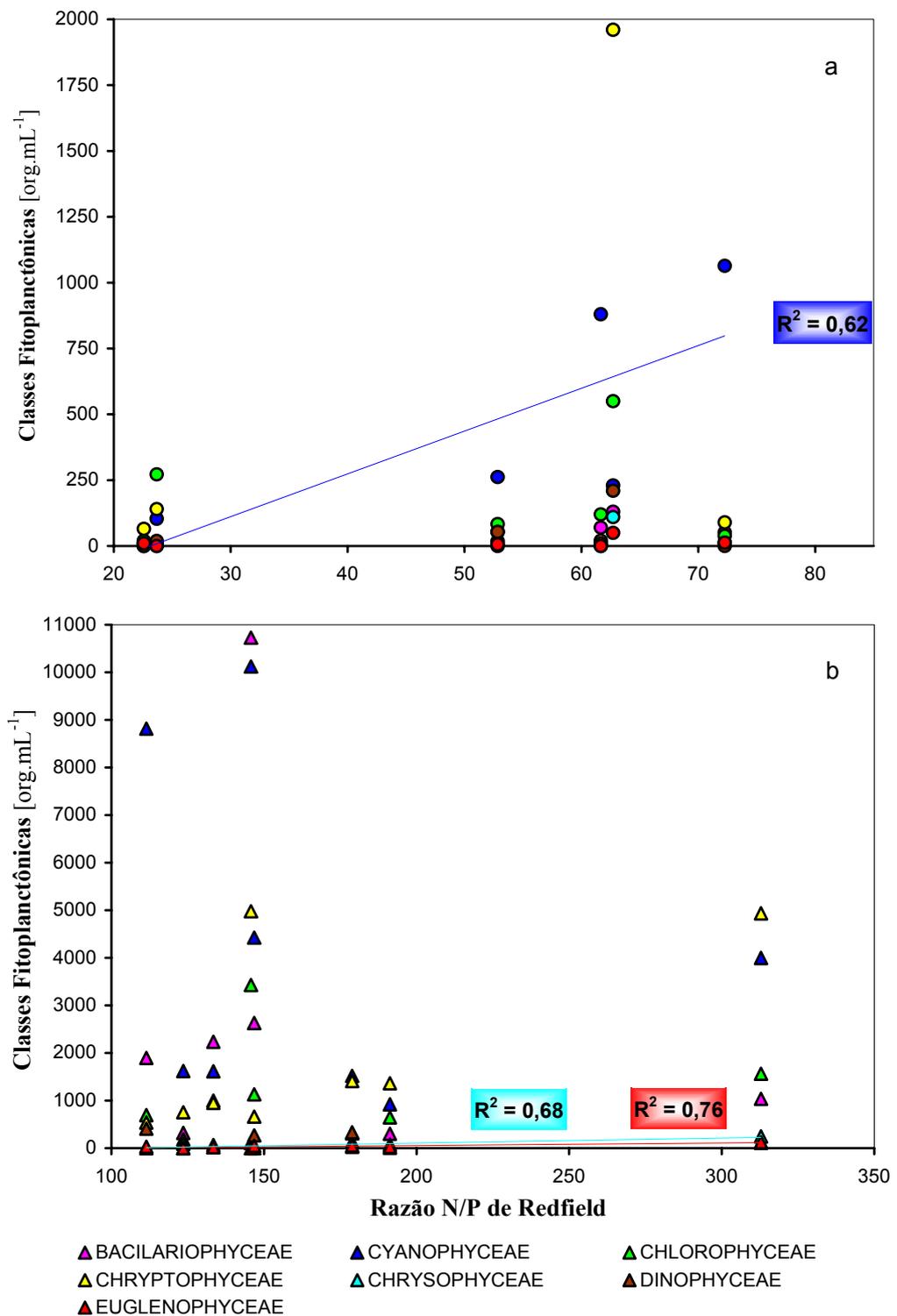
**Figura 23.** Comparação entre a previsão proposta pela OECD (1982) e a obtida através das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e clorofila *a* em lagos e reservatórios tropicais.



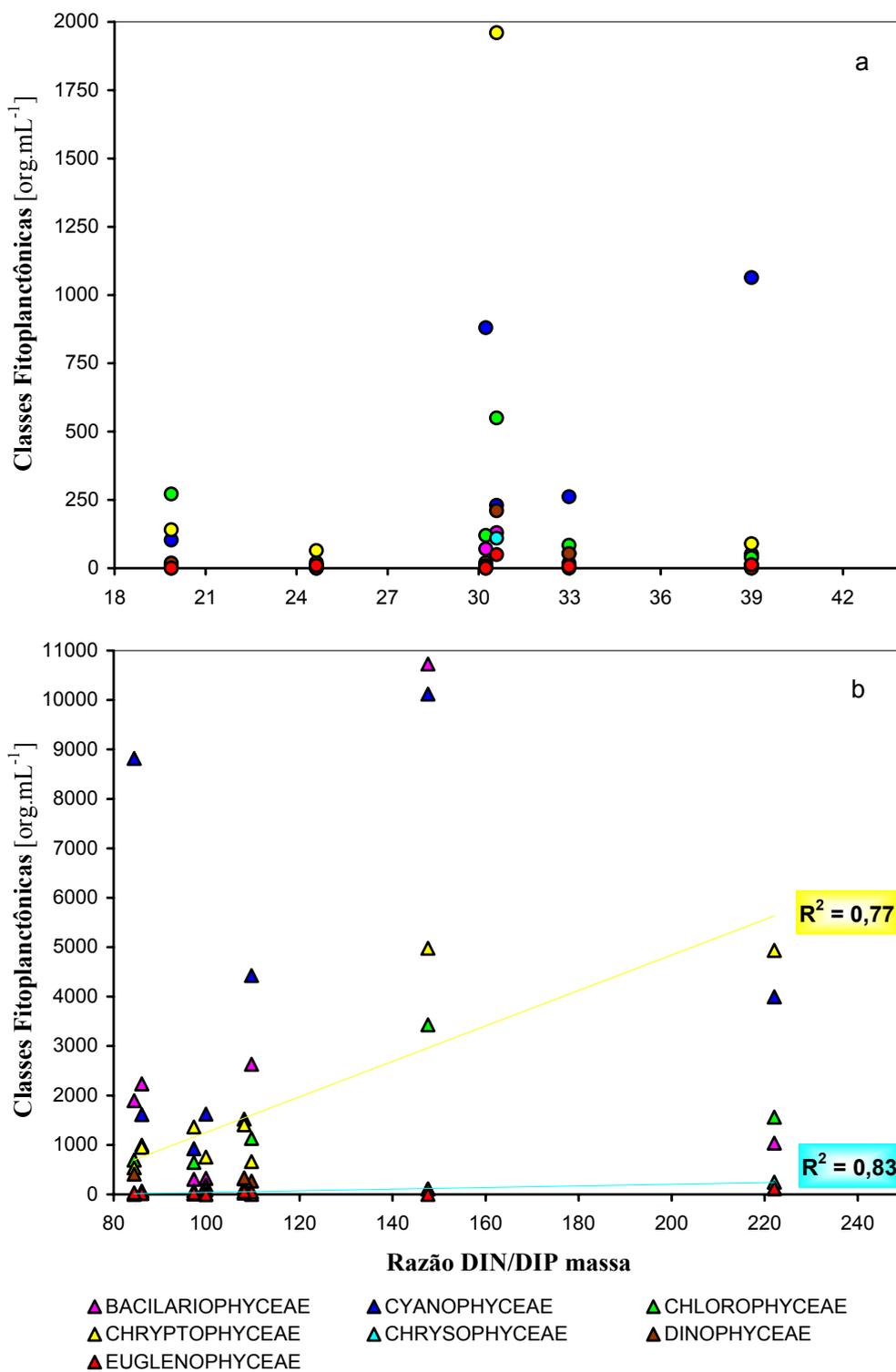
**Figura 24.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplancônicas e o coeficiente de extinção da luz (a) e relação  $Z_{eut}/Z_{mix}$  (b), nos dias de verão.



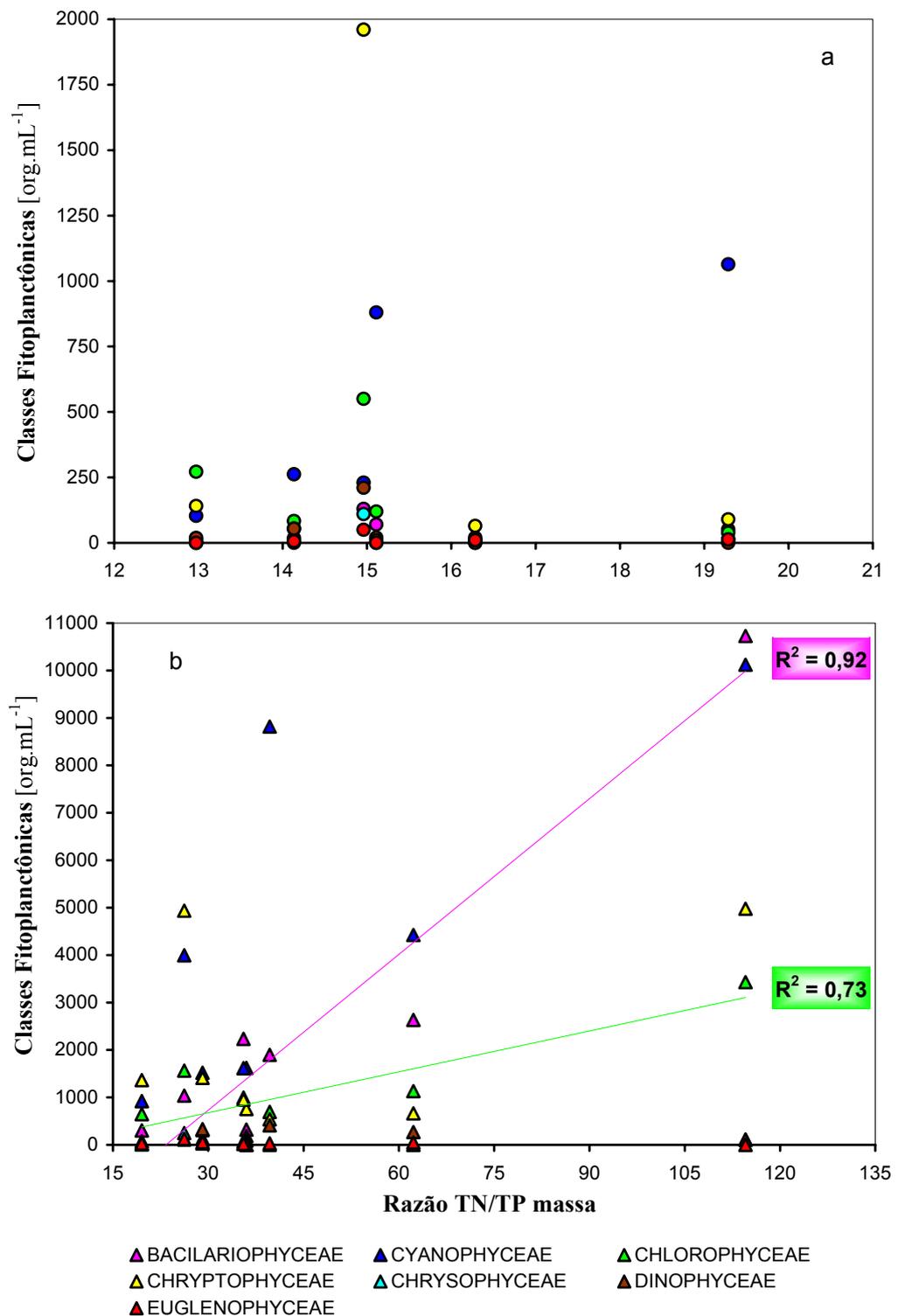
**Figura 25.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplancônicas e frequência de Brunt Vaisälä (a) e coeficiente de extinção da luz (b), nos dias de inverno.



**Figura 26.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplancônicas e razão N/P de Redfield nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b).



**Figura 27.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplanctônicas e razão de massa DIN/DIP nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b).



**Figura 28.** Análises de regressões lineares entre as densidades das classes fitoplantônicas e razão de massa TN/TP nos dias de verão (a) e nos dias de inverno (b).

## 6.6. CONCLUSÕES SOBRE O MACROCOSMO

A hipótese de que ocorrem alterações na composição da comunidade fitoplanctônica em função das alterações das variáveis físicas e químicas da água, durante os meses de chuva e de seca, foi confirmada através do estudo da variação da ocorrência das classes fitoplanctônicas, mas não se confirmou a hipótese de aumento na densidade de cianobactérias no período de chuva, quando as maiores concentrações de fósforo e menor razão N/P foram obtidas.

A estrutura da comunidade fitoplanctônica do Reservatório de Salto Grande é governada pela estabilidade da coluna d'água, disponibilidade de luz subaquática, mobilidade dos organismos e interações biológicas. Durante o período estudado, apenas uma vez foi observada mistura completa da coluna d'água nesse sistema.

O desenvolvimento da *Microcystis aeruginosa* no reservatório de Salto Grande pode ter sido favorecido pela alta estabilidade da coluna d'água. O verão, caracterizado pela maior abundância relativa das cianobactérias, altas temperaturas e grande estabilidade da coluna d'água permitiu a predominância da *Microcystis aeruginosa*. A análise de regressão demonstrou que as cianobactérias estão positivamente correlacionadas à frequência de Brunt-Vaisälä no verão, indicativo da estabilidade da coluna d'água desse reservatório hipereutrófico.

No inverno, quando ocorrem aumentos da densidade fitoplanctônica, da zona eufótica e do tempo de residência da água no sistema, os demais grupos, além das cianobactérias, tiveram maior representatividade. As análises de regressões mostraram que as densidades dos demais grupos fitoplanctônicos estiveram positivamente correlacionadas à profundidade da zona eufótica em relação à zona de mistura.

Houve uma correlação positiva entre a concentração de microcistina e a densidade de cianobactérias potencialmente tóxicas, sendo que a maior concentração de microcistina foi obtida no dia em que ocorreu a floração (27/01/9).

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS MESOCOSMOS (TANQUES)

### 7.1. VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS

Durante os 11 dias de experimento, entre 26/7 e 6/8/99, os nove tanques foram submetidos às mesmas condições climáticas. A temperatura do ar esteve em torno de 19 °C, a radiação solar foi de aproximadamente 1250  $\mu\text{E}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , tendo a radiação solar subaquática no tanque sofrido uma atenuação de 51,2% (598  $\mu\text{E}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) a 0 m e 79,7% (394  $\mu\text{E}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) a 0,25 m.

As temperaturas da água variaram entre 17 °C e 19 °C, mantendo-se semelhantes nos 9 tanques (figura 29). As concentrações de oxigênio dissolvido permaneceram entre 8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e 15  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , com aumento ao longo do experimento, exceto no controle. As maiores concentrações de oxigênio dissolvido foram encontradas nos tanques com menores razões N/P.

O pH variou de 6,5 a 9,7, elevando-se ao longo do experimento, com um gradiente de aumento entre controle e a menor razão N/P (controle < maior razão N/P < menor razão N/P). A condutividade variou de 199  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  à 265  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; apresentando um decréscimo no primeiro dia em relação ao valor inicial e, em seguida, passou a aumentar gradativamente ao longo do experimento, principalmente nos tanques que receberam adições de nutrientes (figura 29).

A média das razões TN/TP na condição controle foi 19,6 (desvio padrão 7,7); na condição de maior razão N/P, 24,8 (desvio padrão 10,4) e na de menor razão N/P, 10,3 (desvio padrão 4,6). A média das razões DIN/DIP na condição controle foi 59,9 (desvio padrão 17,9); na condição de maior razão N/P, 164,2 (desvio padrão 67,3) e na menor razão N/P, 9,0 (desvio padrão 4,2) (figura 30).

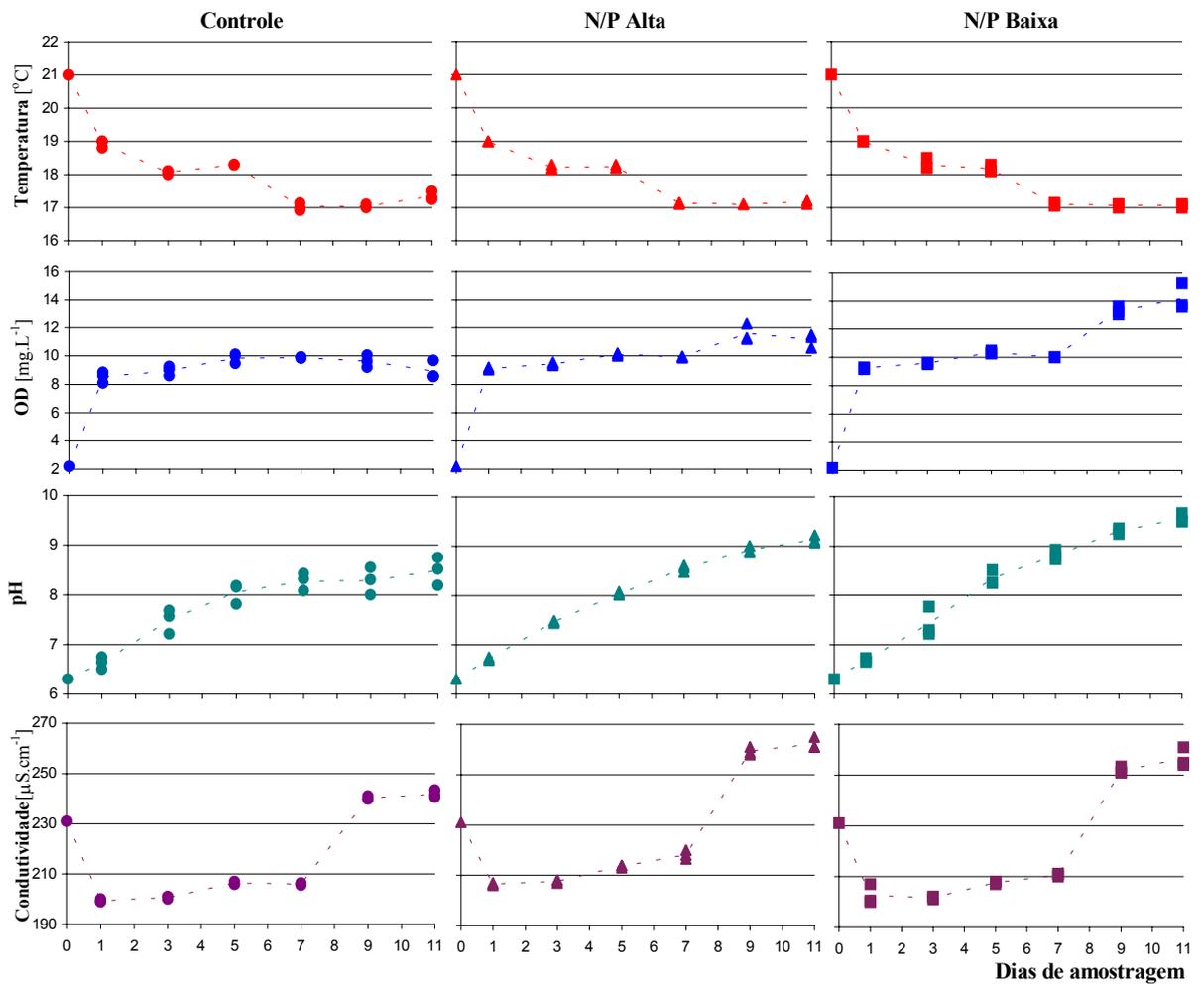
As concentrações de carbono total variaram de 10,7 mg.L<sup>-1</sup> a 17,9 mg.L<sup>-1</sup>, inorgânico de 4,3 mg.L<sup>-1</sup> a 6,9 mg.L<sup>-1</sup> e orgânico de 5,7 mg.L<sup>-1</sup> a 12,6 mg.L<sup>-1</sup>. A tendência das variações nas concentrações de carbono total, orgânico e inorgânico foi bastante semelhante entre as 3 condições, até o 9º dia (figura 31). Houve aumento das concentrações a partir do 5º dia e, após 9 dias, esse aumento foi maior nos tanques que receberam adições de nutrientes.

As concentrações de material em suspensão total variaram de 3,2 a 14,3 mg.L<sup>-1</sup>, sendo as de inorgânico de 0 a 1,4 mg.L<sup>-1</sup> e de orgânico de 2,3 a 12,9 mg.L<sup>-1</sup>. No material em suspensão houve predomínio da forma orgânica, que apresentou aumentos gradativos e semelhantes nas 3 condições até o 7º dia, quando houve diminuição na concentração da condição controle e aumento nas demais condições. O material em suspensão inorgânico manteve-se semelhante nas três condições, apresentando concentração média de 0,56 mg.L<sup>-1</sup> e desvio padrão de 0,31 (figura 31).

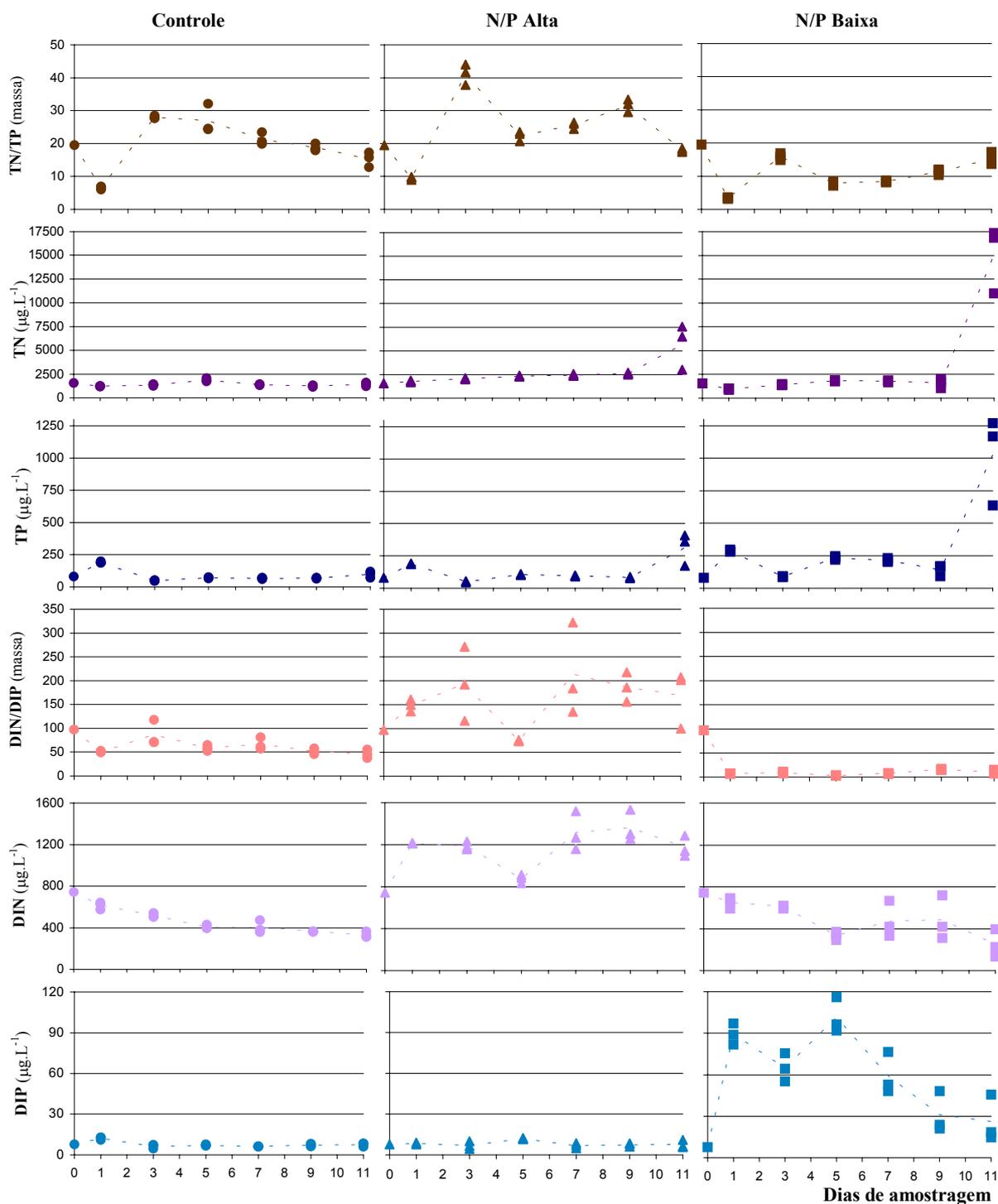
## **7.2. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS**

### **7.2.1. Clorofila *a***

Nas três condições, as concentrações de clorofila *a* apresentaram diminuição do inóculo para o 1º dia, restabelecendo-se após o 2º dia. Na condição controle, a concentração de clorofila *a* aumentou até o 5º dia, a partir do qual passou a diminuir. Em ambas as condições de enriquecimento (maior e menor razões N/P), as concentrações de clorofila *a* aumentaram até o último dia, mas maiores concentrações foram obtidas sob a condição de menor razão N/P (figura 31).



**Figura 29.** Mudanças de temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, pH e condutividade nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias.



**Figura 30.** Variações da razão entre as concentrações de nitrogênio e fósforo totais (TN/TP), concentração de nitrogênio total (TN) e fósforo total (TP), razão entre as concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânicos dissolvidos (DIN/DIP), concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) e fósforo inorgânico dissolvido (DIP) nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias.

### 7.2.2. Análise do Fitoplâncton

Observando-se a figura 31, correspondente às densidades fitoplanctônicas, nota-se, em todos os tanques, diminuição de aproximadamente 50% dos organismos fitoplanctônicos no 1º dia de amostragem. Os organismos levaram um tempo superior a 24 horas para adaptarem-se ao novo ambiente. A partir do 2º dia de amostragem, passou a haver aumento na densidade fitoplanctônica em todos os tanques.

De forma geral, entre o inóculo ( $9084 \text{ org.mL}^{-1}$ ) e o final do experimento, pode-se notar que houve aumento na densidade fitoplanctônica nas três condições avaliadas,  $14489 \text{ org.mL}^{-1}$  no controle,  $37408 \text{ org.mL}^{-1}$  na condição de razão N/P alta e  $30851 \text{ org.mL}^{-1}$  na baixa (figura 31 e tabela 13). Os valores médios dos dias amostrados foram  $12527 \text{ org.mL}^{-1}$  no controle,  $17583 \text{ org.mL}^{-1}$  na razão N/P alta e  $18362 \text{ org.mL}^{-1}$  na baixa. Embora a condição de razão N/P alta tenha sido a que apresentou maior densidade fitoplanctônica no final do experimento, o maior valor médio entre os dias amostrados foi maior na condição razão N/P baixa.

Na condição controle, o aumento da densidade fitoplanctônica culminou no 5º dia, estabilizando após esse período. Essa condição foi a que mais favoreceu as cianobactérias em relação à abundância relativa. Ao final do período, esse grupo representava, em média, 74% da comunidade, contra 63% sob condição de maior razão N/P e 35% sob condição de menor razão. Em média, as clorofíceas apresentaram aumento na abundância relativa de 2% em relação ao inóculo (13% - inóculo e 15% - final); as bacilariofíceas, redução de 3% (7% - inóculo e 4% - final); as criptofíceas, redução de 12% (18% - inóculo e 6% - final). Os demais grupos mantiveram-se com representatividade inferior a 2%, na condição controle (figura 32 e tabela 13).

Na condição de maior razão N/P, em média, as cianobactérias tiveram aumento de 4% em relação ao inóculo (59% - inóculo e 63% - final) e as clorofíceas, de 10% (13% - inóculo e 23% - final); as bacilariofíceas tiveram uma redução de 3% (7% - inóculo e 4% - final) e as criptofíceas, de 10% (18% - inóculo e 8% - final). Os

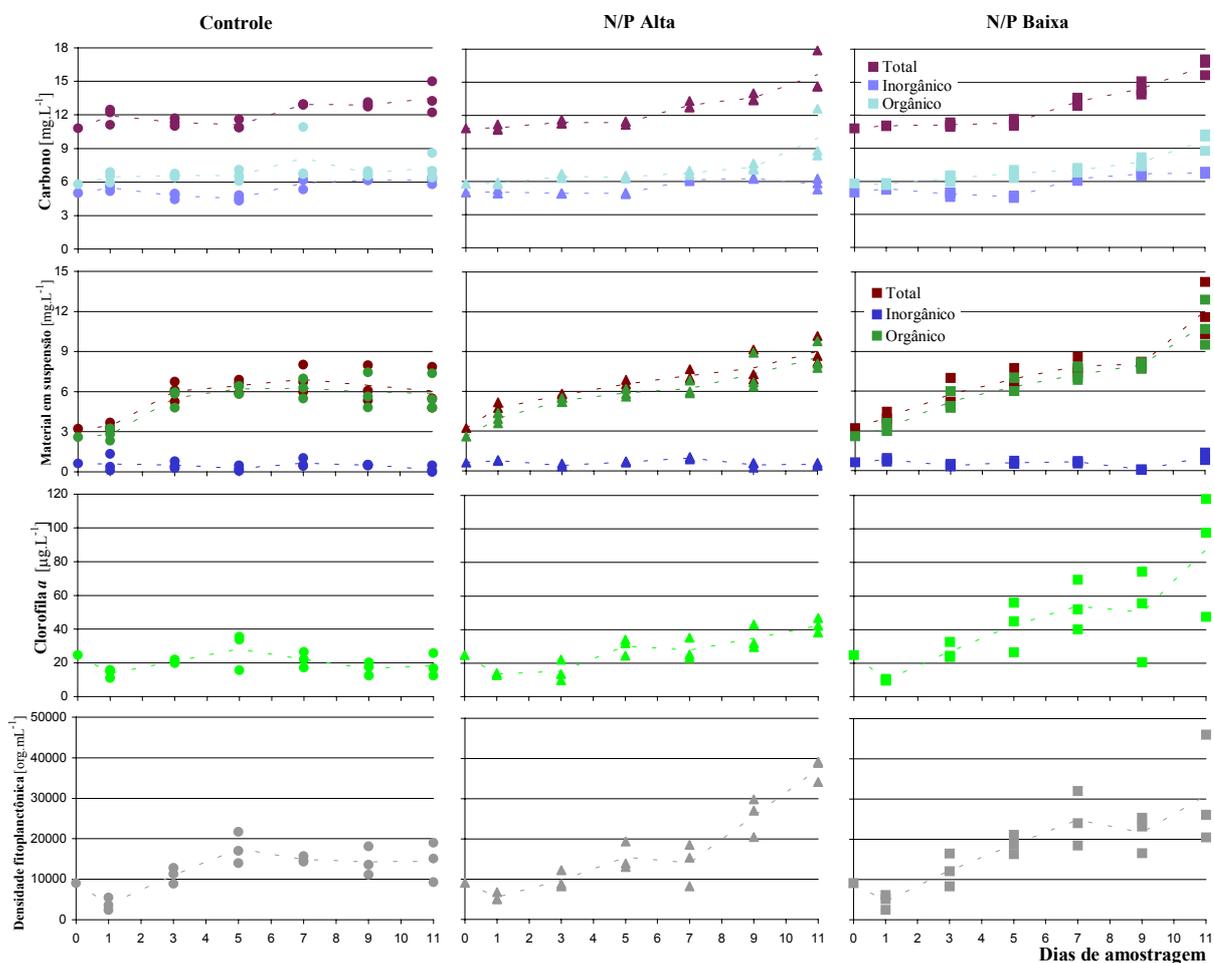
demais grupos mantiveram-se com representatividade inferior a 2%, na condição de maior razão N/P (figura 32 e tabela 13).

A condição de menor razão N/P foi a que mais favoreceu as clorofíceas em relação à abundância relativa. Ao final do período, esse grupo representava, em média, 46% da comunidade, contra 23% sob condição de maior razão N/P e 15% sob condição controle. Em média, as cianobactérias tiveram redução na abundância relativa de 24% em relação ao inóculo (59% - inóculo e 35% - final); as criptofíceas tiveram redução de 9% (18% - inóculo e 9% - final); as bacilariofíceas mantiveram 4%; as crisofíceas tiveram aumento de 1% (1% - inóculo e 2% - final). Os demais grupos mantiveram-se com representatividade inferior a 1% na condição de menor razão N/P (figura 32 e tabela 13).

As clorofíceas mostraram-se bastante favorecidas pelas condições experimentais. Houve aumento na abundância relativa das clorofíceas em todos os mesocosmos, principalmente na condição de menor razão N/P, na qual chegaram a atingir 46% de representatividade, em média (figura 32 e tabela 13).

As criptofíceas mostraram-se as mais resistentes à mudança inicial, apresentando abundância relativa mais elevada no primeiro dia de amostragem, em todos os tratamentos. Através desses resultados, considerando-se a composição original da comunidade fitoplanctônica, pode-se dizer que as criptofíceas compõem um grupo bastante desfavorecido pelas condições do experimento, pois em todos os tanques a porcentagem inicial de contribuição de aproximadamente 33% (média do 1º dia de amostragem) atingiu 8% (média do último dia de amostragem) (figura 32 e tabela 13).

As cianobactérias foram menos resistente à mudança inicial, no inoculo, a abundância relativa foi de 59%, no primeiro dia de amostragem foram reduzidas a 34% da comunidade fitoplanctônica, em média. Mas, após o período de adaptação, as cianobactérias passaram a aumentar em abundância relativa, exceto na condição de razão N/P baixa (figura 32 e tabela 13).



**Figura 31.** Mudanças nas concentrações de carbono total, inorgânico e orgânico, material em suspensão total, inorgânico e orgânico, clorofila *a* e densidade de organismos fitoplanctônicos nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias.

**Tabela 13.** Média das densidades das classes fitoplanctônicas (org.mL<sup>-1</sup>) e respectivas porcentagens de contribuição (%) do inóculo, do primeiro (1) e último (11) dia de amostragem nos mesocosmos.

	Inóculo		Controle				N/P Alta				N/P Baixa			
	Dia 0		Dia 1		Dia 11		Dia 1		Dia 11		Dia 1		Dia 11	
	org.mL <sup>-1</sup>	%												
BACILARIOPHYCEAE	677	7	186	5	510	4	339	6	1584	4	388	8	2100	7
CHLOROPHYCEAE	1194	13	1120	30	2221	15	1095	19	8716	23	1240	27	14326	46
CHRYPTOPHYCEAE	1678	18	1232	32	894	6	2151	38	2904	8	1285	28	2874	9
CHRYSOPHYCEAE	78	1	36	1	98	1	30	1	434	1	24	1	715	2
DINOPHYCEAE	32	0	0	0	0	0	9	0	18	0	48	1	0	0
EUGLENOPHYCEAE	41	0	12	0	0	0	12	0	34	0	12	0	35	0
XANTOPHYCEAE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CYANOPHYCEAE	5383	59	1210	32	10765	74	2001	35	23717	63	1579	35	10800	35
<b>TOTAL</b>	<b>9.084</b>		<b>3.796</b>		<b>14.489</b>		<b>5.637</b>		<b>37.408</b>		<b>4.576</b>		<b>30.851</b>	

Em geral, o grupo predominante foi o das cianobactérias, exceto na condição razão N/P baixa, nos tanques 8 e 9 (figura 32 e tabela 14). Em relação à densidade fitoplanctônica total, as cianobactérias mais abundantes, em ordem decrescente foram: *Pseudanabaena mucicola* (abundante – 33,1%), *Microcystis aeruginosa* (ocasional – 5,7%), *Aphanothece* sp (ocasional – 4,8%). As demais espécies de cianobactérias encontradas foram consideradas raras, ou seja, estiveram abaixo de 1% na média geral. Houve uma diferenciação na porcentagem de contribuição das espécies dominantes de cianobactérias entre os diferentes tratamentos. Na condição controle, a *Pseudanabaena mucicola* representou 65% da densidade fitoplanctônica, a *Microcystis aeruginosa*, 16% e a *Aphanothece* sp, 12%. Na condição de razão N/P alta, a *Pseudanabaena mucicola* representou 74%, a *Microcystis aeruginosa*, 12% e a *Aphanothece* sp, 8%. Na condição de razão N/P baixa, a *Pseudanabaena mucicola* representou 68%, a *Microcystis aeruginosa*, 13% e a *Aphanothece* sp, 10%.

**Tabela 14.** Porcentagem de cianobactérias em relação aos demais grupos fitoplanctônicos (%) e densidade de espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas ( $\text{org.mL}^{-1}$ ), nos mesocosmos, no último dia de amostragem.

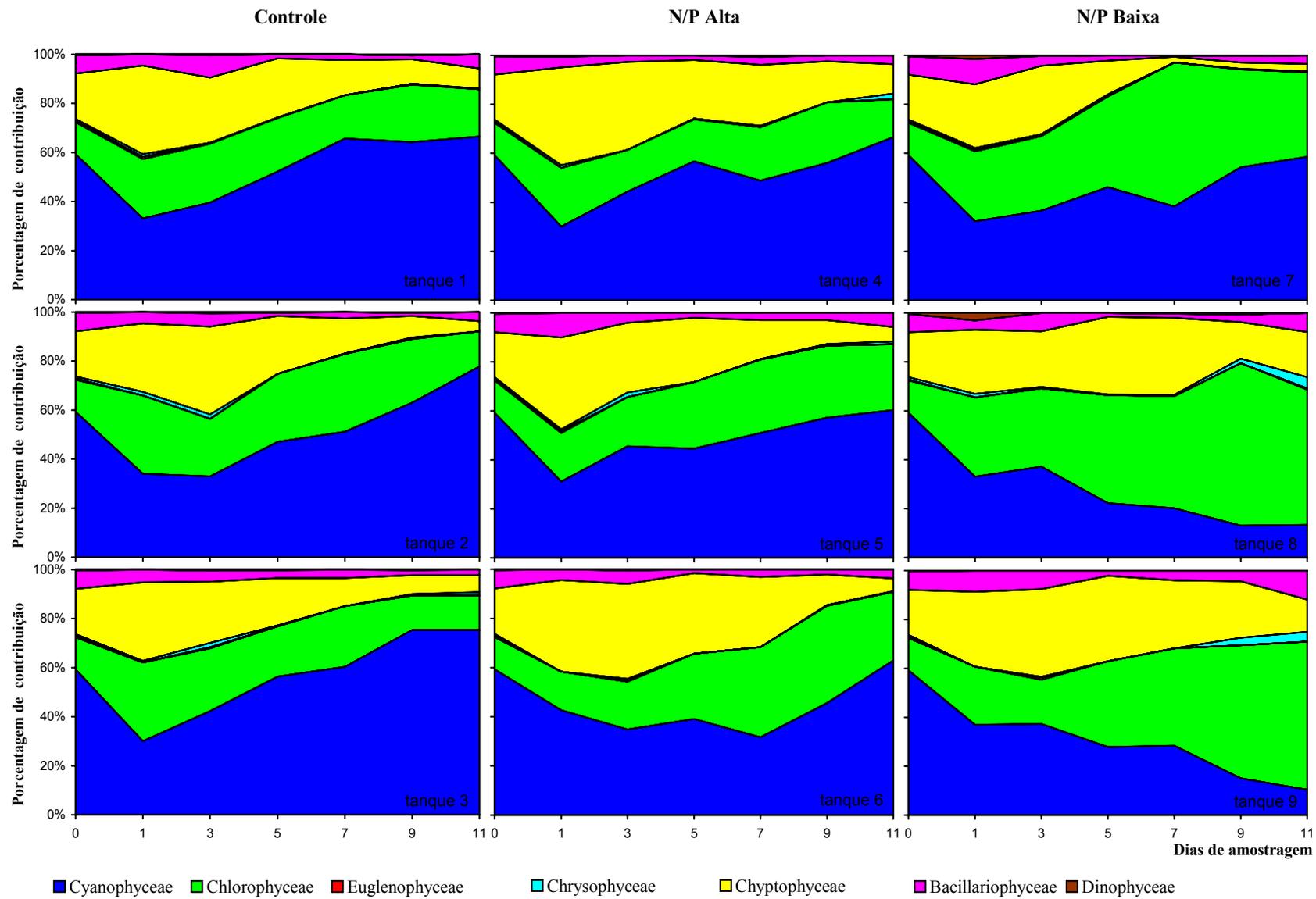
Controle			N/P Alta			N/P Baixa		
tanque	%	$\text{org.mL}^{-1}$	tanque	%	$\text{org.mL}^{-1}$	tanque	%	$\text{org.mL}^{-1}$
1	66	6194	4	67	25873	7	59	26952
2	78	11775	5	60	20629	8	13	2686
3	75	14327	6	63	24650	9	10	2710
<b>Média</b>	<b>74</b>	<b>10765</b>	<b>Média</b>	<b>63</b>	<b>23717</b>	<b>Média</b>	<b>35</b>	<b>10800</b>

### 7.2.3. Análise de Microcistinas

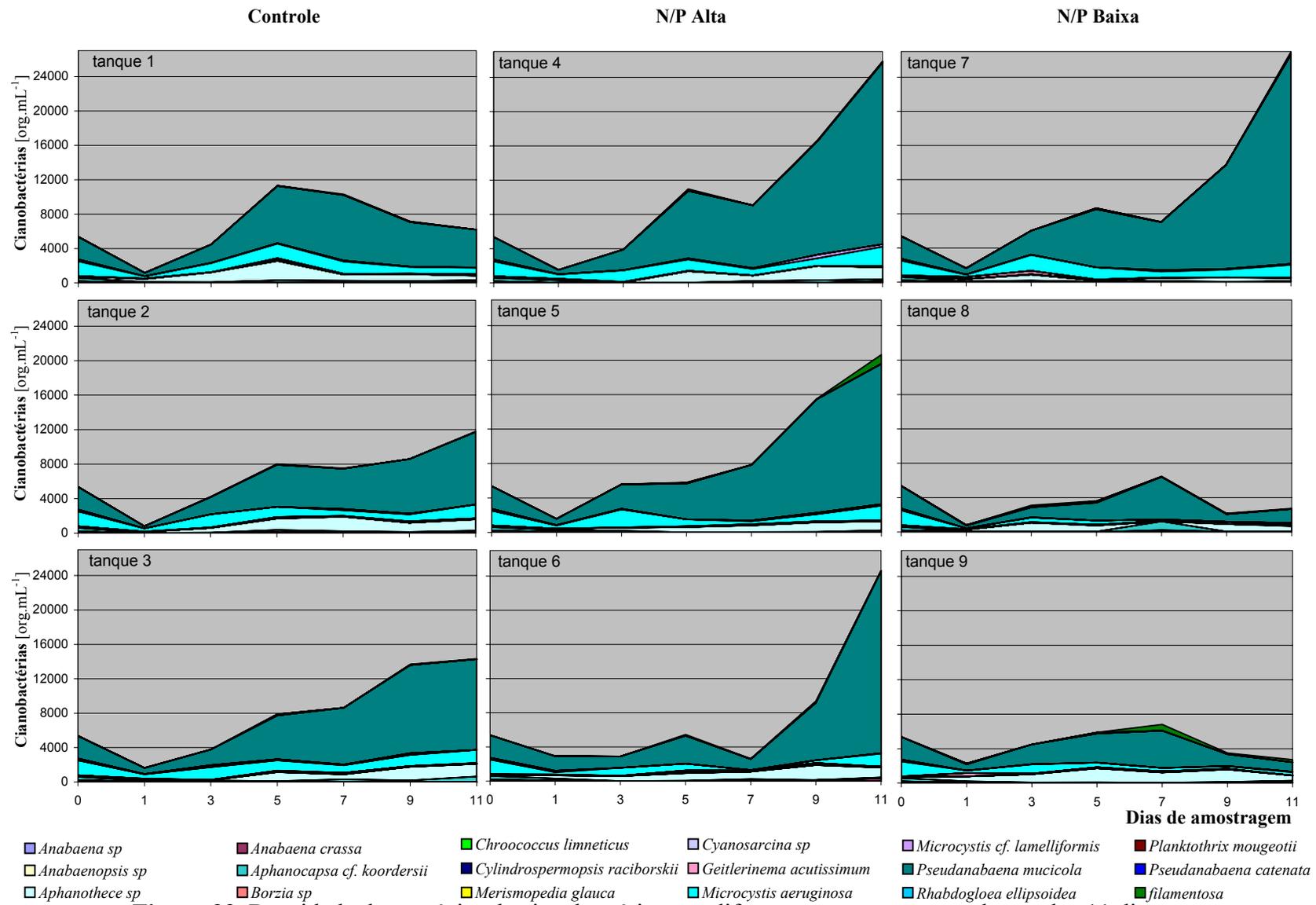
Não foi detectada a presença de microcistinas dissolvidas em amostras de água, nem em amostras retirada durante o experimento. No final do experimento, quando foi concentrada toda biomassa existente dentro de cada tanque, foi constatada a presença de microcistinas nos tanques 1, 4, 5, 6 e 7 (tabela 15). As maiores concentrações de microcistinas foram obtidas nos tanques com maior densidade de cianobactérias (tanques 1, 4, 5, 6 e 7) (figura 33 e tabelas 13 e 15). O coeficiente de correlação entre densidades de cianobactérias e concentrações de microcistina no último dia de amostragem foi 0,52.

**Tabela 15.** Concentrações de microcistinas ( $\mu\text{g}$ ) por litro de água bruta e por massa seca ( $\text{mg}$ ), nos mesocosmos, no último dia de amostragem.

Controle			N/P Alta			N/P Baixa		
tanque	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$	tanque	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$	tanque	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.mg}^{-1}$
1	0,50	0,07	4	0,36	0,06	7	0,41	0,05
2	-	-	5	0,31	0,04	8	-	-
3	-	-	6	0,25	0,03	9	-	-



**Figura 32.** Abundância relativa das diferentes classes fitoplantônicas nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias.



**Figura 33.** Densidade das espécies de cianobactérias nos diferentes mesocosmos ao longo dos 11 dias.

### 7.3. RECURSOS

Os aumentos nas concentrações de oxigênio dissolvido, pH, carbono orgânico e material em suspensão orgânico foram devidos ao incremento de biomassa fitoplanctônica, medida através das concentrações de clorofila *a* e densidade fitoplanctônica (figuras 29 e 31). Os valores de pH apresentaram relação exponencial com as concentrações de clorofila *a* e a densidade fitoplanctônica, com  $R^2 = 0,62$  e  $R^2 = 0,77$ , respectivamente (figura 34 a e b). As concentrações de oxigênio dissolvido apresentaram relação linear com as concentrações de clorofila *a* e a densidade fitoplanctônica, com  $R^2 = 0,59$  e  $R^2 = 0,50$ , respectivamente (figura 34 c e d). Essas relações foram devidas ao processo de produção primária e respiração.

De acordo com CALIJURI (1999), três processos biológicos interferem nos valores de pH: fotossíntese, respiração e assimilação de nitrogênio. Os efeitos da fotossíntese e da respiração dependem do equilíbrio carbonato-bicarbonato-dióxido de carbono: se o pH for menor que 6,3 e somente  $\text{CO}_2$  estiver presente, a respiração e a fotossíntese não afetam o pH; mas, sob valores mais elevados de pH, quando outras formas de carbono inorgânico estiverem disponíveis ( $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$ ), a fotossíntese e a respiração alteram a assimilação e liberação de prótons (WETZEL & LIKENS, 1991).

Pode-se observar apenas um aumento das concentrações de carbono total e orgânico em função da biomassa fitoplanctônica. As concentrações de carbono orgânico apresentaram regressão polinomial de segunda ordem com as concentrações de clorofila *a* e a densidade fitoplanctônica, com  $R^2 = 0,44$  e  $R^2 = 0,55$ , respectivamente. Através das figuras 35 a e b, notou-se uma tendência à redução da biomassa fitoplanctônica em concentrações superiores a  $11 \text{ mg.L}^{-1}$  de carbono orgânico, podendo-se sugerir que isto esteja relacionado ao elo microbiano e a predação, pois as concentrações mais elevadas de carbono foram obtidas nos últimos dias de experimento.

Nas concentrações de material em suspensão houve um predomínio da forma orgânica, representada, na sua maior parte, pela própria comunidade fitoplanctônica. As concentrações de material orgânico particulado em suspensão

apresentaram relações lineares com as concentrações de clorofila *a* e a densidade fitoplanctônica, com  $R^2 = 0,67$  e  $R^2 = 0,75$ , respectivamente (figura 35 c e d).

Nem as concentrações de clorofila *a* nem as densidades fitoplanctônicas apresentaram relações definidas com as concentrações de fósforo (figura 36 a e b) e nitrogênio total dissolvido (figura 36 c e d). Talvez isso se deva ao fato de ambos nutrientes estarem muito além do necessário para o crescimento fitoplanctônico.

Com relação às concentrações de nutrientes nos mesocosmos, a análise de variância (ANOVA,  $p > 0,05$ ) indicou que as concentrações médias de nitrogênio total dos controles apresentaram diferenças significativas em relação às condições de enriquecimento, mas não apresentando diferenças significativas entre si. Com relação às concentrações de fósforo total, as três condições apresentaram diferenças significativas. As concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), na condição controle e na condição razão N/P baixa não apresentaram diferenças significativas entre si, mas apresentaram diferença em relação a razão N/P alta. Com relação às concentrações de fósforo inorgânico dissolvido (DIP), a condição controle e a condição razão N/P alta não apresentaram diferenças significativas entre si, mas apresentaram diferença em relação à razão N/P baixa (tabela 16).

#### **7.4. COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA**

##### **7.4.1. Biomassa Total**

A diminuição da biomassa fitoplanctônica do inóculo para o primeiro dia de amostragem pode ter sido ocasionada pelo estresse causado aos organismos, pela coleta e transporte da massa de água do reservatório até a introdução nos tanques. O crescimento após o período de adaptação indicou que as novas condições propiciadas pelos mesocosmos foram favoráveis ao crescimento dos organismos. São

inúmeras as diferenças entre as condições dos macrocosmos e do mesocosmos, mas as principais, nesse caso, comparando com o reservatório estudado (item 6) foram:

- baixa concentração de material inorgânico particulado em suspensão, que permitiu melhor distribuição da luz;
- ausência de zona afótica, pois a radiação fotossinteticamente ativa atingiu o fundo dos mesocosmos;
- a ausência de mistura turbulenta contínua, exceto a mistura que foi feita a cada dois dias, antes da amostragem;
- maiores concentrações de oxigênio dissolvido, provavelmente devidas ao aumento da produção primária e diminuição do consumo pela decomposição;
- enriquecimento com formas prontamente disponíveis de nitrogênio e fósforo nas condições de razões N/P alta e baixa.

Na condição controle, o aumento da biomassa fitoplanctônica culminou no 5º dia, estabilizando após esse período, provavelmente devido à redução de aproximadamente 46% na concentração do nitrogênio inorgânico dissolvido e uma redução de 41% na concentração de fósforo inorgânico dissolvido do primeiro ao último dia. Vale ressaltar que, até o final do experimento, em todos os mesocosmos, não foram detectadas concentrações de nitrogênio ou fósforo abaixo do limitante (segundo REYNOLDS (1990), concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânico dissolvido menores que  $100 \mu\text{gN.L}^{-1}$  e  $3 \mu\text{gP.L}^{-1}$ , respectivamente). Nas demais condições, o aumento da biomassa fitoplanctônica possivelmente ocorreu devido à adição de nitrogênio e fósforo, sendo que os mesocosmos de maior razão N/P, apresentaram as maiores densidades fitoplanctônicas no final do experimento, e os de menor razão N/P, apresentaram maiores valores médios entre os dias amostrados. Entretanto, com relação à densidade fitoplanctônica média durante o experimento, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as condições de enriquecimento, mas houve diferença em relação ao controle (tabela 17).

Segundo HAIRSTON (1992), uma grande quantidade de trabalhos limnológicos consideram as importâncias absoluta e relativa de nitrogênio e de fósforo e suas formas de reciclagem no ecossistema. O autor, em levantamento de

uma série de experimentos limnológicos, conclui que lagos oligotróficos são mais sensíveis à adição de nutrientes, e que nesses ambientes as algas são tão limitadas pelos recursos nutricionais que nem respondem à redução de organismos zooplancônicos herbívoros, fortes competidores por alimento. Em lagos eutróficos, a manipulação dos níveis nutricionais é menos efetiva e o sistema “top-down” propaga-se até as algas, que decrescem pela adição de peixes piscívoros, como resposta ao aumento de zooplâncton herbívoro, levado pelo decréscimo de zooplancívoros (HAIRSTON, 1992).

#### 7.4.2. Classes Fitoplanctônicas

As cianobactérias compoem um grupo bastante heterogêneo em relação a estratégias adaptativas. As três espécies de maior ocorrência nos mesocosmos, *Pseudanabaena mucicola*, *Microcystis aeruginosa* e *Aphanothece* sp, apresentam estratégias distintas, como já foi apresentado no item 6.4.2, e talvez por isso tenham respondido de forma diferenciada às condições experimentais. *Microcystis aeruginosa* e *Aphanothece* sp apresentaram maior abundância relativa na condição controle e *Pseudanabaena mucicola*, na condição de razão N/P alta.

De uma forma geral, as cianobactérias foram os organismos que mais sofreram com a mudança inicial, pois a abundância relativa de 59% da comunidade fitoplanctônica no inóculo, teve uma redução de praticamente 70% na densidade das cianobactérias, atingindo 34% de abundância relativa no primeiro dia de amostragem. Após provável período de adaptação, abundância relativa das cianobactérias aumentou, exceto na condição de razão N/P baixa (figura 32 e tabela 13).

A condição controle foi a que mais favoreceu as cianobactérias em relação à abundância relativa (tabela 19). Isso pode ter ocorrido porque as condições nutricionais no controle foram mantidas mais próximas às do ambiente natural, em comparação com os demais mesocosmos, e as cianobactérias compõem o grupo mais adaptado a essas condições.

Com relação à densidade média de cianobactérias nos mesocosmos, não houve diferença significativa entre as condições experimentais (tabela 18). As cianobactérias apresentaram um aumento na densidade, definido por uma regressão polinomial de segunda ordem, na condição controle ( $R^2 = 0,71$ ) e na razão N/P alta ( $R^2 = 0,87$ ) (figura 37 a e b). Na condição razão N/P baixa, não houve relação definida (figura 37 c). Com relação às concentrações de nitrogênio total, as cianobactérias também apresentaram regressão polinomial de segunda ordem ( $R^2 = 0,58$ ), a qual indicou que o aumento da densidade de cianobactérias ocorreu até a concentração de  $9 \text{ mg.L}^{-1}$ , passando então a decrescer (figura 38 a). As cianobactérias não apresentaram nenhuma relação estatística direta ou inversa com razão N/P (figura 39).

Após sofrerem mais intensamente o impacto inicial da coleta e enchimento dos mesocosmos, as cianobactérias ficaram com seu desenvolvimento prejudicado em relação às clorofíceas e criptofíceas. Como os mesocosmos foram homogeneizados através de agitação suave antes de cada amostragem (a cada dois dias), pode-se sugerir que a capacidade das cianobactérias de flutuar ou de estabilizar-se na coluna d'água foi ineficiente. Essas mudanças físicas, em relação a seu ambiente natural, forçaram as cianobactérias a competirem mais diretamente pela radiação solar e nutrientes com os demais grupos fitoplanctônicos (TALLING, 1982; REYNOLDS, 1997 e MUR et al., 1999).

Parece que a única vantagem adaptativa que fez diferença foi a alta afinidade por nitrogênio e fósforo, o que significa prevalência na competição com outros organismos fitoplanctônicos sob limitação desses nutrientes (MUR et al., 1999). Talvez essa seja uma explicação para o sucesso das cianobactérias na condição de menores concentrações de nutrientes. Muito embora estas afirmações não sejam válidas para o ambiente natural com elevado grau de trofia. Porém, nos mesocosmos, esta pode ser uma das justificativas para dominância de cianobactérias nos tanques controle, com as menores concentrações de nitrogênio e fósforo, mas não limitantes.

As criptofíceas mostraram-se tolerantes à mudança inicial, pois tiveram sua abundância relativa mais elevada no primeiro dia de amostragem, em

todos os tratamentos. As densidades desses organismos praticamente não se alteraram do inóculo para o primeiro dia de amostragem, por isso sua abundância relativa de 18% do inóculo, passou para 33% no primeiro dia de amostragem (figura 32 e tabela 13). Esse grupo apresentou crescimento definido por regressão polinomial de segunda ordem apenas na condição controle ( $R^2 = 0,50$ ), que passou a apresentar um decréscimo a partir do quinto dia de amostragem (figura 37 a). As criptofíceas foram os únicos organismos que apresentaram uma relação com a razão TN/TP ( $R^2 = 0,80$ ), mas somente na condição controle (figura 39 a).

Com relação à densidade média de criptofíceas durante o experimento e a abundância relativa no final do experimento, não houve diferenças significativas entre as condições testadas (tabelas 18 e 19). Através desses resultados, considerando-se a composição original da comunidade fitoplanctônica, pode-se dizer que as criptofíceas compõem um grupo bastante desfavorecido por estas condições de experimento, pois em todos os mesocosmos começaram com uma porcentagem de contribuição de aproximadamente 33% (média do 1º dia de amostragem) e terminaram com 8% (média do último dia de amostragem) (figura 32 e tabela 13).

Talvez o decréscimo relativo das criptofíceas esteja relacionado ao fato desse grupo ser mais palatável para os organismos zooplanctônicos e num ambiente pequeno como os mesocosmos, tornaram-se presas fáceis. Segundo KLAVENESS (1988), existem fortes evidências de que as algas flageladas e criptofíceas, em particular, são adequados alimentos para o zooplâncton herbívoro e que a predação é um forte fator controlador dessas populações. Em ambientes naturais, durante ou imediatamente após períodos de fraca a moderada turbulência, os organismos do grupo das criptofíceas podem encontrar condições favoráveis e estabelecer sua população máxima, pois esse período de turbulência alivia temporariamente a pressão dos predadores e a coluna d'água é enriquecida pela redistribuição de nutrientes. De acordo com os estudos de ZANATA (1999), no reservatório de Salto Grande, a comunidade zooplanctônica deste ambiente é composta principalmente por rotíferos e copépodos. Embora não tenha sido feita a análise da comunidade zooplanctônica dos tanques, foi visualizada a presença destes organismos.

Além do mais, o fato de possuírem flagelo e capacidade de movimento na coluna d'água não significou vantagem adaptativa nessas condições experimentais, uma vez que a luz atingiu o ambiente por completo, além da homogeneização da água antes de cada amostragem. Segundo SOMMER (1983), as criptofíceas são reconhecidas por apresentarem alta demanda de nutrientes. No entanto, investigações experimentais sobre a habilidade de competição das criptofíceas têm sido dificultadas pela sua sensibilidade à agitação mecânica. Algumas espécies de criptofíceas de água doce podem apresentar crescimento heterotrófico no escuro, podem utilizar nitrogênio orgânico dissolvido como recurso nutricional e podem apresentar hábitos fagotróficos. Estudos em laboratório com espécies de criptofíceas indicaram que a faixa de temperatura ótima para o crescimento pode variar de 16 °C a 25 °C e a faixa de pH ideal varia de 4,5 a 8,5 (KLAIVENESS, 1988). Apesar da temperatura da água nos mesocosmos ter estado dentro da faixa ideal para as criptofíceas, o pH esteve acima do favorável para esse grupo.

As bacilariofíceas, no primeiro dia de amostragem, apresentaram redução de aproximadamente 55% da densidade do inoculo. Entretanto, as abundâncias relativas mantiveram-se semelhantes (tabela 13 e figura 32). Durante o experimento, as bacilariofíceas apresentaram diferenças significativas entre os valores médios de densidade na condição de controle e nas de enriquecimento, estas não apresentaram diferenças entre si (tabela 18).

As bacilariofíceas apresentaram aumentos contínuos de densidade, definidos por regressão polinomial de segunda ordem, em ambas as condições de enriquecimento, N/P alta ( $R^2 = 0,84$ ) e N/P baixa ( $R^2 = 0,61$ ) (figura 37 b e c). Com relação à abundância relativa no último dia de experimento, não houve diferença significativa entre as diferentes condições (tabela 19). Esse foi o único grupo que apresentou uma relação direta com o aumento de nitrogênio ( $R^2 = 0,66$ ) e o fósforo ( $R^2 = 0,55$ ) total (figura 38).

Talvez o aumento na densidade de bacilariofíceas nas condições de enriquecimento seja devido à disponibilidade de nutrientes associada à de luz, uma vez que os mesocosmos receberam radiação solar em toda profundidade e esses

organismos não mais dependeram das misturas verticais da coluna d'água para obtenção da luz, necessárias no ambiente natural. Pode ser que a homogeneização do mesocosmos antes de cada amostragem também tenha contribuído para evitar perdas por sedimentação (SOMMER, 1988).

As clorofíceas praticamente mantiveram a densidade do inóculo para o primeiro dia de amostragem, ou seja, foram resistentes ao estresse inicial da montagem do experimento. Esse fato fez com que a abundância relativa desse grupo aumentasse de 13% no inóculo, para aproximadamente 25% no primeiro dia de amostragem, assim elas obtiveram uma certa vantagem em relação aos demais grupos que sofreram perdas no início do experimento (tabela 13). No geral, as clorofíceas mostraram-se bastante favorecidas pelas condições experimentais. Houve aumento na abundância relativa das clorofíceas em todos os mesocosmos, principalmente na condição de menor razão, na qual chegaram a atingir 46% de representatividade, em média (figura 32 e tabela 13). Isso pode ser explicado pelas elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo e disponibilidade de luz, pois a radiação fotossinteticamente ativa atingiu toda a coluna d'água do mesocosmo, dispensando a necessidade de habilidades motoras, ou de misturas turbulentas para absorver luz, como ocorre em ambiente natural (HAPPEY-WOOD, 1988).

O grupo das clorofíceas foi o único que apresentou diferenças significativas entre as densidades médias das três condições experimentais, sendo mais favorecido pela razão N/P baixa e menos favorecido pela condição controle (tabela 18). As clorofíceas apresentaram crescimento definido por uma regressão polinomial de segunda ordem nas três condições avaliadas (controle  $R^2 = 0,69$ ; N/P alta  $R^2 = 0,87$ ; N/P baixa  $R^2 = 0,88$ ). No controle, o crescimento passou a decair a partir do sexto dia de amostragem (figura 37 a), nas demais condições o aumento foi crescente (figura 37 b e c). Com relação à abundância relativa no final do experimento, não houve diferença significativa entre a condição controle e a razão N/P alta, mas houve diferença em relação à razão N/P baixa.

Estudos anteriores realizados no reservatório de Salto Grande indicaram que pequenas clorococales são predominantes dentre as clorofíceas (DEBERDT, 1997, MINOTE, 1999 e DEBERDT, 1999). De acordo com HAPPEY-

WOOD (1988), em algumas situações, o sucesso de algumas microalgas leva em conta as características morfológicas das células, como seu pequeno tamanho. Células pequenas possuem uma razão superfície/volume maior que a de grandes células, isso significa proporcionalidade inversa entre a capacidade de absorção de nutrientes dissolvidos, a difusão de dióxido de carbono e a absorção da luz por unidade de volume celular. Sendo assim, células pequenas podem apresentar uma vantagem seletiva. Entretanto, grandes colônias possuem a vantagem de permanecerem presentes na coluna d'água quando a pressão da predação por organismos zooplantônicos filtradores for alta.

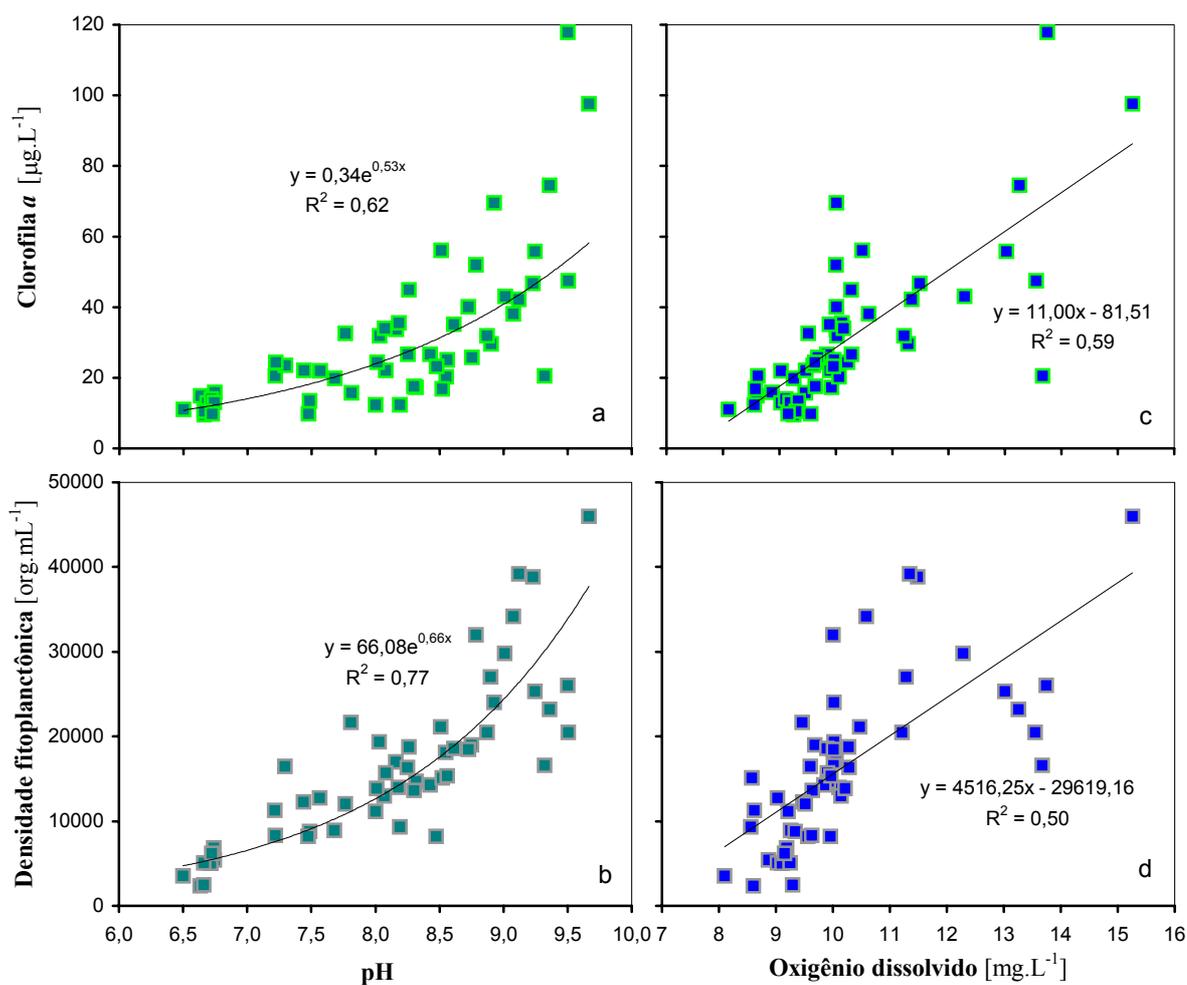
A observação das espécies, através de microscopia, confirmou a predominância de pequenas clorofíceas nos mesocosmos submetidos ao enriquecimento de nitrogênio e fósforo. Estes organismos são considerados pioneiros, típicos de início de sucessão ecológica (HAPPEY-WOOD, 1988 e REYNOLDS, 1997). Estas observações sugeriram que o ambiente experimental (mesocosmos) pode não ter tido tempo de atingir um estágio de equilíbrio devido às interferências externas (alterações físicas – homogeneização, e químicas – enriquecimento), fazendo com que a comunidade se mantivesse no estágio inicial da sucessão ecológica.

Nesse experimento, deve ser considerada a possibilidade das homogeneizações dos mesocosmos e alterações químicas em dias alternados terem atuado como forças de desestabilização da comunidade fitoplanctônica, causando quebra na sucessão natural dos organismos, favorecendo a colonização por grupos pioneiros, tais como clorofíceas e bacilariofíceas.

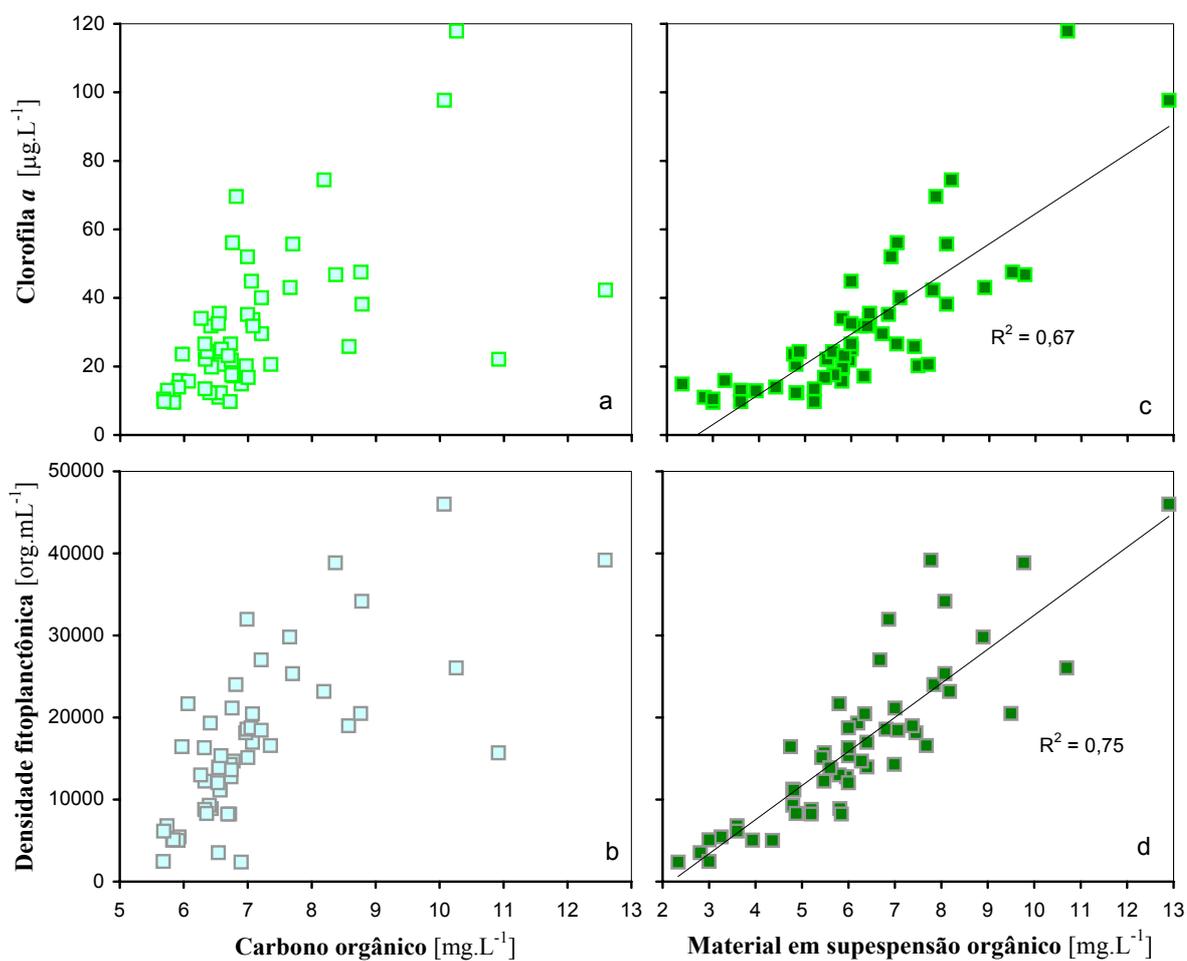
Vale ressaltar que o único grupo que apresentou diferenças significativas, tanto em termos de densidade como abundância relativa, entre as duas condições de enriquecimento foram as clorofíceas, que foram significativamente favorecidas pela adição de fósforo, ou seja, razão N/P baixa.

Entretanto, há de se atentar que a comunidade exposta à manipulação de nitrogênio e fósforo sofreu considerável alteração na mudança do ambiente natural aos experimentais. As cianobactérias e as bacilariofíceas foram os organismos que mais sofreram com a montagem do experimento em relação à

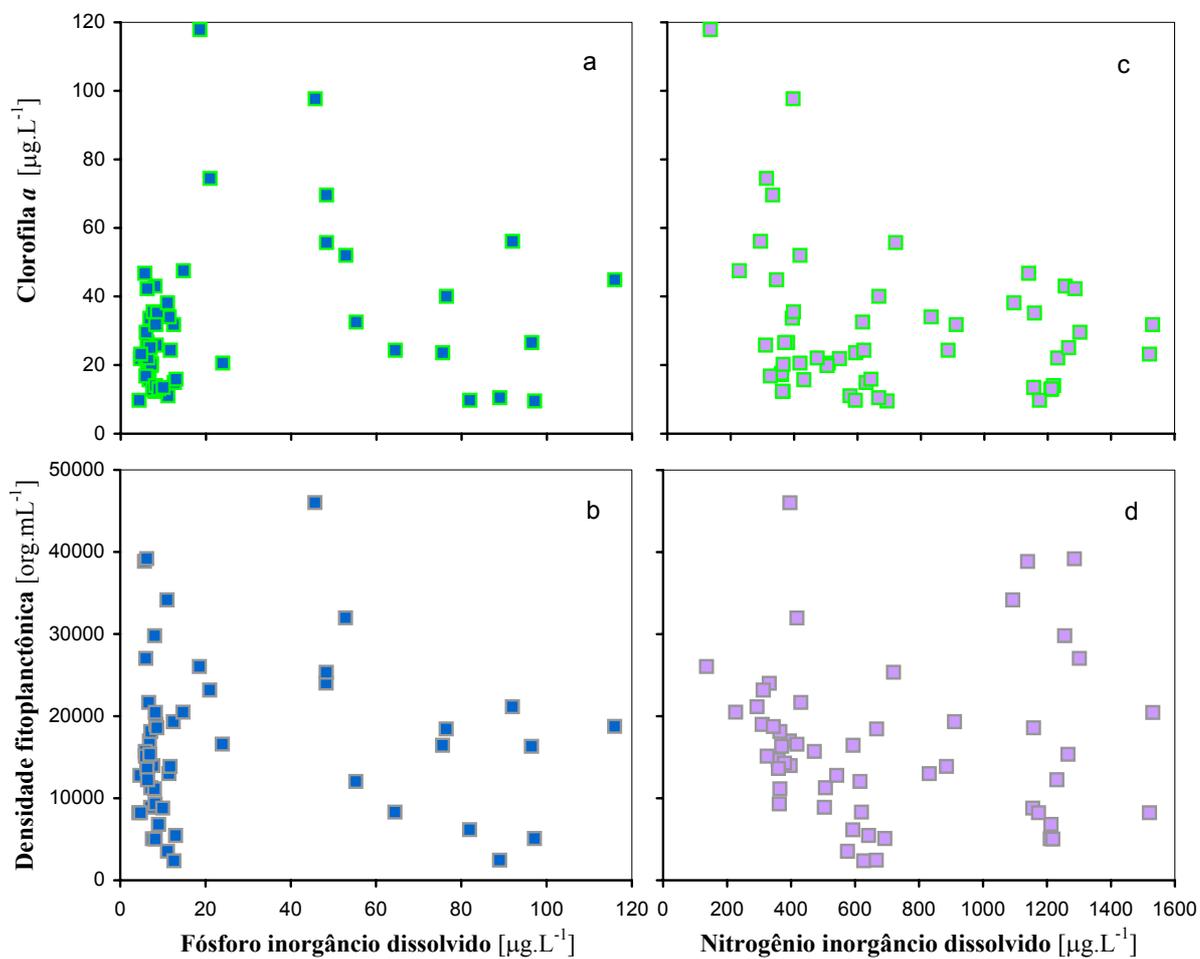
densidade obtida no ambiente. As clorófitas e as criptófitas praticamente não apresentaram perdas de organismos no início do experimento.



**Figura 34.** Análises de regressões exponenciais entre os valores de pH e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b), e regressão linear entre as concentrações de oxigênio dissolvido e as concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d).



**Figura 35.** Relação entre as concentrações de carbono orgânico e as concentrações de clorofila *a* (a) e densidade fitoplanctônica (b), e regressão linear entre as concentrações de material em suspensão orgânico e as concentrações de clorofila *a* (c) e densidade fitoplanctônica (d).



**Figura 36.** Relação entre as concentrações de fósforo inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila  $a$  (a) e densidade fitoplanctônica (b), e entre as concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido e as concentrações de clorofila  $a$  (c) e densidade fitoplanctônica (d).

**Tabela 16.** Valores médios das concentrações de nitrogênio e fósforo totais e dissolvidos [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA.

	<b>TN</b>		<b>TP</b>		<b>DIN</b>		<b>DIP</b>	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
<b>Controle</b>	1429 <sup>a</sup>	280	90 <sup>a</sup>	23	440 <sup>a</sup>	118	7,7 <sup>a</sup>	0,3
<b>N/P alta</b>	2814 <sup>b</sup>	138611	139 <sup>b</sup>	465	1188 <sup>b</sup>	4935	8,1 <sup>a</sup>	0,5
<b>N/P baixa</b>	3781 <sup>b</sup>	281374	332 <sup>c</sup>	2266	468 <sup>a</sup>	9056	62,1 <sup>b</sup>	160,4
<b>F</b>	29,920		53,496		114,649		54,562	
<b>P</b>	$7,56 \cdot 10^{-4}$		$1,50 \cdot 10^{-4}$		$1,66 \cdot 10^{-5}$		$1,42 \cdot 10^{-4}$	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 17.** Valores médios das concentrações de clorofila *a* [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] e densidades fitoplanctônicas [ $\text{org.mL}^{-1}$ ] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA.

	<b>Clorofila <i>a</i></b>		<b>Densidade fitoplanctônica</b>	
	Média	Variância	Média	Variância
<b>Controle</b>	20 <sup>a</sup>	17	12671 <sup>a</sup>	353390
<b>N/P alta</b>	27 <sup>a</sup>	10	18008 <sup>b</sup>	3903804
<b>N/P baixa</b>	45 <sup>b</sup>	222	18830 <sup>b</sup>	8016592
<b>F</b>	6,051		8,202	
<b>P</b>	0,036		0,019	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 18.** Valores médios das densidades das classes fitoplanctônicas [org.mL<sup>-1</sup>] nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA.

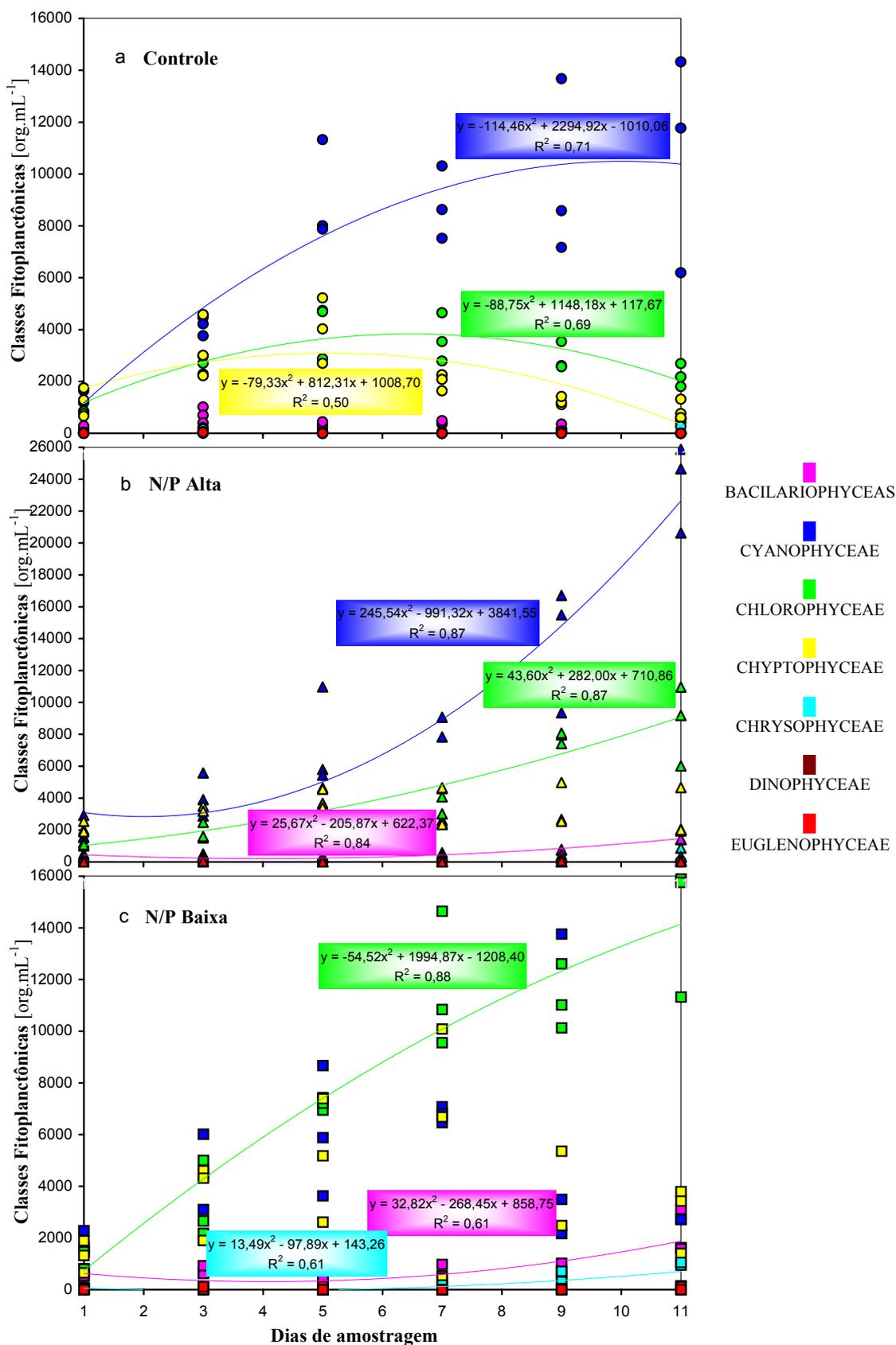
	<b>Cianobactérias</b>		<b>Bacilariofíceas</b>		<b>Clorofíceas</b>		<b>Criptofíceas</b>	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
<b>Controle</b>	7304 <sup>a</sup>	770904	398 <sup>a</sup>	1239	2776 <sup>a</sup>	94822	2101 <sup>a</sup>	53018
<b>N/P alta</b>	9598 <sup>a</sup>	2844119	611 <sup>b</sup>	12590	4481 <sup>b</sup>	236240	3179 <sup>a</sup>	540958
<b>N/P baixa</b>	6039 <sup>a</sup>	16518853	812 <sup>b</sup>	94142	8162 <sup>c</sup>	47919	3563 <sup>a</sup>	2417869
<b>F</b>	1,455		3,572		179,802		1,716	
<b>P</b>	0,305		0,095		4,42.10 <sup>-6</sup>		0,257	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

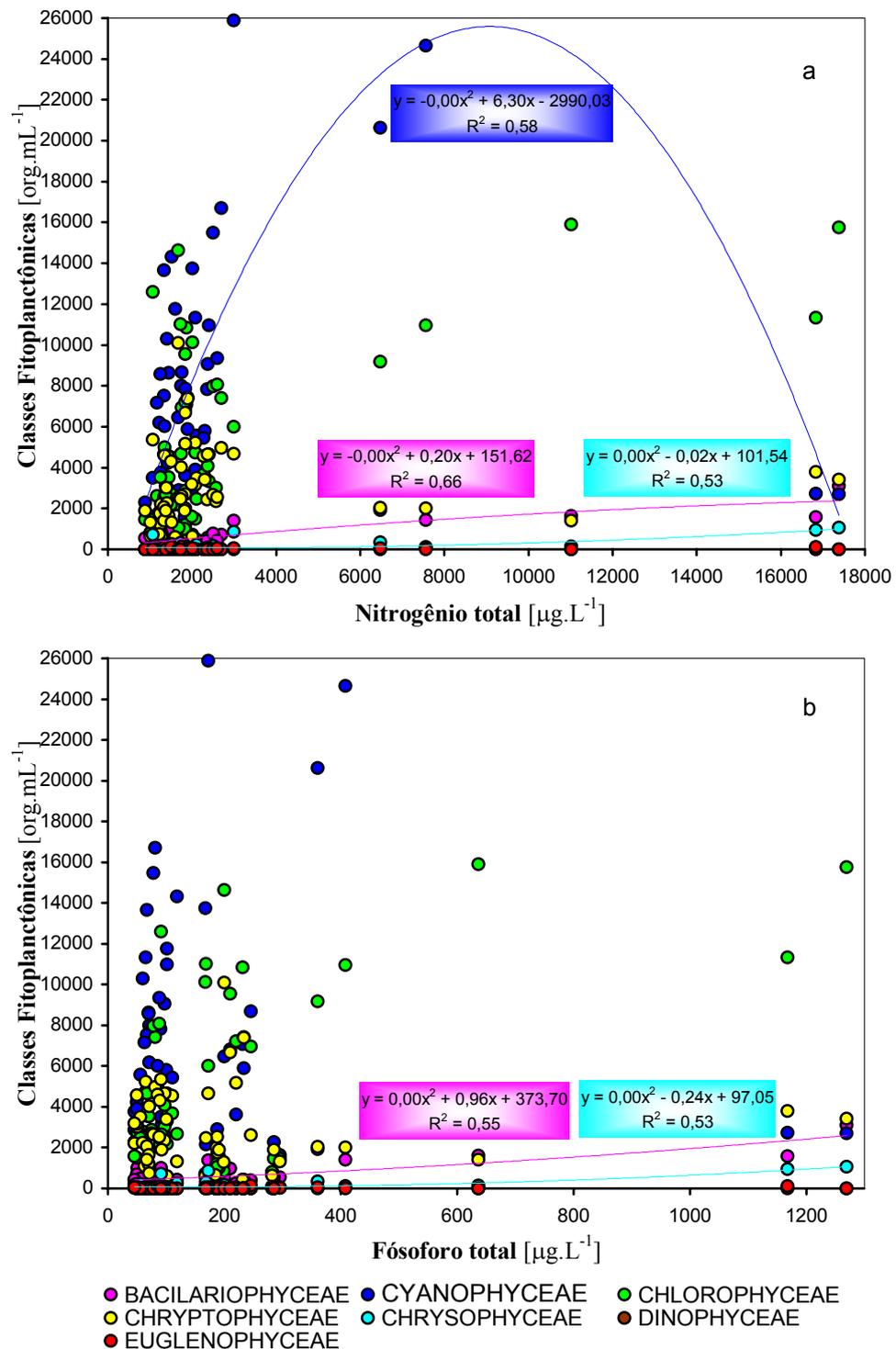
**Tabela 19.** Valores médios das abundâncias relativas das classes fitoplanctônicas [%] no último dia de amostragem nos mesocosmos, na condição controle, razão N/P alta e razão N/P baixa e ANOVA.

	<b>Cianobactérias</b>		<b>Bacilariofíceas</b>		<b>Clorofíceas</b>		<b>Criptofíceas</b>	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
<b>Controle</b>	73 <sup>a</sup>	36	4 <sup>a</sup>	3	16 <sup>a</sup>	9	6 <sup>a</sup>	4
<b>N/P alta</b>	63 <sup>ab</sup>	10	4 <sup>a</sup>	1	23 <sup>a</sup>	48	8 <sup>a</sup>	14
<b>N/P baixa</b>	27 <sup>b</sup>	729	8 <sup>a</sup>	17	50 <sup>b</sup>	189	12 <sup>a</sup>	62
<b>F</b>	6,717		1,736		11,803		0,823	
<b>P</b>	0,029		0,254		0,008		0,483	

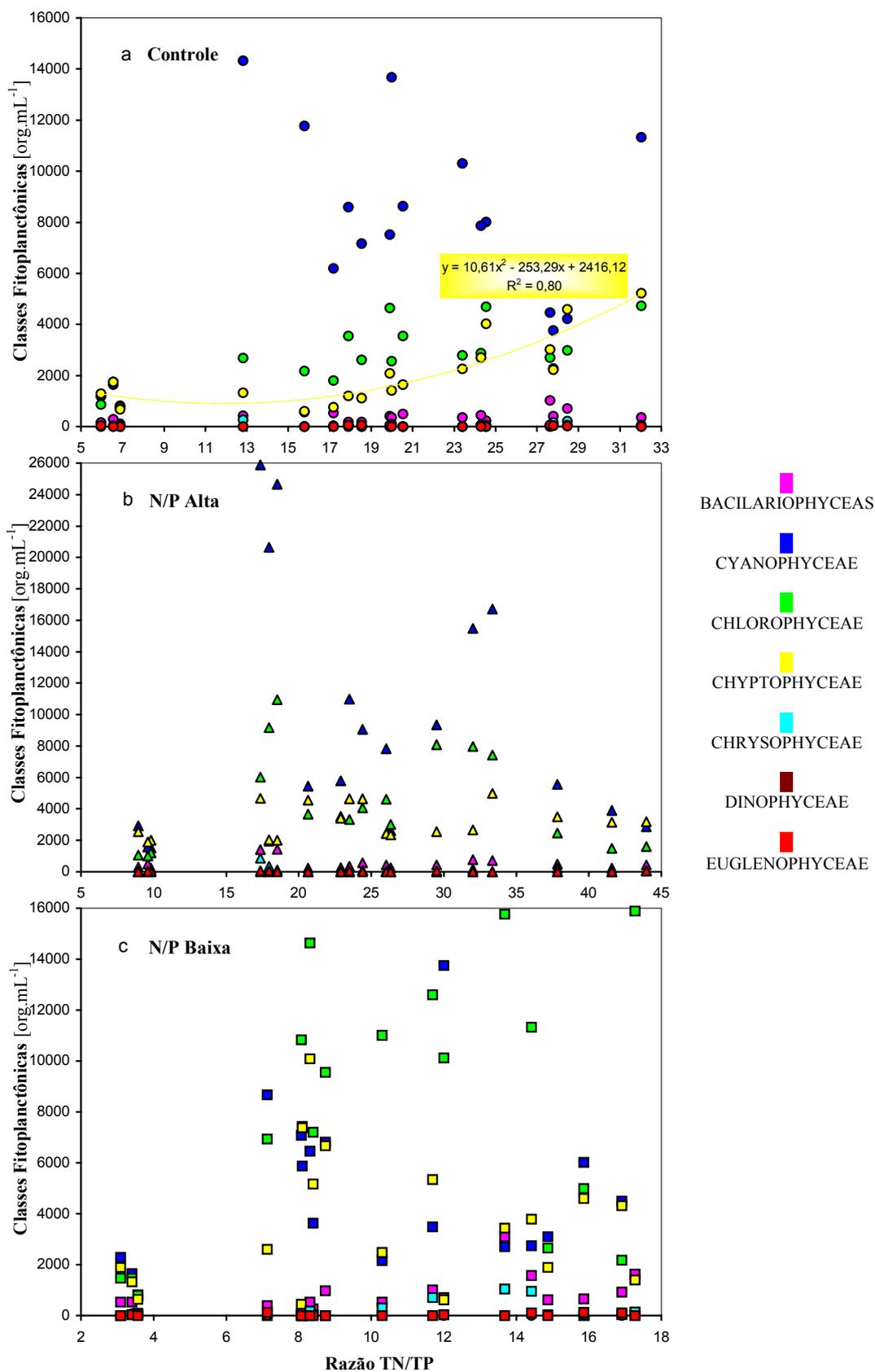
\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).



**Figura 37.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplanctônicas e os dias de amostragem na condição controle (a), razão N/P alta (b) e razão N/P baixa (c), sem os valores do inóculo.



**Figura 38.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplanctônicas e as concentrações de nitrogênio total (a) e fósforo total (b).



**Figura 39.** Análises de regressões polinomiais de segunda ordem entre as densidades das classes fitoplantônicas e os valores das razões TN/TP condição controle (a), razão N/P alta (b) e razão N/P baixa (c).

## 7.5. CONCLUSÕES SOBRE OS MESOCOSMOS

A hipótese de que a diminuição da razão N/P, através do aumento da concentração de fósforo na água, leva ao aumento da densidade de cianobactérias foi negada pelas observações obtidas através dos experimentos de manipulação da razão N/P em mesocosmos. A análise dos resultados sugeriu que não houve influência da razão N/P sobre a sucessão da comunidade fitoplanctônica, mas influência indireta das concentrações absolutas de ambos nutrientes.

O aumento da biomassa fitoplanctônica nos mesocosmos, provavelmente foi devido à baixa concentração de material inorgânico particulado em suspensão, que permitiu a melhor distribuição da luz; ausência de zona afótica, pois radiação fotossinteticamente ativa atingiu também o fundo dos mesocosmos; a ausência de mistura turbulenta contínua, exceto a mistura feita a cada dois dias, antes da amostragem; maiores concentrações de oxigênio dissolvido, provavelmente devidas ao aumento da produção primária e diminuição do consumo pela decomposição; enriquecimento com formas prontamente disponíveis de nitrogênio e fósforo nas condições de razões N/P alta e baixa.

A condição controle foi a que mais favoreceu as cianobactérias em relação à abundância relativa, ou melhor, que desfavoreceu os demais grupos, talvez devido às concentrações de nitrogênio e de fósforo mais próximas ao ambiente natural, onde as cianobactérias predominam.

A condição de razão baixa N/P foi bastante favorável ao desenvolvimento de clorofíceas, o que pode estar indiretamente relacionado à adição de nutrientes, principalmente fósforo. No entanto, nenhuma relação direta foi obtida com as concentrações de nitrogênio e de fósforo.

O enriquecimento nutricional da água nos tanques causou uma alteração química nos mesocosmos, desestabilizando o sistema. Isso pode ter induzido a comunidade fitoplanctônica a retornar ao estágio inicial da sucessão ecológica, demonstrado pela predominância de pequenas clorofíceas (observadas pelo autor). O aumento na taxa de crescimento das espécies pioneiras, pode ter sido otimizado pelo enriquecimento.

## 8. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS MICROCOSMOS (EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO)

### 8.1. IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DA MICROCISTINA

As 60 variedades de microcistinas caracterizadas na natureza apresentam estruturas moleculares levemente diferenciadas, porém seus espectros na região UV são muito semelhantes. As pequenas alterações nas estruturas moleculares têm sido entendidas como responsáveis pelas diferenças encontradas entre os tempos de retenção dessas substâncias em condições cromatográficas semelhantes (SIVONEN & JONES, 1999).

Quando foi verificada a presença de microcistina na amostra, apenas um pico da toxina foi detectado por extrato das células, através das análises por cromatografia líquida (HPLC). Os picos foram identificados como microcistina por comparação de seus espectros UV (190 – 300nm com  $\lambda_{\text{max}} = 238$  nm) com o padrão de microcistina-LR. As análises cromatográficas das amostras livres de células (filtradas) não revelaram a presença de microcistina extracelular, considerando o limite de detecção do equipamento.

Os extratos das células de culturas das cepas de *Microcystis aeruginosa* produziram picos bem definidos, correspondente à microcistina, sempre com o mesmo tempo de retenção (10,3 min.). Nos extratos das amostras de células obtidas em campo (macrocosmos) e nos experimentos em tanques (mesocosmos), mesmo após a pré-purificação em cartuchos de ODS, foram detectadas várias substâncias não identificadas. Esses resultados evidenciam a dificuldade de se trabalhar com amostras muito heterogêneas, pois a proximidade de picos pode comprometer a interpretação dos espectros e dos resultados (ver curva-padrão, espectros e cromatogramas no anexo 3).

Entretanto, verificou-se que existe uma grande diferença em se trabalhar com amostras de origens distintas. As análises de amostras contendo microcistinas produzidas por apenas uma linhagem de algas (cultura – microcosmos) apresentaram picos claros e definidos, que indicaram a presença de somente um tipo de microcistina. As amostras obtidas a partir dos mesocosmos ou em campo (macrocosmo), que continham várias linhagens de cianobactérias tóxicas, apresentaram vários picos distintos, as vezes, sobrepostos. Sendo assim, o processo de purificação do extrato tornou-se mais difícil, impossibilitando a separação todas de todas as substâncias existentes em amostras bastante heterogêneas.

## **8.2. ISOLAMENTO E CULTIVO DAS CEPAS DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* (KÜTZING) KÜTZING**

Foram isoladas 16 cepas distintas, sendo 3 obtidas nos meses de verão e 13, nos de inverno. As culturas foram mantidas em tubos de ensaio com meio de cultivo ASM-1 (GORHAM et al., 1964), à temperatura de aproximadamente 21 °C, com fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 30  $\mu\text{mol photon.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Todas as cepas foram cultivadas em garrações contendo 4 litros de meio de cultivo, durante 15 dias. Após esse período, cada cepa foi concentrada através do filtrador tangencial e posteriormente liofilizada para determinação das concentrações de microcistinas. Dentre as 16 cepas testadas, 5 apresentaram toxinas (MASGV1, MASGV3, MASGI2, MASGI4 e MASGI10).

## **8.3. EXPERIMENTOS DE REDUÇÃO DE FÓSFORO EM CULTURAS DAS CEPAS DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* (KÜTZING) KÜTZING**

No experimento realizado com a cepa MASGV3, a fase “lag” (fase de adaptação) durou aproximadamente 7 dias e a fase exponencial, aproximadamente 13 dias, em ambas condições de cultivo. Durante esse período foram observadas apenas diferenças não significativas entre as duas condições de cultivo.

Para o experimento utilizando a cepa MASGV3, o teste estatístico de Tukey não foi significativo no nível de 1% de probabilidade, ou seja, os tratamentos possuíram efeitos semelhantes sobre as características analisadas. Ambas as condições testadas apresentaram efeitos semelhantes sobre as culturas durante os 21 dias de observação (tabela 20). Através desses resultados, foi constatado que o experimento deveria ter começado com inóculos mais concentrados e ter duração mais prolongada para a obtenção de diferenças significativas entre as condições experimentais.

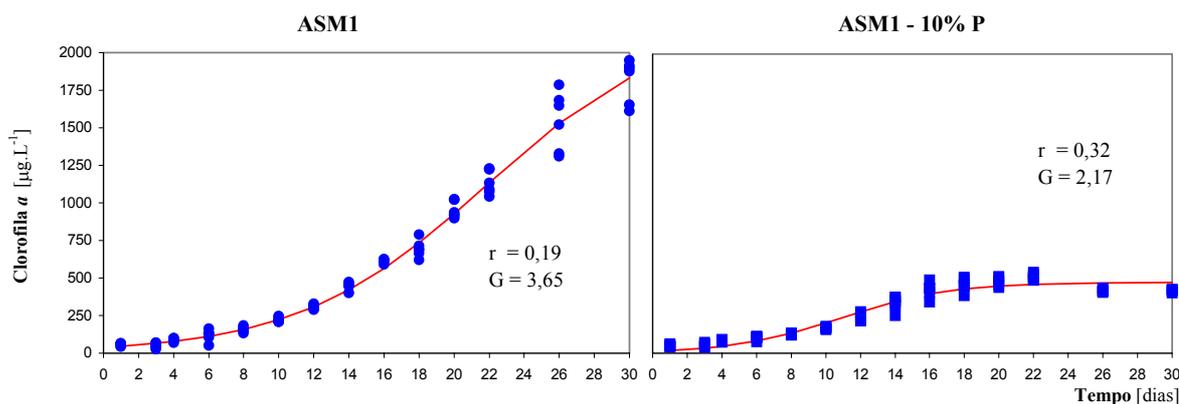
Baseado nos resultados apresentados pelo experimento preliminar, o segundo experimento, utilizando a cepa MASGI4, foi iniciado com um inóculo de  $53,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de clorofila *a* e mantido durante 30 dias. A fase “lag” durou aproximadamente 4 dias, em ambas condições de cultivo. A fase exponencial manteve-se por aproximadamente 22 dias no meio ASM-1 e 14 dias no meio ASM-1 com apenas 10% da concentração original de fósforo (figura 40). Durante esse período foram observadas grandes diferenças entre as duas condições de cultivo.

Para o experimento utilizando a cepa MASGI4, o teste estatístico de Tukey foi significativo no nível de 1% de probabilidade, ou seja, os tratamentos resultaram em efeitos diferentes sobre as características analisadas. As condições testadas apresentaram efeitos diferentes sobre as culturas durante os 30 dias de observação. O coeficiente de variação foi de 10,44% para a constante relativa de crescimento (*r*) e 10,75% para o tempo de duplicação da biomassa (*G*) (tabela 20).

**Tabela 20.** Valores médios da constante relativa de crescimento (*r*) e do tempo de duplicação da biomassa (*G*) das cepas MASGV3 e MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo e teste de Tukey.

	MASGV3		MASGI4	
	Médias*		Médias*	
	<i>r</i>	<i>G</i>	<i>r</i>	<i>G</i>
ASM 1	0,3933 <sup>a</sup>	1,7633 <sup>a</sup>	0,1866 <sup>b</sup>	3,7433 <sup>a</sup>
ASM 1 – 10% P	0,4066 <sup>a</sup>	1,7233 <sup>a</sup>	0,3200 <sup>a</sup>	2,1800 <sup>b</sup>
Erro padrão	0,0200	0,0917	0,0153	0,0338
Diferença mínima significativa para 1%	0,0786	0,3604	0,0600	0,1328

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,01$ )



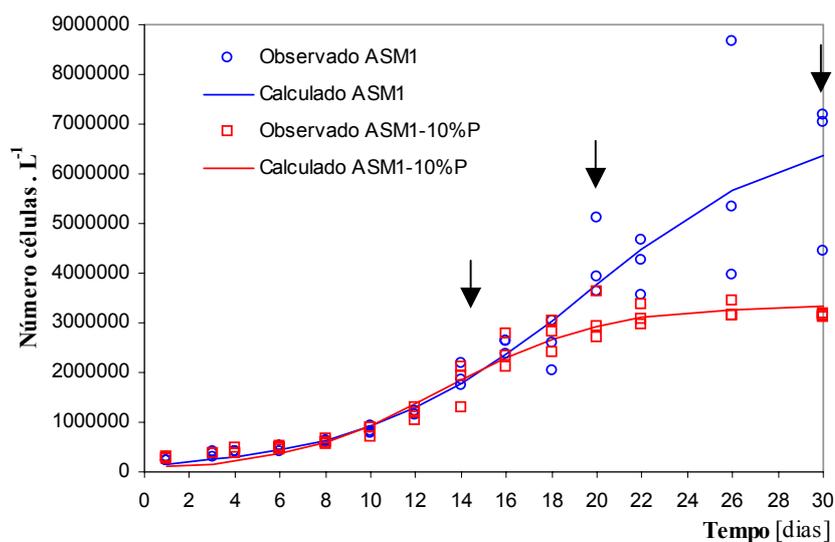
**Figura 40.** Concentrações de clorofila *a* das culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 21 e 30 dias, respectivamente.

O início do segundo experimento, com inóculos mais concentrados, otimizou o crescimento das culturas. A duração mais longa do experimento permitiu uma avaliação da fase estacionária.

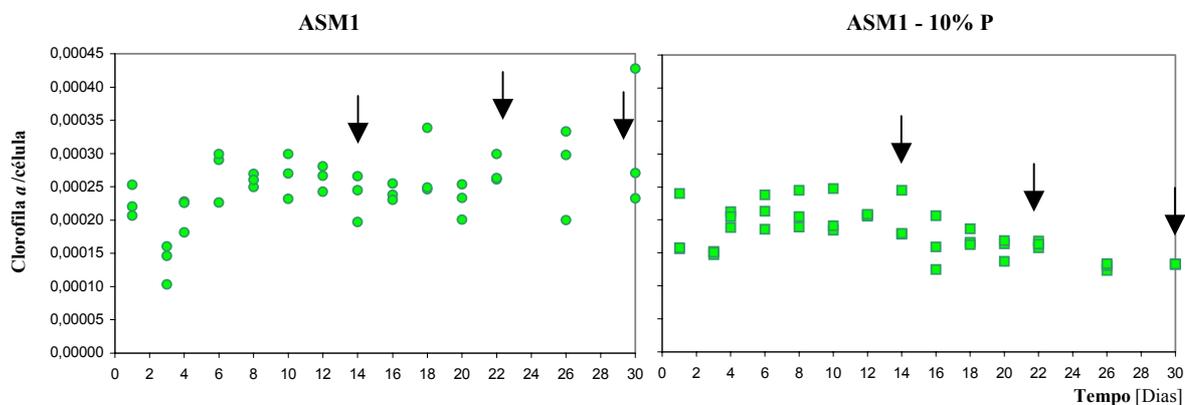
Através do experimento com a cepa MASGI4 foi possível verificar o efeito da redução de fósforo sobre a eficiência de crescimento. Em ambas condições de cultivo, a fase exponencial iniciou-se a partir do 10<sup>o</sup> dia. Entretanto, as taxas de crescimento da cepa MASGI4 foram diferentes entre as condições testadas. Na condição de meio ASM-1 padrão, a cultura apresentou-se em fase exponencial até o 20<sup>o</sup> dia; já na condição de meio ASM-1 com 10% da concentração original de fósforo, a cultura iniciou a fase estacionária a partir do 16<sup>o</sup> dia. O rendimento final da cepa em meio ASM-1 padrão foi  $5,97 \cdot 10^6$  cél.L<sup>-1</sup> e em meio ASM-1 com 10% da concentração original de fósforo foi  $2,88 \cdot 10^6$  cél.L<sup>-1</sup> (figura 41).

As concentrações celulares médias dos cultivos, utilizando a cepa MASGI4, passaram a apresentar diferenças entre as duas condições a partir do 16<sup>o</sup> dia (figura 42). O número de células e a concentração de clorofila *a* foram menores no meio ASM-1 com apenas 10% da concentração original de fósforo. Nesse tratamento, também foi observada redução na concentração de clorofila *a* por unidade celular (figura 42). A maior concentração de clorofila *a* por unidade celular, em meio ASM-1 padrão, no final do experimento, está relacionada ao maior sombreamento causado pela densidade de células. No meio ASM-1 com apenas 10%

da concentração original de fósforo, a menor concentração de células facilitou uma melhor distribuição da luz, o que permitiu uma menor concentração de clorofila *a* por unidade celular.



**Figura 41.** Concentrações de células nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias (as setas indicam os dias em que foram determinadas as concentrações de microcistina).

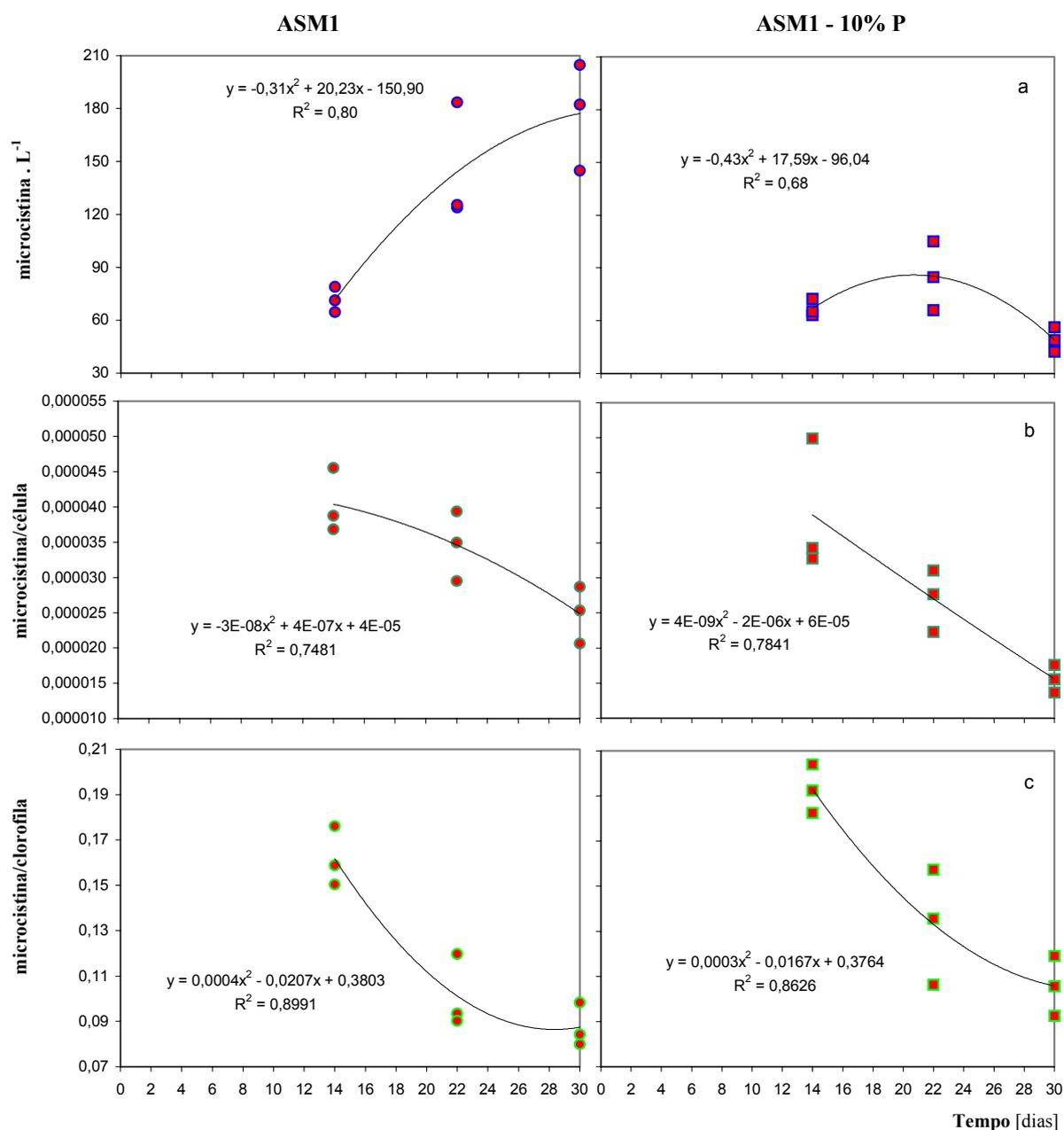


**Figura 42.** Concentrações de clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] por células nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias (as setas indicam os dias em que foram determinadas as concentrações de microcistina).

As maiores concentrações de microcistina por volume de cultura (205  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , 184  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 182  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) foram obtidas na condição ASM-1 padrão, devido à maior densidade de organismos (figura 43 a). As concentrações de microcistina por volume de cultura apresentaram diferenças significativas entre as condições de cultivo apenas no último dia de amostragem (30 dias de cultivo) (tabela 21). No meio ASM-1 padrão, a relação entre a concentração de microcistina e o número de células, foi definida por uma regressão polinomial de segunda ordem ( $R^2 = 0,85$ ), mas no meio ASM-1 com redução de fósforo, a relação foi indefinida (figura 44 a) sugerindo, assim, que a redução de fósforo pode ter interferido no processo de produção de microcistina.

As concentrações de microcistina por unidade celular ( $Q_{\text{MCYST}}$ ) apresentaram diferenças significativas entre as condições de cultivo apenas no último dia de amostragem (30 dias de cultivo) (tabela 22). Esses valores indicaram uma tendência à redução da  $Q_{\text{MCYST}}$  ao longo do experimento, principalmente na condição de menor concentração de fósforo (figura 43 b), ou seja, durante a fase exponencial de crescimento, a concentração de microcistina por célula foi maior do que na fase estacionária em ambas condições. O envelhecimento do cultivo teve uma influência negativa sobre a produção de microcistina por unidade celular ( $Q_{\text{MCYST}}$ ). Na condição de menor concentração de fósforo, esta influência negativa foi mais acentuada (inclinação =  $-6.10^{-11}$ ) do que em meio ASM-1 padrão (inclinação =  $-2.10^{-12}$ ) (figura 44 b).

As concentrações de microcistina por clorofila *a* apresentaram diferenças significativas entre as condições de cultivo somente no primeiro dia de amostragem (tabela 23). Esses valores indicaram uma tendência à redução ao longo do experimento, principalmente no meio ASM-1 padrão (figura 43 c). O aumento do número de células influenciou negativamente a relação microcistina/clorofila *a* em ambas condições de cultivo (figura 44 c). Não só pelo aumento da concentração de clorofila *a* por célula (no meio ASM-1 padrão) com também pela redução da concentração de microcistina por célula (em ambas condições).



**Figura 43.** Variações nas concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ] (a), microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula (b) e microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] (c) nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, durante 30 dias e regressão polinomial de segunda ordem.

**Tabela 21.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ] por volume de cultura da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA.

Tempo de cultivo	14 dias		22 dias		30 dias	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
ASM1	71,57 <sup>a</sup>	52,26	144,21 <sup>a</sup>	1158,86	177,20 <sup>a</sup>	912,85
ASM1-10%P	66,95 <sup>a</sup>	23,29	85,28 <sup>a</sup>	378,26	49,20 <sup>b</sup>	48,22
F	0,85		6,78		51,15	
P	0,41		0,06		2,02.10 <sup>-3</sup>	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 22.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA.

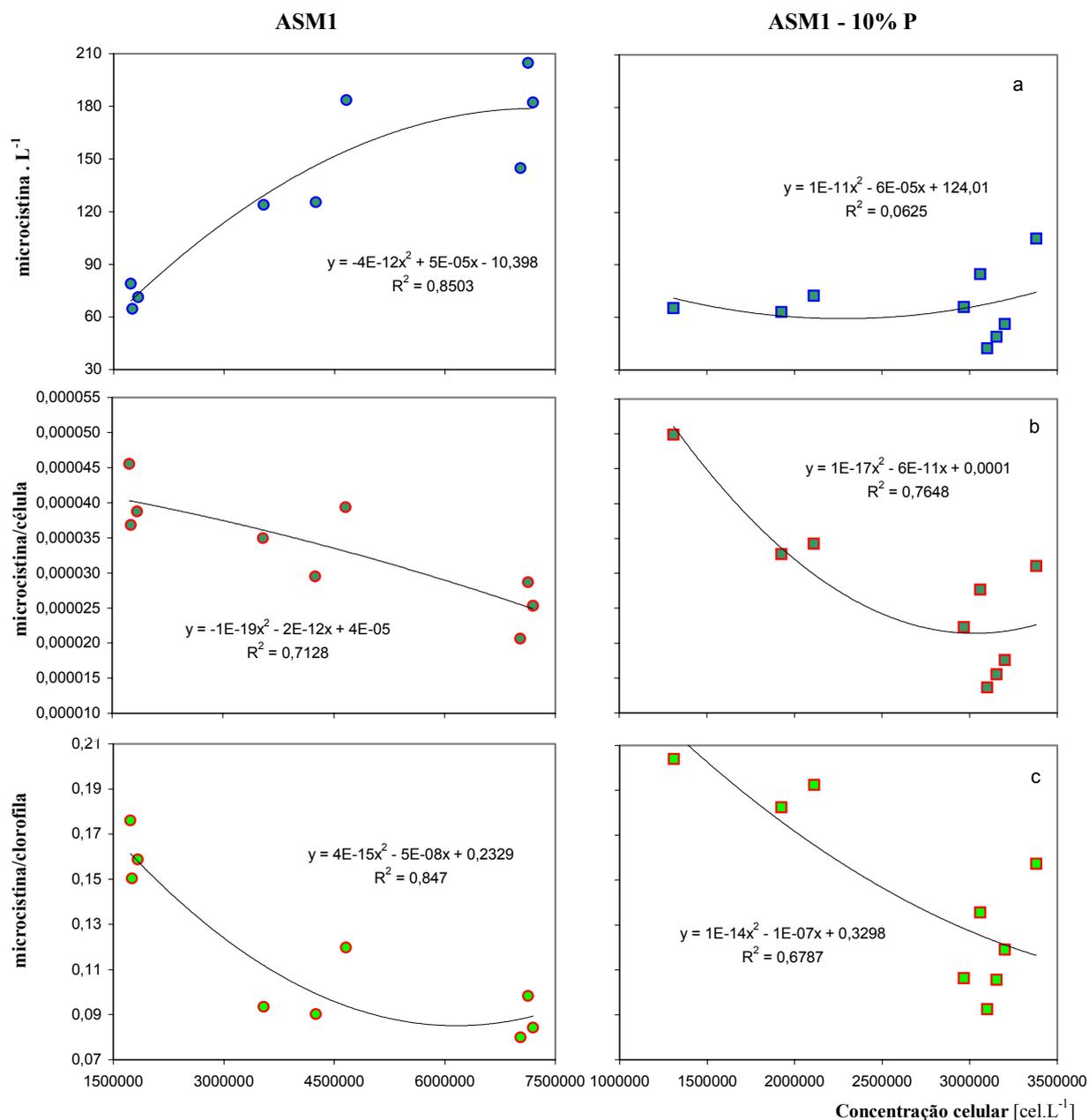
Tempo de cultivo	14 dias		22 dias		30 dias	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
ASM1	4,04.10 <sup>-5 a</sup>	52,26	3,46.10 <sup>-5 a</sup>	2,45.10 <sup>-11</sup>	2,49.10 <sup>-5 a</sup>	1,65.10 <sup>-11</sup>
ASM1-10%P	3,90.10 <sup>-5 a</sup>	23,29	2,70.10 <sup>-5 a</sup>	1,96.10 <sup>-11</sup>	1,56.10 <sup>-5 b</sup>	3,83.10 <sup>-12</sup>
F	0,05		3,92		12,71	
P	0,83		0,12		2,34.10 <sup>-2</sup>	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 23.** Valores médios das concentrações de microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo, nos dias de amostragem e ANOVA.

Tempo de cultivo	14 dias		22 dias		30 dias	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
ASM1	0,16 <sup>a</sup>	1,73.10 <sup>-4</sup>	0,10 <sup>a</sup>	2,61.10 <sup>-4</sup>	0,09 <sup>a</sup>	9,20.10 <sup>-5</sup>
ASM1-10%P	0,19 <sup>b</sup>	1,17.10 <sup>-4</sup>	0,13 <sup>a</sup>	6,56.10 <sup>-4</sup>	0,11 <sup>a</sup>	1,77.10 <sup>-4</sup>
F	10,11		3,33		3,77	
P	0,03		0,14		0,12	

\*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).



**Figura 44.** Variações nas concentrações de microcistina [ $\mu\text{g.L}^{-1}$ ] (a), microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por célula (b) e microcistina [ $\mu\text{g}$ ] por clorofila *a* [ $\mu\text{g}$ ] por concentração celular [ $\text{cel.L}^{-1}$ ] (c) nas culturas da cepa MASGI4, em meio ASM-1 e ASM-1 com redução de fósforo e regressão polinomial de segunda ordem.

A compreensão de como os fatores ambientais afetam o crescimento e a produção de hepatoxinas peptídicas cíclicas em cianobactérias tem sido um desafio para os pesquisadores há quase 40 anos. A partir do trabalho de GORHAM (1964), vários experimentos com cultivo têm sido realizados em busca de respostas. Idade da cultura em sistema tipo “Batch” e temperatura são os parâmetros mais freqüentemente avaliados, seguidos pela intensidade luminosa, nutrientes, salinidade, pH e micronutrientes. A tabela 24 apresenta um resumo dos resultados obtidos pelos autores utilizando cepas de *Microcystis aeruginosa*.

Os experimentos com cultivos realizados neste estudo confirmaram a existência de diferenças na produção de microcistinas durante as fases de crescimento. Na condição de cultivo em meio ASM1 padrão, apesar das concentrações de microcistina por litro de cultivo aumentarem ao longo do período experimental, tanto a concentração de microcistina por unidade celular ( $Q_{MCYST}$ ) quando por clorofila *a*, apresentaram um decréscimo ao longo dos dias amostrados. Essa observação corrobora os resultados obtidos por ORR & JONES (1998), que constataram, em culturas de *Microcystis aeruginosa* não axênicas, concentrações de microcistina por célula três vezes maiores no final da fase exponencial, ou início da estacionária, que as encontradas no final da fase estacionária.

As variações obtidas entre as concentrações de microcistina por unidade celular foram maiores entre os dias amostrados do que entre as condições experimentais distintas, ou seja, com relação às fases de crescimento houve um decréscimo na  $Q_{MCYST}$  de 1,6 vezes em meio ASM-1 padrão e 2,5 vezes em meio ASM-1 com redução de fósforo, já em relação à disponibilidade de fósforo a diferença média entre as condições experimentais foi de 1,2 vezes. SIVONEN & JONES (1999), comparando as variações na produção de microcistina entre as fases de crescimento e em condições ambientais distintas, afirmaram que a quantidade de microcistina em cultura aumenta durante a fase exponencial de crescimento, sendo maior no final dessa fase e que os fatores ambientais afetam o conteúdo de toxina da cianobactéria, mas apenas numa variação menor que uma ordem de magnitude.

A maioria dos estudos indica que as cianobactérias produzem mais toxina sob condições favoráveis a seu crescimento. Para exemplificar, seguindo a

tabela 24, estudos sobre a influência da temperatura constataram que o conteúdo de toxina foi maior em temperaturas entre 18°C e 25°C, enquanto que temperaturas baixas (10°C) ou muito altas (30°C) reduziram o conteúdo tóxico. Os gradientes de temperatura causaram diferenças de uma a cinco vezes no conteúdo de toxina (CODD & POON, 1988; VAN DER WESTHUIZEN & ELOFF, 1985; VAN DER WESTHUIZEN et al., 1986; WATANABE & OISHI, 1985). Sobre efeito do pH na produção de toxina, foram obtidas células mais tóxicas quando cresceram em pH alto ou baixo (VAN DER WESTHUIZEN & ELOFF, 1983).

Em ambas condições de cultivo ocorreram reduções nas concentrações de microcistina por unidade celular e por clorofila *a* ao longo dos dias amostrados. Entretanto, a diminuição nas concentrações de microcistina por unidade celular foi mais acentuada no meio ASM1 com redução de 10% de fósforo. A diminuição nas concentrações de microcistina por clorofila *a* foi mais acentuada no meio ASM1 padrão. Isso sugeriu que a deficiência de fósforo pode ter influenciado a produção de microcistina de forma indireta, através de alterações de processos fisiológicos.

Outros autores também encontraram diferenças na produção de cianotoxinas sob diferentes concentrações de nutrientes. Segundo SIVONEN & JONES (1999), no geral, cepas hepatotóxicas produzem mais toxinas em altas concentrações de fósforo e as diferenças induzidas por baixas e altas concentrações de fósforo variam entre uma ou quatro vezes. WATANABE & OISHI, 1985, em cultura tipo “Batch”, relataram que as células com deficiência de nitrogênio ou fósforo tiveram uma pequena diminuição na toxicidade, mas não obtiveram diferenças entre células crescendo em 1/10 e 1/20 de diluição do meio original. Em culturas contínuas, UTKILEN & GJOLME (1995) encontraram que condições limitantes de nitrogênio e fósforo não tiveram efeito sobre o conteúdo de toxina da *Microcystis aeruginosa*.

SIVONEN (1990), RAPALA et al. (1997) e ORR & JONES (1998) sugerem a hipótese de que existe uma correlação linear direta entre a divisão celular e a taxa de produção de microcistina em todas as cianobactérias produtoras desta toxina independente do fator ambiental que é limitante para divisão celular. Em termos fisiológicos, os nutrientes e outros fatores limitantes (luz, temperatura e etc.)

influenciam indiretamente a produção de microcistina em cianobactérias através de seu efeito sobre o crescimento de divisão celular, não através de qualquer efeito direto sobre a biossíntese de microcistina ou caminhos catabólicos. Essa hipótese pode ser relacionada aos resultados obtidos por esse estudo.

ORR & JONES (1998) concluem que esta relação conduz a uma visão unificada do controle ambiental da produção de microcistina em cianobactéria hepatotóxicas. A consistência da relação entre a taxa de produção de microcistina e a taxa de divisão celular obtida pelos autores, implica que a cota de microcistina por célula é fixada numa amplitude de duas a três vezes em qualquer cepa particular de cianobactéria independente da espécie ou condições ambientais.

OH et al. (2000) sugeriram que a taxa de produção de microcistina por *Microcystis aeruginosa* nos sistemas aquáticos, é determinada pela taxa de crescimento que por sua vez pode ser determinada pela concentração de fósforo no corpo d'água. Mais fósforo no meio de cultivo estimula o crescimento e conseqüentemente, a produção de microcistina por *Microcystis aeruginosa*.

Contudo, o efeito de qualquer parâmetro ambiental na concentração de microcistina de uma população em cultura ou de cepas específicas numa população mista em campo, é influenciada principalmente pelos efeitos globais sobre a taxa de aumento ou declínio da cultura ou cepa, não pela influencia individual e específica na biossíntese de microcistina ou caminhos catabólicos (ORR & JONES, 1998).

**Tabela 24.** Variações nas concentrações celulares de microcistina em *Microcystis aeruginosa* provocadas por alterações físicas e químicas no meio (modificada de SIVONEN & JONES, 1999).

Parâmetros	Método de análise	Variações nas concentrações de microcistina por massa seca	Maior/Menor produção de microcistina	Referências
<b>Temperatura [°C]</b>				
18, 25, 35	Bioensaio	1,4 x	Maior a 18 Menor a 32	Watanabe & Oishi, 1985
16, 20, 28, 36	Bioensaio HPLC	4 x	Maior a 20 Menor a 36	van der Westhuizen & Eloff, 1985; van der Westhuizen et al., 1986
10, 25, 34	Bioensaio	5 x	Maior a 25 Menor a 10	Codd & Poon, 1988
<b>Intensidade luminosa [<math>\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>]</b>				
7,5, 30, 75	Bioensaio	3,8 x	Maior a 30 Menor a 7,5	Watanabe & Oishi, 1985
21, 35, 145, 205	Bioensaio HPLC	1,2 x	Maior a 145 Menor a 21	van der Westhuizen & Eloff, 1985; van der Westhuizen et al., 1986
5 - 50	Bioensaio	2,4 x	Maior a 20	Codd & Poon, 1988
20, 30, 40, 55, 75	HPLC	2,5 x	Maior a 40 Menor a 20	Utikilen & Gjolme, 1992
<b>pH</b>				
1 - 14	Bioensaio	1,8 x	Maior a pH baixo e alto	van der Westhuizen & Eloff, 1983
<b>CO<sub>2</sub></b>				
BG-11 e meio sem CO <sub>2</sub>	Bioensaio	6 x	Maior no meio original	Codd & Poon, 1988
<b>Micronutrientes</b>				
Várias concentrações Al <sup>+3</sup> , Cd <sup>+2</sup> , Cr <sup>+3</sup> , Cu <sup>+2</sup> , Fe, Mn, Ni <sup>+2</sup> , Sn e Zn <sup>+2</sup>	HPLC	> 1,5 x	Maior em concentrações de Fe $\leq$ 2,5 $\mu\text{M}$ Zn $\leq$ 0,25 $\mu\text{M}$	Lukac & Aegerter, 1993
0,1 – 3,4 $\mu\text{gFe.L}^{-1}$	HPLC	1,5 x	Maior a 3,4	Utikilen & Gjolme, 1995
0,03 – 1,2 $\mu\text{gFe.L}^{-1}$	HPLC	0 - 3 x	Menor a 0,03	Lyck et al., 1996
<b>Nitrogênio</b>				
Meio MA 1/1, diluições 1/10, 1/20	Bioensaio	2,5 x	Maior no meio original	Watanabe & Oishi, 1985
BG-11 e meio sem N	Bioensaio	5 x	Maior no meio original	Codd & Poon, 1988
0,05 – 1 $\text{mg.L}^{-1}$	HPLC	3 x	Maior a 1	Utikilen & Gjolme, 1995
0,009 – 1,18 mM NaNO <sub>3</sub>	HPLC	3 x	Maior a 1,18 Menor a 0,009	Orr & Jones, 1998
<b>Fósforo</b>				
Meio MA 1/1, diluições 1/10, 1/20	Bioensaio	< 1 x	Maior no meio original	Watanabe & Oishi, 1985
BG-11 e meio sem P	Bioensaio	1,7 x	Maior sem P	Codd & Poon, 1988
0,0025, 0,025 $\text{mg.L}^{-1}$	HPLC	2,3 x	Maior a 0,025	Utikilen & Gjolme, 1995
ASM1 com 0,2 mM e 0,02 mM de P	HPLC	2 x	Maior a 0,2 Menor a 0,02	Este trabalho

#### 8.4. CONCLUSÕES SOBRE OS MICROCOSMOS

A condição não limitante de fósforo, próxima ao ideal, favoreceu o crescimento de células de *Microcystis aeruginosa* e a produção bruta de microcistina. Sob limitação de fósforo, houve interferência indireta no processo de produção de microcistina, levando a uma redução na concentração de microcistina, principalmente nos últimos dias de experimento.

Houve uma tendência à redução da  $Q_{MCYST}$  com o tempo de cultivo, principalmente na escassez de fósforo. A fase exponencial de crescimento apresentou maiores concentrações de microcistina por célula com e sem limitação de fósforo. O envelhecimento do cultivo teve uma influência negativa sobre a produção de microcistina por unidade celular ( $Q_{MCYST}$ ), mais acentuada sob limitação de fósforo.

Embora ainda não seja clara a influencia dos nutrientes sobre a produção de toxinas por cianobactérias, confirmou-se a hipótese de que interferência negativa da deficiência de fósforo sobre o crescimento de *Microcystis aeruginosa*, está associada à redução na produção de microcistina.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

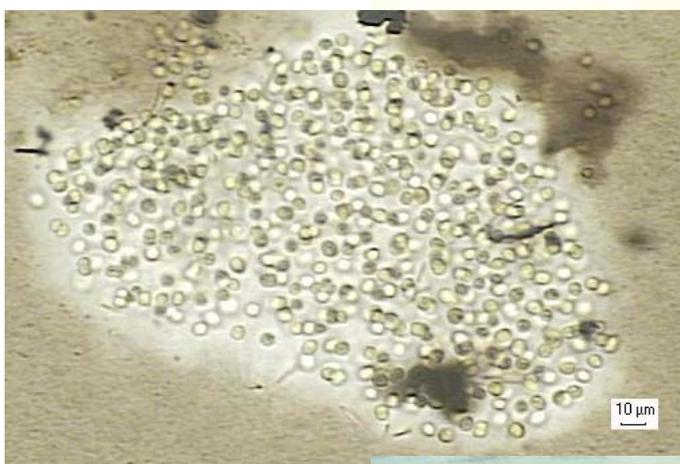
Esse estudo realizado em três escalas espaciais (macrocosmo, mesocosmos e microcosmos) teve fundamental importância na definição dos parâmetros atuantes na estrutura da comunidade fitoplanctônica e taxa de crescimento desses organismos em cada ambiente avaliado.

Nos microcosmos, onde todas as variáveis foram controladas e mantidas semelhantes entre as duas condições experimentais, a disponibilidade de fósforo mostrou ser fundamental para o crescimento da população. Nos mesocosmos, onde as variáveis físicas não foram controladas, mas foram semelhantes entre as três condições experimentais, os enriquecimentos de nitrogênio e fósforo levaram a alterações na estrutura da comunidade fitoplanctônica, privilegiando organismos que normalmente não representaram abundância relativa elevada no macrocosmo. No macrocosmo, onde nem um parâmetro foi controlado, as variáveis físicas foram determinantes nas alterações da estrutura da comunidade fitoplanctônica, principalmente devido ao elevado grau de trofia.

Em todas as escalas estudadas (macrocosmo, mesocosmos e microcosmos) constatou-se que a concentração de microcistina esteve relacionada a fatores favoráveis ao desenvolvimento das espécies tóxicas. Entretanto os fatores determinantes para o crescimento de cianobactérias tóxicas, representaram diferentes papéis em cada escala estudada. No macrocosmo, a estabilidade da coluna d'água foi fundamental para o estabelecimento de maiores densidades de espécies tóxicas. Nos mesocosmos, o enriquecimento foi responsável pelo aumento da densidade de espécies tóxicas. Nos microcosmos, a disponibilidade de fósforo esteve diretamente relacionada à taxa de crescimento de *Microcystis aeruginosa* e conseqüentemente, ao aumento da concentração de microcistina.

**10. ANEXO 1: FOTOS DE FLORAÇÕES E COLÔNIA DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* DO RESERVATÓRIO DE SALTO GRANDE**

**Foto 1.** Floração de cianobactérias próxima à barragem, margem direita do reservatório.



**Foto 2.** Colônia de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing.

**Foto 3.** Floração de cianobactérias no corpo central do reservatório.



## **11. ANEXO 2: CONTROLE DE FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS**

Vários métodos de controle de florações vêm sendo avaliados por pesquisadores em todo mundo. O gerenciamento e controle de cianobactérias nos sistemas aquáticos podem ser de caráter preventivo ou corretivo (erradicação da floração). Obviamente, a prevenção é a mais desejável das duas abordagens.

Para recuperar um corpo d'água eutrofizado, medidas de controle de fontes alóctones de nutrientes devem ser complementadas por medidas de controle de fontes autóctones de nutrientes e cianobactérias, ou seja, ações que envolvem o tratamento do próprio corpo d'água.

O manejo das florações inclui considerações sobre as variáveis físicas, químicas e biológicas que atuam sinergisticamente e antagonicamente ao controle da fixação de N<sub>2</sub>, fotossíntese, crescimento e potencial reprodutivo (PAERL et al, 2001). De uma forma ampla, o controle de florações inclui: 1. o uso de algicidas, especialmente sulfato de cobre; 2. manipulação e redução da entrada de nutrientes; 3. desestratificação vertical, através de mistura mecânica ou aeração; 4. aumento do fluxo para reduzir o tempo de residência da água; e 5. controle biológico. A tabela 25 resume as principais medidas de controle de florações que vêm sendo aplicadas mundialmente em sistemas aquáticos.

**Tabela 25.** Resumo das estratégias de controle de florações.

<b>ESTRATÉGIAS</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>TÉCNICAS</b>
1. PREVENÇÃO DA FLORAÇÃO	Manejo da bacia hidrográfica	
	Métodos físicos de tratamento	Circulação artificial da água Aeração do hipolímion Camada de aeração Retirada de água do hipolímion Dragagem e bloqueio do sedimento Redução da floração pela descarga
	Métodos químicos	Redução da entrada de nutrientes Precipitação e inativação do fósforo no lago Uso de algicidas
	Métodos biológicos	Aumento da pressão de predação Aumento da competição pela introdução de macrófitas Uso de cianófagos e mixobactérias Alelopatia Palha de cevada
2. CONTROLES OPERACIONAIS	Remoção da nata	
	Manejo da vazão	Redução do tempo de residência da água no reservatório
3. MÉTODOS QUÍMICOS PARA ERRADICAÇÃO DA FLORAÇÃO	Sulfato de cobre	
	Permanganato de potássio	
	Outras substâncias químicas	Cal Substâncias orgânicas

Fonte: adaptada de YOO et al. (1995)

### **11.1. MEDIDAS PREVENTIVAS**

A prevenção das florações de cianobactérias é a abordagem mais racional a ser adotada, pois evita o aparecimento de problemas potenciais de toxicidade, gosto e odor na água. Entretanto, nenhuma técnica de prevenção é simples. Para selecionar a melhor opção, deve ser feito um estudo sobre as variáveis físicas, químicas e biológicas do ecossistema aquático.

De acordo com YOO et al. (1995) e CHORUS & BARTRAM (1999) os métodos de prevenção de florações de cianobactérias incluem técnicas como:

1. manejo da bacia hidrográfica para minimizar a entrada de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo;
2. tratamento da água represada com técnicas de aeração ou inativação dos nutrientes, criando condições menos conducentes à formação de florações;
3. controle biológico, como a biomanipulação, que modifica a estrutura da comunidade aquática.

#### **11.1.1. Manejo da Bacia Hidrográfica**

O maior objetivo de qualquer programa de prevenção de eutrofização ou manejo de bacia hidrográfica, é a redução da entrada de nutrientes no corpo d'água, principalmente fósforo. O grupo de trabalho interinstitucional NSW BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE (1992), da Austrália, dividiu as tarefas associadas às estratégias aplicáveis ao controle de nutrientes em 3 fases:

1. Identificar os tipos de atividades que contribuem para o aumento de nutrientes na água.
2. Definir a bacia de drenagem, os recursos nutricionais e as condições do percurso da água que devem ser priorizadas no controle de nutrientes, utilizando critérios ambientais, econômicos e sociais.

3. Implementar estratégias, via programas de controle de nutrientes, de práticas de manejo que gerenciem os sistemas terrestres e aquáticos para minimizar a probabilidade de florações de algas.

JOHNSTONE (1994) citou a construção de pré-reservatórios, que são pequenos receptores localizados acima do reservatório principal para reter a carga de fósforo no sedimento antes que atinja o corpo d'água principal. Essa prática de manejo é considerada uma das mais eficientes para remoção de fósforo (METROPOLITAN WASHINGTON COUNCIL OF GOVERNMENTS, 1983).

### **11.1.2. Métodos Físicos de Tratamento**

Segundo CSIRO (1997), as estratégias ou métodos físicos eficientes para minimizar riscos de eutrofização englobam: aumento da vazão da área represada do rio, manutenção de alta descarga através da represa ou pulsos de descarga de água na represa, liberando mais água pela superfície da barragem do que por baixo, sifonamento de água sobre o muro da barragem e mistura artificial.

Muitos dos métodos físicos de tratamento visam a desestratificação vertical da coluna d'água, ou seja, a mistura de camadas de água com diferentes temperaturas. A possibilidade de desestratificação justifica a consideração apenas em sistemas pequenos ( $< 100 \text{ km}^2$  ou  $< 10^8 \text{ m}^3$ ) e relativamente rasos ( $< 5 \text{ m}$ ) (PAERL et al, 2001).

#### **11.1.2.a. Circulação Artificial**

A circulação artificial é uma técnica de controle de biomassa algal que vem sendo aplicada desde 1950 (YOO et al. 1995). A circulação total pode ser obtida através de vários meios mecânicos, como bombas, jatos e bolhas de ar. O objetivo da circulação artificial é a mistura contínua das camadas, desde a superfície até o fundo.

Desse modo, a estratificação é prevenida ou destruída, impedindo a implantação de gradientes térmicos.

Corpos d'água termicamente estratificados apresentam, naturalmente, uma camada superficial de mistura (epilímnion). Se uma mistura artificial aumentar substancialmente a profundidade dessa camada, a capacidade de crescimento determinada pela luz será reduzida, e possivelmente, a concentração da biomassa de cianobactérias. Para ter sucesso, medidas de mistura artificial devem satisfazer três condições (VISSER et al., 1996):

1. Pelo menos 80% do volume de água deve ser misturado.
2. A taxa de mistura artificial deve ser maior que a taxa de deslocamento vertical das colônias de cianobactérias. De forma geral, uma taxa de mistura de  $1 \text{ m.h}^{-1}$  é suficiente para prevenir as florações de algas.
3. A maior parte do corpo d'água deve ser suficientemente profunda. Na maioria dos casos, a mistura artificial tem sido feita pela instalação de tubos de aeração conectados a um compressor na margem. Os tubos de aeração são situados nas regiões mais profundas do corpo d'água. Corpos d'água com extensas áreas rasas apresentam baixa taxa de circulação, o que pode influenciar negativamente os resultados da mistura vertical. Entretanto, se o corpo d'água for muito raso, a mistura pode não reduzir a disponibilidade de luz o suficiente para prevenir o crescimento de cianobactérias. O exemplo de Nieuwe Meer (VISSER et al., 1996) mostrou que são necessários mais de 20 m de profundidade.

De acordo com COOKE et al. (1986), o custo desse tratamento é razoável, se comparado aos outros processos. Os benefícios potenciais citados pelo autor incluem:

1. prevenção da liberação de fósforo;
2. oxidação de ferro, manganês e sulfeto;
3. redução da biomassa algal.

COOKE et al. (1986) citam alguns efeitos adversos que podem ocorrer. A temperatura total da coluna d'água em circulação irá aumentar e será

prejudicial aos peixes de águas frias. Além disso, o sedimento do lago pode ser revolvido e a circulação pode aumentar a turbidez da coluna d'água. Também é possível que o distúrbio do sedimento possa adicionar fósforo na coluna d'água.

Pesquisadores australianos têm mostrado que a agitação das camadas de água pode ajudar a prevenir florações de cianobactérias nos rios (CSIRO, 1996). Na Austrália, normalmente as florações de algas ocorrem no verão, quando os rios diminuem a vazão e estratificam termicamente; as cianobactérias sobem até a superfície aquecida onde absorvem luz, e proliferam. Após os estudos realizados na represa Maude do Rio Murrumbidgee, concluíram que se a camada quente puder ser misturada com toda a camada mais profunda do rio, a floração não vai ocorrer, pois a estratificação térmica, nesse caso, é o fator controlador do estabelecimento das florações de cianobactérias (CSIRO, 1996).

#### **11.1.2.b. Aeração do Hipolímion**

O principal objetivo da aeração é fornecer oxigênio ao corpo d'água para prevenir o desenvolvimento de condições de anaerobiose e subsequente liberação de fósforo do sedimento, especialmente nas camadas profundas (hipolímion) de lagos eutróficos, termicamente estratificados. Se o íon férrico estiver disponível em concentrações razoavelmente altas no hipolímion, a concentração de fósforo pode ser muito reduzida pela precipitação (YOO et al. 1995).

COOKE et al. (1986) descrevem três categorias de aeração do hipolímion:

1. mecânica, quando as águas do hipolímion são removidas, oxigenadas e retornam;
2. injeção de oxigênio puro, de tanques de oxigênio líquido armazenados nas margens;
3. injeção de ar, através de compressores ou dispositivo de injeção. Vários modelos comerciais são disponíveis.

JONES & POPLAWSLI (1998), estudando o manejo de florações de cianobactérias em reservatórios subtropicais de Queensland, Austrália, verificaram que o rápido crescimento de cianobactérias no reservatório de Baroon Pocket e Leslie esteve relacionado sazonalmente ao estabelecimento de estratificações térmicas, normalmente na primavera. Em particular, chuvas torrenciais no verão aparentemente interromperam o desenvolvimento de *Microcystis*, enquanto que longos períodos quentes e secos promoveram o crescimento. Devido à flutuabilidade inerente, as cianobactérias com aerótopos têm uma vantagem competitiva sobre outras algas que não apresentam essa capacidade, em condições de estratificação e turbidez (PAERL, 1988).

Devido à forte influência reguladora da estratificação térmica, teoricamente, a desestratificação artificial tem potencial como uma estratégia reguladora para cianobactérias tóxicas nos reservatórios de zonas tropicais. Entretanto, até o momento, os sistemas de desestratificação (baseados na injeção de ar no hipolímnion) freqüentemente, não têm as características de projeto necessárias para propiciar a mistura exigida (da superfície até o fundo), especialmente nos grandes reservatórios. Até o melhor sistema de injeção de ar projetado, usando detalhados modelos de hidrodinâmica, mostraram-se incapazes de superar a grande entrada de energia solar durante o verão, o que leva a um aquecimento da superfície e o estabelecimento de grandes populações de cianobactérias. Contudo, a mistura artificial por injeção de ar, provavelmente, é mais eficiente para o controle de cianobactérias em pequenos reservatórios ( $< 100 \text{ km}^2$  ou  $< 10^8 \text{ m}^3$ ) (JONES & POPLAWSLI, 1998).

#### **11.1.2.c. Camada de Aeração**

Segundo KORTMANN et al. 1988, camada de aeração é um sistema que redistribui o calor e o oxigênio em lagos ou reservatórios estratificados. Esse processo oxigena camadas distintas, estabelecendo várias termoclinas que atuam como barreiras para difusão vertical, reduzindo o volume e a área do hipolímnion.

KORTMANN et al. 1994 reportaram um decréscimo imediato na abundância de cianobactérias em um lago profundo, Lago Shanipsit, em Connecticut, Estados Unidos. Florações de *Anabaena* sp e *Aphanizomenon* sp diminuíram de 17000 cel.mL<sup>-1</sup> para menos de 500 cel.mL<sup>-1</sup>, e a porcentagem de cianobactérias na comunidade fitoplanctônica diminuiu de acima de 80% para aproximadamente 10%.

Vários sistemas de camada de aeração têm sido instalados nos Estados Unidos. Esse sistema é promissor como uma alternativa de aeração e tem mostrado eficiência no controle de florações de cianobactérias (YOO et al. 1995).

#### **11.1.2.d. Dragagem e Bloqueio do Sedimento**

De acordo com CHORUS & MUR (1999), a liberação do sedimento pode ser uma fonte autóctone substancial de fósforo por muitos anos, mesmo depois que as fontes externas sejam minimizadas. A taxa de liberação de fósforo é regida pelas trocas de água, química do sedimento, temperatura e condições de mistura. As ligações de ferro com fósforo são altamente sensíveis ao potencial redox; quando a superfície do sedimento torna-se anóxica durante a estratificação, as concentrações de fósforo podem aumentar drasticamente, favorecendo o desenvolvimento de cianobactérias.

As opções para conter a liberação de fósforo do sedimento são remoção do sedimento (dragagem) ou bloqueio do fósforo. Segundo CHORUS & MUR (1999), a dragagem de sedimento é cara e reduzirá as taxas de liberação de fósforo apenas se:

1. a retirada das camadas de sedimento forem feitas com uma menor movimentação do conteúdo de fósforo;
2. a água intersticial, rica em fósforo, for impedida de atingir o corpo d'água;
3. o lodo dragado não for carregado para o lago por erosão ou chuvas.

Em algumas regiões urbanas ou industriais, a dragagem torna-se impossível ou complicada devido à alta concentração de metais pesados e

contaminantes orgânicos no sedimento, o que requer uma disposição final como resíduo perigoso. A dragagem é recomendada para pequenos corpos d'água onde o estado trófico pode ser melhorado pelo aumento da profundidade, ou pela retirada de lixo depositado no fundo (CHORUS & MUR, 1999).

A utilização de mantas para cobrir o sedimento tem mostrado eficiência no bloqueio da liberação de fosfato por períodos de doze anos, entretanto o período efetivo é altamente variável, dependendo da mistura que há no lago. É evidente que a inativação de nutrientes por esse processo é um benefício temporário a menos que a entrada de fósforo no reservatório seja eliminada. Múltiplos tratamentos em curtos períodos de tempo podem ser necessários se a entrada de fósforo for contínua; nesse caso, o custo torna-se impraticável (COOKE et al., 1986).

#### **11.1.2.e. Retirada de Águas do Hipolímion**

Em lagos eutróficos termicamente estratificados, o fósforo é acumulado no hipolímion durante o período de estagnação, pela decomposição da matéria orgânica recente e pela liberação do sedimento em condições anóxicas. Embora a maioria das drenagens naturais seja pela superfície, é possível barrar a saída natural e drenar a água do hipolímion (OLZEWSKI, 1961). Isto é mais fácil de ser aplicado em reservatórios e pode reduzir significativamente as concentrações de fósforo no sistema.

NÜRNBERG (1997) resumiu as vantagens da retirada da água do hipolímion durante o período de estratificação, como um método baseado unicamente na saída seletiva de água rica em fósforo total. As vantagens do método são:

1. não requer adição de reagentes;
2. não altera necessariamente o volume de água;
3. pode quebrar o ciclo de acúmulo de fósforo no sedimento;

4. pode escoar mais fósforo para fora do sistema do que os sedimentos podem acumular por ano.

A retirada do hipolímion é eficiente somente se existir vazão de água suficiente no lago. Entretanto, a qualidade da água a jusante vai necessitar de atenção se a quantidade de fósforo liberada for alta em relação à vazão total. A poluição rio abaixo pode ser evitada pela precipitação química do fósforo na saída do hipolímion (CHORUS & MUR, 1999).

#### **11.1.2.f. Redução da Floração pela Descarga**

A descarga, com água de baixa concentração de fósforo, pode reduzir a entrada externa e acelerar o restabelecimento da carga interna pela remoção do fósforo do lago, que de outra forma seria reciclado por longos períodos. Se a água apropriada for disponível em quantidade suficiente, a descarga pode ser muito eficiente na redução da proliferação de cianobactérias. Um exemplo de sucesso foi no Lago Moses, nos Estados Unidos (WELCH et al., 1972). Contudo, esta medida implica na relocação de fósforo para outro corpo d'água e esse impacto também deve ser avaliado.

#### **11.1.3. Métodos Químicos para Prevenção**

Os métodos químicos mais populares para prevenção de florações de cianobactérias na água são: limitar o fósforo disponível para o fitoplâncton ou utilizar algicidas. No entanto, deve se considerar o fato de que após a morte celular, a matéria orgânica é degradada proporcionando a reciclagem do fósforo e conseqüente enriquecimento do corpo d'água, que possibilita o desenvolvimento de novos organismos fitoplanctônicos.

### 11.1.3.a. Redução da Entrada de Nutrientes

A manipulação e a redução da entrada de nutrientes são as práticas mais viáveis, economicamente possíveis e a melhor escolha em longo prazo. O grupo de pesquisa australiano, CSIRO (Commonwealth Scientific & Industrial Research Organisation) sugere que o balanço de nutrientes na água pode ser alterado para favorecer o desenvolvimento de diatomáceas e outras formas de vida microscópica em detrimento ao das cianobactérias (CSIRO, 1998 b). Na Austrália, várias técnicas de remediação no sedimento estão sendo testadas com o objetivo de bloquear os nutrientes e as florações de algas (CSIRO, 1997).

O estudo de caso realizado por PAERL (1987) na Carolina do Norte, constatou que o estuário do Rio Neuse tem sido um local de periódicas florações massivas de *Microcystis aeruginosa* (não fixadora de N<sub>2</sub>) tóxica, intercaladas com as de *Oscillatoria* spp (não fixadora de N<sub>2</sub>); concluiu que a dominância por não fixadoras de N<sub>2</sub> corrobora uma situação de oferta de compostos de N. Baseados nessas informações, PAERL & BOWLES (1997) realizaram bioensaios de diluição, que indicaram que a carga de N da bacia hidrográfica precisaria ser reduzida a 30% ou 40% para atingir condições de limitação por N durante o período crítico de início da floração. Um aspecto complicador para a dinâmica de nutrientes e perspectivas de manejo foi a presença de *Anabaena* e *Aphanizomenon* (fixadoras de N<sub>2</sub>) como subdominantes. Esse fato, combinado às evidências de que a carga de P também era excessiva, sugeriu que se a carga de N fosse reduzida a 30% ou 40% sem redução paralela de P, existiria o potencial para substituição da floração da não fixadora de N<sub>2</sub>, *Microcystis aeruginosa*, pela fixadora de N<sub>2</sub>, *Anabaena* ou *Aphanizomenon*.

O aumento da salinidade na represa do alto Rio Canning, Oeste da Austrália, pela redução do nível da água tem sido proposto como um mecanismo de prevenção de florações de cianobactérias de águas continentais (VINCENT, 2001). Por outro lado, experimentos com aumento de salinidade levaram a uma redução no crescimento de espécies de macrófitas (*Potamogeton crispus* e *Hydrilla verticillata*) e, conseqüentemente, à redução do consumo de N e P. Sendo assim, a utilização do aumento da salinidade para controlar florações de cianobactérias de águas

continentais pode causar o aumento da concentração de nutrientes na coluna d'água, e levar à dominância de organismos fitoplanctônicos (VINCENT, 2001).

JONES & POPLAWSLI (1998), estudando o manejo de florações de cianobactérias em reservatórios subtropicais de Queensland, Austrália, verificaram que a carga interna de nutrientes foi alta nos reservatórios Baroon Pocket e Leslie durante os períodos de estratificação e hipolimnion anóxico. A liberação de nitrogênio e fósforo do sedimento sob condições anóxicas mostrou ser importante para a nutrição das algas e crescimento de cianobactérias. O ciclo sazonal de nutrientes é episódico, no entanto a grande entrada de nutrientes, em grande parte associada a partículas de solo, é devida à liberação interna de nutrientes durante períodos prolongados de estratificação térmica e hipolimnion anóxico (JONES & POPLAWSLI, 1998).

Devido ao aumento da carga interna de nutrientes nos reservatórios tropicais e subtropicais da Austrália, e ao potencial para tempestades tropicais carrearem grandes quantidades de nutrientes para os reservatórios, o controle da entrada alóctone de nutrientes pode não ser eficiente na prevenção dos problemas com cianobactérias. Entretanto, o manejo das entradas pontuais e difusas de nutrientes deve prevenir a magnitude e o impacto das grandes florações. Estratégias para prevenir liberação de nutrientes *in situ* e interromper o processo de reciclagem no lago devem ser somadas ao manejo das entradas (JONES & POPLAWSLI, 1998).

#### **11.1.3.b. Precipitação e Inativação do Fósforo no Lago**

As técnicas de precipitação e inativação de fósforo descritas por COOKE et al. (1986) envolvem coagulação e floculação do corpo d'água, normalmente com sulfato de alumínio e ocasionalmente com aluminato de sódio ou cloreto férrico. O processo é aplicável em águas com crescimento exacerbado de algas devido ao excesso de fósforo oriundo de fontes pontuais, carreamento do solo ou reciclagem interna a partir do sedimento. O processo pode ser aplicado em qualquer época do ano.

De acordo com CHORUS & MUR (1999), os pré-requisitos para o sucesso desse tratamento são: pouca entrada externa de fósforo, profundidade suficiente para prevenir ressuspensão do sedimento pela força do vento e escolha adequada do floculante. Experimentos com precipitação de fósforo têm sido feitos com sulfato de alumínio, sais férricos (cloretos e sulfetos), sulfato de alumínio férrico, partículas de argila, cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) e carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ).

Sais férricos são eficientes na precipitação de fósforo, mas difíceis de serem manuseados devido à forte acidez. Além disso, o complexo fósforo-ferro é estável apenas na presença de oxigênio. Sendo assim, a aplicação de sais férricos normalmente necessita aeração contínua para permitir a re-dissolução do fósforo sob condições anóxicas. Devido à alta mobilidade dos íons de ferro, adições de ferro freqüentemente devem ser repetidas em intervalos regulares (CHORUS & MUR, 1999). PREPAS et al. (1997) salienta que o ferro pode ser um micro-nutriente limitante em alguns sistemas e, em algumas situações, o tratamento com sais de ferro pode estimular o crescimento de algas e cianobactérias.

O sulfato de alumínio é muito pouco solúvel em condições de pH neutro ou alto, mas pode diminuir o pH em águas com baixa capacidade de tamponamento, o que leva à solubilização e problemas com a toxicidade do alumínio. Ou seja, se o alumínio for usado, deve se garantir que o pH não diminua abaixo de 6, evitando que ele se torne solúvel, o que pode ocasionar a morte de organismos aquáticos. A utilização do aluminato de sódio elimina esse problema (COOKE et al., 1986).

Outra desvantagem associada às aplicações de compostos de alumínio é o aumento da concentração de sulfato. Complexas reações químicas envolvendo ferro, fósforo e sulfato resultam na remoção irreversível do ferro da coluna d'água na forma de sulfeto ferroso altamente insolúvel; sulfeto é o produto final da reação do sulfato por bactérias anaeróbicas no hipolímnion. Outro efeito potencialmente prejudicial da eliminação do ferro solúvel é a perda da capacidade do ferro de remover fósforo na forma de fosfato férrico, altamente insolúvel (KORTMANN & HENRY, 1990).

O BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE (1992) discutiu a adição de gipsita (sulfato de cálcio) com um meio de remoção de fósforo da coluna d'água em pequenos reservatórios (CHENG, 1992). A aplicação desse produto resulta em flocos densos e mais compactos em água de baixa a média dureza, mas não elimina os problemas associados com o aumento de sulfato.

A cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) e o carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) têm sido usados como algicidas, coagulantes e precipitantes de células fitoplanctônicas (MURPHY et al., 1990 e ZHANG e PREPAS, 1996). Não é tóxico, razoavelmente inerte e a mudança brusca do pH para a biota aquática pode ser minimizada por dosagens menores durante um maior intervalo de tempo. Ao contrário do tratamento com sulfato de cobre, a precipitação de células de cianobactérias com  $\text{Ca(OH)}_2$  parece não causar a lise celular e conseqüente liberação de toxinas na água (LAM et al., 1995). A cal também funciona, até certo ponto, como inibidora de algas em longo prazo, reduzindo a eutrofização pela precipitação de fósforo da água (MURPHY et al., 1990). Parece que  $\text{Ca(OH)}_2$  é mais eficiente que  $\text{CaCO}_3$  na precipitação de fósforo (MURPHY et al., 1990). Alguns estudos indicam que esta técnica pode ser mais eficiente em condições eutróficas. As dosagens utilizadas são altas, de  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  a  $250 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{Ca(OH)}_2$  (ZHANG e PREPAS, 1996), o que torna esta técnica proibida em lagos grandes.

São inúmeras as experiências com precipitação de fósforo, muitas com sucesso. Contudo, em alguns corpos d'água as concentrações de compostos de ferro ou cálcio são naturalmente altas e propiciam o bloqueio do fosfato, induzindo a precipitação natural do fósforo (CHORUS & MUR, 1999).

#### **11.1.3.c. Uso de Algicidas**

O algicida mais comumente utilizado é o sulfato de cobre. O uso pode ser considerado como medida preventiva apenas se for aplicado somente o suficiente para prevenir que as populações de cianobactérias atinjam proporções de floração. Em Adelaide, Austrália, o sulfato de cobre é aplicado na água assim que as

cianobactérias atingem uma densidade populacional de  $1000 \text{ cel.mL}^{-1}$  (BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE, 1992).

#### **11.1.4. Métodos Biológicos**

A manipulação biológica inclui uma série de abordagens para mudanças na cadeia alimentar aquática, para aumentar a pressão de predação sobre as cianobactérias ou para reduzir a reciclagem de nutrientes (PAERL et al., 2001). As estratégias de biomanipulação podem incluir (KITCHELL, 1992 e PAERL et al., 2001):

1. introdução de peixes e consumidores filtradores bentônicos capazes de consumir a cianobactéria diretamente da coluna d'água;
2. remoção da população de peixes planctívoros e bentívoros;
3. introdução de refúgios para o zooplâncton;
4. introdução de peixes predadores visando o declínio da população de peixes planctívoros;
5. introdução de plantas aquáticas submersas para competirem com o fitoplâncton no consumo de nutrientes;
6. introdução de bactérias líticas (para formação de biofilmes em rochas) e vírus.

Estas técnicas têm como objetivo estimular o crescimento de organismos predadores ou consumidores do fitoplâncton.

##### **11.1.4.a. Aumento da Pressão de Predação**

A técnica de biomanipulação mais comum é conhecida pelo aumento na abundância de organismos zooplanctônicos herbívoros pela remoção de peixes zooplanctívoros ou introdução de peixes piscívoros (PAERL et al., 2001). Em lagos

rasos, a remoção de grandes proporções de peixes bentônicos e planctívoros pode ajudar na diminuição do crescimento de algas. Sem a pressão de predação dos peixes, a fauna zooplânctônica e bentônica pode se desenvolver e se alimentar das algas e algumas espécies de cianobactérias. A remoção seletiva dos peixes bentônicos reduz a ressuspensão de sedimentos e conseqüentemente, a taxa de mobilização do fósforo do sedimento (em lagos profundos isto é difícil) (CHORUS & MUR, 1999 e PAERL et al., 2001). Para estimular esses efeitos, pequenos peixes predadores podem ser introduzidos para diminuir o crescimento populacional de peixes planctônicos e bentônicos. Refúgios artificiais podem ser colocados para prover habitats para o zooplâncton. Os refúgios artificiais são importantes quando o desenvolvimento de plantas aquáticas submersas (macrófitas) é insuficiente para este propósito (CHORUS & MUR, 1999).

A introdução de peixes predadores pode ser eficiente. Intervenções na estrutura de ecossistemas hipereutróficos estabilizados pelo manejo do estoque de peixes pode ter sucesso em pequenos lagos por um curto período de tempo (HRBÁCEK et al., 1978). Se o processo tiver sucesso, a água começará a clarear devido à redução da turbidez das algas e cianobactérias, a população de zooplâncton aumentará e as macrófitas poderão se desenvolver e competir pelo fosfato com o fitoplâncton, reduzindo sua capacidade de crescimento. Entretanto, o controle contínuo do desenvolvimento do estoque de peixes é necessário e a remoção de peixes planctívoros deve ser reparada regularmente. Dependendo do nível social local, essa pode se tornar uma técnica cara. A biomanipulação não é um método barato devido à necessidade de monitoramento e manejo contínuos (CHORUS & MUR, 1999).

JOHNSTONE (1994) observou resultados da biomanipulação na Austrália e constatou que a introdução de espécies selecionadas de peixes no corpo d'água é mais fácil que a erradicação de espécies de peixe. Ele também destacou a importância das macrófitas aquáticas no sistema como refúgios para zooplâncton. Indicou que o empenho biológico para o controle de algas deve envolver o estabelecimento de populações de macrófitas nos lagos em que elas foram eliminadas.

ELSER & GOLDMAN (1991) estudaram três lagos na Califórnia para avaliar como as estruturas das comunidades zooplânctônica e fitoplânctônica variam em função do estado trófico. Os três lagos diferem bastante nos níveis tróficos: de ultra-oligotrófico a hipereutrófico. Os autores variaram as concentrações de nutrientes e de zooplâncton em experimentos em macrocosmos dentro dos lagos. O lago eutrófico, que era dominado por cianobactérias resistentes à predação por zooplâncton herbívoro, respondeu apenas ao aumento de *Daphnia*. Os autores concluíram que a biomanipulação de espécies do topo da cadeia alimentar (peixes) pode ser eficiente em lagos de nível trófico intermediário.

Na Austrália, sudeste de Queensland, próximo a Beaudesert, a associação de pescadores local (Maroon-Moogerah Fishing Association) ajudou os pesquisadores do CSIRO (Commonwealth Scientific & Industrial Research Organisation) a introduzir espécies grandes de peixes nativos em duas represas (Maroon e Moogerah) como uma maneira de controlar as florações de cianobactérias tóxicas e aumentar o rendimento pesqueiro (CSIRO 1998 a).

O sucesso da biomanipulação, como uma medida de controle de cianobactérias, está limitado pelo tamanho do lago e pela entrada de fósforo no lago. JEPPESEN et al. (1990) concluíram que benefícios em longo prazo, pela redução de peixes planctívoros, só ocorrerão se as taxas de entrada de fósforo forem reduzidas abaixo de 0,5 a 0,8 gP.km<sup>2</sup> da bacia por ano, o que equivale a uma concentração de 80 a 150 µgP.L<sup>-1</sup> no lago, no verão. Também concluíram que a manipulação de peixes é benéfica apenas em lagos rasos.

Uma desvantagem da biomanipulação, descrita por CHORUS & MUR (1999), é que nem todas as espécies de fitoplâncton são comidas pelo zooplâncton. Estimular o zooplâncton, sem reduzir as concentrações de nutrientes, pode estimular a dominância de espécies fitoplânctônicas não palatáveis, como as cianobactérias formadoras de colônias (*Microcystis* e *Aphanizomenon*) ou filamentosas (Planktothrix), ou a alga verde, *Enteromorpha*. McQUEEN (1990) questiona a eficácia em longo prazo da redução das florações de cianobactérias pelo aumento da pressão de predação, pois pode levar à dominância de linhagens tóxicas ou não palatáveis. CHORUS & MUR (1999) também destacam que altas concentrações de

nutrientes podem estimular o crescimento de espécies de algas epifíticas que crescem nas superfícies das macrófitas e prejudicam seu desenvolvimento.

#### **11.1.4.b. Aumento da Competição pela Introdução de Macrófitas**

A introdução de macrófitas tem grandes chances de sucesso em corpos d'água com uma zona litorânea relativamente extensa e rasa (menor que 2 m a 3 m de profundidade) e concentrações moderadas de fósforo. REYNOLDS (1997) destaca que, se a taxa de entrada de nutrientes proporciona concentrações de fósforo abaixo de  $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ , a densidade fitoplanctônica pode atingir  $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$  de clorofila *a* e as macrófitas aquáticas simplesmente as sombreariam. Entretanto, em baixas concentrações de fósforo, as macrófitas têm a chance de começar a crescer e incorporar o fósforo disponível, causando substancial limitação de fósforo para biomassa fitoplanctônica. Se esse método for combinado com o manejo de estoque de peixes, medidas para manutenção das macrófitas podem mudar a estrutura biológica do ecossistema aquático, resultando numa melhoria da qualidade da água e pouca biomassa de cianobactéria.

O grupo de pesquisa CSIRO também sugere a utilização de plantas aquáticas para consumir os nutrientes dos quais as cianobactérias dependem (CSIRO, 1998 b).

#### **11.1.4.c. Uso de Cianófagos e Mixobactérias**

A eficiência de cianófagos e mixobactérias contra cianobactérias tem sido demonstrada apenas em laboratório, e esses organismos geralmente não estão disponíveis para utilização em campo. Cianófagos são vírus que infectam especialmente cianobactérias e mixobactérias são alguns tipos de bactérias prejudiciais às cianobactérias (YOO et al. 1995).

WALKER & HIGGINBOTHAM (2000) estudaram em laboratório uma bactéria isolada de uma represa, que possui a capacidade de lisar células de determinadas cianobactérias, incluindo espécies de *Anabaena* e *Oscillatoria*. Os autores concluíram que esta bactéria poderia ser utilizada como um potencial algicida microbiano para algumas cianobactérias.

#### 11.1.4.d. Alelopatia

Experimentos de coexistência realizados por NAKAI et al. (1999), confirmaram que as macrófitas inibem o crescimento de algas pela liberação de aleloquímicos, e também confirmaram a existência de efeitos inibitórios espécie-específico. Os pesquisadores constataram que dentre nove espécies de macrófitas testadas (*Egeria densa*, *Cabomba caroliniana*, *Myriophyllum spicatum*, *Ceratophyllum demersum*, *Eleocharis acicularis*, *Potamogeton oxyphyllus*, *Potamogeton crispus*, *Limnophila sessiliflora* e *Vallisneria denseserrulata*), a *Myriophyllum spicatum* apresentou o efeito inibitório mais forte sobre o crescimento das três espécies de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae* e *Phormidium tenue*). *A. flos-aquae* mostrou uma inibição significativa pela coexistência com *E. densa*, *C. caroliniana*, *M. spicatum*, *C. demersum* e *E. acicularis*; *P. tenue* mostrou uma inibição significativa pela coexistência com *C. caroliniana*, *M. spicatum* e *L. sessiliflora*. Em relação a *M. aeruginosa*, todas as macrófitas, exceto *P. crispus*, produziram efeitos inibitórios, indicando que essa foi a espécie de alga mais sensível à coexistência com macrófitas. Esse estudo indica a possibilidade aplicável no controle de crescimento algal pela coexistência com macrófitas ou adição de aleloquímicos de macrófitas.

Atualmente, a biomanipulação tem sido vista como um componente de uma abordagem integrada para o manejo da qualidade da água em circunstâncias em que apenas a redução de nutrientes não é suficiente para restabelecer a qualidade da água (MOSS et al., 1996). As experiências mostram que enquanto o nível trófico do sistema permanecer alto, o risco do ecossistema voltar à composição original é muito alto (MOSS et al, 1994).

#### **11.1.4.e. Palha de Cevada**

O uso da decomposição da palha da cevada para o controle de cianobactérias e microalgas tem sido investigado (WELCH et al., 1990; NEWMAN & BARRETT, 1993; EVERALL & LEES, 1996). O efeito da decomposição da palha da cevada na redução do crescimento de algas verdes filamentosas foi relatado por WELCH et al. (1990) e o efeito algistático (para evitar o crescimento) foi mostrado em culturas de laboratório da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* por NEWMAN & BARRETT (1993). O efeito inibitório foi sugerido devido à produção de antibiótico pela flora fúngica ou liberação de compostos fenólicos a partir da decomposição das paredes das células da palha.

Uma redução na população de cianobactérias também foi observada depois da aplicação da palha da cevada em reservatório (EVERALL & LEES, 1996). Os autores sugerem que o composto fitotóxico liberado pela decomposição da palha inibiu a população de cianobactérias, mas após a identificação química, foi necessária a avaliação de risco ambiental antes do uso em águas de abastecimento.

### **11.2. CONTROLES OPERACIONAIS**

#### **11.2.1. Remoção da Nata**

CARMICHAEL (1992) menciona que a remoção física da nata pode ser usada para prevenir que animais e homens entrem em contato com altas concentrações de células e toxinas, enfatizando a necessidade de propor dispositivos para remoção da nata, principalmente se a cianobactéria for de uma variedade tóxica.

### 11.2.2. Manejo da Vazão

A hidrodinâmica de um sistema lótico (rio) é muito importante na determinação da ecologia da população fitoplanctônica do rio (REYNOLDS, 1984). O manejo da vazão tem sido muito estudado na Bacia do Rio Murray-Darling, na Austrália. Nas últimas décadas tem-se observado um aumento da quantidade de água retirada do sistema fluvial Murray-Darling, freqüentemente atingindo uma vazão muito baixa para os propósitos ambientais (MDBC, 1993). A baixa vazão é considerada como um fator estimulador para o crescimento de cianobactérias nos rios (JONES, 1994). Uma correlação inversa entre a vazão e concentração de cianobactéria é a única relação que tem sido observada invariavelmente (HARRIS, 1994; JONES, 1994; MAIER & DANDY, 1997). Como consequência da mudança no regime de vazão no sistema fluvial Murray-Darling, têm sido identificados problemas de florações de algas (MDBC, 1993). Um relatório do BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE (1992) descreve o manejo da vazão como uma opção viável para o controle de florações de cianobactérias. O sucesso do manejo da vazão é que o aumento da vazão e da turbulência não favorece o desenvolvimento das cianobactérias, que é garantido pela vazão contínua sustentada pelo rio.

BURCH et al. (1998) simulou várias estratégias operacionais de vazão designadas para romper a floração de cianobactérias em vários locais estratégicos do Rio Murray. A estratégia modelada envolve mudanças no nível e na saída da água entre as represas, quebrando a estratificação térmica pelo aumento da velocidade. Reduções relativamente grandes (0,5 m) no nível das represas foram determinadas como necessárias para promover a mistura diurna da coluna d'água e tornar as condições menos favoráveis para o crescimento de cianobactérias.

### **11.2.2.a. Redução do Tempo de Residência da Água no Reservatório**

A redução do tempo médio de residência da água no reservatório é possível se a quantidade de água for abundante, como em represamento de rios, e disponível para que se possa aumentar a vazão.

### **11.3. MÉTODOS QUÍMICOS PARA ERRADICAÇÃO DA FLORAÇÃO**

Das medidas de controle interno de florações, uma das mais utilizadas em todo o mundo, inclusive no Brasil, é aplicação de algicidas, particularmente o sulfato de cobre. Entretanto, essa técnica deve ser usada de forma cuidadosa, pois leva à lise celular e conseqüentemente, à liberação de cianotoxinas na água. Sendo assim, o uso de algicidas deve ser limitado a situações onde o número de células de cianobactérias presentes seja baixo, evitando a possibilidade de liberação de toxinas ou compostos que produzem odor e sabor na água.

No Brasil, a Portaria nº 1469 do Ministério da Saúde, de 29/12/2000, veta o uso de algicidas para o controle do crescimento de cianobactérias em mananciais para abastecimento de água, assim como qualquer intervenção que provoque a lise celular quando a densidade de cianobactérias exceder  $20000 \text{ cél.mL}^{-1}$  (ou  $2 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  de biovolume).

Atualmente, a Companhia de Saneamento Básico de São Paulo (SABESP) não está mais utilizando algicidas que efetuam a lise celular, como sulfato de cobre e peróxido de hidrogênio, em função da portaria 1469. A portaria recomenda a utilização desses compostos apenas como processo preventivo, e não durante as florações algais.

O uso de algicidas é o mais praticável em pequenos reservatórios, incluindo lagos artificiais de propósito visual (parques e jardins). Esta estratégia não

é praticável nem recomendada para grandes ecossistemas ou corpos d'água usados para pesca, abastecimento público ou qualquer outro uso animal ou humano.

### 11.3.1. Sulfato de Cobre

O uso de sulfato de cobre para o controle do crescimento de algas na água é uma prática controversa. A recomendação do BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE (1992) é que a introdução de substâncias químicas tóxicas em água naturais não deveria ser considerada, apesar de que na prática isto é usado em algumas regiões da Austrália. O sulfato de cobre foi proibido em muitas partes do mundo.

O sulfato de cobre pentahidratado é disponível comercialmente. O íon  $\text{Cu}^{+2}$ , que se forma quando o sulfato de cobre dissolve, é o mais tóxico, mas é rapidamente inativado pela formação do carbonato de cobre, ou às vezes, hidróxido de cobre; além do mais, pode se complexar com substâncias húmicas na água. A taxa de inativação como carbonato e hidróxido varia com o pH e a alcalinidade e se torna alta quando ambos aumentam (YOO et al. 1995).

Dosagens efetivas de sulfato de cobre para o controle de cianobactérias na água variam de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  ou mais (McKNIGHT et al. 1983). Para retardar a inativação do íon cúprico, que ocorre rapidamente em alguns corpos d'água, a utilização do sulfato de cobre pentahidratado deve ser substituída por complexos de cobre, tais como etanolamina de cobre e citrato de cobre. Quando esses compostos são adicionados na água, o íon de cobre é liberado lentamente num período de vários dias; eles são recomendados para utilização em águas com pH e alcalinidade alta. Os complexos de cobre são caros em relação ao sulfato de cobre pentahidratado, mas são efetivos por um período mais longo (YOO et al. 1995).

Em alguns lagos mesotróficos com florações de algas no fundo do reservatório, a aplicação na superfície pode não atingir a área desejada. KORTMANN (1989) recomenda tratamento com pequenas doses, quando o lago é estratificado e os organismos estão crescendo em maiores profundidades, para minimizar a quantidade necessária para o efetivo controle. McGUIRE et al. (1984)

sugere o controle de cianobactérias bentônicas em reservatórios profundos pela adição de grandes cristais de sulfato de cobre que sedimentam no fundo e não vão para o resto das algas dispersas até a superfície.

As vantagens das aplicações de sulfato de cobre para o controle algas incluem (YOO et al. 1995):

1. o composto é facilmente obtido e aplicado;
2. o sulfato de cobre tem eficiência imediata contra o incomodo das algas;
3. é relativamente inerte na forma não complexada.

As desvantagens do uso de sulfato de cobre para controlar o crescimento de algas incluem (YOO et al. 1995):

1. pode ter impacto limitado a alguns tipos de algas;
2. mata organismos indiscriminadamente, especialmente zooplâncton que limita a população de algas pela predação;
3. o tratamento pode selecionar espécies de algas resistentes que causam florações piores que as anteriores;
4. o tratamento pode ser caro, principalmente se o pH e a alcalinidade da água forem altos;
5. a morte súbita das algas pode aumentar a demanda bioquímica de oxigênio e causar o esgotamento de oxigênio no reservatório;
6. resíduos de cobre acumulam no sedimento e criam problemas de toxicidade em longo prazo sobre a comunidade bentônica;
7. ocasiona mortandade de peixes atribuída à falta de oxigênio em consequência da erradicação da floração;
8. desaparecimento de macrófitas;
9. redução das populações de invertebrados bentônicos;
10. aumento de sulfato, que se reduzido pelas bactérias no hipolímnion, pode produzir sulfeto que se liga ao ferro de forma irreversível;
11. pode causar liberação súbita de toxinas de cianobactérias no lago.

A repetição do tratamento pode induzir a mudanças na composição das espécies, favorecendo as mais resistentes ao cobre, mas não necessariamente mais aprazíveis. Isto ocorreu no Lago Matthews, um reservatório para abastecimento de água na Califórnia, onde problemas com gosto e odor causados pela *Oscillatoria* spp foram administrados com aplicações de sulfato de cobre. Em poucos anos, a dosagem de combate à espécie teve que ser aumentada de 27 t para 400 t. O tratamento levou a substituição da *Oscillatoria* por uma cianobactéria mais resistente, *Phormidium* sp, que prevaleceu por um longo período de tempo e causou problemas de gosto e odor por quase todos esses anos (IZAGUIRRE, 1992).

Sempre que possível, é preferível escolher uma medida de controle que atinja a causa do problema, ou seja, as condições de crescimento da cianobactéria, pois essas soluções podem ser efetivas em longo prazo e de fato, garantir a saúde humana pela melhoria da qualidade ambiental (CHORUS & MUR, 1999).

### 11.3.2. Permanganato de Potássio

Permanganato de potássio, substância popular no controle de ferro, manganês e certos tipos de gosto e odor durante o tratamento da água para abastecimento, tem sido usada como algicida em alguns casos. CARR (1976) aplicou permanganato de potássio em conjunto com alumínio para controlar algas no lago Morses em Wellesley, Massachusetts, Estados Unidos, em concentração de 1,4 mg.L<sup>-1</sup> antes do período de crescimento das algas. O autor postulou que o efeito do permanganato foi a oxidação do ferro, nutriente essencial para a fixação de N<sub>2</sub> pelas cianobactérias. O alumínio foi aplicado depois do tratamento com permanganato para flocular e precipitar os hidróxidos de manganês resultantes do tratamento com permanganato. Nenhuma cianobactéria apareceu durante os 81 dias observados após o tratamento. O autor não avaliou o efeito específico do tratamento com alumínio, que poderia ter removido fósforo, também limitante para o crescimento de algas. Após quatro anos de avaliação notou-se que as contagens totais de cianobactérias foram reduzidas 86%; não foram observadas reduções tão grandes nas outras algas.

Durante os quatro anos de estudo, permanganato de potássio foi dosado a cada 10 minutos de acordo com a demanda da água, variando de aproximadamente 1 a 2 mg.L<sup>-1</sup>.

DICE & BEER (1983) usaram permanganato de potássio para matar algas no reservatório Marston em Denver, Colorado, Estados Unidos, porque algumas espécies de cianobactérias estavam causando aumento no tempo de filtração da água na estação de tratamento. As dosagens de permanganato foram de 0,4 mg.L<sup>-1</sup> a 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. O tempo de filtração reduziu depois do tratamento no reservatório.

Os dados disponíveis indicam que permanganato de potássio pode ser eficiente no controle de algas, mas são necessárias altas dosagens. As concentrações de manganês oxidado na água bruta, que vai para estação de tratamento, devem ser rigorosamente monitoradas a partir do início do tratamento com permanganato. Outro impacto pode ser causado pelo aumento das concentrações de manganês no fundo do lago ou reservatório, que pode aumentar a concentração de manganês solúvel sob condições anaeróbias. Problemas com remoção de manganês durante o tratamento podem ocorrer se a tomada de água bruta for na zona anaeróbia (YOO et al. 1995).

### **11.3.3. Outras Substâncias Químicas**

#### **11.3.3.a. Cal**

A cal hidratada é usada em estações de tratamento de água para reduzir as mudanças causadas no pH devido às adições de sais férricos ou de alumínio e para diminuir a dureza da água. Mais recentemente, a cal vem sendo aplicada em águas superficiais para o controle de algas. Pode ser usada como tratamento de algas tóxicas em lagos e reservatórios, pois, na dosagem correta, a cal pode eliminar cianobactérias tóxicas, sem romper as células e liberar toxinas (YOO et al. 1995).

A aplicabilidade do tratamento com cal, para o controle de cianobactérias na água, varia de acordo com a composição química da água. Devido ao aumento súbito no pH, pode resultar na morte da biota sensível a essa mudança. Portanto, esse procedimento deve ser usado com cautela e deve ser precedido por testes laboratoriais para determinar o efeito das dosagens sobre o pH (YOO et al. 1995).

### **11.3.3.b. Substâncias Orgânicas**

CARMICHAEL (1992) menciona que outros algicidas, como quinonas e herbicidas orgânicos, estão disponíveis, mas não são comumente utilizados, principalmente em recursos hídricos. O autor destaca que algicidas orgânicos podem se tornar imprescindíveis se as cianobactérias desenvolverem resistência ao cobre, necessitando controles químicos alternativos.

## **11.4. PANORAMA NACIONAL DO CONTROLE DE FLORAÇÕES**

No Brasil, a Portaria nº 1469 do Ministério da Saúde, de 29/12/2000, aumenta as exigências para o controle da qualidade da água para abastecimento público no país. Entre as inovações da nova norma, está o controle da qualidade da zona de captação, quando o manancial for de superfície, ou seja, rios e represas. As companhias de abastecimento têm prazo de dois anos para adaptarem-se aos novos padrões, que incluem o controle das cianobactérias potencialmente tóxicas. O prazo dado pelo Ministério é de três anos para adequação ao quesito.

Relatos de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas nos corpos d'água têm sido cada vez mais frequentes no Brasil e no mundo. No entanto, muito pouco tem sido feito para resolver o problema no país, exceto o monitoramento da presença de cianobactérias. Durante o I Seminário Latino-Americano sobre Cianobactérias Tóxicas (2001), foram relatadas ocorrências de cianobactérias tóxicas por quase todo território nacional, nos estados de Rio Grande

do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Bahia, Pernambuco, Ceará e Rio Grande do Norte. Dos 39 trabalhos apresentados durante o evento, 21 foram relatos da ocorrência de cianobactérias e aspectos ecológicos, 5 sobre monitoramento, 5 sobre tratamento de água contendo células de cianobactérias ou cianotoxinas, 4 sobre controle de florações, 2 sobre estudos metodológicos para determinação de cianotoxinas, 1 sobre biologia molecular de cianobactéria e 1 sobre o impacto na saúde da população.

Todos os trabalhos sobre controle de florações de cianobactérias foram apresentados pela Companhia de Saneamento Básico de São Paulo (SABESP). RIVELINO et al. (2001) introduziram a barreira de contenção como uma alternativa emergencial diante de florações de *Microcystis* sp. Essa alternativa foi testada na represa Rio Grande, localizada no município de São Bernardo do Campo, São Paulo. De acordo com o autor, a represa sofre a ação dos ventos que, durante a tarde, levam toda biomassa fitoplanctônica para região da captação e pela manhã, para o lado contrário. Aproveitando a variação no sentido dos ventos, a companhia confeccionou uma barreira com 100 metros de comprimento por 3 metros de largura de geotêxtil não-tecido, fabricado a partir de filamentos contínuos 100% poliéster de grande resistência, placas de isopor de 0,15 x 0,20 x 0,70 m e lastro de 100 m de corrente. A barreira foi colocada de forma que as células de *Microcystis* sp que fossem de encontro com a barreira, ficassem impedidas de voltar à região de captação. Após a contenção das algas, a biomassa foi retirada através de uma bomba de sucção. O método é de baixo custo, mas pode propiciar o desenvolvimento de espécies que não se acumulam na superfície, necessariamente, como a *Cylindrospermopsis* sp ou *Oscillatoria* sp, pela ausência da competição com a *Microcystis* sp.

Outro plano de contingência de cianobactérias, apresentado por SORRINI (2001), foi a reversão do braço do Rio Taquacetuba, que faz parte da represa Billings, para a represa Guarapiranga, na região metropolitana de São Paulo. Segundo OKAMOTO-RIVELINO et al. (2001) a represa de Guarapiranga pertence à bacia do Alto Tietê, a sudoeste do município de São Paulo; a represa Billings situa-se, em sua maior parte, no município de São Bernardo do Campo. Devido aos baixos índices pluviométricos e o aumento na demanda de água nos últimos anos na região da represa Guarapiranga, foi necessária a transferência de água de um outro

reservatório para a manutenção do aproveitamento desse manancial. Através do bombeamento das águas do braço Taquacetuba da represa Billings, as águas entram numa região de várzea e seguem pelo Rio Parelheiros até chegar na represa Guarapiranga. Através do monitoramento do número de células e toxinas de cianobactérias, OKAMOTO-RIVELINO et al. (2001) verificaram uma redução de ambas as variáveis na represa Guarapiranga. Os autores ressaltaram a importância da várzea na retenção de células e filtração dos compostos tóxicos, e sugeriram que tais processos seriam otimizados com a implantação de um plano de manutenção da área de várzea.

Não há informações oficiais disponíveis sobre o que vem sendo feito para o controle das florações de cianobactérias nos corpos d'água no resto do país, apenas experiências de monitoramento do número de células de cianobactérias e impactos ecológicos.

O país precisa investir mais em trabalhos voltados para a redução de cargas (nutrientes) nos sistemas hídricos, já que esta é a base do problema da ocorrência de florações, e para a melhor compreensão da dinâmica dos ecossistemas aquáticos específicos para poder atingir as melhores propostas de manejo de florações de cianobactérias para cada ambiente, contemplando, preferencialmente, medidas preventivas e de controle.

### **11.5. TRATAMENTO DA ÁGUA BRUTA PARA REMOÇÃO DE CÉLULAS E TOXINAS**

Existe uma série de trabalhos que indicam práticas ideais, eficientes projetos e operações de estações de tratamento de água. Mas talvez, devido à natureza intermitente das florações de cianobactérias, poucas informações têm sido obtidas a partir de estações de tratamento de água para abastecimento em escala real sobre a ocorrência natural de toxinas. Investigações laboratoriais em escala piloto tem demonstrado que toxinas dissolvidas podem ser removidas de forma eficiente a menos de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  sob condições normais utilizadas no tratamento da água por carvão granulado (GAC) biologicamente ativo, ozônio, permanganato de potássio e cloro (apenas microcistina) (HRUDEY et al., 1999). As informações que tem sido relatadas estão resumidas na tabela 26.

**Tabela 26.** Resumo do desempenho do tratamento da água para remoção de microcistinas (HRUDEY et al., 1999).

<b>Técnica de tratamento</b>	<b>Expectativa de remoção Células preservadas</b>	<b>Toxina extracelular</b>	<b>Comentários</b>
Coagulação/sedimentação/flotação por ar dissolvido	>80%	<10%	Remove apenas a toxina contida na célula
Precipitação/sedimentação	>90%	<10%	Remove apenas a toxina contida na célula
Filtração rápida	>60%	<10%	Remove apenas a toxina contida na célula
Filtração lenta em areia	~99%	provavelmente significante	A eficiência para microcistina dissolvida depende do biofilme e do comprimento do filtro
Coagulação/ sedimentação/ filtração combinadas	>90%	<10%	Remove apenas a toxina contida na célula
Flotação por ar dissolvido	>90%	não avaliada, provavelmente baixa	Remove apenas a toxina contida na célula
Adsorção (PAC)	insignificante	>85%	Para doses adequadas (>20mg.L <sup>-1</sup> ), a competição COD reduz a capacidade
Adsorção (GAC)	>60%	>80%	A competição COD reduz a capacidade e acelera a quebra, remove as células
Carvão ativado granular biológico	>60%	>90%	A atividade biológica aumenta a eficiência de remoção
Pré-ozonização	aumenta coagulação	aumento potencial	Utilizada em dosagens baixas, risco de liberar a toxina
Pré-cloração	aumenta coagulação	causa lise e libera metabólitos	Aplicável para cianobactérias tóxicas apenas se o tratamento subsequente remover as toxinas dissolvidas
Ozonização (pós clarificação)	–	>98%	Rápido e eficiente para toxinas solúveis
Cloro livre (pós filtração)	–	>80%	Efetivo >0,5 mg.L <sup>-1</sup> após 30 minutos a pH< 8 e baixo COD
Cloramina	–	insignificante	ineficiente
Dióxido de cloro	–	insignificante	Não efetivo com doses usadas em tratamento de água para abastecimento
Premanganato de potássio	–	95%	Efetivo sobre toxina solúvel, mas apenas na ausência de células completas
Peróxido de hidrogênio	–	insignificante	Não efetivo
Radiação UV	–	insignificante	Capaz de degradar microcistina-LR e anatoxina-a, mas apenas em doses impraticavelmente altas
Processos de membranas	>99%	incerto	Depende do tipo de membrana

**12. ANEXO 3: CURVA-PADRÃO PARA MICROCISTINA-LR, ESPECTROS  
E CROMATOGRAMAS**

Curva-padrão e espectro de absorvância da Microcistina-LR de 200 nm a 300 nm.

Cromatograma do extrato da biomassa do tanque 4 do experimento em mesocosmos, no último dia de amostragem, e espectros dos picos com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da biomassa do tanque 5 do experimento em mesocosmos, no último dia de amostragem, e espectros dos picos com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da biomassa do tanque 6 do experimento em mesocosmos, no último dia de amostragem, e espectro do pico com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da cepa MASGI4 do garrafão 2 (ASM1 padrão) do experimento em microcosmos, no último dia de amostragem, e espectro do pico com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da cepa MASGI4 do garrafão 3 (ASM1 – 10% P) do experimento em microcosmos, no último dia de amostragem, e espectro do pico com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da cepa MASGI4 do garrafão 5 (ASM1 – 10% P) do experimento em microcosmos, no último dia de amostragem, e espectro do pico com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

Cromatograma do extrato da cepa MASGI4 do garrafão 6 (ASM1 – 10% P) do experimento em microcosmos, no último dia de amostragem, e espectro do pico com similaridade próxima ao do espectro da microcistina-LR.

### 13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1985. **Standard Methods: For the examination of water and wastewater**. 16 ed. APHA, Washington, AWWA: 1268 pp.
- ARCIFA, M. S., C. G. FROELICH & S. M. F. GIANESSELLA-GALVÃO, 1981b. Circulation patterns and their influence on physico-chemical and biological conditions in eight reservoirs in Southern Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **21**: 1054-1059.
- ARCIFA, M. S., M. A. J. CARVALHO, S. M. F. GIANESSELLA-GALVÃO, G. Y. SHIMIZU, C. G. FROELICH & R. M. C. CASTRO, 1981a. Limnology of ten reservoirs in Southern Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **21**: 1048-1053.
- BARBOSA, F. A. R. & J. G. TUNDISI, 1980. Primary production of phytoplankton and environmental characteristics of a shallow quaternary lake at eastern Brazil. **Arch. Hydrobiol.** **90** (2): 139-161.
- BARBOSA, F. A. R., J. PADISÁK, E. L. G. ESPÍNDOLA, G. BORICS & O. ROCHA, 1999. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tietê-basin, São Paulo State, Brazil. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application**. International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 425-437.
- BARICA, J., 1990. Seasonal variability of N:P ratios in eutrophic lakes. – Seasonal variability of N:P ratios in eutrophic lakes. **Hydrobiol.** **191**: 97-103.
- BARTRAM, J, W. W. CARMICHAEL, I. CHORUS, G. JONES & O. M. SKULBERG, 1999. Introduction. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management**. World Health Organization, London and New York, p. 1-14.

- BERMAN, T. & B. SHTEINMAN, 1998. Phytoplankton development and turbulent mixing in Lake Kinneret. **J. Plankton Res.** **20**: 709-726.
- BEYRUTH, Z., C. L. SANT'ANNA, M. T. DE P. AZEVEDO, M. C. CARVALHO & H. A. S. L. PEREIRA, 1992. Toxic algae in freshwater of São Paulo State. In: CORDEIRO-MARINO, M., M. T. DE P. AZEVEDO, C. L. SANT'ANNA, N. Y. TOMETA, E. M. PLASTINO (ed.) – **Algae and environment: a general approach**. Sociedade Brasileira de Ficologia, São Paulo, p. 53-64.
- BEYRUTH, Z., 2000. Periodic disturbances, trophic gradient and phytoplankton characteristics related to cyanobacterial growth in Guarapiranga Reservoir, São Paulo State, Brazil. **Hydrobiol.** **424**: 51-65.
- BICUDO, C. E. M., J. J. RAMIREZ, A. TUCCI & D. C. BICUDO, 1999. Dinâmica de populações fitoplanctônicas em ambiente eutrofizado: o Lago das Garças, São Paulo. In: HENRY, R. (ed.) – **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. FAPESP-FUNDIBIO, Botucatu, SP, Brasil, p. 451-507.
- BITAR, A. L., 1998. **Fluxo de nitrogênio e seus uso por duas macrófitas aquáticas (*Eichornia crassipes* e *Pistia stratiotes*), no reservatório de Salto Grande (Americana – SP)**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 97 pp.
- BLUE-GREEN ALGAE TASK FORCE, 1992. **Blue-green algae: final report of the New South Wales Blue-Green Alga Task Force**. Department of Water Resources, Parramatta, New South Wales, Australia.
- BOLCH, C. J., S. BLACKBURN, G. J. JONES, P. T. ORR & P. M. GREWE, 1997. Plasmid content and distribution in the toxic cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann (Cyanobacteria: Chroococcales). **Phycologia** **36**: 6-11.
- BONUCCI, J. M. F., M. A. S. P. SANTOS, C. M. SANTOS, G. M. CARNEIRO, N. T. OMISHI & P. S. OLIVEIRA, 2001. Plano de contingência para ocorrências de cianobactérias no sistema produtor Alto Tietê, SP, Brasil. **I Seminário Latino-Americano sobre Cianobactérias Tóxicas: qualidade da água e saúde pública**. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- BOTES, D. P., P. L. WESSELS, H. KRUGER, M. T. C. RUNNEGAR, S. SANTIKARN, R. J. SMITH, J. C. J. BARNA & D. H. WILLIAMS, 1985. Structural studies on cyanoginosins-LR, -YR, -YA, and -YM, peptide toxins of *Microcystis aeruginosa*. **J. Chem. Society Perkin Trans. 1**: 2747-2748.
- BOTTURA, G., 1998. **A compreensão das formas de relação da população com o meio ambiente: estudo de caso no reservatório de Salto Grande (Americana-SP)**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 122 pp.
- BOX, J. D., 1981. Enumeration of cell concentrations in suspensions of colonial freshwater microalgae, with particular reference to *Microcystis aeruginosa*. **Br. Phycol. J. 16**: 153-164.
- BYTH, S., 1980. Palm Island mystery disease. **Med. J. Aust. 2**: 40-42
- CALIJURI, M. C. & A. C. A. DOS SANTOS, 1996. Short-term changes in the Barra Bonita reservoir (São Paulo, Brazil): emphasis on the phytoplankton communities. **Hydrobiol. 330**: 163-175.
- CALIJURI, M. C. & A. C. A. DOS SANTOS, 2001. Temporal variations in phytoplankton primary production in a tropical reservoir (Barra Bonita, SP - Brazil). **Hydrobiol. 445**: 11-26.
- CALIJURI, M. C. & J. G. TUNDISI, 1990. Limnologia comparada das represas do Lobo (Broa) e Barra Bonita - Estado de São Paulo: Mecanismos de Funcionamento e Bases para o Gerenciamento. **Rev. Brasil. Biol. 50** (4): 893-913.
- CALIJURI, M. C., 1988. **Respostas fisioecológicas da comunidade fitoplanctônica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 293 pp.
- CALIJURI, M. C., 1999. **A comunidade fitoplanctônica em um reservatório tropical (Barra Bonita, SP)**. Tese (Livre-docência). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 211 pp.

- CALIJURI, M. C., A. C. A. DOS SANTOS & S. JATI, 2002. Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, SP - Brazil). **J. Plank. Res.** **24**: 617-634.
- CALIJURI, M. C., G. L. B. DEBERDT & R. T. MINOTI, 1999. A produtividade primária pelo fitoplâncton na represa de Salto Grande (Americana – SP). In: HENRY, R. (ed.) – **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. FAPESP-FUNDIBIO, Botucatu, SP, Brasil, p. 109-148.
- CARACO, N. F., 1995. Influence of human populations on P transfers to aquatic systems: a regional scale study using large rivers. In: TIESSEN, H. (ed.) – **Phosphorus in the global environment: transfers, cycles and management**. Wiley, Chichester, p. 235-244.
- CARMICHAEL, W. W., 1992. **A status report on planktonic cyanobacteria (Blue green algae) and their toxins**. EPA/600/R-92/079, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- CARMICHAEL, W. W., 1996. Toxic *Microcystis* and the environment. In: Watanabe, M. F., K. Harada, W. W. Carmichael & H. Fujiki (ed.) – **Toxic *Microcystis***. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo, p. 1-12.
- CARMICHAEL, W. W., 1997. The cyanotoxins. **Adv. Bot. Res.** **27**: 211-256.
- CARMICHAEL, W. W., 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environ. Health Perspect.** **39**: 341-344.
- CARMO, D. F., 2000. **Avaliação da presença de clorofenóis no reservatório de Salto Grande, situado na região de Americana, Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 156 pp.
- CARR, J. B., 1975. **Prevention of blue-green algal bloom: field verification – Morses Pond, Wellesley, Massachusetts**. Carr Research Laboratory Inc.

- CARVALHO, M. A. J., 1979. **A represa de Americana, São Paulo: aspectos físicos-químicos e a variação das populações de copepoda cyclopoida de vida livre.** Tese (Doutorado). Instituto Biológico, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 80 pp.
- CASCO, M. A. & J. TOJA, 1994. The distribution and interaction of algal communities in reservoirs. **Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.** **40**: 85-96.
- CASTENHOLZ, R. W. & J. B. WATERBURY, 1989. In: J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig & J. G. Holt (ed.) – **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Vol. 3, Williams & Wilkins, Baltimore, 1710-1727.
- CHENG, D., 1992. Investigations of alum dosing as a method of water treatment for emergency supply for stock watering. **NSW Blue-Green Algae Task Force Final Report.** Department of Water Resources, Parramatta, New South Wales, Australia.
- CHORUS, I. & L. R. MUR, 1999. Preventive measures. In: CHORUS, I. & J. BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management.** World Health Organization, London and New York, p. 235-274.
- CODD, G. A. & G. K. POON, 1988. Cyanobacterial toxins. In: J. G. GALLON & L. J. ROGERS (ed.) – **Proc. Phytochem. Soc. Europe** **28**, Oxford University Press, Oxford, p. 283-296.
- COELHO, M. P., 1993. **Análise do processo de assoreamento do reservatório de Americana.** Dissertação (Mestrado). Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, Brasil, 69 pp.
- COHEN, S. G. & C. B. REIF, 1953. Cutaneous sensitization to blue-green algae. **J. Allergy** **24**: 452-457.
- COOKE, G. D., E. B. WELCH, S. A. PETERSON & P. R. NEWROTH, 1986. **Lake and reservoir eutrophication.** Butterworth Publishers, Boston.
- CSIRO, 1997. War on toxic algae escalates. CSIRO Media Release 97/123. <http://www.csiro.au/communication/mediarel/mr1997/mr97all.html>.

- CSIRO, 1998 a. Fishy solution to the toxic blues. CSIRO Media Release 98/17.  
<http://www.csiro.au/news/mediarel/mr1998/mr98all.html>.
- CSIRO, 1998 b. CSIRO plants to beat the toxic blues. CSIRO Media Release 98/206.  
<http://www.csiro.au/news/mediarel/mr1998/mr98all.html>.
- CSIRO, 1999. No more blue-green blues? Water scientists cause a stir. CSIRO Media Release 96/57.  
<http://www.csiro.au/communication/mediarel/mr96all.html>.
- DASÍ, M. J., M. R. MIRACLE, A. CAMACHO, J. M. SORIA & E. VICENTE, 1998. Summer phytoplankton assemblages across trophic gradients in hard-water reservoirs. **Hydrobiologia** **369/370**: 27-43.
- DEBERDT, A. J., 1999. **Variação nictemeral de variáveis limnológicas no reservatório de Salto Grande (Americana-SP) em duas épocas do ano.** Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 96 pp.
- DEBERDT, G. L. B., 1997. **Produção primária da comunidade fitoplanctônica no reservatório de Salto Grande (Americana-SP) em duas épocas do ano.** Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 105 pp.
- DICE, J. & C. BEER, 1983. Reservoir treatment solves short filter runs. **Public Works Magazine** **114** (5): 78-79.
- DILLENBERG, H. O. & M. K. DEHNEL, 1960. Toxic water bloom in Saskatchewan 1959. **Can. Med. Assoc. J.** **83**: 1151-1154.
- DOKULIL, M. T. & K. TEUBNER, 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. **Hydrobiol.** **438**: 1-12.
- DOS SANTOS, A. C. A. & M. C. CALIJURI, 1998. Survival strategies of some species of the phytoplankton community in the Barra Bonita Reservoir (São Paulo, Brazil). **Hydrobiol.** **367**: 139-152.

- ELSER, J. J., E. R. MARZOLF & C. R. GOLDMAN, 1990. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** **47**: 1468-1477.
- ESPINDOLA, E. L. G., C. M. R. B. PASCHOAL, F. B. TONISSI & R. MAGALHÃES, 1998. Avaliação ecotoxicológica de sedimento como instrumento de controle de qualidade da água do reservatório de Salto Grande, Americana – SP. **Anais do IV simpósio de ecossistemas brasileiros**, 2-7 de abril 1998, Águas de Lindóia, SP, Brasil, Vol. IV.
- EVERALL, N. C. & LEES, D. R., 1996. The use of barley-straw to control general and blue-green algal growth in a Derbyshire reservoir. **Wat. Res.** **30** (2): 269-276.
- FALCO, P. B., 2000. **Distribuição espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica e das variáveis ecológicas no reservatório de Salto Grande (Americana - SP), em duas épocas do ano.** Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 107 pp.
- FERREIRA, C. M. L., 2000. **Estudo de uma área alagada do rio Atibaia visando a elaboração de proposta de manejo para melhoria da qualidade da água no reservatório de Salto Grande (Americana, SP).** Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 145 pp.
- FOGG, G. E. 1968. **Algal cultures and phytoplankton ecology.** Athlone Press, London.
- FRANCIS, G., 1878. Poisonous Australian Lake. **Nature** **18**: 11-12
- FRANCO, G. M. M., 1982: **Ciclo sazonal da produção primária, “standing-stock” do fitoplancton e fatores ambientais na Represa do Jacaré-Pepira (Brotas, SP).** Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 289 pp.

- FROEHLICH, C. G., M. S. ARCIFA-ZAGO & M. A. J. CARVALHO, 1978: Temperature and oxygen stratification in Americana Reservoir, State of São Paulo, Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **20**: 1710-1719.
- FUJIKI, H., E. SUEOKA & M. SUGANUMA, 1996. Carcinogenesis of microcystins. In: WATANABE, M. F., K. HARADA, W. W. CARMICHAEL & H. FUJIKI . (ed.) – **Toxic Microcystis**. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo, p. 203-232.
- GEITLER, L., 1932. **Cyanophyceae**. Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m.b.H. i-vi +1, 1196 pp.
- GENTIL, J. G., 1984. **Estudo limnológico comparado de cinco reservatórios do Estado de São Paulo localizados em diferentes sistemas hidrográficos**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 269 pp.
- GIANESELLA-GALVÃO, S. M. F., 1981: **Produção Primária e suas revelações com alguns fatores físico-químicos em reservatórios do Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 149 pp.
- GIANESELLA-GALVÃO, S. M. F., 1985. Primary production in ten reservoirs in southern Brazil. **Hydrobiologia** **122**: 81-88.
- GOLTERMAN, H. L., R. S. CLYMO & M. A. M. OHNSTAD, 1978. **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters**. 2 ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, I.B.P. Handbook 8: 213 pp.
- GORHAM, P. R., 1964. Toxic algae. In: JACKSON (ed.) - **Algae and Man**. D. F. New York: Plenum Press, p. 307-336.
- GRAUER, F. 1961. Seaweed dermatitis. **Arch. Dermatol.** **84**: 720-732.
- GUNN, G., A. RAFFERTY, G. RAFFERTY, N. COCKBURN, C. EDWARDS, K. BEATTY & G. CODD, 1992. Fatal canine neurotoxicosis attributed to blue green algae (cyanobacteria). **Vet. Rec.** **4**: 301-302.
- HAIRSTON, N. G., 1992. **Ecological experiments: purpose, design, and execution**. Cambridge University Press, Cambridge, 370 pp.

- HAPPEY-WOOD, C. M., 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. In: SANDGREN, C. D. (ed.) - **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton**. Cambridge, Univ. Press. Cambridge, p. 175-226.
- HEANEY, S. I., J. E. PARKER, C. BUTTERWICK & K. J. CLARKE, 1996: Interannual variability of algal populations and their influence on lake metabolism. **Freshwater Biology** **35**: 561-577.
- HECKY, R. E., P. CAMPBELL & L. L. HENDZEL, 1993. The stoichiometry of carbon, nitrogen, and phosphorus in particulate matter of lakes and oceans. **Limnol. Oceanogr.** **38** (4): 709-724.
- HENRY, R., 1993: Primary production by phytoplankton and its controlling factors in Jurumirim Reservoir (São Paulo, Brazil). **Rev. Barsil. Biol.** **53** (3): 489-499.
- HODOKI, Y. & Y. WATANABE, 1998. Attenuation of solar ultraviolet radiation in eutrophic freshwater lakes and ponds. **Jap. Jour. Limnol.** **59** (1): 27-37.
- HRBÁČEK, J., B. DESORTOVÁ & J. POPOVSKÝ, 1978. Influence of fish stock on the phosphorus-chlorophyll-ration. **Verh. Verein. Theor. Ang. Limnol.** **20**: 1624-1628.
- HRUDEY, S., M. BURCH, M. DRIKAS & R. GREGORY, 1999. Remedial Measures. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. World Health Organization, London and New York, p. 275-312.
- HUSZAR, V. L. M., L. H. S. SILVA, M. MARINHO, P. DOMINGOS, C. L. SANT'ANNA, 2000. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. **Hydrobiol.** **424**: 67-77.
- ISTVÁNOVIC, V. & L. SOMLYÓDY, 1999. Limnological differences between a shallow pre-reservoir and a shallow lake – a case study of the upper Kis-Balaton Reservoir and Lake Balaton. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application**. International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 347-384.

- IZZAGUIRE, G., 1992. A copper-tolerant phormidium species from Lake Mathews, California, that produces 2-methylisoborneol and geosmin. **Wat. Sci. Tech.** **25**: 217-223.
- JEPPESEN, E., J. P. JENSEN, M. P. KRISTENSEN, M. SONDERGAARD & E. MORTENSEN, 1990. Fish manipulation as a lake restoration tool in shallow, eutrophic temperate lake: 2. threshold levels, long-term stability and conclusions. **Hydrobiol.** **200/201**: 219-227.
- JOCHIMSEN, E. M., W. W. CARMICHAEL, J. AN, D. M. CARDO, S. T. COOKSON, C. E. M. HOLMES, M. B. DE C. ANTUNES, D. A. DE M. FILHO, T. M. LYRA, V. S. T. BARRETO, S. M. F. O. AZEVEDO & W. R. JARVIS, 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a haemodialysis center in Brazil. **New Engl. J. Med.** **338** (13): 873-878.
- JOHNSTONE, P. 1994. **Algal bloom research in Australia: a report of current status of issues and the development of national research priorities.** Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand, East Melbourne, Australia.
- JONES, G. J. & W. POPLAWSKI, 1998. Understanding and management of cyanobacterial blooms in subtropical reservoirs of Queensland, Australia. **Pergamon** **37** (2): 161-168.
- KIRK, J. T. O., 1986. Optical Limnological - A Manifesto. In: De DECKKER, P.; WILLIAMS, W. D. (ed.) - **Limnology in Australia.** Australia and Dr. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 33-62.
- KITCHELL, J. F., 1992. **Food web management: a case study of Lake Mendota.** Springer Verlag, New York, 553 pp.
- KLAVENESS, D., 1988. Ecology of the Cryptomonadida: a first review. In: SANDGREN, C. D. (ed.) - **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton.** Cambridge, Univ. Press. Cambridge, p. 105-133.
- KÖHLER, J., 1994. Origin and succession of phytoplankton in a river-lake system (Spree, Germany). **Hydrobiologia** **289**: 73-83.

- KOMÁREK, J., 1991. A review of water-bloom forming *Microcystis* species, with regard to populations from Japan. **Algological Studies** **64**: 115-127.
- KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J.; CRONBERG, G., 1994. Planktic blue-green algae from lakes in South Scania, Sweden. Part I. Chroococcales. **Algological Studies** **72**: 13-51.
- KOROLEFF, 1976. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (ed.) - **Methods of seawater analysis**. Verlag Chemie Weinheim: 117-181.
- KORTMANN, R. W. & D. D. HENRY, 1990. **Mirros of the landscape: an introduction to lake management**. Connecticut Institute of Water Resources. P. H. Rich. Storrs Eds. University of Connecticut.
- KORTMANN, R. W., 1989. Raw water quality control: an overview of reservoir management techniques. **Jour. New England Water Works Assoc.** **103** (12): 197-220.
- KORTMANN, R. W., G. W. KNOECKLEIN & C. H. BONNELL, 1994. Aeration of stratified lakes: theory and practice. **Lake and Reservoir Management** **8** (2): 99-120.
- KORTMANN, R. W., M. E. CONNERS, G. W. KNOECKLEIN & C. H. BONNELL, 1988. Utility of layer aeration for reservoir and lake management. **Lake and Reservoir Management** **4** (2): 33-50.
- KRIENITZ, L., P. KASPRZAK & R. KOSCHEL, 1996. Long term study on the influence of eutrophication, restoration and biomanipulation on the structure and development of phytoplankton communities in Feldberger Haussee (Baltic Lake District, Germany). **Hydrobiologia** **330**: 89-110.
- KRISHNAMURTHY, T., W. W. CARMICHAEL & E. W. SARVER, 1986. Toxic peptides from freshwater Cyanobacteria (blue-green algae) I. Isolation, purification and characterization of peptides from *Microcystis aeruginosa* NRC-1 in laboratory and domestic animals. **Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.** **29**: 221-228.

- KUIPER-GOODMAN, T, I. FALCONER & J. FITZGERALD, 1999. Human health aspects. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management**. World Health Organization, London and New York, p. 113-154.
- LAM, A. K. Y., E. E. PREPAS, D. SPINK & S. E. HRUDEY, 1995. Chemical control of hepatotoxic phytoplankton blooms: implications for human health. **Wat. Res.** **29**: 1845-1854.
- LEHTIMÄKI, J., P. MOISANDER, K. SIVONEN & K. KONONEN, 1997. Growth, nitrogen fixation, and nodularin production by two Baltic Sea cyanobacterial. **Appl. Environ. Microbiol.** **63**: 1647-1656.
- LEITE, M. A. 1998. **Variação espacial e temporal da taxa de sedimentação no reservatório de Salto Grande (Americana – SP) e sua influência sobre as características limnológicas do sistema**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 170 pp.
- LIND, O. T. & L. DÁVALOS-LIND, 1999. Suspended Clay: its role in reservoir productivity. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application**. International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 85-98.
- LIPPY, E. C. & J. ERB, 1976. Gastrointestinal illness at Sewickley, PA. **J. Am. Water Works Assoc.** **68**: 606-610.
- LONG, B. M., G. J. JONES & P. T. ORR, 2000. Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate. **Appl. Environ. Microbiol.** **67**: 278-283.
- LORENZEN, C. J., 1967. Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. **Limnol. Oceanogr.** **12**: 343-346.
- LUKAC, M. & R. AENGERTER, 1993. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. **Toxicon** **31**: 293-305.

- LYCK, S., N. GJOLME & H. UTKILEN, 1996. Iron-starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 22/1 (Chroococcales, Cyanophyceae). **Phycologia** **35** (6): 120-124.
- MACKAY, N. A. & J. J. ELSER, 1998. Nutrient recycling by *Daphnia* reduces N<sub>2</sub> fixation cyanobacteria. **Limnol. Oceanogr.** **43** (2): 347-354.
- MACKERETH, F. J. H., J. HERON & J. F. TALLING, 1978. **Water Analysis: Some revised methods for limnologists**. Freshwater Biological Association. Scientific Publication 36, Titus Wilson & Son Ltd., Kendall, 117 pp.
- MATSUMURA-TUNDISI, T. and J. G. TUNDISI, 1997: Mixing processes affecting primary production of phytoplankton in Barra Bonita. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **26**: 536-541.
- MCGUIRE, M. J., R. M. JONES, E. G. MEANS, G. IZAGUIRRE & A. E. PRESTON, 1984. Controlling attached blue-green algae with copper sulfate. **Jour. AWWA** **76** (5): 60-65.
- MCKNIGHT, D. M., W. W. CHISHOLM & D. R. F. HARLEMAN, 1983. CuSO<sub>4</sub> treatment of nuisance algal blooms in drinking water reservoirs. **Environmental Management** **7**: 311-320.
- MCQUEEN, D. J., 1990. Manipulating lake community structure: where do we go from here? **Freshwater Biol.** **23**: 613-620.
- METROPOLITAN WASHINGTON COUNCIL OF GOVERNMENTS (MWCOCG), 1983. **Urban runoff in the Washington metropolitan area: final report**. Department of Environmental Programs. Washington, D. C.: Metropolitan Information Center.
- MICHARD, M, L. ALEYA & J. VERNEAUX, 1996. Mass occurrence of the Cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* in the hypereutrophic Villerest Reservoir (Roanne, France): Usefulness of the biyearly examination of N/P (nitrogen phosphorus) and P/C (protein/carbohydrate) couplings. **Arch. Hydrobiol.** **135** (3): 337-359.

- MINOTE, R. T., 1999. **Produção primária anual e estrutura da comunidade fitoplanctônica no reservatório de Salto Grande (Americana-SP)**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 111 pp.
- MITTAL, A. M. AGARWAL & D. SCHIVPURI, 1979. Respiratory allergy to algae: clinical aspects. **Ann. Allergy** **42**: 253-256.
- MOED, J. R. & G. M. HALLEGRAEFF, 1978. Some problems in the estimation of chlorophyll-a and phaeopigments from pre- and postacidification spectrofotometric measurements. **Int. Revue ges. Hydrobiol.** **63** (6): 787-800.
- MORAES, A. R. & M. C. CALIJURI, 1998. Aquatic macrophytes and determination of mineral elements in a brazilian eutrophic reservoir (Americana - SP). **Proceedings of the 6<sup>th</sup> international conference on wetland systems for water pollution control**, 9/27-10/3/1998, Águas de São Pedro, SP, Brazil.
- MORRIS, D. P., H. ZAGARESE, C. E. WILLIAMSON, E. G. BALSEIRO, B. R. HARGREAVES, B. MODENUTTI, R. MOELLER & C. QUEIMALINOS, 1995. The attenuation of solar UV adiation in lakes and thé role dissolved organic carbon. **Limnol. Oceanogr.** **40**: 1381-1391.
- MOSS, B., J. MADGWICK & G. PHILLIPS, 1996. **A guide to the restoration of nutrients-enriched shallow lakes**. W. W. Hawes, London, 179 pp.
- MOSS, B., S. MCGOWAN & L. CARVALHO, 1994. Determination of phytoplankton crops by top-down and bottom-up mechanisms in a group of English lakes, the West Midland meres. **Limnol. Oceanog.** **39**: 1020-1029.
- MUR, L. R., O. M. SKULBERG & H. UTKILEN, 1999. Cyanobacterial in the environment. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management**. World Health Organization, London and New York, p. 15-40.
- MURPHY, T. P., E. E. PREPAS, J. T. LIM, J. M. CROSBY & D. T. WALTY, 1990. Evaluation of calcium carbonate and calcium hydroxide treatments of prairie drinking water dugouts. **Lake Reserv. Manage.** **6**: 101-108.

- NAKAI, S., Y. INOUE, M. HOSOMI & A. MURAKAMI, 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. **Pergamon** **39** (8): 47-53.
- NASELLI-FLORES, L., 1999. Limnological aspects of Sicilian reservoirs: a comparative, ecosystemic approach. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application**. International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 283-312.
- NEGRI, A. P. & G. J. JONES, 1995. Bioaccumulation of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* by the freshwater mussel *Alathyria condola*. **Toxicon** **33**(5): 667-678.
- NEGRI, A. P., G. J. JONES & M. HINDMARSH, 1995. Sheep mortality associated with paralytic shellfish poisons from the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. **Toxicon** **33**(10): 1321-1329.
- NOGUEIRA, I. de S., 1991. **Chlorococcales sensu lato (Chlorophyceae) do Município do Rio de Janeiro e arredores, Brasil**: inventário e considerações taxonômicas. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 356 pp.
- NÜRNBERG, G. K., 1997. Coping with water quality problems due to hypolimnetic anoxia in Central Ontario Lakes. **Wat. Qual. Res. J. Canada** **32**: 391-405.
- OECD, 1982. Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. OEDC, Paris, 164 pp.
- OH, H. M., S. J. LEE, M. H. JANG & B. D. YOON, 2000. Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. **Appl. Environ. Microbiol.** **66**: 176-179.
- OKAMOTO-RIVELINO, V. K., L. MARINO, A. L. F. R. SZAJUBOCK & C. E. SAWADA, 2001. A comunidade de cianobactérias e a transposição das águas da represa Billings para a represa Guarapiranga. **I Seminário Latino-Americano sobre Cianobactérias Tóxicas: qualidade da água e saúde pública**. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- OLRIK, K. 1994. **Phytoplankton Ecology: Determining factors for the Distribution of phytoplankton in Freshwater and the Sea.** Miljø projekt n. 251, Danish Environmental Protection Agency, Denmark, 183 pp.
- OLSZEWSKI, P., 1961. Versuch einer Ableitung des hypolimnischen Wassers an einem See. Ergebnisse des ersten Versuchsjahres. **Verh. Int. Ver. Limnol.** **18**: 1792-1797.
- ORR, P. T. & G. J. JONES, 1998. Relation between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. **Limnol. Oceanogr.** **43** (7): 1604-1614.
- PADISÁK, J. & V. ISTVÁNOVICS, 1997. Differential response of blue-green algal groups to phosphorus load reduction in a large shallow lake: Balaton, Hungary. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **26**: 574-580.
- PADISÁK, J., 1991. Relative frequency, seasonal, pattern and possible role of species rare in the phytoplankton (Lake Balaton, Hungary). **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **24**: 989-992.
- PADISÁK, J., J. KÖHLER & S. HOEG, 1999. The effect of changing flushing rates on development of late summer *Aphanizomenon* and *Microcystis* populations in a shallow lake, Müggelsee, Berlin, Germany. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application.** International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 411-424.
- PAERL, H. W. & N. D. BOWLERS, 1997. Dilution bioassays: their application to assessments of nutrient limitation in hypereutrophic waters. **Hydrobiologia** **146**: 265-273.
- PAERL, H. W., 1987. **Dynamics of blue-green algal blooms in the lower Neuse River, NC: causative factors and potential controls.** University of North Carolina Water Resources Research Institute Report 229. North Carolina State University, Raleigh, 164 pp.

- PAERL, H. W., 1988 a. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (cyanobacteria). In: SANDGREN, C. D. (ed.) - **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton**. Cambridge University Press, p.261-315.
- PAERL, H. W., 1988 b. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. **Limnol. Oceanogr.** **33** (4, part 2): 823-847.
- PAERL, H. W., R. S. FULTON, P. H. MOISANDER & J. DYBLE, 2001. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. **The Scientific World** **1**: 76-113.
- PEREIRA, V. L. R., 1994: **Produção primária, composição do fitoplâncton e condições ecológicas do reservatório Guarapiranga – São Paulo - SP**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 255 pp.
- PILOTTO, L. S., R. M. DOUGLAS, M. D. BURCH, S. CAMERON, M. BEERS, G. R. ROUCH, P. ROBINSON, M. KIRK, C. T. COWIE, S. HARDIMAN, C. MOORE & R. G. ATTEWELL, 1997. Health effects of recreational exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water-related activities. **Aust. N. Zealand J. Public Health** **21**: 562-566.
- PONTES, M. C. F., 1980: **Produção primária, fitoplâncton e fatores ambientais no Lago D. Helvécio, Parque Florestal do Rio Doce – MG**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 293 pp.
- PREPAS, E. E., T. P. MURPHY, W. P. DINSMORE, J. M. BURKE, P. A. CHAMBERS & S. REEDYK, 1997. Lake management based on lime application and hypolimnetic oxygenation: the experience in eutrophic hardwater lakes in Alberta. **Wat. Qual. Res. J. Canada** **32**: 273-293.
- RAPALA, J., K. SIVONEN, C. LYRA & S. I. NIEMELÄ, 1997. Variation in microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp as a function of growth stimuli. **Appl. Environ. Microbiol.** **63**: 2206-2212.
- REDFIELD, A. C., 1958. The biological control of chemical factors in the environment. **Am. Sci.** **46**: 205-222.

- REYNOLDS, C. S., 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake system. **Holarctic Ecol.** **3**: 141-159.
- REYNOLDS, C. S., 1984. **The ecology of freshwater phytoplankton.** Cambridge University Press, 384 pp.
- REYNOLDS, C. S., 1986. Experimental manipulations of the phytoplankton periodicity in large limnetic enclosures in Blelham Tam, English Lake District. **Hydrobiol.** **138**: 43-64.
- REYNOLDS, C. S., 1988. The concept of ecological succession applied to seasonal periodicity of freshwater phytoplankton. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **23**: 681-691.
- REYNOLDS, C. S., 1990. Temporal scales of variability in pelagic environments and the response of phytoplankton. **Freshwater Biology** **23**: 111-142.
- REYNOLDS, C. S., 1992. Dynamics, selection and composition of phytoplankton in relation to vertical structure in lakes. **Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.** **35**: 13-31.
- REYNOLDS, C. S., 1996. The plant life of the pelagic. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **26**: 97-113.
- REYNOLDS, C. S., 1997. **Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystem theory.** Excellence in Ecology, Ecology Institute, Oldendorf-Luhe, 371 pp.
- REYNOLDS, C. S., 1998. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiol.** **369/370**: 11-26.
- REYNOLDS, C. S., 1999. Phytoplankton assemblages in reservoir. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABAA (ed.) – **Theoretical reservoir ecology and its application.** International Institute of Ecology, Backhuys Publishers, p. 439-456.
- RHEE, G. Y., 1982. Effects of environmental factors on phytoplankton growth. In: MARSHALL, K. C. (ed.) – **Advances in microbial ecology.** Plenum Press, New York, p. 33-74.

- RIOS, L., 1999. **Distribuição espaço-temporal e balanço de massa de fósforo na represa de Salto Grande – Americana (SP)**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 159 pp.
- RIVELINO, O., H. MELLO, J. H. AGUIAR & W. F. R. SOUZA, 2001. Barreira de contenção da *Microcystis* sp na represa Rio Grande, São Paulo, Brasil. **I Seminário Latino-Americano sobre Cianobactérias Tóxicas: qualidade da água e saúde pública**. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- ROBARTS, R. D., 1984. Factors controlling primary production in a hypereutrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa). **J. Plank. Res.** 6: 91-105.
- ROCHA, A. A., 1972. **Estudo sobre a fauna bentônica da Represa de Americana no Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 65 pp.
- ROMANINI, P. U., 1989. **Distribuição e ecologia alimentar de peixes no reservatório de Americana, São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 148 pp.
- SÃO PAULO (ESTADO) – SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE, 1994. **Bacia do Rio Piracicaba: estabelecimento de metas ambientais e reenquadramento dos corpos d'água**. São Paulo, SMA, 81 pp.
- SCHÖLLHORN, E & E. GRANÉLI, 1993. Is the increase of flagellates in coastal waters caused by changes in ration of N, P and Si? **Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea**: 811-817.
- SCHÖLLHORN, E & E. GRANÉLI, 1997. The importance of increasing N/P ration for phytoplankton biomass and species composition in an oligotrophic lake. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** 26: 615-620.
- SEIP, K. L., E. JEPPESEN, J. P. JENSEN & B. FAAFENG, 2000. Is trophic state or regional location the strongest determinant for Chl-*a*/TP relationships in lake? **Aquatic Sciences** 62: 195-204
- SHERMAN, B. & I. WEBSTER, 1998. Transitions between *Aulacoseira* and *Anabena* dominance in a turbid river weir pool. **Limnol. Oceanogr.** 43: 1902-1915.

- SHIMIZU, G. Y., 1978. **Represa de Americana: aspectos do bentos litoral.** Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 148 pp.
- SHIMIZU, G. Y., 1981. **Represa de Americana: um estudo de distribuição batimétrica da fauna bentônica.** Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 117 pp.
- SIVONEN, K. & G. JONES, 1999. Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management.** World Health Organization, London and New York, p. 41-111.
- SIVONEN, K., 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. **Appl. Environ. Microbiol.** **56**: 2658-2666.
- SMITH, G. M., 1955. **Botânica Criptogâmica: Algas e fungos.** Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 527 pp.
- SOMMER, U., 1981. The role of r- and k- selection in the succession of phytoplankton in Lake Constance. **Acta Ecologia** **2**: 327-342.
- SOMMER, U., 1983. Nutrients competition between phytoplankton species in multispecies experiments. **Arch. Hydrobiol.** **96**: 399-416.
- SOMMER, U., 1988. Growth and survival strategies of plankton succession. In: SANDGREN, C. D. (ed.). **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton.** Cambridge Univ. Press. Cambridge, p. 57-106.
- SORRINI, E., W. HUBER, S. BELOTO, A. L. SILVA, M. A. B. SILVA & M. TÁPIA, 2001. Plano de contingência de cianobactérias no sistema Taquacetuba-Guarapiranga. **I Seminário Latino-Americano sobre Cianobactérias Tóxicas: qualidade da água e saúde pública.** Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- SOUZA, R. C. R., 2000. **Dinâmica espaço-temporal da comunidade fitoplanctônica de um reservatório hipereutrófico :Salto Grande (Americana, São Paulo).** Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 116 pp.

- STRASKRABA, M., 1999. Self-organization, direct and indirect effects. In: TUNDISI, J. G. & M. STRASKRABA (ed.) - **Theoretical Reservoir Ecology and its Applications**. International Institute of Ecology, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers, p. 29-51.
- STRASKRABA, M., J. G. TUNDISI, & DUNCAN, A. (ed.), 1993. State-of-art of reservoir limnology and water quality manejament. **Comparative Reservoir Limnology and Water Quality Manejament**. Kluver Academic Publishers, Dordrecht, p. 213-288.
- STRICKLAND, J. D. H. & T. R. PARSONS, 1960. A manual of sea water analysis. **Bull. Fish. Res. Bel. Can.** **125**: 1-185.
- STUMM, W. & J. J. MORGAN, 1981. **Aquatic chemistry** (2<sup>a</sup> ed.). Wiley, New York.
- TAKAMURA, N., A. OTSUKI, M. AIZAKI & Y. NOJIRI, 1992. Phytoplankton species shift accompanied by transition from nitrogen dependence to phosphorus dependence of primary production in Lake Kasumigaura, Japan. **Arch. Hydrobiol.** **124** (2): 129-148.
- TEIXEIRA, C., J. G. TUNDISI & M. B. KUTNER 1965. Plankton studies in a mangrove IV: size fractionation of the phytoplankton. **Bol. Inst. Oceanogr.** **26**: 39-42.
- TEIXEIRA, D., 2000. **Avaliação da qualidade da água e levantamento de custos de tratamento de efluentes visando a recuperação de um sistema eutrofizado (Represa de Salto Grande - Americana/SP)**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 183 pp.
- TEIXEIRA, 1993. Gastroenteritis epidemic in the área of the Itaparica, Bahia, Brazil. **Bulletin of PAHO** **27** (3): 244-253.
- THORTON, K. W., B. L. KIMMEL & F. E. PAYNE, 1990. **Reservoir Limnology: Ecological Perspectives**. John Wiley & Sons, Inc. New York, 246 pp.
- TILMAN, D. & S. S. KILHAM, 1976. Phosphate and silicate uptake and growth kinetics of the diatoms *Asterionella formosa* and *Cyclotella meneghiniana* in batch and semi-continuos culture. **J. Phycol.** **12**: 375-383.

- TISDALE, E. 1931. Epidemic of intestinal disorders in Chaleston, WVa, occurring simultaneously with unprecented water supply conditions. **Am. J. Public Health** **21**: 198-200.
- TONISSI, F. B., 1999. **Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande, Americana (SP) como subsídio para a análise de qualidade ambiental do sistema**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 137 pp.
- TUNDISI, J. G. & T. MATSUMURA-TUNDISI, 1990. Limnology and eutrophication of Barra Bonita Reservoir, S. Paulo State, Southern Brazil. **Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.** **33**: 661-672.
- TUNDISI, J. G. & T. MATSUMURA-TUNDISI, 1992. Eutrofication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives. In: CORDEIRO-MARINO, M., M. T. DE P. AZEVEDO, C. L. SANT'ANNA, N. Y. TOMETA, E. M. PLASTINO (ed.) – **Algae and environment: a general approach**. Sociedade Brasileira de Ficologia, São Paulo, p. 1-33.
- TUNDISI, J. G. and MUSARRA, M. L., 1986: Morphometry of four lakes in the Rio Doce Valley Lake system and its relationships with primary production of phytoplankton. **Rev. Brasil. Biol.** **46** (1): 159-171.
- TUNDISI, J. G., 1977. **Produção primária "standing-stock", fracionamento do fitoplâncton e fatores ecológicos em ecossistema lacustre artificial (Represa do Broa, São Carlos)**. Tese (Livre-Docência). F.F.C.L.R.P., Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 409 pp.
- TUNDISI, J. G., 1981. Typology of reservoir in Southern Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** **21**: 1031-1039.
- TUNDISI, J. G., 1983. A review of basic ecological processes interacting with production and standing-stock oh phytoplankton in lakes and reservoirs in Brasil. **Hydrobiol.** **100**: 223-243.

- TUNDISI, J. G., T. MATSUMURA-TUNDISI, O. ROCHA, J. G. GENTIL & N. NAKAMOTO, 1997: Primary production, standing-stock of phytoplankton and ecological factors in a shallow tropical reservoir (Represa do Broa, São Carlos, Brazil). **Sem. Medio Ambiente y Represas**, Montevideo, 1: 138-172.
- TURNER, P. C., A. J. GAMMIE, K. HOLLINRAKE & G. A. CODD, 1990. Pneumonia associated with cyanobacteria. **Br. Med. J.** **300**: 1440-1441.
- UTKILEN, H. & N. GJOLME, 1992. Toxin production by *Microcystis aeruginosa* as a function of light in continuous cultures and its ecological significance. **Appl. Environ. Microbiol.** **58**: 1321-1325.
- UTKILEN, H. & N. GJOLME, 1995. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. **Appl. Environ. Microbiol.** **61**: 797-800.
- VAN DER WESTHUIZEN, A. J. & J. N. ELOFF, 1983. Effect of culture age and pH of culture medium on the growth and toxicity of the blue green alga *Microcystis aeruginosa*. **Zeit. Pflanzenphysiol.** **110**: 157-163.
- VAN DER WESTHUIZEN, A. J. & J. N. ELOFF, 1985. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). **Planta** **163**: 55-59.
- VAN DER WESTHUIZEN, A. J., J. N. ELOFF & G. H. J. KRÜGER, 1986. Effect of temperature and light (fluence rate) on the composition of the toxin of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UV-006). **Arch. Hydrobiol.** **108**: 145-154.
- VINCENT, W. J., 2001. Nutrient partitioning in the upper Canning River, Western Australia, and implications for the control of cyanobacterial blooms using salinity. **Ecological Engineering** **16**: 359-371.
- VISSER, P. M., B. W. IBELING, B. VAN DER VEER, J. KOEDOOD & L. R. MUR, 1996. Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in lake Nieuw Meer, the Netherlands. **Freshwat. Biol.** **36**: 435-450.
- WALKER, H. L. & L. R. HIGGINBOTHAM, 2000. An aquatic bacterium that lyses cyanobacteria associated with off-flavor of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Biological Control** **18**: 71-78.

- WATANABE, M. F. & S. OISHI, 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. **Appl. Environ. Microbiol.** **49**: 1342-1344.
- WELCH E. B., J. A. BUCKLEY & R. M. BUSH, 1972. Dilution as an algal control. **J. Water Poll. Contr. Fed.** **44**: 2245-2265.
- WELCH I. M., P. R. F. BARRET, M. T. GIBSON & I. RIDGE, 1990. Barley straw as an inhibitor of algal growth I: studies in the Chesterfield Canal. **J. App. Phycol.** **2**: 231-239.
- WETZEL, R. G. & G. E. LIKENS, 1991. **Limnological Analysis**. 2<sup>a</sup> ed. Springer-Verlag, 391 p.
- YOO, R. S., W. W. CARMICHAEL, R. C. HOEHN & S. E. HRUDEY, 1995. **Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide**. AWWA Research Foundation, U.S.A., 229 pp.
- YU, S. -Z, 1995. Primary prevention of hepatocellular carcinoma. **J. Gastroenterol Hepatol.** **10**(6): 674-682.
- ZANATA, L. H., 1999. **Heterogeneidade ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana/SP), com ênfase na distribuição das populações de clarocera**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 171 pp.
- ZHANG, Y. & E. E. PREPAS, 1996. Short-term effects of Ca(OH)<sub>2</sub> additions on phytoplankton biomass: a comparison of laboratory and *in situ* experiments. **Wat. Res.** **30**: 1285-1294.
- ZILBERG, B. 1966. Gastroenteritis in Salisbury European Children – a five-year study. **Cent. Afr. J. Med.** **12**(9): 164-168.