

ALESSANDRA DELAZARI-BARROSO

“Fatores controladores do desenvolvimento do fitoplâncton em um reservatório de abastecimento público no Espírito Santo, com ênfase em cianobactérias”

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
2007

“Fatores controladores do desenvolvimento do fitoplâncton em um reservatório de abastecimento público no Espírito Santo, com ênfase em cianobactérias”

ALESSANDRA DELAZARI-BARROSO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Dra. Sandra Maria Feliciano de Oliveira e Azevedo

Co-orientadora: Dra. Vera Lúcia de Moraes Huszar

Rio de Janeiro
Outubro de 2007

“Fatores controladores do desenvolvimento do fitoplâncton em um reservatório de abastecimento público no Espírito Santo, com ênfase em cianobactérias”

ALESSANDRA DELAZARI-BARROSO

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO,
VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS

APROVADA POR:

DR. NARCISA LEAL DA CUNHA E SILVA
(PRESIDENTE DA BANCA)

DR. MARCELO MANZI MARINHO

DR. MAURO DE FREITAS REBELO

DR. OLAF MALM

DRA. VALÉRIA FREITAS DE MAGALHÃES
(REVISORA)

DRA. SANDRA MARIA FELICIANO DE OLIVEIRA E AZEVEDO
(ORIENTADORA)

Rio de Janeiro, RJ, Brasil

26 de outubro de 2007

No fundo, do real em si não conhecemos nada.

Claude Lévi-Strauss

Delazari-Barroso, Alessandra

Fatores controladores do desenvolvimento do fitoplâncton em um reservatório de abastecimento público no Espírito Santo, com ênfase em cianobactérias./ Alessandra Delazari-Barroso. – Rio de Janeiro: UFRJ / IBCCF, 2007.

xvii, 94f.:il.; 30 cm.

Orientadora: Sandra Maria Feliciano de Oliveira e Azevedo.

Tese (Doutorado) - UFRJ / IBCCF / Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2007.

Referências Bibliográficas: f. 82-94.

1. Ecologia do fitoplâncton. 2. Reservatório tropical. 3. Cianobactérias. 4. *Cylindrospermopsis raciborskii*. 5. Mesocosmos. I. Azevedo, Sandra Maria Feliciano de Oliveira e. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento desse projeto de pesquisa.

À Profa. Dra. Sandra M. F. O. e Azevedo pela orientação, incentivo e amizade durante a nossa convivência nesse período.

À Profa. Dra. Vera L. M. Huszar pela co-orientação e amizade, sempre com boa vontade em me ajudar na interpretação dos dados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Biofísica e ao Instituto de Biofísica por fornecerem a infra-estrutura necessária à realização deste trabalho.

À secretária do Programa de Pós-Graduação, Sandra Brito, por sua disponibilidade em ajudar a cumprir os prazos e demais obrigações institucionais.

Ao Departamento de Ecologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, por fornecer a infra-estrutura necessária para os trabalhos em campo e algumas análises em laboratório.

Ao Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal do Espírito Santo - IDAF, pela permissão de acesso à Reserva Biológica de Duas Bocas.

Aos colegas do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias, Ana Cláudia, Isabel, João, Jobson, Levi, Pedro, Ricardo e Rodrigo e também aos Prof. Valéria, Marcelo e Robson, pelo carinho e amizade que tornaram agradável a convivência no LETC.

Aos amigos Andréia, Raquel e Ronaldo pela amizade e apoio dado na finalização desse trabalho.

Aos professores da Banca Examinadora pela disponibilidade em participar e contribuir para o aprimoramento desse trabalho.

Aos meus pais, que são o meu exemplo de bondade, honestidade e amor e sem os quais eu não teria chegado a qualquer lugar.

A Deus, por ter me dado forças pra lutar nos momentos mais difíceis.

Finalmente, agradeço ao meu marido Gilberto e ao meu filhinho Guilherme, por terem suportado minha ausência e os momentos de estresse durante essa fase, e por complementarem a minha vida em todos os sentidos.

RESUMO

O conhecimento dos fatores que regulam o funcionamento dos ecossistemas lacustres tropicais ainda está em desenvolvimento. O regime físico, a disponibilidade de nutrientes e o estado trófico são assuntos relevantes na Limnologia tropical. A dinâmica dessas características foi avaliada no reservatório Duas Bocas (Espírito Santo, Brasil), um sistema de abastecimento público pequeno (0,51 km²) e raso (< 10 m), inserido numa área de conservação. Amostragens mensais foram realizadas de outubro de 2002 a setembro de 2003 para análise da comunidade fitoplanctônica e suas relações com as características dos regimes físico (luz e mistura) e químico (principalmente nutrientes). De outubro a abril, estratificação térmica e limitação por nutrientes foram registradas no epilímnio, enquanto anoxia e elevadas concentrações de nutrientes ocorreram no hipolímnio. Em maio e junho, ocorreu circulação da coluna d'água. As concentrações médias de fósforo total e clorofila *a* foram características de sistemas meso-eutróficos. A co-limitação por N e P indicou que a concentração de nutrientes, mais que a luz, regula o crescimento fitoplanctônico na maior parte do ano. Durante o período de estratificação térmica, pequenas desmídias dominantes (grupos X₃ e N) estiveram positivamente associadas à temperatura, pH e N NO₃⁻, e negativamente associadas ao fósforo total, N NH₄⁺ e razão N/P. No período de circulação, as desmídias foram substituídas por cianobactérias filamentosas não heterocitadas (S₁), associadas positivamente ao fósforo total e N NH₄⁺ e negativamente à temperatura e pH, além de *Cylindrospermopsis raciborskii* (S_n), associada positivamente com pH, fósforo total e N NO₃⁻, e negativamente com z_{eu} e N NH₄⁺. Um máximo metalimnético de biomassa composto por *Limnothrix bicudo* e *L. redekei* foi registrado no período de estabilidade térmica. De 23 de setembro a 27 de outubro de 2003, foi desenvolvido na região lacustrina, com características mesotróficas, um experimento de enriquecimento artificial com nove mesocosmos (2.200 L cada). Após adição de P PO₄⁻, N NO₃⁻ e N NH₄⁺ em intervalos de 3 dias, amostras de água para análise do fitoplâncton, clorofila *a* e nutrientes foram coletadas em cada mesocosmos e no reservatório. No início do experimento, nos mesocosmos controle, tratamentos e no reservatório, o fitoplâncton esteve dominado por desmídias, seguidas pelas cianobactérias, clorofíceas cocóides e criptofíceas. A resposta de crescimento do fitoplâncton ao enriquecimento foi mais rápida no tratamento de eutrofização longa que no de eutrofização curta. A biomassa total e a diversidade nos mesocosmos enriquecidos foram maiores que nos controles e no reservatório, embora não estatisticamente significativas. A dominância de desmídias (grupos funcionais X₃ e N) foi substituída por cianobactérias filamentosas (S_n e S₁), que mostraram uma rápida resposta de crescimento, relacionada ao aumento no pH e na turbidez da água. O crescimento de *C.*

raciborskii (S_n) foi mais pronunciado no tratamento de eutrofização curta, relacionado a elevadas temperaturas e baixo teores de amônio. As populações de desmídias cresceram significativamente após o 10º dia do experimento, o que foi relacionado a decréscimos no pH e altas taxas de reprodução em temperaturas elevadas. A entrada de nutrientes com a pluviosidade foi importante como uma fonte externa que subsidia o crescimento do fitoplâncton num reservatório com características de limitação por nutrientes, principalmente nitrogênio.

ABSTRACT

Knowledge about key forcing functions that regulate tropical freshwater ecosystems is still under development. Physical regime, nutrient availability and trophic state are some relevant issues in tropical limnology. The contribution of these factors were evaluated on the dynamics of the Duas Bocas Reservoir (DBR) (Espírito Santo State, southeastern Brazil), a small (0.51 km²) and shallow (< 10 m) water supply reservoir surrounded by a protected forest. Monthly samplings were carried out from October 2002 to September 2003 to analyze phytoplankton community focused on physical (mixing regime and light) and chemical (mainly nutrients) properties. From October to April, strong thermal stratification and nutrient limitation for phytoplankton growth in the mixing layer were registered, besides anoxia and high nutrient concentrations in the hypolimnion. In May and June, mixing events took place. The average concentrations of total phosphorus and chlorophyll *a* were in agreement with meso-eutrophic systems. Nutrient concentrations showed co-limitation by N and P, suggesting that nutrient limitation rather than light limitation regulates the phytoplankton growth in the DBR most of the time. During the stratification period, the dominant small desmids (groups X₃ and N) were positively associated with temperature, pH and N NO₃⁻ and negatively associated with total phosphorus, N NH₄⁺ and N/P ratio. On circulation period, desmids were replaced by non-heterocytic filamentous cyanobacteria (S₁), associated positively with total phosphorus and NH₄⁺ and negatively with temperature and pH, and by *Cylindrospermopsis raciborskii* (S_n), which showed significant positive correlation with pH, total phosphorus, and N NO₃⁻, and negative correlation with z_{eu} and N NH₄⁺. A metalimnetic maximum of biomass composed by *Limnothrix bicudoi* and *L. redekei* were registered during high thermal stability. From 23 September to 27 October 2003, a nutrient enrichment experiment was carried out in the lacustrine zone of the reservoir, presenting mesotrophic characteristics. Nine enclosures (2,200 L each one), were set up. After P PO₄⁻, N NO₃⁻ and N NH₄⁺ additions at three days intervals, water samples for phytoplankton, chlorophyll *a*, and nutrients were collected from each enclosure and from the reservoir. At the beginning of the experiment, phytoplankton in controls, treatments, and reservoir were dominated by picoplanktonic and nanoplanktonic desmids, followed by cyanobacteria, coccal green, and criptophytes. The phytoplankton growth response to the enrichment was more rapid at long eutrophication than that at short eutrophication treatment. Biomass and diversity in enriched enclosures were higher than at controls and water reservoir, although no statistical significances were found. The dominance of desmids (functional group X₃ and N) was replaced by filamentous cyanobacteria (groups S_n and S₁), which showed a rapid growth response related to the increasing pH values and water

turbidity. The growth of *C. raciborskii* (S_n) was more pronounced in short eutrophication treatment, where it was associated to higher temperatures and low ammonium concentrations. Desmids increased significantly after 10th day of the experiment and were related to decreasing pH and high growth rates under higher temperatures. Nutrient input from rainfall was important as external sources that improved the phytoplankton development in a reservoir with N-limitation characteristics.

Lista de figuras

Figura 1.1: Localização e mapa do reservatório Duas Bocas mostrando a estação amostral, a torre de captação de água e a estação de tratamento de águas (direita). À esquerda é mostrada a REBIO de Duas Bocas e a área de drenagem do reservatório (inferior) no estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil (superior) (o texto das figuras está em inglês, pois os artigos desse trabalho estão formatados para publicação)	10
Figura 1.2: Precipitação média mensal na região da Reserva Biológica de Duas Bocas durante o período de estudo (2002 – 2003) e médias mensais históricas (1948 – 2001)	10
Figura 3.1: Ordenação das variáveis ambientais e das amostras pela Análise de Componentes Principais nos dois primeiros eixos. Temp = temperatura da água; Turb = turbidez; Cond = condutividade elétrica; DO = oxigênio dissolvido; Chl a = clorofila <i>a</i> . P1a (círculos escuros): amostras do epilímnio no período 1; P1b (círculos escuros): amostras do fundo no período 1; P2: (círculos brancos): amostras do período 2	18
Figura 3.2: Variação sazonal da velocidade do vento e da temperatura do ar no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	18
Figura 3.3: Isolíneas de temperatura da água no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	19
Figura 3.4: Variação sazonal da camada de mistura (z_{mix}), profundidade máxima (z_{max}), zona eufótica (z_{eu}) e razão z_{eu}/z_{mix} , no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	19
Figura 3.5: Isolíneas dos valores de turbidez (a), condutividade elétrica (b), pH (c) e oxigênio dissolvido (d) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	20
Figura 3.6: Isolíneas dos valores de $N NH_4^+$ (a), $N NO_3^-$ (b), FSR (c) e SiSR (d) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	23
Figura 3.7: Isolíneas dos valores de fósforo total (a), razão atômica N/P (b) e clorofila <i>a</i> (c) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro)	24
Figura 3.8: Correlação entre os valores médios de fósforo total e clorofila <i>a</i> (ln) na camada de mistura do reservatório Duas Bocas	24
Figura 4.1: Variação sazonal da biomassa fitoplanctônica (peso fresco) no RDB, mostrando o período 1	42

Figure 4.2: Variação sazonal da contribuição relativa das classes fitoplanctônicas para a biomassa total no RDB, mostrando o período 1 (outubro a março) e o período 2 (abril a setembro)	43
Figure 4.3: (a) <i>Box-plots</i> da percentagem de limitação por nutrientes. Para todos os nutrientes, exceto SiSR, os grupos (Cy, cianobactérias; Dn, dinoflagelados; Dt, diatomáceas; Ch, crisofíceas; Gr; clorofíceas) com a mais alta (barras cheias) e mais baixa (barras vazias) constante de semi-saturação (K_m) foram considerados. Para SiSR, os outros grupos foram assumidos como tendo baixa demanda por silicato e não limitados por esse nutriente. A variação da resposta para um dado grupo fitoplanctônico é causada pela variação sazonal nas concentrações dos nutrientes. Essa variação é expressa por um <i>box-plot</i> , no qual a linha dentro das caixas é a mediana, enquanto as caixas, barras e pontos representam 75, 90 e 95 % dos dados, respectivamente. (b) Comparação da limitação para os grupos fitoplanctônicos, mostrando os valores médios de K_m para os quatro nutrientes e as cinco divisões taxonômicas do fitoplâncton (Huszar & Caraco, 1998; Marinho & Huszar, 2002)	44
Figure 4.4: Diagrama de ordenação da Análise de Correspondência Canônica (ACC) mostrando os grupos funcionais do fitoplâncton (X_3 , N, S_1 , S_n , J, L_o e Z), as variáveis ambientais (setas) que exerceram influência significativa e independente sobre a distribuição fitoplanctônica e as amostras (círculos) agrupadas por período (P1a: amostras da superfície, profundidade de Secchi e limite da zona eufótica no período 1; P1b: amostras do fundo no período 1; P2: todas as amostras do período 2)	45
Figura 4.5: Tricomas das cepas cultivadas de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , isoladas de amostras naturais do reservatório Duas Bocas, Espírito Santo (a: CyDB-1; b: CyDB-2, evidenciando heterocito e acineto)	46
Figura 4.6: Curvas de crescimento das cepas de <i>C. raciborskii</i> (CyDB-1 e CyDB-2)	46
Figura 4.7: Variação da concentração de clorofila <i>a</i> em 10^6 células nos cultivos das cepas de <i>C. raciborskii</i> (CyDB-1 e CyDB-2)	47
Figura 5.1: Vistas parciais do reservatório Duas Bocas, mostrando os mesocosmos (a, b) próximos à torre de captação de água (c) e a amostragem (d)	56
Figura 5.2: Variação na temperatura do ar ($^{\circ}$ C) e na pluviosidade (mm) durante o período experimental (os números próximos à linha pontuada representam os dias amostrais)	60
Figura 5.3: Variação na temperatura da água ($^{\circ}$ C) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	60
Figura 5.4: Variação nos valores de pH (a), condutividade elétrica (b), turbidez (c) e transparência (d) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	61

Figura 5.5: Variação nas concentrações de N NO_2^- (a), N NO_3^- (b), N NH_4^+ (c) e FSR (d) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	62
Figura 5.6: Variação nas concentrações de fósforo total (a), clorofila <i>a</i> (b) e razão N/P (c) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	63
Figura 5.7: Variação na biomassa total do fitoplâncton no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	66
Figura 5.8: Variação no índice de diversidade de Shannon e Wiener no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	67
Figura 5.9: Variação na biomassa das principais classes fitoplanctônicas no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	68
Figura 5.10: Variação da porcentagem de contribuição dos principais grupos funcionais do fitoplâncton para a biomassa total, no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental	69

Lista de tabelas

Tabela 3.1: Autovalores e porcentagem cumulativa e total da variância resultantes da ACP com as variáveis ambientais no reservatório Duas Bocas	16
Tabela 3.2: Correlações das variáveis ambientais com os eixos 1 e 2 resultantes da ACP com as variáveis ambientais no reservatório Duas Bocas	16
Tabela 3.3: Valores médios das variáveis climáticas e físicas da coluna d'água nos períodos 1 (P1) e 2 (P2). (* Diferença significativa entre P1 e P2 de acordo com o Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$)	17
Tabela 3.4: Valores médios das variáveis limnológicas e biomassa fitoplanctônica nas profundidades amostradas e nos períodos 1 (P1) e 2 (P2). (* Diferença significativa entre P1 e P2 de acordo com o Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$; ZE = limite da zona eufótica)	17
Tabela 4.1: Ocorrência e distribuição vertical, por período estudado, das classes e espécies fitoplanctônicas identificadas no RDB (veja Delazari-Barroso <i>et al.</i> , 2007)	35
Tabela 4.2: Autovalores e porcentagem cumulativa e total da variância resultantes da ACC para os sete grupos funcionais do fitoplâncton descritos no RDB	40
Tabela 4.3: Inter-relação das variáveis ambientais com a ordenação dos eixos 1 e 2, significância do teste de Monte Carlo (valores de p) e variância explicada pelas variáveis ambientais	40
Tabela 4.4: Porcentagem média, por período e em cada profundidade, dos grupos funcionais do fitoplâncton (GF) como grupos de espécies dominantes. Legendas de acordo com Reynolds (1997, 2006), Padisák & Reynolds (1998), Reynolds et al. (2002)	39
Tabela 4.5: Coeficientes de correlação de Spearman entre a biomassa dos principais grupos funcionais do fitoplâncton e as variáveis Z_{eu} , Z_{eu}/Z_{mix} , temperatura (T), pH, fósforo solúvel reativo (FSR), fósforo total (TP), amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e razão N/P (apenas as correlações significantes são apresentadas; $p < 0,05$)	40
Tabela 4.6: Parâmetros de crescimento das culturas de duas cepas de <i>C. raciborskii</i> , sob intensidade luminosa de $40 \mu\text{moles f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	41
Tabela 5.1: Concentrações de nutrientes em cada adição e em cada tratamento durante o experimento de enriquecimento artificial, realizado em setembro e outubro de 2003, no reservatório Duas Bocas, Espírito Santo (C: controles, SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa)	56
Tabela 5.2: Valores médios das variáveis ambientais registradas nos mesocosmos e no reservatório (SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa)	59

Tabela 5.3: Contribuição média (%) dos grupos funcionais do fitoplâncton (GF) para a biomassa total nos mesocosmos e no reservatório (SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa)	66
---	----

SUMÁRIO

1 Introdução	1
1.1 Considerações sobre a limnologia de lagos e reservatórios	1
1.2 Comunidade fitoplanctônica	3
1.3 Cianobactérias e cianotoxinas	5
1.4 Experimentos de enriquecimento artificial com nutrientes	8
1.5 Caracterização da área de estudo: o reservatório Duas Bocas	8
2 Objetivos	11
3 Capítulo 1: “Luz e nutrientes como fatores reguladores do crescimento fitoplanctônico em um reservatório tropical (Sudeste do Brasil)”	12
3.1 Material e Métodos	12
3.1.1 Área de estudo	12
3.1.2 Amostragem em campo	12
3.1.3 Análise das amostras	13
3.1.4 Análise dos dados	13
3.2 Resultados	14
3.2.1 Variáveis climáticas e regimes de luz e mistura	14
3.2.2 Condutividade, pH e oxigênio dissolvido	20
3.2.3 Nutrientes e clorofila <i>a</i>	21
3.3 Discussão	25
4 Capítulo 2: “Dominância sazonal e vertical do fitoplâncton em um reservatório tropical (Sudeste do Brasil): alternância entre desmídias e cianobactérias”	30
4.1 Material e Métodos	30
4.1.1 Amostragem em campo	30
4.1.2 Análise das amostras	30
4.1.3 Análise dos dados	30
4.1.4 Isolamento e cultivo das cepas de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	31
4.1.5 Bioensaio de toxicidade aguda e análise de toxinas	33
4.2 Resultados	33

4.2.1 Ciclo sazonal do fitoplâncton	33
4.2.2 Correlação entre o fitoplâncton e as variáveis ambientais	36
4.2.3 Cultivos das cepas de <i>C. raciborskii</i> , bioensaio de toxicidade aguda e análise de toxinas	38
4.3 Discussão	47
4.3.1 Ciclo sazonal do fitoplâncton	47
4.3.2 Diversidade e correlação das espécies com as variáveis ambientais	48
4.3.3 Grupos funcionais do fitoplâncton	52
4.3.4 Cultivos e bioensaios com as cepas de <i>C. raciborskii</i>	53
5 Capítulo 3: “Respostas do fitoplâncton ao enriquecimento por nutrientes em diferentes escalas de tempo em um reservatório de abastecimento público (Sudeste do Brasil)	55
5.1 Material e Métodos	55
5.1.1 Área de estudo	55
5.1.2 Desenho experimental e amostragem	55
5.1.3 Análise das amostras	57
5.1.4 Análise dos dados	57
5.2 Resultados	57
5.2.1 Variáveis ambientais	57
5.2.2 Respostas da comunidade fitoplanctônica	64
5.3 Discussão	70
6 Discussão geral	75
7 Conclusões	80
8 Referências	82

1 Introdução

1.1 Considerações sobre a limnologia de lagos e reservatórios

As represas são ecossistemas semelhantes aos lagos, mas vários fatores relacionados à sua dinâmica de funcionamento as diferenciam daqueles sistemas. Em lagos, as características principais são os gradientes verticais de luz, temperatura, substâncias dissolvidas e processos de produção e decomposição (Wetzel, 1981; Kimmel *et al.*, 1990). Os reservatórios apresentam, além dos gradientes verticais, gradientes horizontais físicos, químicos e biológicos que resultam da influência hidrodinâmica e morfológica da bacia de drenagem, pois esses sistemas apresentam regiões lólicas, de transição e lacustre. Sua dinâmica é regulada por funções de força físicas como o tempo de retenção e nível de flutuação da água e a estrutura térmica (Straskraba & Tundisi, 1999). Tais características estão sujeitas à ação do clima (pluviosidade, ventos e radiação solar) e à ação operacional do reservatório (Tundisi *et al.*, 1999).

O padrão térmico dos ecossistemas límnicos é controlado por fatores climáticos como a radiação solar e os ventos. O efeito das correntes geradas pelos ventos e as trocas de calor resultantes da turbulência na água são os processos mais importantes, pois influenciam o padrão de estratificação térmica (Mazumder & Taylor, 1994). A localização geográfica (latitude e altitude) e a morfometria (profundidade, área e formato da bacia lacustre) também influenciam o regime térmico de ecossistemas lacustrinos.

A tipologia de Hutchinson & Löffler (1956) para o regime térmico de lagos, revisada por Lewis (1983), indica que lagos rasos tendem a ser menos estáveis termicamente do que lagos profundos. Dependendo da sazonalidade, lagos rasos podem circular periodicamente, uma ou duas vezes por ano. Esse último padrão não é exclusivo para regiões temperadas, pois lagos tropicais profundos ou moderadamente rasos e protegidos podem ser estáveis, com apenas uma mistura por ano, que ocorre geralmente no inverno. No Brasil, por exemplo, o lago natural mais profundo (Dom Helvécio, $z_{\max} = 32,5$ m) circula somente em julho (Henry *et al.*, 1997), e mesmo lagos rasos amazônicos podem permanecer termicamente estáveis por períodos de até um (Huszar & Reynolds, 1997) a seis meses (Macintyre & Melack, 1988). Os reservatórios brasileiros, mesmo os mais profundos, geralmente apresentam circulação de inverno, sendo considerados monomíticos quentes, como o reservatório de Jurumirim ($z_{\max} = 40$ m), (Henry, 1999). Reservatórios rasos (< 10 m) e protegidos também podem apresentar forte estabilidade térmica, como o reservatório Duas Bocas (Delazari-Barroso, 2000).

O padrão de mistura da coluna d'água é um dos aspectos que resulta das interações entre fatores climatológicos, hidrológicos e geoquímicos que influenciam o estado trófico (Vollenweider & Kerekes, 1980). A determinação do estado trófico baseia-se em diversas características, como entradas e concentrações de nutrientes, produtividade, quantidade e qualidade da flora e fauna e também a morfometria do lago (Carlson, 1977), os quais fomentaram índices multiparamétricos. Em geral, é considerada a relação entre nutrientes e biomassa fitoplanctônica na determinação do estado trófico em sistemas aquáticos (Carlson, 1977; Vollenweider & Kerekes, 1980; Salas & Martino, 1991; Nürnberg, 1996). Na maioria dos casos, os dados disponíveis são referentes aos sistemas temperados (Lewis, 1987; Kalff, 2002), sendo o conhecimento sobre a relação entre nutrientes e clorofila em sistemas tropicais escasso (Lewis, 1990; Salas & Martino, 1991).

Lagos estratificados podem apresentar uma variação vertical na concentração de clorofila porque a produtividade fitoplanctônica é restrita à camada superficial iluminada (Talling & Lemoalle, 1998). Uma estratificação biológica associada à dominância de cianobactérias no metalímnio é característica de alguns lagos e reservatórios temperados (Watanabe, 1979; Konopka, 1982). O mesmo padrão de distribuição vertical de biomassa fitoplanctônica foi registrado no Brasil, na lagoa Carioca (Reynolds *et al.*, 1983) e no lago Dom Helvécio, MG (Hino *et al.*, 1986; Barbosa & Padisák, 2002). Um padrão semelhante provavelmente ocorre no reservatório Duas Bocas, ES, pois uma concentração elevada de biomassa foi registrada no metalímnio durante um período de estabilidade física da coluna d'água (Delazari-Barroso, 2000).

Embora a maioria dos sistemas aquáticos tornem-se eutrofizados devido à influências antrópicas, alguns lagos e reservatórios são naturalmente mesotróficos ou eutróficos visto que estão inseridos em bacias hidrográficas naturalmente ricas em nutrientes (Smith *et al.*, 2006). Mesmo lagos situados em bacias florestadas protegidas podem apresentar sinais de eutrofização porque a entrada de nutrientes via precipitação pode representar até 30 % da carga total (Schröder, 1991). A lixiviação da serrapilheira florestal pode ser uma fonte significativa de nutrientes para esses lagos (Lima, 2003).

Os estudos sobre a eutrofização artificial geralmente incluem o papel da limitação por nutrientes. Existem várias maneiras de se identificar a limitação por nutrientes. As mais comuns são: i) a relação entre as concentrações no sistema e o nível de requerimento das algas, expresso como as constantes de semi-saturação para o crescimento (K_s); ii) as proporções entre os nutrientes baseadas nas razões atômicas propostas por Redfield (C: N: Si: P = 106: 16: 16: 1, Redfield *et al.*, 1963); iii) os experimentos que estudam os efeitos das

adições de nutrientes; iv) através de indicadores fisiológicos, por exemplo, atividades enzimáticas, e v) o balanço de nutrientes e as correlações entre os nutrientes e a biomassa fitoplanctônica (Vollenweider & Kerekes, 1980). Neste estudo, a limitação por nutrientes foi analisada através de: i) correlação entre a biomassa (clorofila *a*) e o fósforo total; ii) as concentrações dos nutrientes dissolvidos baseadas nas constantes de semi-saturação para o crescimento (K_s) (Reynolds, 1997; 2006) e iii) experimento de adição de nutrientes.

1.2 Comunidade fitoplanctônica

A diversidade do fitoplâncton e sua distribuição nos sistemas aquáticos dependem de fatores bióticos e abióticos complexos. Os principais fatores que governam a dinâmica da comunidade fitoplanctônica são a disponibilidade de recursos, principalmente luz e nutrientes, e a extensão e frequência dos distúrbios físicos (Reynolds, 1987), além da competição e herbivoria. Embora deva ser considerado que os reservatórios apresentam gradientes horizontais que influenciam as variáveis físico-químicas e biológicas, os mecanismos que selecionam o fitoplâncton em reservatórios não são diferentes daqueles que operam em lagos (Reynolds, 1999).

A distribuição do fitoplâncton em reservatórios, além das variáveis físicas e químicas, está relacionada às correntes de advecção produzidas pela entrada dos rios e a velocidade do fluxo, às correntes de superfície produzidas pela ação do vento e às correntes produzidas pelo fluxo horizontal resultante da saída de massas d'água a várias profundidades. Essas mudanças caracterizam pulsos naturais com frequência sazonal (entradas climáticas) e pulsos irregulares decorrentes da manipulação dos níveis d'água (Tundisi, 1990). Em resposta às flutuações, uma distribuição espacial homogênea ou agregada de células do fitoplâncton pode ocorrer em função de possíveis variações localizadas de temperatura e salinidade e distribuição diferenciada dos nutrientes inorgânicos (Tundisi, 1994; Tundisi *et al.*, 1999). Reynolds (1984) destacou que a distribuição horizontal agregada, em escala de quilômetros ou dias, depende da capacidade de reprodução das populações em regiões de fontes pontuais de nutrientes ou de remoção de células (retirada de água) ou, ainda, áreas de agregação de herbívoros.

A diversidade do fitoplâncton é uma das questões mais intrigantes na Limnologia. Dentre os modelos que tentam explicar a diversidade das associações fitoplanctônicas naturais estão os modelos de equilíbrio e os de não-equilíbrio. A teoria da competição-recurso (Huisman & Weissing, 1994; 1999) prevê que, sob condições de equilíbrio ambiental, a estrutura da comunidade é determinada por fortes interações competitivas. Dentre os modelos

de não-equilíbrio, está a Hipótese dos Distúrbios Intermediários (IDH) proposta por Connel (1978) para florestas pluviais tropicais e recifes de coral, e aplicada à ecologia do fitoplâncton por Sommer *et al.* (1993) e Reynolds *et al.* (1993). Essa teoria considera fatores externos ao fitoplâncton, como predadores seletivos, heterogeneidade espacial ou a variabilidade temporal causada por flutuações climáticas, como fatores reguladores da diversidade do fitoplâncton.

Dentre os grupos fitoplanctônicos que predominam em lagos e reservatórios, a alternância entre diatomáceas e cianobactérias tem sido comumente registrada em sistemas temperados (Pádisák, 1992; Romo & Miracle, 1995; Horn & Uhlmann, 1995) e tropicais (Nogueira, 2000; Marinho & Huszar, 2002). A alternância entre desmídias e cianobactérias, encontrada no reservatório Duas Bocas (Delazari-Barroso *et al.*, 2007), foi registrada em poucos sistemas tropicais (Huszar & Reynolds, 1997). Dentre os fatores que selecionam as desmídias nos ecossistemas aquáticos, são citados o pH, a concentração de CO₂ e a turbulência na coluna d'água (Brook, 1981; Haphey-wood, 1988). Pequenas desmídias são mais abundantes em lagos meromíticos, pois a circulação da água parece ser um fator determinante para o sucesso desse grupo em lagos. Bland & Brook (1974) concluíram que em lagos fisicamente estáveis, o sucesso de pequenas desmídias (< 15 µm) na comunidade fitoplanctônica deve-se à baixa taxa de sedimentação na água. O aumento no comprimento dos processos celulares e a secreção de mucilagem conferem resistência à sedimentação (Brook, 1981).

Em lagos pobres em nutrientes, células pequenas com elevada razão superfície-volume podem ser selecionadas devido à elevada afinidade por absorção de nutrientes (baixo K_s) (Watson & Kalff, 1981; Spijkerman & Coesel, 1998). Espécies com tamanho e forma celular similares devem apresentar as mesmas estratégias de crescimento e sobrevivência (Reynolds, 1997; 2006). Nesse sentido, Reynolds propôs a abordagem dos grupos funcionais, que agrupa espécies com morfologia, sensibilidade e tolerância ambientais similares, o que possibilitaria entender e prever a distribuição e dinâmica das populações naturais de fitoplâncton (Reynolds *et al.* 2002; Reynolds, 2006). Os grupos funcionais são codificados alfa-numericamente de A a Z. A aplicabilidade dessa abordagem tem sido testada tanto em sistemas temperados (Huszar & Caraco, 1998; Huszar *et al.*, 2003) como em tropicais (Huszar *et al.*, 2000, Marinho & Huszar, 2002; Lopes *et al.*, 2005). Essa classificação funcional tem sido comparada à classificação taxonômica clássica (Huszar & Caraco, 1998; Kruk *et al.*, 2002). Segundo Kruk *et al.* 2002, comunidades diversas e dinâmicas podem ser descritas de forma

mais apropriada usando-se a classificação baseada nos grupos funcionais das espécies presentes.

1.3 Cianobactérias e cianotoxinas

O sucesso das cianobactérias em lagos e reservatórios tem sido relacionado a diversos fatores, sendo a estabilidade física da coluna d'água, temperaturas elevadas e o pH, citados como os principais (Paerl, 1988; Shapiro, 1990). As cianobactérias têm sido citadas como o grupo predominante em sistemas eutrofizados. O desenvolvimento de adaptações morfológicas como vesículas gasosas, que possibilitam a migração na coluna d'água, a capacidade de fixação de nitrogênio, de estocar fósforo e a heterotrofia possibilitam às cianobactérias sua dominância na comunidade fitoplanctônica sob condições físicas estáveis, desenvolvendo densas florações em ambientes ricos em nutrientes. Esse processo é visto como um mecanismo adaptativo direcionado à utilização ótima dos recursos ambientais, ao mesmo tempo em que reduz a luminosidade para outras populações algais potencialmente competidoras (Reynolds, 1984; 1997).

A ocorrência de florações de cianobactérias vem sendo intensificada com a crescente eutrofização dos ambientes aquáticos e tem sido um problema preocupante em áreas densamente habitadas, pois vários gêneros são capazes de formar florações e produzir toxinas que podem afetar a saúde animal e humana (Gorham & Carmichael, 1980; Carmichael, 1994; Falconer, 1996).

As toxinas produzidas por cianobactérias são metabólitos secundários cuja função natural ainda não está clara. Apesar de sintetizados em ambientes aquáticos, parecem ser mais nocivas a mamíferos terrestres do que à biota aquática (Chorus & Bartram, 1999). São compostos classificados por sua ação sobre determinados órgãos ou tecidos: hepatotóxicas, neurotóxicas, dermatotóxicas e as inibidoras da síntese protéica. As hepatotoxinas são de natureza peptídica e as mais comuns são a microcistina (MCYS), encontrada pela primeira vez em *Microcystis aeruginosa* (Santikarn *et al.*, *apud* Carmichael, 1992) e produzida pelos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Hapalosiphon* e *Anabaenopsis* (Chorus & Bartram, 1999), e a nodularina (NODLN), caracterizada primeiramente em *Nodularia spumigena* (Sivonen *et al.*, 1990 e Namikoshi *et al.*, 1991, *apud* Carmichael, 1992). A cilindrospermopsina (CYN), também hepatotóxica, é um alcalóide citotóxico que bloqueia a síntese protéica com maior ação sobre as células do fígado, mas também pode causar danos ao tecido linfóide, aos rins, baço, timo e coração (Chorus & Bartram, 1999). Foi caracterizada primeiramente em *Cylindrospermopsis raciborskii* (Harada *et al.*, 1994 e Ohtani *et al.*, 1992,

apud Sivonen, 1996); mas pode ser produzida também pelos gêneros *Aphanizomenon* e *Umezakia*. Em bioensaios com camundongos, as hepatotoxinas são promotoras de tumores carcinogênicos (Lahti, 1997) e, em doses agudas, causam a morte em poucas horas por hemorragia hepática (Chorus & Bartram, 1999).

As neurotoxinas são compostos alcalóides que agem sobre as sinapses nervosas, provocando paralisia dos músculos. A anatoxina-a, encontrada em *Anabaena*, *Oscillatoria* e *Aphanizomenon*, e a homoanatoxina-a, encontrada em *Oscillatoria*, mimetizam a ação da acetilcolina. A anatoxina-a(s), encontrada em *Anabaena*, é uma anticolinesterase. As saxitoxinas, conhecidas como PSP (“paralytic shellfish poisoning”), são encontradas em *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis* (Chorus & Bartram, 1999) e são potentes bloqueadoras dos canais de sódio.

As dermatotoxinas, encontradas em cianobactérias marinhas bentônicas, também são compostos alcalóides que causam dermatites por contato com os filamentos. A atividade inflamatória causada por *Lyngbya* deve-se à ação das aplysiatoxinas e debromoaplysiatoxinas, que são causadoras de tumores (Mynderse *et al.* 1977, *apud* Chorus & Bartram, 1999). A ingestão de água com filamentos de *Lyngbya majuscula*, que produz a lyngbyatoxina-a, pode causar danos gastrintestinais (Cardelina *et al.*, 1979, *apud* Chorus & Bartram, 1999). Existem, ainda, toxinas irritantes que são lipopolissacarídeos (LPS). Foram isoladas pela primeira vez em *Anacystis nidulans*. Essas toxinas causam irritações e alergias na pele de mamíferos e humanos (Chorus & Bartram, 1999).

Estudos em várias regiões do mundo mostraram que a maioria das florações apresenta gêneros tóxicos (Skulberg *et al.*, 1994). Nos ambientes límnicos mesotróficos a oligotróficos, as florações tóxicas mais nocivas são de *Microcystis aeruginosa*, que geralmente predomina como única espécie na floração. Em águas hipereutróficas ocorrem florações tóxicas com mais de uma espécie, destacando-se as espécies de *Anabaena*, que é um gênero cosmopolita e sintetiza a maioria das toxinas conhecidas. Em águas salobras e marinhas, as florações localizam-se em áreas costeiras e estuarinas, mais ricas em nutrientes e com temperatura elevada. Aí se destacam os gêneros *Trichodesmium* e *Nodularia* (Chorus & Bartram, 1999).

As cianobactérias tóxicas têm recebido especial atenção, pois vários casos de intoxicação e morte de animais já foram relatados (Carmichael, 1994; Hammer, 1958; Lanaras *et al.*, 1989). Da mesma forma, a ingestão de água contaminada com cianotoxinas pode causar sérios danos à saúde humana, o que vem tornando-se um problema de saúde pública. Alguns casos de gastroenterites já foram registrados nos Estados Unidos, Inglaterra, África e Austrália (Falconer, 1998). Na China, a correlação entre casos de câncer de fígado e

a utilização de fontes de água comprometidas com florações têm sido investigada (Yu, 1994, *apud* Lahti, 1997). O caso mais drástico de intoxicação humana aconteceu no Brasil em 1996, em Caruaru (Recife). A água utilizada para o tratamento de hemodiálise, contaminada por microcistinas, levou 60 pacientes à morte devido à falência hepática (Jochimsen *et al.*, 1998; Carmichael *et al.*, 2001). Em função desse episódio, durante a revisão da portaria 36/90 e elaboração da portaria 1469, a atual Portaria 518, ambas do Ministério da Saúde, foi decidido incluir-se o monitoramento de cianobactérias e análises de cianotoxinas como parâmetros de qualidade da água potável para consumo humano.

Um gênero que vêm causando grande preocupação é *Cylindrospermopsis*, principalmente a espécie *C. raciborskii*, por sua capacidade de formar florações e produzir toxinas. É uma espécie considerada invasora, pois possui uma capacidade adaptativa elevada e vem predominando em vários corpos d'água no mundo (Falconer, 1996). O sucesso dessa espécie pode ser atribuído a diversos fatores, dentre eles, a habilidade de flutuar, que permite sua migração na coluna d'água, a tolerância a baixas intensidades luminosas, a capacidade de fixar nitrogênio e de estocar fósforo e a resistência à predação pelo zooplâncton (Padisák, 1997).

Florações de *C. raciborskii* vêm ocorrendo em vários sistemas de abastecimento no Brasil (Branco & Senna, 1994; Bouvy *et al.*, 1999; Pedroza & Rezende, 1999; Jardim *et al.*, 1999). Várias cepas dessa espécie, isoladas em outros países, já foram caracterizadas como hepatotóxicas e foi registrado no Brasil o primeiro caso de produção de saxitoxinas por *C. raciborskii* (Lagos *et al.*, 1999). Esse gênero tem sido encontrado como dominante não apenas em reservatórios eutróficos, mas também em ambientes ainda preservados como a lagoa do Peri, em Santa Catarina (Komarkóva *et al.*, 1999). A ocorrência de *C. raciborskii* já foi registrada no reservatório Duas Bocas, no Espírito Santo (Delazari-Barroso *et al.*, 2007). Esse reservatório abastece um dos municípios da Grande Vitória e não apresenta características de eutrofização artificial, porém *C. raciborskii* é uma espécie abundante no inverno e no verão. Foram registrados também, gêneros potencialmente tóxicos, como *Pseudanabaena*, *Microcystis* e *Coelosphaerium*, porém de ocorrência rara (Delazari-Barroso *et al.*, 2007).

1.4 Experimentos de enriquecimento artificial com nutrientes

O papel da limitação por nutrientes tem sido considerado como um fator chave no estudo da eutrofização (Smith *et al.*, 2006). Embora o fósforo seja considerado como o principal nutriente limitante, a importância do nitrogênio nesse processo tem sido considerada em sistemas temperados (Elser *et al.*, 1990). Também tem sido sugerido o nitrogênio como o

principal nutriente limitante em sistemas tropicais, porque a denitrificação é maior sob temperaturas elevadas (Fisher *et al.*, 1995; Lewis, 2002). Dentre as maneiras para acessar a limitação por nutrientes estão os experimentos que analisam os efeitos da adição de nutrientes.

As pesquisas que envolvem o crescimento do fitoplâncton e a limitação por nutrientes direcionam-se no sentido de elucidar como essa relação implica no aumento da eutrofização (Smith *et al.*, 2006). Dentre os vários modos de se identificar a limitação por nutrientes (Fisher *et al.*, 1995) estão os experimentos que analisam o efeito da adição de nutrientes sobre a comunidade fitoplanctônica.

Experimentos de enriquecimento por nutrientes têm sido realizados tanto em regiões tropicais (Henry *et al.*, 1984; Setaro & Melack 1984; Anton *et al.* 1996; Gomes, 2005) como temperadas (Cowell & Dawes, 1991; Cottingham *et al.*, 1997; Romo & Villena, 2005; Hessen *et al.*, 2006) com o objetivo de analisar as respostas de crescimento do fitoplâncton bem como as interações tróficas. Os resultados são expressos como mudanças na biomassa fitoplanctônica e/ou no número de células das espécies presentes ou como mudanças qualitativas que envolvem a seleção de algumas espécies em detrimento de outras. A resposta de crescimento do fitoplâncton ao incremento de nutrientes, embora seja previsível, é complexa (Pollinger *et al.*, 1988), pois os mecanismos envolvidos na determinação da estrutura da comunidade reúnem aspectos físico-químicos da água e interações competitivas e tróficas (Lynch & Shapiro, 1981).

Existem poucos estudos sobre as respostas de crescimento do fitoplâncton ao enriquecimento por nutrientes em reservatórios de abastecimento no Brasil, principalmente em sistemas inseridos em áreas preservadas. O desenvolvimento de pesquisas nessa área torna-se muito importante, pois representa uma ferramenta para entender as mudanças na comunidade fitoplanctônica em processos de eutrofização artificial e as possíveis conseqüências para a qualidade da água, podendo ser uma ferramenta útil para previsão e/ou manejo ambiental permitindo tomadas de decisão com maior embasamento científico.

1.5 Caracterização da área de estudo: o reservatório Duas Bocas

O reservatório Duas Bocas (RDB) (20°18' S e 40°28' W) foi construído na década de 1930 com o represamento do rio Duas Bocas, tributário do rio Santa Maria da Vitória, principal manancial de abastecimento da região de Vitória, ES. A região superior da bacia de drenagem do rio Duas Bocas foi declarada Reserva Florestal em 1965. Essa categoria de

manejo foi redefinida em 1991, originando a Reserva Biológica (REBIO) de Duas Bocas, com 2.910 ha em altitudes que variam de 200 a 800 m. A cobertura vegetal é representada por Mata Atlântica primária e secundária. Com uma extensão aproximada de 6 km dentro da reserva, o rio Duas Bocas foi represado em 1936 com a finalidade de fornecer água para abastecimento da capital do Espírito Santo, originando o reservatório a 200 m de altitude (figura 1.1). O vertedouro para abastecimento apresenta tubulações em três profundidades. A vazão máxima é 250 L s^{-1} .

Segundo a classificação de tamanho proposta pela *International Commission on Large Dams* (ICOLD) (Straskraba & Tundisi, 1999), Duas Bocas é um reservatório de pequeno porte ($z_{\text{max}} = 10 \text{ m}$ e $z_{\text{med}} = 4,3 \text{ m}$), com $0,51 \text{ km}^2$ de área e $2,0 \times 10^6 \text{ m}^3$ de volume de água. Os principais tributários do reservatório são os córregos Pau Amarelo e Naiaçú, com área de drenagem de 1.520,0 e 443,0 ha, respectivamente, e o córrego Panelas, para o qual não há dados publicados. Esses tributários têm comportamento hidrológico perene. O córrego Pau Amarelo apresenta vazão média de $0,14 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Perrone, 1995) e o córrego Naiaçú, de $0,05 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Marchioro, 1996).

A região da REBIO de Duas Bocas é caracterizada por clima quente e úmido, com uma estação chuvosa entre outubro e março (figura 1.2). A temperatura do ar média anual é de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ e a pluviosidade média anual é de 1.306 mm. Ventos de quadrante norte e nordeste (N/NE) predominam durante a primavera e o verão e ventos de sudoeste e sul (SW/S), associados à frentes frias, predominam no outono e no inverno. Ambos incidem perpendicularmente ao maior eixo do reservatório (1.607 m).

Atualmente, o RDB é destinado ao abastecimento de água para cerca de 25 % da demanda do município de Cariacica (Grande Vitória). A bacia de drenagem do reservatório não sofre influências antrópicas, pois se encontra dentro dos limites da REBIO de Duas Bocas. Ainda em bom estado de conservação, o reservatório constitui um laboratório natural para a realização de pesquisas básicas e aplicadas, relacionadas ao abastecimento público, principal uso desse manancial hídrico.

Apesar do bom estado de conservação da bacia de drenagem do reservatório, ficou evidenciada a predominação de cianobactérias potencialmente tóxicas em estudos anteriores (Delazari-Barroso, 2000; Delazari-Barroso *et al.*, 2007) e, portanto, este estudo representa uma oportunidade ímpar para uma melhor compreensão dos processos determinantes da dominância de cianobactérias em sistemas de abastecimento público sem a influência de impactos antrópicos.

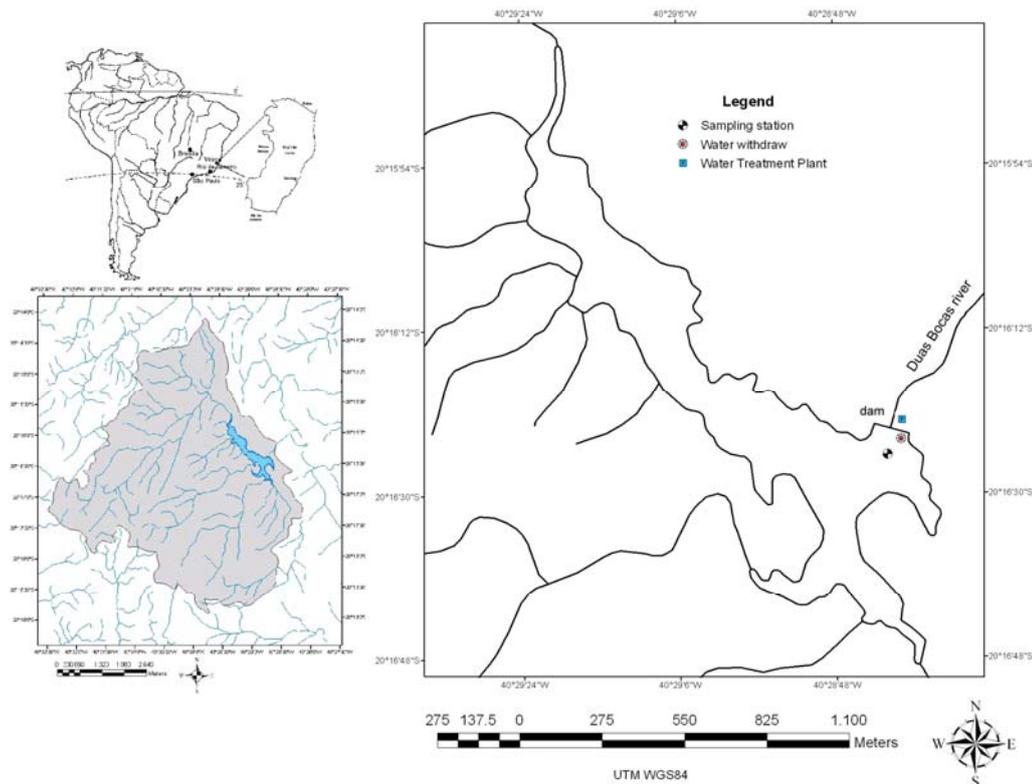


Figura 1.1: Localização e mapa do reservatório Duas Bocas mostrando a estação amostral, a torre de captação de água e a estação de tratamento de águas (direita). À esquerda é mostrada a REBIO de Duas Bocas e a área de drenagem do reservatório (inferior) no estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil (superior) (o texto das figuras está em inglês pois os artigos desse trabalho estão formatados para publicação).

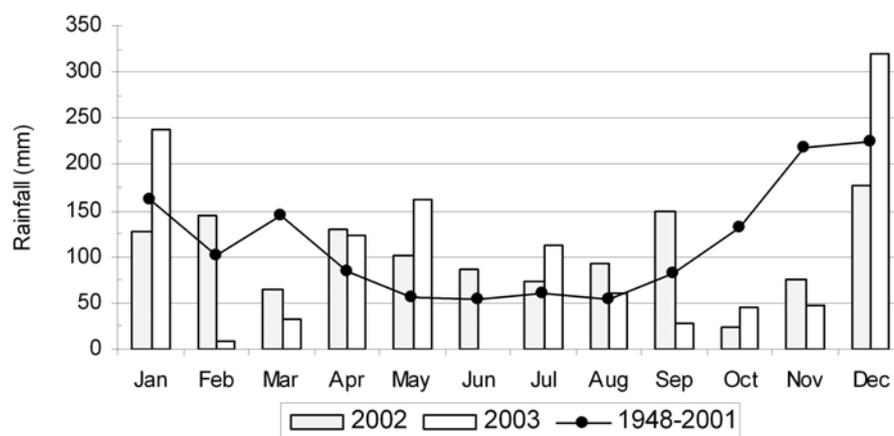


Figura 1.2: Precipitação média mensal na região da Reserva Biológica de Duas Bocas durante o período de estudo (2002 – 2003) e médias mensais históricas (1948 – 2001).

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Analisar a ocorrência das cianobactérias e das outras classes fitoplanctônicas no reservatório Duas Bocas em um ciclo anual, testar o potencial tóxico de *Cylindrospermopsis raciborskii* e analisar o desenvolvimento da comunidade frente ao enriquecimento artificial da zona eufótica com nitrogênio e fósforo.

2.2 Objetivos específicos

Este estudo foi organizado em capítulos com seus respectivos objetivos específicos e hipóteses investigadas, baseadas em dados prévios do reservatório Duas Bocas.

Capítulo 1

1 Caracterizar o padrão de estratificação térmica e circulação e o estado trófico do reservatório Duas Bocas.

3 Analisar a relação entre os regimes de luz e nutrientes e a biomassa fitoplanctônica.

As seguintes hipóteses foram investigadas: i) o reservatório apresenta longos períodos de estratificação térmica devido ao formato de sua bacia e posição geográfica em relação ao vento; ii) um máximo metalimnético de biomassa fitoplanctônica desenvolve-se durante o período de estratificação térmica; iii) o nitrogênio é o principal nutriente limitante.

Capítulo 2

1 Caracterizar a dinâmica de variação das classes fitoplanctônicas num ciclo hidrológico completo, correlacionando-a às variáveis ambientais e utilizando-se também a abordagem dos grupos funcionais.

2 Descrever o regime de ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* no reservatório, caracterizar as curvas de crescimentos de cepas isoladas da espécie sob condições de cultivo e testar seu potencial tóxico através de bioensaios e análises químicas.

As seguintes hipóteses foram investigadas: i) as desmídias e cianobactérias são predominantes na comunidade fitoplanctônica do reservatório Duas Bocas; ii) *Cylindrospermopsis raciborskii* é uma das cianobactérias abundantes durante todo o ano.

Capítulo 3

- 1 Simular condições de eutrofia em experimentos de enriquecimento com nitrogênio e fósforo (mesocosmos) e analisar as respostas do fitoplâncton em termos de crescimento e composição específica.
- 2 Identificar os fatores controladores do desenvolvimento das cianobactérias e possíveis indicadores da ocorrência de florações.
- 3 Contribuir para o conhecimento da ecologia das cianobactérias em ambientes bem preservados.

As seguintes hipóteses foram investigadas: i) existe limitação por nutrientes ao crescimento fitoplanctônico no reservatório Duas Bocas; ii) as cianobactérias são o principal grupo a responder ao enriquecimento artificial, desenvolvendo florações.

Participaram desse estudo:

Alessandra Delazari-Barroso e Dra. Sandra Maria Feliciano de Oliveira e Azevedo
Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias/LETC - IBCCF - UFRJ

Dra. Vera Lúcia de Moraes Huszar
Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, Museu Nacional - UFRJ

Dr. Gilberto Fonseca Barroso
Laboratório de Limnologia e Planejamento Ambiental, DERN - UFES

3 Capítulo 1: “Luz e nutrientes como fatores reguladores do crescimento fitoplanctônico em um reservatório tropical (Sudeste do Brasil)”

3.1 Material e Métodos

3.1.1 Área de estudo

Este trabalho foi desenvolvido na região lacustrina do reservatório Duas Bocas, cujas características estão descritas no item 1.5, na região mais profunda (10 m).

3.1.2 Amostragem em campo

Foi determinada uma estação amostral no reservatório, próxima ao ponto de captação de água (figura 1.1). Foram realizadas amostragens mensais no período de outubro de 2002 a setembro de 2003, em quatro profundidades; sub-superfície, profundidade do disco de Secchi, limite da zona eufótica (profundidade que apresentava 1% da radiação incidente) e fundo da coluna d'água (0,5 m acima do sedimento). Os perfis verticais de temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica, analisados com um aparelho multiparâmetros WTW, foram determinados verticalmente com medições em intervalos de 0,5 m. As amostras de água para determinação dos nutrientes dissolvidos, turbidez e clorofila *a* foram tomadas com garrafa de Van Dorn (5 L) nas quatro profundidades amostradas.

As variáveis climáticas temperatura do ar e pluviosidade (valores diários e médias mensais), foram obtidas junto à Estação Meteorológica da Empresa Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (EMCAPER), localizada em 20° 23' S e 40° 31' W (ES). A velocidade e a direção do vento foram estimadas *in situ* com uso de anemômetro digital e bússola.

3.1.3 Análise das amostras

Amostras de água filtradas (fibra de vidro Wathman GF/A) foram usadas para determinação dos nutrientes inorgânicos dissolvidos. Todas as análises foram realizadas por determinações em espectrofotômetro (Shimadzu UV-VIS mini 1240) seguindo as técnicas básicas descritas em APHA (1995). As concentrações de nitrito (N NO_2^-) foram analisadas através da reação com sulfamilamida diazotada e *n*-(1-naphtyl)-ethylenediamina dihidroclorato. A determinação do nitrato (N NO_3^-) seguiu o método da redução em coluna de cádmio e a de amônio (N NH_4^+), o método do indofenol.

Para análise de fósforo solúvel reativo (FSR – P PO₄) foi utilizado o método fosfomolibdico com redução pelo ácido ascórbico, e para silicato solúvel reativo (SiSR), o método da reação com heptamolibdato de amônio. A razão N/P foi calculada como a razão atômica entre nitrogênio inorgânico dissolvido (NID = N NO₂⁻ + N NO₃⁻ + N NH₄⁺) e FSR.

As amostras de água para análise de clorofila *a*, como estimativa da biomassa fitoplanctônica, foram filtradas em filtros de fibra de vidro (Wathman GF/A). A extração dos pigmentos foi realizada com acetona 90 % e os resultados foram obtidos através do método espectrofotométrico (Lorenzen, 1967). A razão clorofila/feopigmentos foi calculada como um indicativo funcional dos pigmentos (Margalef, 1983), refletindo o estado fisiológico da comunidade fitoplanctônica.

3.1.4 Análise dos dados

A zona eufótica (z_{eu}) foi calculada multiplicando-se o valor da profundidade do disco de Secchi por 2,7 e a camada de mistura (z_{mix}) foi definida de acordo com a resistência térmica relativa (RTR) à mistura (Cole, 1994). A termoclina foi detectada quando havia gradiente vertical de temperatura na coluna d'água acima de 0,5 °C m⁻¹. A estabilidade física foi determinada através do cálculo do número de Wedderburn (W), que integra o comprimento efetivo do corpo d'água, a profundidade da camada de mistura, a densidade da água nos limites superior e inferior da termoclina e a velocidade do vento (Imberger & Hamblin, 1982). A disponibilidade de luz na camada de mistura foi estimada através da razão (z_{eu}/z_{mix}) (Jensen *et al.*, 1994). A relação entre fósforo total e clorofila na zona eufótica foi acessada através de regressão linear com os dados logaritmizados (ln).

O teste não paramétrico de Mann-Whitney's U-test foi aplicado para testar se existiram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos, para as variáveis analisadas. A Análise de Componentes Principais (ACP) foi utilizada para ordenação das amostras. As variáveis descritoras foram: temperatura da água, z_{eu} , z_{eu}/z_{mix} , turbidez, condutividade elétrica, pH, oxigênio dissolvido, N NH₄⁺, N NO₃⁻, FSR, SiSR, fósforo total, razão N/P e clorofila *a*. Os dados foram centrados e padronizados. As correlações entre os dois primeiros eixos com as variáveis foram consideradas significantes quando as distâncias do centro do plano foram $d > \sqrt{2/n}$, onde n = número de variáveis (Legendre & Legendre, 1998). Nesse caso, $d > 0,38$.

3.2 Resultados

As figuras apresentadas estão com texto em inglês, pois os artigos já estão formatados para publicação em periódicos internacionais.

3.2.1 Variáveis climáticas e regimes de luz e mistura

De acordo com dados históricos, de 1948 a 2001 (figura 1.2), a pluviosidade média anual para a área estudada é de 1.306 mm, com a estação chuvosa (164 mm em média) estendendo-se de outubro a março e a estação seca (65 mm em média), de abril a setembro. Historicamente, os meses mais chuvosos são dezembro e janeiro e os mais secos, julho e setembro.

Durante esse estudo, as estações seca e chuvosa foram caracterizadas com valores de pluviosidade abaixo da média histórica. Os totais anuais de pluviosidade foram de 1.246 e 1.178 mm para 2002 e 2003, respectivamente.

Os dados limnológicos também apresentaram um padrão sazonal, como mostrado pela ACP (figura 3.1). Foram identificados 2 períodos: o período 1 (outubro de 2002 a abril de 2003) e o período 2 (maio a setembro de 2003), que foram discriminados pelo eixo 2 da ACP. O eixo 1 mostrou a segregação das camadas na coluna d'água, característica do período 1. Os dois primeiros componentes explicaram 55,9 % da variância dos dados, com o eixo 1 contribuindo com 32,9 % e o eixo 2, com 22,9 % (tabela 3.1). O grupo 1a (figura 3.1) foi associado ao oxigênio dissolvido e à temperatura, o grupo 1b foi associado ao $N NH_4^+$, à turbidez e à condutividade, e o grupo 2 ao fósforo total, $N NO_3^-$, SiSR e pH (tabela 3.2). O primeiro componente da ACP mostrou a heterogeneidade da coluna d'água durante o período de estabilidade térmica, quando a zona eufótica foi caracterizada por altas temperaturas e elevadas concentrações de oxigênio dissolvido e as águas do fundo anóxicas e ricas em nitrogênio (i.e., amônio), com valores maiores valores de turbidez e condutividade. O segundo componente da ACP indicou a homogeneidade da coluna d'água durante o período de circulação, com predominância de concentrações maiores de fósforo total, nitrato e clorofila *a*.

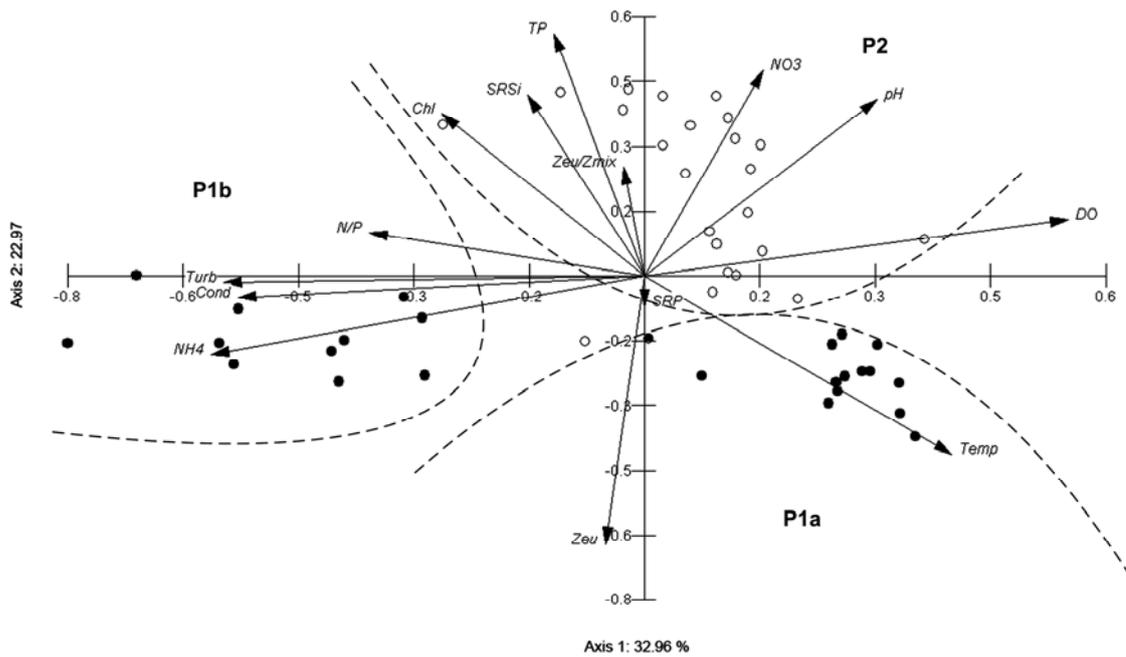


Figura 3.1: Ordenação das variáveis ambientais e das amostras pela Análise de Componentes Principais nos dois primeiros eixos. Temp = temperatura da água; Turb = turbidez; Cond = condutividade elétrica; DO = oxigênio dissolvido; Chl a = clorofila *a*; TP = fósforo total. P1a (círculos cheios): amostras do epilânio no período 1; P1b (círculos cheios): amostras do fundo no período 1; P2: (círculos vazios): amostras do período 2.

Tabela 3.1: Autovalores e porcentagem cumulativa e total da variância resultantes da ACP com as variáveis ambientais no reservatório Duas Bocas.

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores	4,61	3,21
Porcentagem total	32,96	22,97
Porcentagem cumulativa	32,96	55,93

Tabela 3.2: Correlações das variáveis ambientais com os eixos 1 e 2 resultantes da ACP com as variáveis ambientais no reservatório Duas Bocas.

	Eixo 1	Eixo 2
Z_{eu}	-0,039	-0,475
Z_{eu}/z_{mix}	-0,021	0,194
Temperatura	0,305	-0,315
Turbidez	-0,418	-0,011
Condutividade elétrica	-0,404	-0,037
pH	0,231	0,312
Oxigênio dissolvido	0,421	0,100
SiSR	-0,116	0,320
N NH_4^+	-0,431	-0,138
N NO_3^-	0,118	0,363
FSR	0,000	-0,054
Fósforo total	-0,090	0,429
Clorofila <i>a</i>	-0,201	0,287
Razão N/P	-0,273	0,077

Os valores de velocidade do vento foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) para os dois períodos estudados (tabela 3.3). Ventos de quadrante NE/E prevaleceram durante o estudo, com velocidades alcançando $9,7 \text{ m s}^{-1}$ (figura 3.2). Ventos SW/S (até $6,7 \text{ m s}^{-1}$) incidiram em dezembro, janeiro e julho.

Tabela 3.3: Valores médios das variáveis climáticas e físicas da coluna d'água nos períodos 1 (P1) e 2 (P2). (* Diferença significativa entre P1 e P2 de acordo com o Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

	P1	P2
Pluviosidade (mm)	97,1	72,4
Velocidade do vento (m s^{-1})	6,9*	4,4*
Z_{mix} (m)	2,6	4,0
Transparência (m)	1,6*	1,0*
Z_{eu} (m)	4,4*	2,7*
Z_{eu}/z_{mix}	2,0	1,7

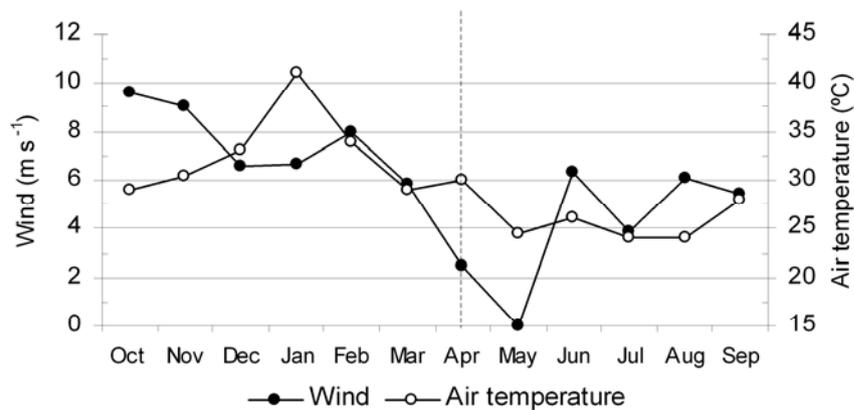


Figura 3.2: Variação sazonal da velocidade do vento e da temperatura do ar no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

A temperatura média da água foi significativamente maior ($p < 0,05$) no período 1 (tabela 3.4), com valores até 30,3 °C no epilímnio. Os perfis verticais de temperatura mostraram estratificação térmica de outubro a abril (figura 3.3), com gradientes de temperatura entre a superfície e o fundo de 5,1 to 7,6 °C. A maior descontinuidade dos gradientes de densidade, mostrado pela resistência térmica relativa à mistura, ocorreu em dezembro (107,4 a 4,0 m de profundidade), mas a maior estabilidade na coluna d'água foi encontrada em março ($W = 2,45$). No período 1, a camada de mistura alcançou 4 m (figura 3.4) com o número médio de Wedderburn indicando alta estabilidade térmica ($1,5 \pm 0,5$). Uma tendência ao aprofundamento da termoclina e aumento na camada de mistura ocorreu em dezembro, fevereiro e março. Em março, quando a camada de mistura alcançou 4 m, a maior resistência à mistura (59,6) foi encontrada a 5 m de profundidade. Essa variação na espessura do epilímnio foi considerada como atelomixia.

O período 2 foi caracterizado por baixos gradientes verticais de temperatura (0,8 a 2,4 °C) e baixa estabilidade térmica ($W = 0,2 \pm 0,2$ e $RTR < 18$). Em maio e junho, a camada de mistura se estendeu até o hipolímnio (figura 3.4), caracterizando um período de circulação, quando baixas temperatura foram observadas em toda a coluna d'água (23 - 24 °C). Em julho, a estratificação foi restabelecida com a termoclina se desenvolvendo a partir de 1 m e permanecendo até setembro. Assim, o regime térmico foi caracterizado como monomítico quente, com alta estabilidade térmica de outubro a abril e baixa de maio a setembro, com circulação em maio e junho.

Tabela 3.4: Valores das medianas das variáveis limnológicas e biomassa fitoplanctônica nas profundidades amostradas e nos períodos 1 (P1) e 2 (P2). (* Diferença significativa entre P1 e P2 de acordo com o Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$; ZE = limite da zona eufótica).

	Superfície		Prof. Secchi		ZE		Fundo		n total
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	
Temperatura da água (°C)	29,1*	24,4*	28,4*	24,0*	24,5	23,5	22,9	23,1	216
Turbidez (UNT)	2,3*	4,8*	2,5*	5,0*	12,2	5,1	16,7*	7,5*	48
Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	37,0	42,3	37,0*	42,0*	41,1	42,6	84,0*	51,0*	216
pH	6,6	7,2	6,6	7,2	6,1*	6,9*	6,1*	6,3*	216
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	8,2	8,1	8,9	8,5	3,5	7,5	0,0*	0,7*	216
N NH_4^+ (μM)	1,0	0,9	0,7	0,6	15,9	1,2	100,7*	14,0*	48
N NO_2^- (μM)	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	48
N NO_3^- (μM)	0,4	1,4	0,5*	1,5*	0,6*	1,1*	0,4*	0,8*	48
NID (μM)	1,9	2,5	1,5	3,1	13,2*	2,7*	116,2*	13,5*	48
FSR (μM)	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,2	48
Fósforo total (μM)	0,4*	1,9*	0,4*	2,3*	0,8	2,3	1,1	2,8	48
SiSR (μM)	7,7	12,0	5,9	8,9	3,8*	13,4*	12,1	19,2	48
NID/FSR (atômica)	8,9	9,8	11,3*	29,5*	75,2*	6,8*	467,4*	106,4*	48
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	4,6*	16,0*	6,0*	20,0*	24,1	20,0	18,7	16,9	48

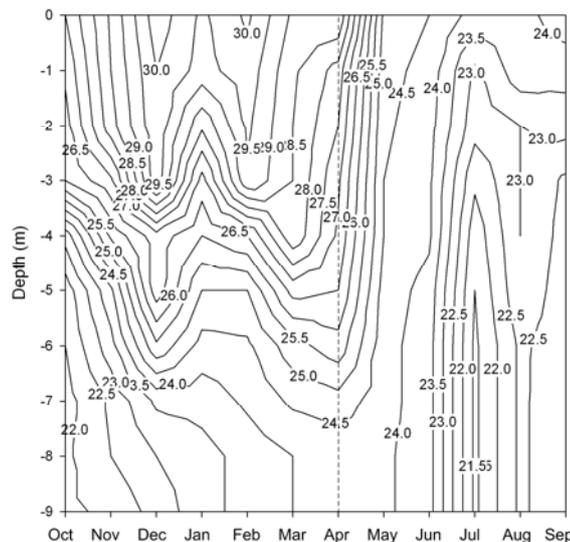


Figura 3.3: Isolíneas de temperatura da água no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

A zona eufótica foi significativamente maior ($p < 0,05$) no período 1 ($4,4 \pm 0,7$ m) que no período 2 ($2,7 \pm 0,3$ m). A razão z_{eu}/z_{mix} indicou uma extensão da zona eufótica abaixo do epilimnio, com exceção de maio e junho (figura 3.4), caracterizando uma tendência à limitação por luz durante o período de circulação. Considerando a razão z_{eu}/z_{max} , 47 % da coluna d'água, em média, esteve iluminada. A turbidez foi significativamente diferente ($p < 0,05$) para os dois períodos e todas as profundidades, exceto no limite da zona eufótica. Os valores médios foram maiores na superfície e profundidade de Secchi, no período 2 (tabela 3.3, figura 3.5 a).

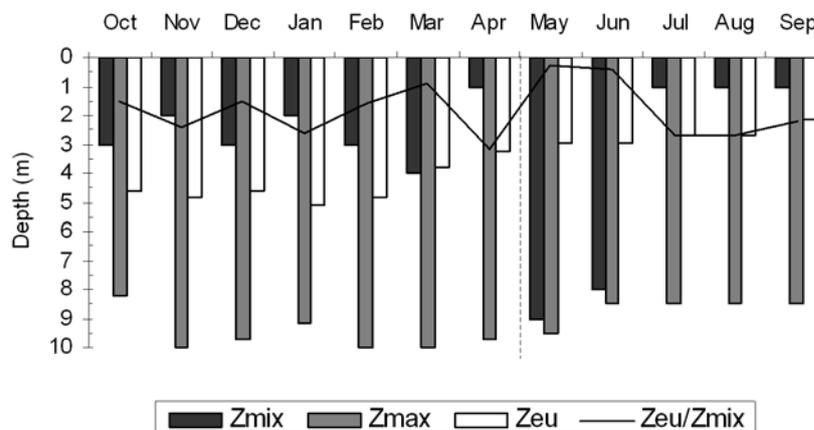


Figura 3.4: Variação sazonal da camada de mistura (z_{mix}), profundidade máxima (z_{max}), zona eufótica (z_{eu}) e razão z_{eu}/z_{mix} , no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

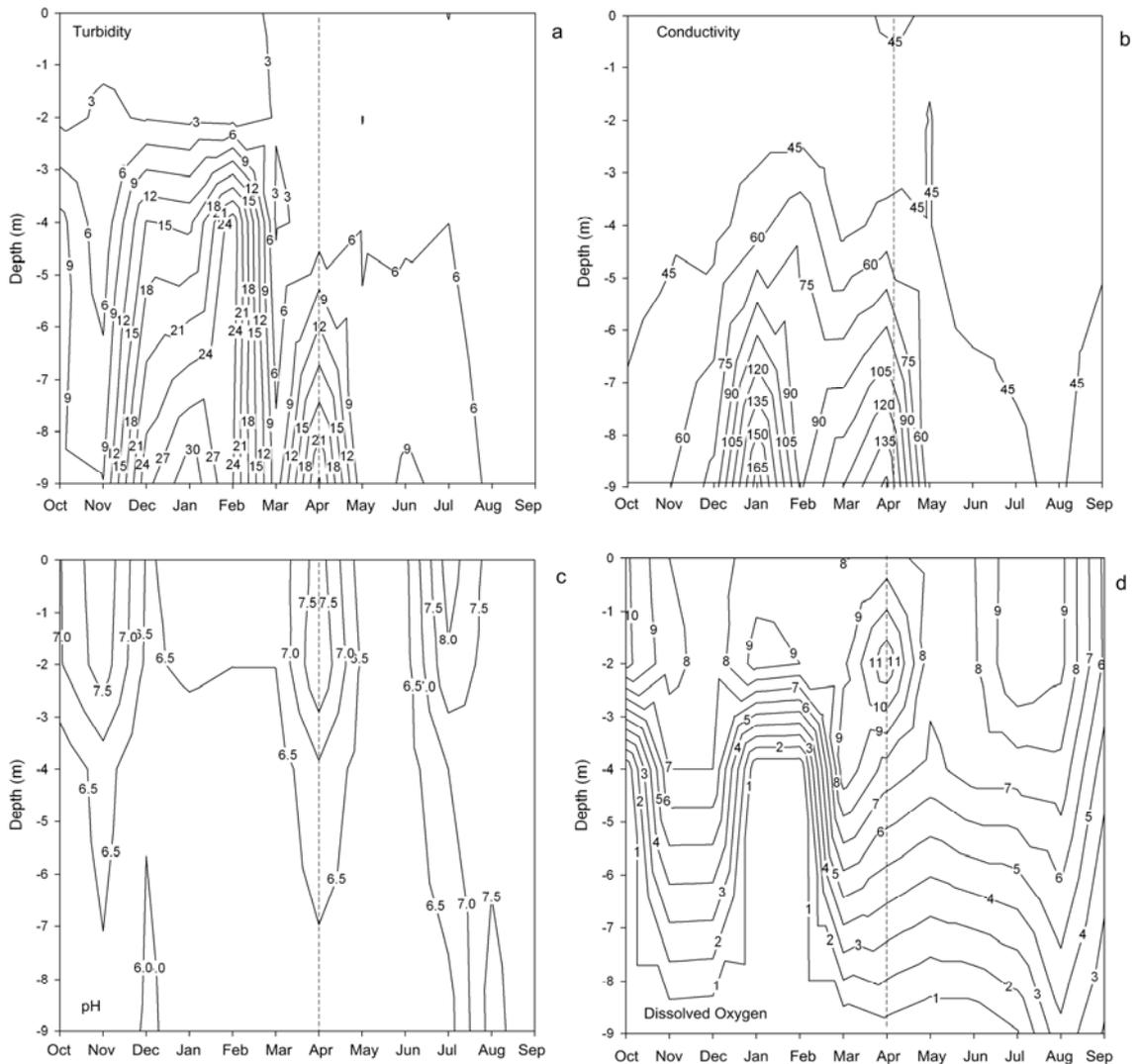


Figura 3.5: Isolíneas dos valores de turbidez (a), condutividade elétrica (b), pH (c) e oxigênio dissolvido (d) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

3.2.2 Condutividade, pH e oxigênio dissolvido

O reservatório foi caracterizado por condutividade relativamente baixa na superfície e profundidade de Secchi ($32 - 48 \mu\text{S cm}^{-1}$). Valores elevados foram registrados no limite da zona eufótica e no fundo (até $174,0 \mu\text{S cm}^{-1}$) (figura 3.5 b). Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas entre os dois períodos para as profundidades de Secchi e fundo. Durante os meses de maior estabilidade térmica, a condutividade no fundo foi duas vezes maior que na superfície, chegando a 4,7 vezes maior em janeiro, com $37 \mu\text{S cm}^{-1}$ na profundidade de Secchi e $174 \mu\text{S cm}^{-1}$ no fundo, coincidindo com a máxima turbidez ($32,1$

UNT) registrada. As amostras coletadas em janeiro apresentavam cor amarelada e forte odor de gás sulfídrico.

Os valores de pH estiveram próximos ao neutro na z_{eu} , durante o período 1 (figura 3.5 c). Após a circulação, entre julho e setembro, o reservatório apresentou pH neutro a levemente alcalino na z_{eu} (7,0 - 8,3). Condições levemente ácidas (5,9 - 6,7) foram registradas no limite da zona eufótica e no fundo, com diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois períodos (tabela 3.4).

A distribuição do oxigênio dissolvido foi caracterizada por fortes gradientes verticais, com uma tendência à supersaturação no epilímnio (até 131,3 % - 10,3 mg L⁻¹ em outubro) e hipoxia/anoxia no fundo, onde foram registradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois períodos (tabela 3.4). Condições anóxicas foram registradas no fundo, de outubro a junho (figura 3.5 d). Em janeiro e fevereiro, sob forte estratificação térmica, a camada anóxica se estendeu até a z_{eu} (4 m). Após a circulação, quando a concentração de oxigênio chegou a 3,7 mg L⁻¹ no fundo, a anoxia se restabeleceu no hipolímnio.

3.2.3 Nutrientes e clorofila *a*

Em geral, a disponibilidade de nutrientes foi maior no fundo, no período 1, com diferenças significativas entre os períodos para N NO₃⁻, N NH₄⁺, NID e SiSR (tabela 3.4). N NO₃⁻ e FSR tiveram concentrações baixas entre os dois períodos (0,3 ± 0,2 e 0,2 ± 0,2 μM, respectivamente). O fósforo total foi significativamente maior na superfície, no período 2 (1,8 ± 0,7 μM). NID foi representado principalmente por amônio. As concentrações no fundo foram muito maiores que no restante da coluna d'água, chegando a 229,1 N NH₄⁺ (figura 3.6 a), coincidindo com a estratificação térmica, elevada condutividade e anoxia. Valores baixos foram registrados na superfície e profundidade de Secchi (0,2 - 4,7 μM N NH₄⁺). As concentrações de nitrato foram baixas em todas as profundidades (0,2 - 3,2 μM N NO₃⁻) (figura 3.6 b), porém diferenças significativas entre os dois períodos ($p < 0,05$) foram observadas para a profundidade de Secchi, limite da zona eufótica e fundo (tabela 3.4).

Baixos teores de FSR foram registrados na z_{eu} durante o período 1, variando entre 0,1 e 0,3 μM (figura 3.6 c). As maiores concentrações (0,6 μM) foram encontradas em fevereiro e maio. Durante a circulação, em maio, o FSR foi distribuído uniformemente da profundidade de Secchi até o fundo. Os valores de SiSR foram elevados em ambos os períodos, porém, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas somente para o limite da zona eufótica (tabela 3.4), quando as concentrações chegaram a 7,4 μM de SiSR (figura 3.6 d).

As razões N/P médias foram elevadas em ambos os períodos, variando entre 7,8 no limite da zona eufótica e 886,0 no fundo (figura 3.7 b), com diferenças significativas ($p < 0,05$) para todas as profundidades, exceto para a superfície. Em geral, razões N/P > 16 foram observadas na Z_{eu} , enquanto no fundo, razões elevadas foram observadas. Em janeiro, no hipolimnion, o maior valor (1.947) indicou um teor elevado de nitrogênio. Essas razões N/P extremas foram altamente influenciadas pelas concentrações de amônio nas águas anóxicas e com elevada condutividade, durante a estratificação térmica.

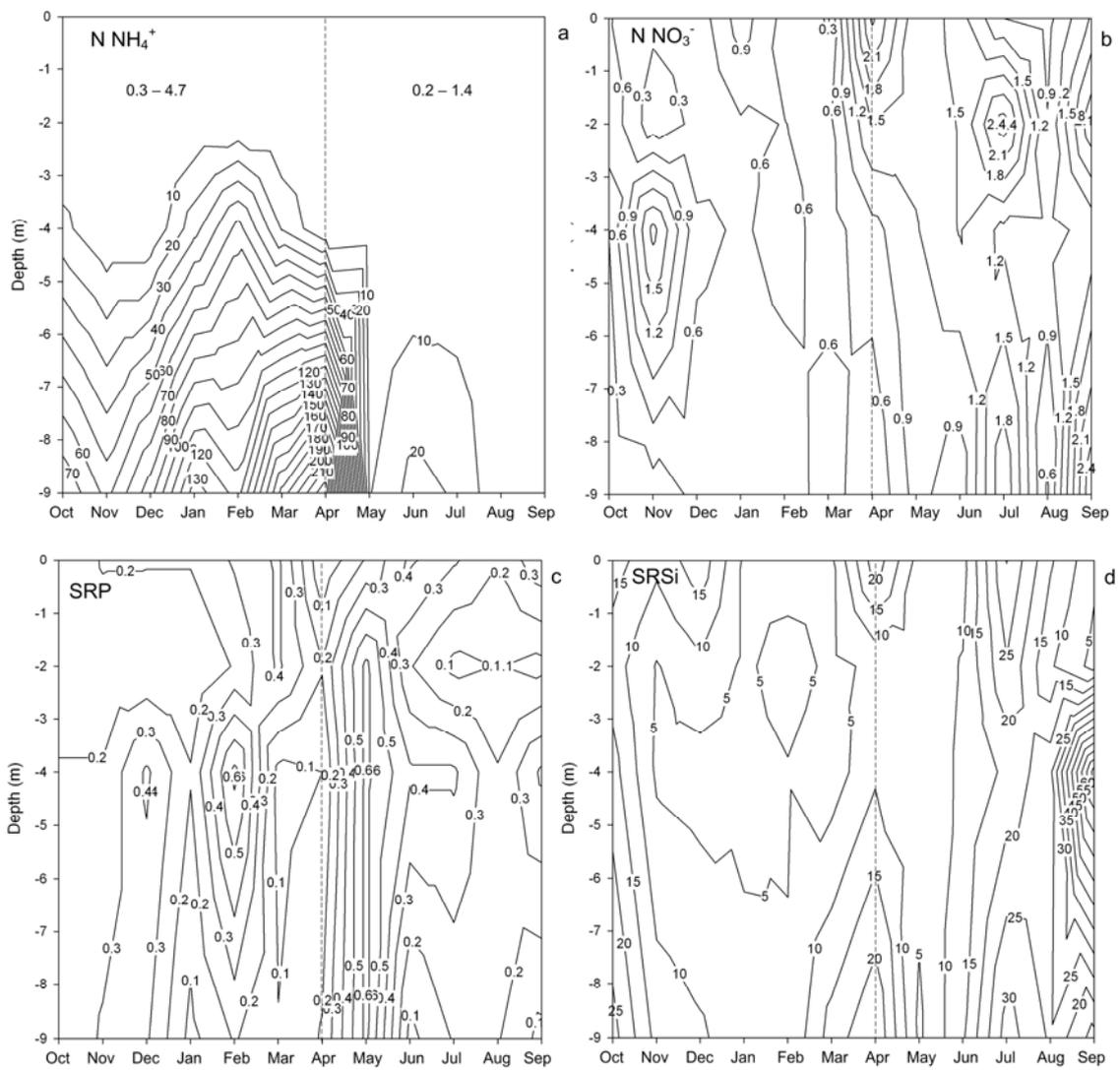


Figura 3.6: Isolíneas dos valores de N NH₄⁺ (a), N NO₃⁻ (b), FSR (c) e SiSR (d) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

Os valores de clorofila *a*, assim como os de fósforo total, mostraram um padrão espacial e temporal de variação, com predominância de altas concentrações no limite da zona eufótica e fundo, durante a estratificação térmica, e uma tendência à uma distribuição homogênea na coluna d'água durante o período de circulação (figura 3.7 a, c). A superfície e a profundidade de Secchi tiveram concentrações de clorofila *a* significativamente maiores ($p < 0,05$) no período 2 (tabela 3.4). Em outubro e novembro, as concentrações estiveram abaixo de $6,7 \mu\text{g L}^{-1}$ no epilímnio ($< 3,0 \text{ m}$), mas um máximo de até $35,5 \mu\text{g L}^{-1}$ foi registrado no metalímnio (5 m), associado a poucas espécies de cianobactérias filamentosas. Em janeiro, baixos teores de clorofila *a* permaneceram na camada de mistura, mas altas concentrações foram registradas no hipolímnio ($32,1 \mu\text{g L}^{-1}$), onde a razão clorofila/feoftina foi de 4,9, indicando que havia uma comunidade fitoplanctônica fisiologicamente ativa. A predominância de pigmentos degradados (razão clorofila/feoftina < 1) foi restrita ao fundo, em outubro. Em abril, concentrações de clorofila *a* entre $5,3$ e $8,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foram registradas em toda a coluna d'água. Em maio e junho, quando a razão $z_{\text{eu}}:z_{\text{mix}} < 0,4$, os maiores teores de clorofila *a* foram encontrados na profundidade de Secchi ($1,1 \text{ m}$). Em agosto e setembro, com um aumento na razão $z_{\text{eu}}:z_{\text{mix}} (> 2,2)$ o máximo metalimnético foi restabelecido. Uma relação moderada, mas significativa ($p < 0,05$) entre fósforo total e clorofila *a* foi encontrada ($r^2 = 0,45$) (figura 3.8), sugerindo que existe um potencial moderado para limitação por fósforo ao crescimento do fitoplâncton no RDB.

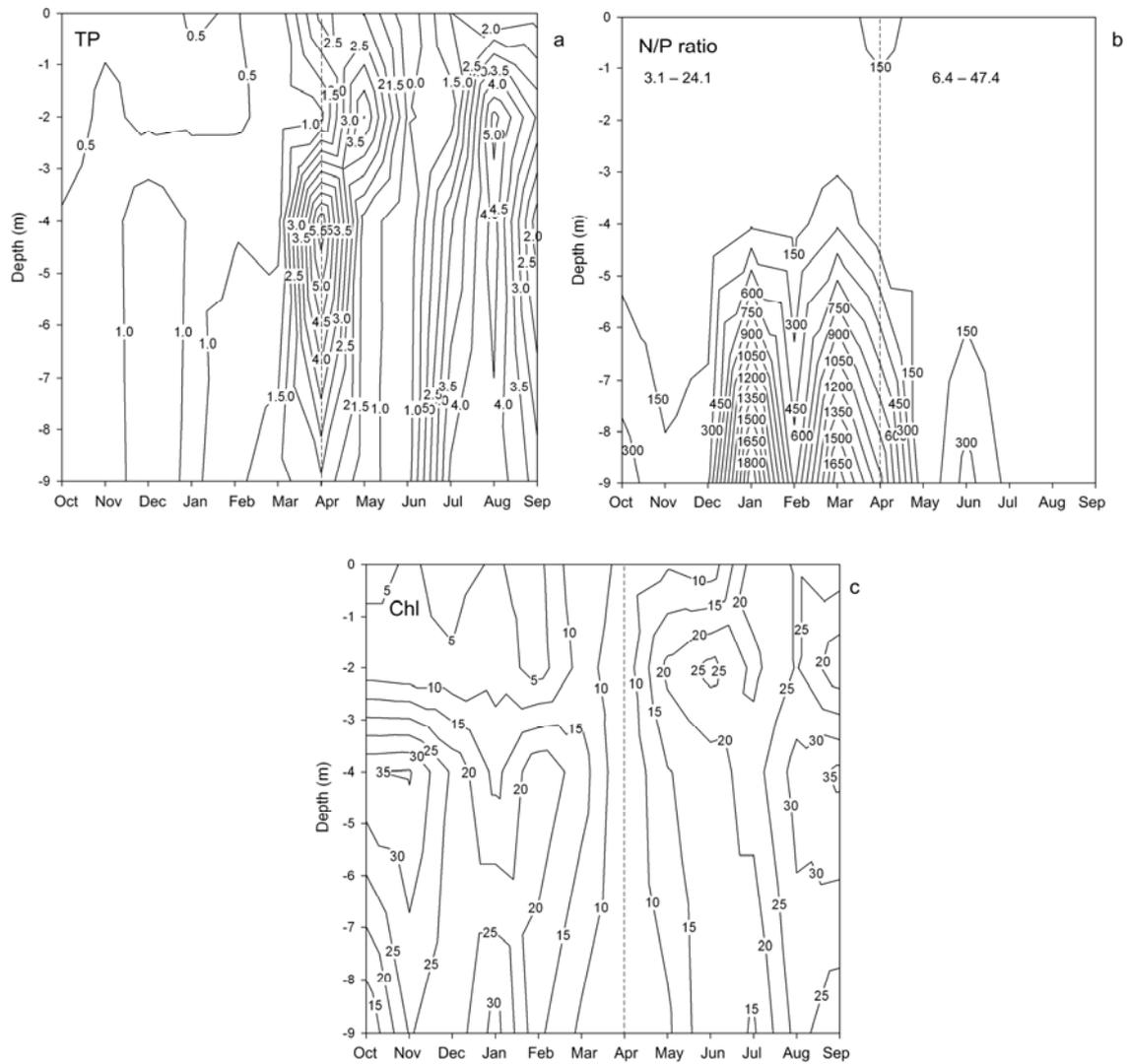


Figura 3.7: Isolíneas dos valores de fósforo total (a), razão atômica N/P (b) e clorofila *a* (c) no reservatório Duas Bocas, mostrando o período 1 (outubro a abril) e o período 2 (maio a setembro).

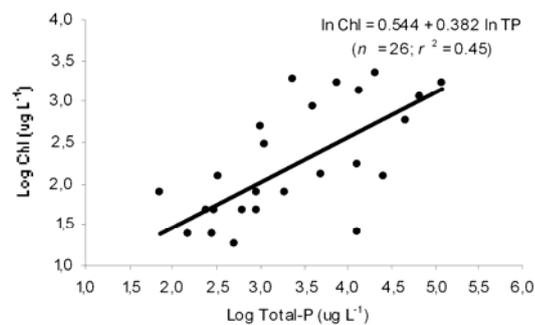


Figura 3.8: Correlação entre os valores médios de fósforo total e clorofila *a* (ln) na camada de mistura do reservatório Duas Bocas.

3.3 Discussão

O longo período de estratificação térmica e o período relativamente curto de circulação no RDB são similares ao regime térmico de outros lagos e reservatórios tropicais de diferentes morfometrias (Lewis, 1983; Henry & Barbosa, 1989; Henry 1999). O regime monomítico quente é representativo de lagos tropicais profundos o suficiente para promover estratificação térmica estável (Lewis, 1983; 2000). Um corpo d'água é hidrologicamente profundo quando sua profundidade absoluta excede a profundidade da camada de mistura (Straskraba & Tundisi, 1999). Como consequência, e aliado aos efeitos climáticos, a morfometria pode influenciar a profundidade de mistura dos lagos (Kling, 1988) através da profundidade relativa (z_r) e da exposição ao vento. Lagos com baixa z_r , apresentando área elevada de superfície e baixa profundidade, têm sido associados à polimixia, enquanto lagos com elevada z_r tendem à meromixia (Lewis, 2000). Levando-se em consideração o trabalho dos ventos, quanto maior o número de Wedderburn, mais estável é a estrutura térmica, reduzindo a turbulência que causa a mistura.

Embora a z_r do RDB seja relativamente pequena (1,14 %), i.e. pequena superfície em relação à profundidade, o que é corroborado pelo índice de desenvolvimento de volume de 1,4, indicando uma bacia em forma de U na seção longitudinal, o reservatório pode apresentar um ganho líquido de calor durante o período termicamente estável. Considerando a direção dos ventos, o principal eixo exposto aos ventos predominantes (L_{feito}) na região (NE/E) é de apenas 672 m, enquanto o maior eixo (L), onde incidem predominantemente ventos NW/SE, é de 1.607 m. Assim, o efeito dos ventos para promover a circulação é pequeno, devido ao pequeno L_{feito} , mesmo durante a passagem de frentes frias com ventos S/SW incidindo sobre o mesmo L_{feito} . Durante o período de estratificação, a estabilidade térmica foi confirmada pelos valores de $W > 1$. No período de menor estabilidade, quando $W < 1$, uma perda líquida de calor pode ter persistido durante a noite.

Outra característica marcante do regime térmico do RDB é a variação do epilímnio (1-4 m) ao longo do período de estratificação. Esse processo, conhecido como atelomixia, é causado por mudanças climáticas não sazonais (Lewis, 1983). No RDB, a atelomixia pode ser relacionada a chuvas de verão ocasionais e frentes frias que causam turbulência na camada de mistura. O aprofundamento dessa camada pode contribuir com uma recarga de nutrientes para o epilímnio induzindo pulsos de produtividade primária. Em março, as concentrações de clorofila *a* foram maiores e uniformes (12,0 - 14,4 $\mu\text{g L}^{-1}$) acima do metalímnio (4,2 m), quando comparadas aos outros meses da estratificação térmica. A atelomixia parece ser um processo importante para manter a produtividade primária em lagos tropicais monomíticos

como a lagoa Carioca, no Sudeste do Brasil (Barbosa & Padisák, 2002) e o lago Zirahuén, no México (Tavera & Martinez-Almeida, 2005).

A profundidade funcional dos lagos e reservatórios é associada não somente ao padrão de estratificação e mistura, mas também à extensão das camadas clara e escura na coluna d'água, e conseqüentemente, à disponibilidade dos recursos requeridos pelas espécies presentes (Padisák & Reynolds, 2003). Uma profundidade funcional de 5 m foi proposta por esses autores pra lagos rasos, em contraste com os 3 m propostos por Scheffer (1998). Embora o RDB seja raso ($z_{med} = 4,3$ m), pode ser considerado hidrológicamente profundo, devido à tendência em desenvolver uma estratificação térmica estável ao longo do ano.

A disponibilidade de luz tem efeitos marcantes no metabolismo do lago, como a limitação ao crescimento fitoplânctônico e os efeitos diretos sobre a produtividade primária. A razão z_{eu}/z_{mix} tem sido considerada como uma abordagem prática para descrever a limitação por luz ao fitoplâncton (Jensen *et al.*, 1994; Reynolds, 2006). Embora durante o período de estratificação essa razão fosse maior que 1, indicando não haver limitação por luz, valores menores que 1 durante a atelomixia (março) e os eventos de circulação (maio e junho) indicaram que o fitoplâncton pode ter passado parte do dia no escuro. Isso pode significar uma oportunidade para espécies tolerantes a baixa luminosidade, como cianobactérias, que se desenvolveram no metalímnio com águas ricas em nutrientes, como será descrito e discutido no capítulo 2.

Outra influência da profundidade funcional no metabolismo do RDB foi notada quando se analisaram os perfis verticais de oxigênio, com anoxia no fundo. O hipolímnio anóxico de lagos e reservatórios tropicais tem sido relacionado a longos períodos de estratificação, associados à baixa solubilidade do oxigênio em altas temperaturas e também à elevada atividade microbiana (Lewis, 2000). A persistência de águas hipolimnéticas anóxicas durante o período de estabilidade física foi associada à condutividade elevada como resultado da mineralização da matéria orgânica no sedimento. Como conseqüência, o teor de amônio aumentou 9,5 vezes em média, no hipolímnio, durante a estratificação. Em janeiro e fevereiro, a camada anóxica do fundo se estendeu até alcançar 4 m de profundidade, devido a forte estratificação térmica e à morfometria da bacia do reservatório.

O padrão térmico influencia diretamente as variáveis químicas, principalmente as concentrações de nutrientes e a biomassa fitoplânctônica, como clorofila *a*, o que permite a avaliação do estado trófico do sistema. Levando-se em consideração as concentrações fósforo total para lagos tropicais (Salas & Martino, 1991), vários reservatórios brasileiros podem ser considerados eutróficos (Branco & Senna, 1994, Calijuri *et al.*, 1999, Giani & Figueiredo,

1999, Souza *et al.*, 1998, Bouvy *et al.*, 1999). Usando-se a média anual de fósforo total e clorofila *a* como critério (> 38 e $6,7 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, Vollenweider & Kerekes, 1980), o RDB pode ser classificado como eutrófico, apresentando média anual de $36,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de fósforo total e $10,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a* (dados do epilímnio). Entretanto, de acordo com a classificação trófica para lagos tropicais (Salas & Martino, 1991), o RDB pode ser classificado também como eutrófico, baseado no fósforo total, ou mesotrófico, baseado na clorofila *a*.

A biomassa, e.g. clorofila *a*, pode ser relacionada à concentração de fósforo total (Wetzel, 2001). Várias tentativas têm sido realizadas para se estabelecer a relação entre os níveis médios de fósforo e de clorofila *a* como uma tentativa de se prever a concentração de clorofila *a* em uma dada concentração de fósforo (Vollenweider & Kerekes, 1980). A relação entre fósforo e clorofila *a* nesse estudo mostrou que o fósforo total pode explicar 45 % da variância na clorofila *a* ($r^2 = 0,45$), que está próxima da relação encontrada em vários lagos tropicais e subtropicais (Huszar *et al.*, 2006). Essa relação indica, numa abordagem sistêmica, baixo potencial para limitação por fósforo ao crescimento fitoplanctônico no RDB. Os dados de Huszar *et al.* (2006) mostraram uma correlação fraca entre fósforo e clorofila *a* ($r^2 = 0,39$) em vários sistemas tropicais e subtropicais, sugerindo não haver limitação por fósforo.

No período 1, em geral, a limitação por nutrientes resultou em baixos valores de biomassa na camada de mistura. O fósforo tem sido considerado como o principal elemento limitante nos sistemas temperados (Vollenweider & Kerekes, 1980; Nürnberg, 1996; Smith 1997). Apesar de existirem relativamente poucos dados para os sistemas tropicais, e em contraste com os dados de Huszar *et al.* (2006), tem sido sugerido que a co-limitação por N e P pode ocorrer, mas geralmente, a limitação por N predomina nos sistemas tropicais (Talling & Lemoalle, 1998; Lewis, 2000). Estudos experimentais de enriquecimento com nutrientes, realizados na América do Sul tropical, mostraram que o nitrogênio foi o principal elemento limitante (Henry *et al.*, 1984; Setaro & Melack, 1984, Anton *et al.*, 1996). Entretanto, dados experimentais no Brasil mostraram que em reservatórios oligotróficos ambos N e P foram limitantes, variando entre as estações do ano, e em alguns reservatórios eutróficos e lagos naturais, o fósforo é o principal fator limitante (Arcifa *et al.*, 1995).

Considerando as concentrações de nutrientes inorgânicos dissolvidos como limitantes ao crescimento fitoplanctônico ($< 0,1$ - $0,2 \mu\text{M}$ para FSR e < 7 - $8 \mu\text{M}$ para NID, Reynolds, 1997; 2006), as concentrações no RDB (z_{eu}) refletiram co-limitação por N ($< 4,0 \mu\text{M}$ DIN) e P ($< 0,2 \mu\text{M}$ FSR, exceto nos eventos de atelomixia - $0,3$ a $0,4 \mu\text{M}$), no período 1. Esse padrão

mostrou uma tendência à limitação por fósforo na superfície e profundidade de Secchi no período 1 e não limitação no período 2. O nitrogênio foi considerado como o elemento limitante durante todo o período estudado, exceto no limite da zona eufótica durante o período 1. Embora o RDB seja considerado meso-eutrófico baseado nas concentrações de clorofila *a*, o fitoplâncton se desenvolve bem sob limitação de nitrogênio e, eventualmente, de fósforo. Esse sucesso pode ser associado à rápida reciclagem de amônio ao invés do nitrato na coluna d'água. Nos experimentos realizados por Burford *et al.* (2006), esse tempo variou entre 0,3 a 5,8 horas para o amônio e foi muito maior para o nitrato, variando de 3,5 a 218 horas.

No RDB, baixos valores de biomassa fitoplanctônica ($< 8,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a*) ocorreram sob condições limitantes de nutrientes, no período 1. Entre janeiro e março, um decréscimo na concentração de nutrientes seguido de um pequeno aumento nos valores de biomassa podem refletir a eficiência do fitoplâncton em usar nutrientes reciclados no epilímnio. Por outro lado, esses aumentos na biomassa podem ser relacionados ao aprofundamento da camada de mistura, que pode fornecer nutrientes do metalímnio (Payne, 1986, Lewis, 1996), o que reflete a atelomixia.

No metalímnio (entre 4 e 5 m de profundidade), elevados valores de biomassa foram associados a poucas espécies de cianobactérias filamentosas (*Limnothrix*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*). As concentrações de FSR e amônio foram elevados nessa profundidade. Esse padrão metalimnético de acúmulo de biomassa pode ser associado à adaptação fisiológica, como o desenvolvimento de aerótopos nas cianobactérias, ou à sedimentação passiva de indivíduos do epilímnio (Reynolds, 1997), como discutido por Hino *et al.* (1986) para o lago Dom Helvécio, Sudeste do Brasil. No RDB, uma biomassa relativamente elevada também já foi observada no hipolímnio durante o período de estratificação térmica (Delazari-Barroso, 2000). É possível que uma pequena quantidade de luz ($< 1 \%$) alcance o hipolímnio permitindo o desenvolvimento de cianobactérias adaptadas a baixa luminosidade. Em um perfil de sedimento coletado com cilindro em janeiro de 2003, havia uma camada com características de matéria orgânica floculada e grânulos verdes sobre o sedimento (G.F. Barroso, comunicação pessoal). A análise microscópica desses grânulos mostrou que eram formados por cianobactérias filamentosas (Oscillatoriales). De fato, essas cianobactérias e outras espécies cocóides foram registradas como dominantes no hipolímnio num estudo prévio (Delazari-Barroso, 2000).

A distribuição vertical da clorofila *a* durante o período de estratificação térmica, com concentrações no fundo quatro vezes maiores que na superfície, não era esperado. As concentrações de feopigmentos foram baixas no hipolímnio (clorofila/feopigmentos $> 1,0$)

indicando a viabilidade das populações. Durante o período de circulação, as concentrações de clorofila *a* foram mais elevadas em toda a coluna d'água.

No período 2, durante o período de circulação, a limitação por nutrientes foi substituída por provável limitação por luz, o que é freqüente em muitos sistemas tropicais (Talling & Lemoalle, 1998). A biomassa e as concentrações de nutrientes aumentaram no epilimnio e o oxigênio dissolvido foi distribuído verticalmente. Apesar da provável limitação por luz nessa fase, uma estação de crescimento, definida como um intervalo de pelo menos três meses de biomassa elevada (Lewis, 1990), foi observada entre maio e setembro (média: 20,0 e máximo: 28,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a*). Isso sugere que a limitação por nutrientes mais que a limitação por luz pode regular o crescimento do fitoplâncton no RDB.

4 Capítulo 2: “Dominância sazonal e vertical no fitoplâncton de um reservatório tropical (Sudeste do Brasil): alternância entre desmídias e cianobactérias”

4.1 Material e Métodos

4.1.1 Amostragem em campo

As amostras de água para análise do fitoplâncton foram coletadas mensalmente (outubro de 2002 a setembro de 2003) na zona lacustrina do reservatório, próximo à torre de captação de água (figura 1.1). Foram amostradas quatro profundidades, com uso da garrafa de Van Dorn: sub-superfície, profundidade do disco de Secchi, limite da zona eufótica (ZE) e fundo (0,5 m acima do sedimento). As amostras para análise quantitativa foram fixadas com lugol acético.

4.1.2 Análise das amostras

A densidade populacional foi estimada através da técnica de sedimentação em câmaras (Utermöhl, 1958) e contagem em microscópio invertido. Células, colônias e filamentos foram enumerados em campos aleatórios (Uhelinger, 1964) suficientes para amostragem de pelo menos 100 indivíduos da espécie mais abundante (Lund *et al.*, 1958).

4.1.3. Análise dos dados

Os sete maiores grupos taxonômicos considerados foram: Cyanobacteria, Chlorophyceae (clorofíceas), Zygnemaphyceae (desmídias), Dinophyta (dinoflagelados), Bacillariophyta (diatomáceas), Chrysophyta, Euglenophyta e Cryptophyta. A biomassa específica (mg peso fresco L⁻¹) foi estimada através do produto entre a densidade populacional e o volume (μm^3) individual de cada espécie (Edler, 1979), assumindo que a densidade específica da célula fitoplanctônica é de 1 g cm⁻³. Em geral, o tamanho médio celular de cada espécie foi calculado com a medida de, pelo menos, 20 indivíduos. A riqueza de espécies foi estimada como o número de táxons por amostra, a diversidade de acordo com o índice de Shannon e Wiener (Shannon & Weaver, 1949), baseado na biomassa usando log 2, e a equitabilidade de acordo com Pielou (1966). Os grupos funcionais do fitoplâncton foram estabelecidos de acordo com Reynolds (1997; 2006) e Reynolds *et al.* (2002) como grupos de espécies (> 4 % de biomassa) com características morfológicas e ecológicas similares.

A constante de semi-saturação (K_m) para absorção de nutrientes pelos maiores grupos fitoplanctônicos, descrita em Huszar & Caraco (1998), foram comparadas às concentrações de nutrientes no reservatório (média dos dados da zona eufótica, para cada período) para estimar a limitação por nutrientes pelo fitoplâncton, em percentagem, calculada como descrito a seguir:

$$\% \text{ limitação} = 100 * [1 - (C_i / C_i + K_m)]$$

onde C_i é a concentração do nutriente inorgânico dissolvido na amostra i .

O teste de correlação de Spearman foi usado para acessar as correlações entre os principais grupos funcionais do fitoplâncton e as variáveis ambientais. A análise de correspondência canônica (ACC) foi usada para determinar as variáveis ambientais importantes na distribuição do fitoplâncton, usando o programa CANOCO 3.1 (Ter Braak, 1992). As variáveis ambientais usadas na matriz de correlação foram: temperatura, z_{eu} , pH, oxigênio dissolvido, N NH_4^+ , N NO_3^- , fósforo total e razão N/P, selecionadas através de uma análise de componentes principais (ACP) prévia. Foram considerados na ACC sete grupos funcionais do fitoplâncton representados pelas espécies que contribuíram com mais de 4 % para a biomassa total em cada amostra. Os dados para a ordenação foram transformados $\log(x + 1)$.

4.1.4 Isolamento e cultivo das cepas de *Cylindrospermopsis raciborskii*

A ocorrência de *C. raciborskii* em sistemas de abastecimento público tem causado preocupação, pois já foi registrada a produção de hepatotoxinas e neurotoxinas por cepas isoladas dessa espécie. Essa cianobactéria é uma das espécies abundantes no reservatório Duas Bocas, logo, estudos que abordem sua ecologia e caracterização do potencial tóxico são importantes.

Tricomas de *C. raciborskii* foram isolados a partir de amostras naturais de água coletadas em março de 2004, no mesmo ponto amostral estudado no reservatório Duas Bocas. O isolamento foi realizado com a técnica de capilares de vidro, sendo colocados 5 a 7 filamentos em tubos de ensaio com 3 mL de meio de cultivo ASM-1 (Gorham *et al.*, 1964), mantidos por 3 meses sob baixa intensidade luminosa ($20 \mu\text{moles f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), pH 8,0, temperatura de $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e fotoper\u00edodo de 12 horas.

Foram realizados cultivos de duas cepas de *C. raciborskii*, denominadas CyDB-1 e CyDB-2, para obtenção de biomassa para verificação da possível produção de cianotoxinas por estas cepas. As cepas foram cultivadas em duplicata, em bal\u00e7es de 3 L, com 2,5 L de meio de cultura onde adicionou-se 250 mL de in\u00f3culo, sob as mesmas condi\u00e7\u00f5es citadas

anteriormente, porém, em intensidade luminosa de $40 \mu\text{moles f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As culturas est\~ao sendo mantidas no Banco de Culturas do Laborat\~orio de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobact\~erias (LETC) do Instituto de Biof\~isica Carlos Chagas Filho – UFRJ.

O crescimento celular foi acompanhado atrav\~es da contagem das c\~elulas em amostras retiradas a cada tr\~es dias e fixadas com lugol ac\~etico, com o aux\~ilio de microsc\~opio \f3ptico, em hemocit\~ometro de Fuchs-Rosenthal. Foram feitas medi\~oes de, no m\~inimo, 100 tricomas e 100 c\~elulas de cada cepa para se estabelecer seus tamanhos m\~edios e assim, determinar o n\~umero de c\~elulas contando-se os tricomas e multiplicando-os pela m\~edia estabelecida de c\~elulas/tricoma. A biomassa foi determinada por filtra\~ao de volumes conhecidos em filtros de borossilicato (AP-20 Millipore), pesados antes e ap\~os a filtra\~ao. As taxas de crescimento (μ), o tempo m\~edio de duplica\~ao das c\~elulas (G) e o n\~umero de divis\~oes por dia (K_2), foram calculados atrav\~es das seguintes equa\~oes (Fogg & Thake, 1987):

$$\mu = (\ln N_2 - \ln N_1) / (T_2 - T_1)$$

$$G = \ln 2 / \mu$$

$$K_2 = 3,332 \times \mu$$

onde N_1 e N_2 s\~ao o n\~umero de c\~el. mL^{-1} nos tempos T_1 e T_2 , dados em dias.

Para an\~alise de clorofila *a*, 10 mL de cada cultura foram retirados a cada 3 dias e filtrados em filtros de borossilicato. A extra\~ao foi realizada em metanol 100 % e a determina\~ao da concentra\~ao de clorofila seguiu o coeficiente de extin\~ao determinado por Mackinney (1941).

Para obten\~ao da biomassa das duas cepas a ser utilizada nos bioensaios de toxicidade aguda, 500 mL das culturas na fase exponencial de crescimento foram centrifugados e o precipitado foi congelado a $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ (Shell Freezer – Labconco) e liofilizado (Freezone 6 – Labconco). O material seco foi pesado e o peso correspondeu \~a biomassa de c\~elulas produzida em cada cultura.

4.1.5 Bioensaio de toxicidade aguda e an\~alise de toxinas

Os bioensaios de toxicidade aguda foram realizados para se verificar a toxicidade das cepas CyDB-1 e CyDB-2 em camundongos Swiss albinos machos adultos, com peso de 20 a 25 g. Foram pesados 250 mg da biomassa de c\~elulas liofilizada e ressuspensos em \~agua Milli-Q. Ap\~os agita\~ao em placa agitadora e processo de congelamento e descongelamento para rompimento das c\~elulas, a amostra foi centrifugada e a solu\~ao sobrenadante foi recolhida

para injeção intraperitoneal nos animais. A concentração resultante foi de 25 mg biomassa de células.mL⁻¹ de. Em cada animal, foi injetado, 1 mL do extrato, calculando-se a dose injetada em mg kg⁻¹, baseada no peso de cada animal. Foram utilizados oito camundongos para o bioensaio com cada cepa, em duplicata, com doses variando de 970,9 a 1041,7 mg kg⁻¹, para o extrato da cepa CyDB-1 e 934,6 a 1030,9 mg kg⁻¹, para o extrato da cepa CyDB-2. Os animais foram observados por um período de oito dias para registro de quaisquer sintomas de intoxicação.

A técnica de imunoensaio do tipo ELISA (Chu *et al.*, 1990) foi utilizada para detecção de microcistinas nos extratos das culturas. Foi utilizado um kit comercial da “Beacon Analytical Systems” (Portland, ME – EUA), seguindo-se os procedimentos recomendados pelo fabricante. Este método de ELISA competitivo direto se constitui da identificação do antígeno (microcistina) através de anticorpos secundários (anti-IgG) fixos a uma placa de 96 poços, sendo a reação colorimétrica. O resultado foi obtido através dos valores de densidade ótica das amostras, e assim, quanto mais reação de cor houver, menos toxina existe na amostra. A determinação da densidade ótica foi feita em uma leitora de placas no comprimento de onda de 450 nm. Cabe ressaltar que este método somente é capaz de detectar microcistinas livres, ou seja, microcistinas conjugadas com proteínas fosfatases, ou com qualquer outro peptídeo, não são reconhecidas pelos anticorpos.

4.2 Resultados

As figuras apresentadas estão com texto em inglês, pois os artigos já estão formatados para publicação em periódicos internacionais.

4.2.1 Ciclo sazonal do fitoplâncton

Dois períodos foram identificados durante o estudo, baseados na biomassa fitoplanctônica: Período 1 (outubro de 2002 a março de 2003) e Período 2 (abril a setembro de 2003). A biomassa total do fitoplâncton (peso fresco), variou entre 1,5 a 17,6 mg L⁻¹, com valores médios no epilímnio (considerando superfície e profundidade do disco de Secchi) de 3,3 e 5,6 mg L⁻¹ durante os períodos 1 e 2, respectivamente. Maiores valores, até três vezes maiores que a média, foram registrados no limite da zona eufótica (metalímnio inferior) (figuras 4.1 e 4.2). Vinte espécies, dentre as 75 registradas no RDB (tabela 4.1), apresentaram biomassa > 4 % em pelo menos 5 % das amostras. Os índices de diversidade e equitabilidade tiveram valores médios de 3,3 (0,8 - 6,1) e 0,7 (0,1 - 1,1), respectivamente. A maior riqueza de espécies e diversidade foram registradas no período 2.

Considerando os grupos funcionais propostos por Reynolds (1997; 2006), as espécies mais abundantes foram representativas de sete grupos funcionais (tabela 4.2). Os grupos que apresentaram biomassa > 40 % incluíram as desmídias (grupos X₃ e N) e as cianobactérias (grupos S₁ e S_n).

Co-dominância entre desmídias e cianobactérias foi verificada no epilímnio durante todo o período estudado (figuras 4.1 e 4.2). No período 1, a dominância de pequenas desmídias (< 15 µm) do grupo X₃ (50 % da biomassa total) foi dividida entre *Cosmarium asphaerosporum* var. *strigosum* Nordsted (0,2 - 26 %), *Cosmarium papekuilense* West (0,3-30 %) e *Staurodesmus crassus* (West & West) Florin (1,2 - 26,7 %). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (grupo funcional S_n) foi abundante nesse período (0,3 - 25,9 % em biomassa).

Durante o período 1, foi registrado um máximo metalimnético de biomassa (3,9 a 17,6 mg L⁻¹) no limite da zona eufótica, composto por cianobactérias filamentosas (grupo funcional S₁), sendo que em dezembro foi registrado um valor de biomassa três vezes maior que a média (figura 4.1). *Limnothrix bicudoi* Azevedo & Souza foi dominante (12,9 - 70,6 %), seguida por *L. redekei* Van Goor (7,8 - 23,8 %). *L. bicudoi* alcançou, em média, 82 % da biomassa total no fundo, provavelmente devido à sedimentação dos filamentos.

No período 2, as desmídias foram substituídas pelas cianobactérias (grupos S₁ e S_n) no epilímnio, onde *C. raciborskii* (6,7 - 36,1 %), *L. bicudoi* (17,8 - 42,3 %) e *Pseudanabaena moniliformis* Komárek & Kling (1,1 - 34 %) dividiram a dominância na comunidade fitoplanctônica. Uma pequena contribuição da cianobactéria cocóide *Synechococcus capitatus* Bailey-Watts & Komárek (grupo funcional Z) foi registrada nessa fase (0,1 - 5,2 %).

As espécies de cianobactérias do máximo metalimnético foram distribuídas por toda a coluna d'água no período 2, embora a biomassa permanecesse elevada no metalímnio inferior (4 - 5 m de profundidade) (figura 4.1), quando *C. raciborskii* (3,7 - 81,6 %) e *L. bicudoi* (3,5 - 30,9 %) dividiram a dominância.

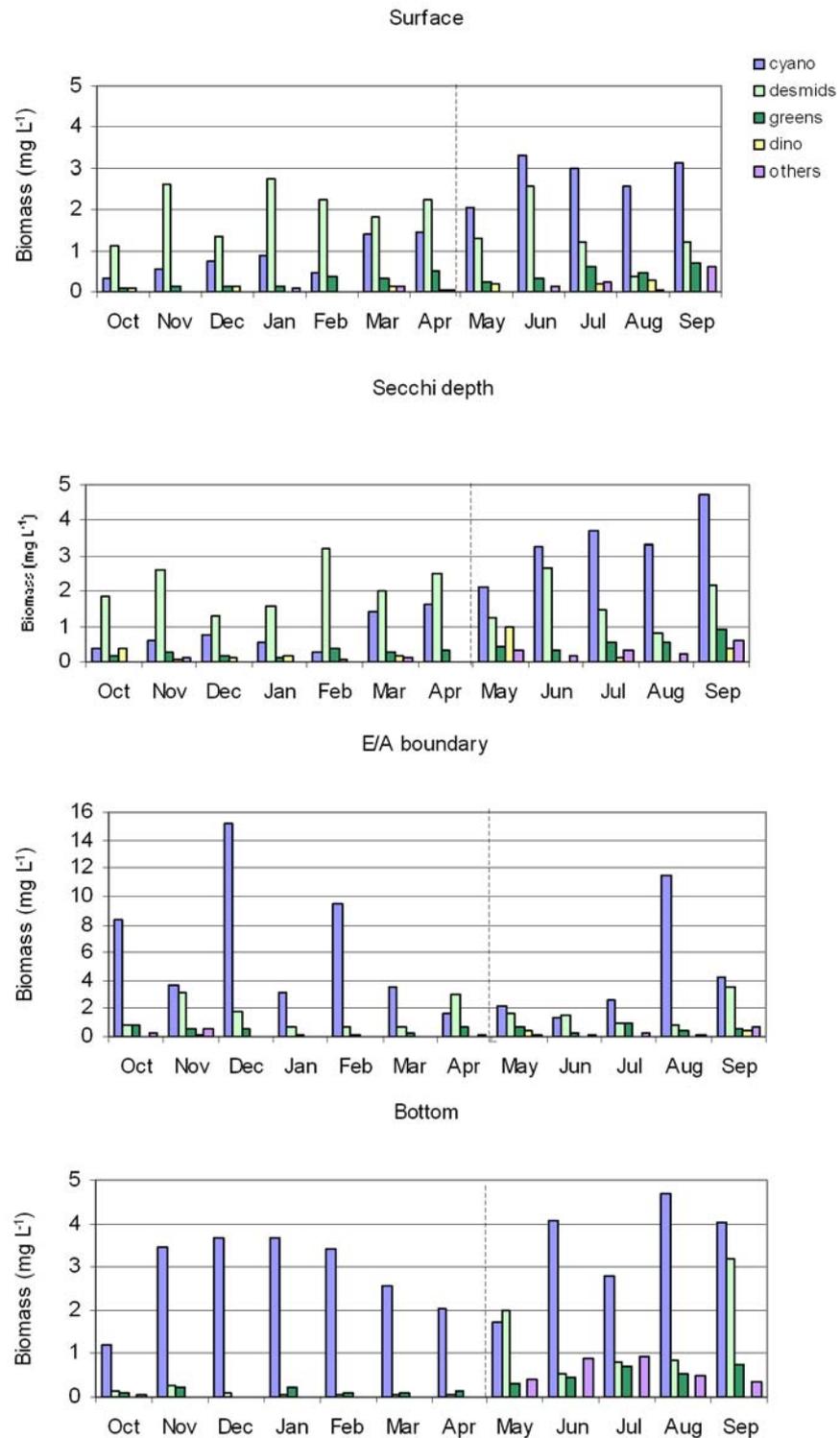


Figura 4.1: Variação sazonal da biomassa fitoplanctônica (peso fresco) no RDB, mostrando o período 1 (outubro a março) e o período 2 (abril a setembro).

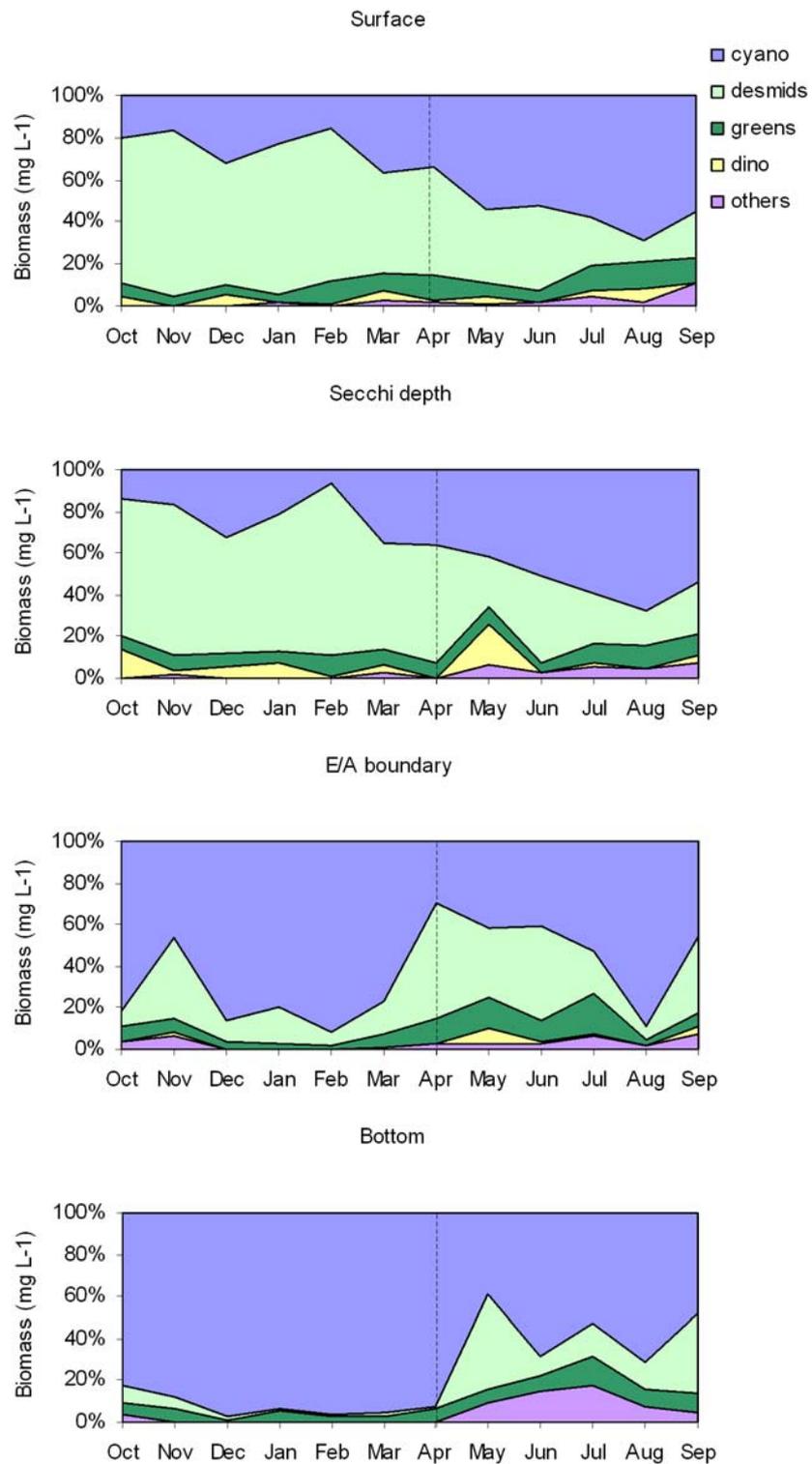


Figure 4.2: Variação sazonal da contribuição relativa das classes fitoplanctônicas para a biomassa total no RDB, mostrando o período 1 (outubro a março) e o período 2 (abril a setembro).

Tabela 4.1: Ocorrência e distribuição vertical, por período estudado, das classes e espécies fitoplanctônicas identificadas no RDB (veja Delazari-Barroso *et al.*, 2007).

	Período 1				Período 2			
	Sup.	Secchi	ZE	Fundo	Sup.	Secchi	ZE	Fundo
CYANOPHYCEAE								
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Aphanocapsa</i> sp.			x	x				x
<i>Chroococcus minimus</i>			x		x	x		x
<i>Cyanodictyon tropicalis</i>			x					
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Komvophoron minutum</i>			x		x	x	x	
<i>Limnothrix redekey</i>			x	x			x	x
<i>L. bicudoi</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Limnothrix</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Merismopedia punctata</i>			x					
<i>M. tenuissima</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>M. trolleri</i>			x		x	x	x	x
<i>Planktolyngbya limnetica</i>					x	x	x	x
<i>P. minor</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Planktothrix isothrix</i>			x	x				
<i>Pseudanabaena moniliformis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Pseudanabaena</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Rhabdoderma sancti-pauli</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Synechococcus capitatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Synechococcus nidulans</i>			x	x	x	x	x	x
<i>Synechococcus sigmoideus</i>								x
<i>Synechocystis</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x
CHLOROPHYCEAE								
<i>Ankistrodesmus bernardii</i>	x	x			x	x	x	x
<i>A. gracilis</i>						x		
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	x	x	x		x	x	x	x
<i>Chlamydomonas pseudotarda</i>	x	x			x	x	x	x
<i>Chlorella vulgaris</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Chlorella</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Coelastrum proboscideum</i>	x		x			x	x	x
<i>Desmodesmus bicaudatus</i>			x	x	x	x	x	x
<i>D. quadricauda</i>						x		
<i>D. spinosus</i>					x	x		
<i>Didymocystis fina</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Didymocystis</i> sp.								x
<i>Eutetramorus fottii</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Golenkinia radiata</i>	x	x	x		x	x	x	x
<i>Monoraphidium arcuatum</i>							x	x
<i>M. contortum</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>M. griffithi</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>M. minutum</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Oocystis lacustris</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Scenedesmus acuminatus</i>					x		x	x
<i>S. ecornis</i>							x	x
Chlorococcales 1	x	x	x		x	x		x
Chlorococcales 2	x	x	x		x	x	x	x
Chlorococcales 3	x	x	x	x	x	x	x	x
ZIGNEMAPHYCEAE								

Continuação da Tabela 4.1

<i>Actinotaenium perminutum</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Closterium</i> sp.	x	x	x		x	x	x	x
<i>Cosmarium asphaerosporum</i> var. <i>strigosum</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Cosmarium</i> cf. <i>capitulum</i>	x	x				x	x	x
<i>C. papekuilense</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Staurastrum micron</i>	x	x	x		x	x	x	x
<i>S. smithii</i>	x	x	x		x	x	x	x
<i>S. tetracerum</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>S. quadrangulare</i> var. <i>armatum</i>	x	x	x			x	x	x
<i>Staurastrum</i> sp.1	x	x		x	x	x	x	x
<i>Staurastrum</i> sp.2	x	x	x		x	x	x	x
<i>Staurastrum</i> sp.3	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Staurodesmus controversus</i>		x	x		x			x
<i>S. crassus</i>	x	x	x		x	x	x	x
<i>S. indentatus</i> var. <i>rectangularis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>S. o'mearii</i> var. <i>minutus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Staurodesmus</i> cf. <i>pachyrhynchus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Teilingia granulata</i>	x	x	x		x	x	x	x
<i>Xanthidium</i> cf. <i>variabile</i>	x	x		x	x	x	x	x
Desmidiales		x			x	x	x	x
DINOPHYCEAE								
<i>Gymnodinium</i> sp.	x	x	x		x	x	x	
<i>Peridinium africanum</i>						x	x	
<i>P. umbonatum</i>	x	x			x	x	x	
BACILLARIOPHYCEAE								
<i>Brachysira vitrea</i>					x	x	x	
<i>Nitzschia gracilis</i>	x	x		x	x	x	x	x
EUGLENOPHYCEAE								
<i>Euglena limnophila</i>								x
<i>Trachlelomonas volvocina</i>								x
CRYPTOPHYCEAE								
<i>Cryptomonas parapyrenoidifera</i>			x		x		x	x
<i>Cryptomonas</i> sp.			x		x	x	x	

4.2.2 Correlação entre o fitoplâncton e as variáveis ambientais

As porcentagens da limitação por nutrientes ao crescimento fitoplanctônico para os períodos 1 e 2, em relação à zona eufótica (superfície, profundidades de Secchi e limite da ZE), são mostradas na figura 4.3. O desenvolvimento das espécies fitoplanctônicas pode ser comprometido pela limitação por nutrientes em três padrões distintos. No primeiro, todos os grupos podem estar severamente limitados. No segundo, embora existam diferenças entre os grupos, apenas aqueles com alto K_m podem estar severamente limitados. No terceiro, pode existir limitação para qualquer grupo fitoplanctônico. No RDB (figura 4.3) N NO_3^- e N NH_4^+ corresponderam principalmente ao segundo padrão nos dois períodos estudados, o que poderia levar à seleção de diferentes espécies, exceto para N NH_4^+ no fundo, o qual correspondeu ao terceiro padrão. As concentrações de FSR em ambos os períodos

corresponderam ao segundo padrão, representando o primeiro padrão. As concentrações de SiSR se relacionaram ao terceiro padrão em ambos os períodos estudados representando baixo potencial para seleção dos diferentes grupos fitoplanctônicos. Em geral, foi observado no RDB maior potencial para nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) e FSR na seleção dos grupos fitoplanctônicos.

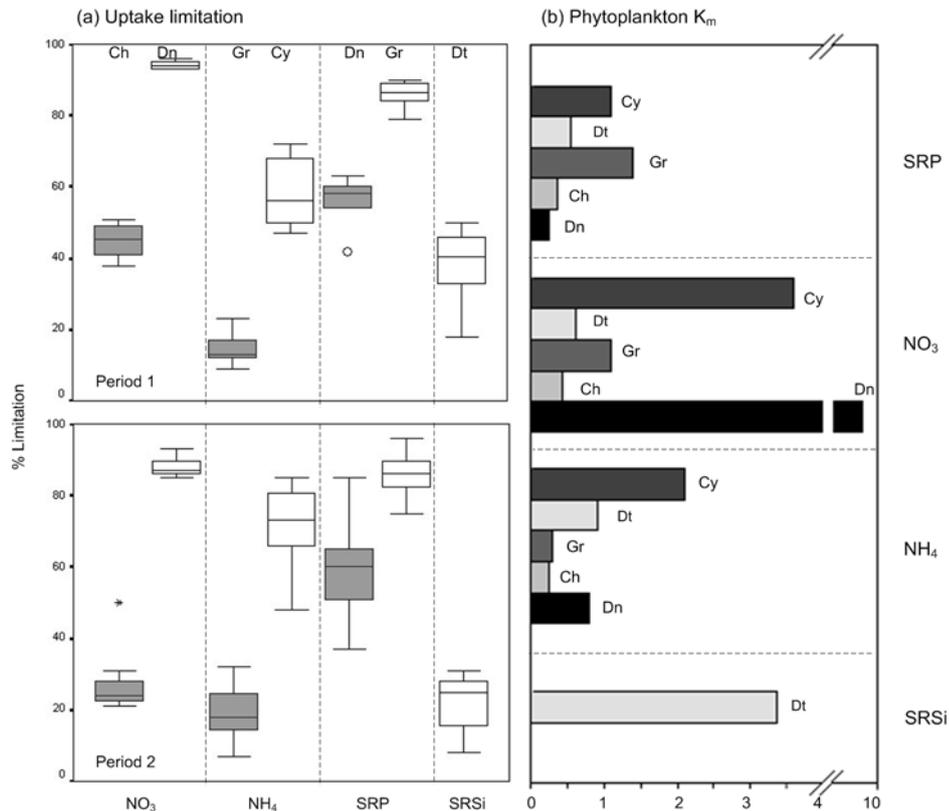


Figure 4.3: (a) *Box-plots* da percentagem de limitação por nutrientes. Para todos os nutrientes, exceto SiSR, os grupos (Cy, cianobactérias; Dn, dinoflagelados; Dt, diatomáceas; Ch, crisofíceas; Gr; clorofíceas) com a mais alta (barras cheias) e mais baixa (barras vazias) constante de semi-saturação (K_m) foram considerados. Para SiSR, os outros grupos foram assumidos como tendo baixa demanda por silicato e não limitados por esse nutriente. A variação da resposta para um dado grupo fitoplanctônico é causada pela variação sazonal nas concentrações dos nutrientes. Essa variação é expressa por um *box-plot*, no qual a linha dentro das caixas é a mediana, enquanto as caixas, barras e pontos representam 75, 90 e 95 % dos dados, respectivamente. (b) Comparação da limitação para os dos grupos fitoplanctônicos, mostrando os valores médios de K_m para os quatro nutrientes e as cinco divisões taxonômicas do fitoplâncton (Huszar & Caraco, 1998; Marinho & Huszar, 2002).

A ordenação dos sete grupos funcionais do fitoplâncton com as variáveis ambientais na ACC explicou 82 % da variação das espécies em relação às características ambientais (tabela 4.2). Os mesmos períodos identificados através da variação na biomassa fitoplanctônica foram evidenciados pelos eixos da ACC (figura 4.4). Os resultados do teste de permutação de Monte Carlo indicaram que temperatura, z_{eu} e $N\ NH_4^+$ foram significantes em explicar a variação dos grupos funcionais no RDB (tabela 4.3). Por outro lado, as inter-relações indicaram que além das variáveis significativas, outras variáveis como o pH e o fósforo total podem ser consideradas como potenciais para determinar a variação das espécies no ambiente.

O eixo 1 (figura 4.4) foi fortemente influenciado pelo $N\ NH_4^+$ em oposição ao oxigênio dissolvido, indicando o isolamento das camadas d'água, refletido pelas elevadas concentrações de amônio e anoxia no hipolimnio. A ACC também mostrou o máximo metalimnético com *Limnohtix bicudoi* (S_1) associado às amostras do limite da zona eufótica. O eixo 2 evidenciou a sazonalidade representada pela separação dos dois períodos relacionados ao padrão físico na coluna d'água. As amostras do período 1 foram caracterizadas por temperaturas elevadas e z_{eu} mais profundas e dominância de pequenas desmídias do grupo X_3 e N. O período 2 foi marcado por elevados valores de fósforo total e pH levemente alcalino. A dominância de cianobactérias filamentosas (S_n e S_1) e valores mais baixos de temperatura e z_{eu} caracterizaram esse período. A maior diversidade registrada nesse período foi refletida pela aparição de raras espécies dos grupos funcionais J, L_o , e Z (tabela 4.4).

Tabela 4.2: Autovalores e porcentagem cumulativa e total da variância resultantes da ACC para os sete grupos funcionais do fitoplâncton descritos no RDB.

	Eixo 1	Eixo 2
Auto-valores	0,122	0,092
Correlação espécies-ambiente	0,884	0,805
Porcentagem cumulativa da variância espécies-ambiente	46,5	81,7

Tabela 4.3: Inter-relação das variáveis ambientais com a ordenação dos eixos 1 e 2, significância do teste de Monte Carlo (valores de p) e variância explicada pelas variáveis ambientais.

	Inter-relação		p	Variância
	Eixo 1	Eixo 2		
Temperatura	-0,47	-0,48	0,02	0,21
Z _{eu}	0,09	-0,75	0,01	0,19
pH	-0,32	0,38	0,36	0,16
Oxigênio dissolvido	-0,62	-0,03	0,18	0,11
N NH ₄ ⁺	0,81	-0,13	0,01	0,25
N NO ₃ ⁻	-0,12	0,17	0,48	0,16
Fósforo total	0,07	0,36	0,07	0,14
Razão N/P	0,20	0,23	0,10	0,13

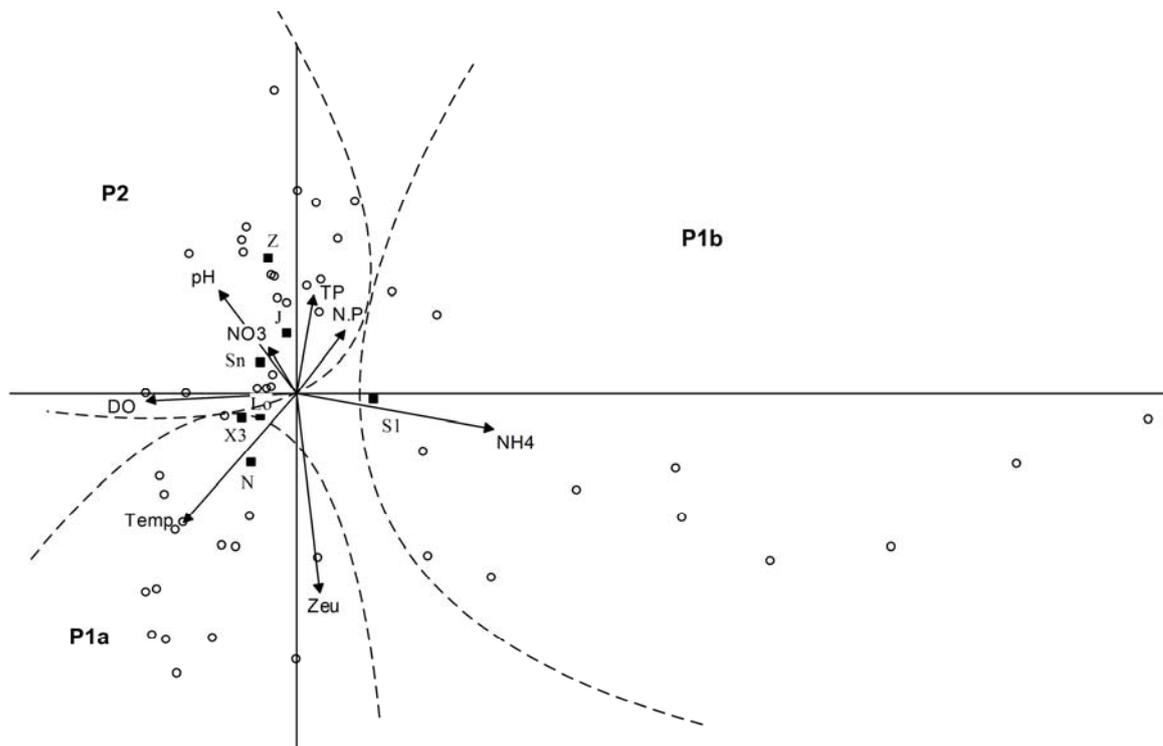


Figura 4.4: Diagrama de ordenação da Análise de Correspondência Canônica (ACC) mostrando os grupos funcionais do fitoplâncton (X₃, N, S₁, S_n, J, L_o e Z), as variáveis ambientais (setas) que exerceram influência significativa e independente sobre a distribuição fitoplanctônica e as amostras (círculos) agrupadas por período (P1a: amostras da superfície e profundidade de Secchi 1; P1b: amostras do limite da zona eufótica no período 1; P2: amostras do período 2).

Tabela 4.4: Porcentagem média por período e em cada profundidade, dos grupos funcionais do fitoplâncton (GF) como grupos de espécies dominantes. Legendas de acordo com Reynolds (1997; 2006), Padisák & Reynolds (1998) e Reynolds *et al.* (2002).

	Período 1	GF	Período 2	GF
	14 Oct. – 21 Mar.		11 Apr. – 22 Sep.	
Superfície	4 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃	5 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃
	13 % <i>Cosmarium asphaerosporum</i> var. <i>strigosum</i>	X ₃	5 % <i>Cosmarium papekuilense</i>	X ₃
	11 % <i>Cosmarium papekuilense</i>	X ₃	9 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃
	14 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃	4 % <i>Staurodesmus</i> sp. 1	X ₃
	6 % <i>Staurodesmus</i> sp. 1	X ₃	19 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n
	7% <i>Staurodesmus indentatus</i> var. <i>rectangularis</i>	N	27 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁
	5 % <i>Staurastrum tetracerum</i>	N	12 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁
	13 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n	5% <i>Synechococcus capitatus</i>	Z
	8 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁	5 % <i>Peridinium umbonatum</i>	L ₀
	8 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁	4% <i>Desmodesmus bicaudatus</i>	J
Prof. Secchi	4% <i>Peridinium umbonatum</i>	L ₀		
	5 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃	7 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃
	12 % <i>Cosmarium asphaerosporum</i> var. <i>strigosum</i>	X ₃	4 % <i>Cosmarium asphaerosporum</i> var. <i>strigosum</i>	X ₃
	10 % <i>Cosmarium papekuilense</i>	X ₃	11 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃
	6 % <i>Staurodesmus</i> sp. 1	X ₃	4 % <i>Staurodesmus</i> sp. 1	X ₃
	16 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃	18 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n
	8 % <i>Staurodesmus indentatus</i> var. <i>rectangularis</i>	N	6 % <i>Komvophoron minutum</i>	S ₁
	4 % <i>Staurastrum tetracerum</i>	N	27 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁
	10 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n	9 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁
	7 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁	5% <i>Synechococcus capitatus</i>	Z
ZE	7 % <i>Peridinium umbonatum</i>	L ₀	9 % <i>Peridinium umbonatum</i>	L ₀
	4 % <i>Cosmarium papekuilense</i>	X ₃	5 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃
	7 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃	13% <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃
	9 % <i>Limnothrix redekey</i>	S ₁	27 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n
	43 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁	19 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁
	7 % <i>Planktothrix isothrix</i>	S ₁	5 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁
	8 % <i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁	5 % <i>Peridinium umbonatum</i>	L ₀
			5 % <i>Oocystis lacustris</i>	J
Fundo	4 % <i>Limnothrix redekey</i>	S ₁	5 % <i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃
	82 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁	7 % <i>Staurodesmus crassus</i>	X ₃
	6 % <i>Planktothrix</i> sp.	S ₁	5 % <i>Staurodesmus</i> sp. 2	X ₃
			13 % <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n
			5 % <i>Limnothrix redekey</i>	S ₁
			36 % <i>Limnothrix bicudoi</i>	S ₁
		6 % <i>Synechococcus capitatus</i>	Z	

O teste de correlação de Spearman mostrou, no período 1, correlação positiva significativa entre as desmídias dominantes e temperatura, pH e N NO₃⁻, as quais foram também associadas negativamente com fósforo total, N NH₄⁺ e razão N/P (tabela 4.5). As cianobactérias dominantes (S₁) no período 2 estiveram associadas positivamente ao fósforo

total e N NH_4^+ , e negativamente à temperatura e pH. *C. raciborskii* (S_n) esteve associada positivamente com pH, fósforo total e N NO_3^- , e negativamente com z_{eu} e N NH_4^+ .

Tabela 4.5: Coeficientes de correlação de Spearman entre a biomassa dos principais grupos funcionais do fitoplâncton e as variáveis z_{eu} , z_{eu}/z_{mix} , temperatura (T), pH, fósforo solúvel reativo (FSR), fósforo total (TP), amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e razão N/P (apenas as correlações significantes são apresentadas; $p < 0,05$).

GRUPOS	Z_{eu}	Z_{eu}/Z_{mix}	T	pH	FSR	TP	NH_4^+	NO_3^-	N/P
X_3	-	-	0,49	0,47	-	-	-0,69	0,43	-0,50
N	-	-	0,54	-	-	-0,49	-0,41	-	-0,42
S_1	-	-	-0,61	-0,35	-	0,42	0,33	-	-
S_n	-0,70	-	-	0,63	-	0,36	-0,53	0,47	-
J	-0,68	-	-0,43	-	0,36	0,55	-0,36	0,47	-
L_o	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z	-0,57	-	-	0,34	-	-	-0,43	-	-

4.2.3 Cultivos das cepas de *C. raciborskii*, bioensaio de toxicidade aguda e análise de toxinas

A cepa CyDB-1 (figura 4.5 a) apresentou as maiores taxas de crescimento (μ) (figura 4.6) e de duplicação (K_2) e o menor tempo de duplicação (G) (tabela 4.6). Os valores de clorofila *a* também foram maiores para a cepa CyDB-1 (figura 4.7). Para ambas as cepas, houve um decréscimo na produção de clorofila *a* até o 5º dia, o que é normalmente observado durante o crescimento exponencial de células provenientes de inóculos densos.

Nos bioensaios realizados com camundongos não foram observados quaisquer sintomas de intoxicação por um período de oito dias. Os resultados do imunoensaio do tipo ELISA para detecção de microcistinas nos estratos das culturas das duas cepas de *C. raciborskii* foram negativos.

Tabela 4.6: Parâmetros de crescimento das culturas de duas cepas de *C. raciborskii*, sob intensidade luminosa de $40 \mu\text{moles f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Parâmetros	CyDB-1	CyDB-2
Taxa de crescimento (μ ; dia^{-1})	0,44	0,32
Tempo de duplicação (G; dia^{-1})	1,56	2,13
Nº de divisões por dia (K_2)	1,48	1,08

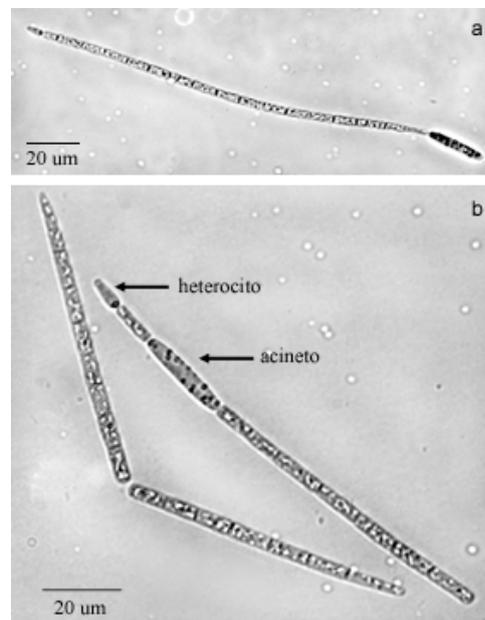


Figura 4.5: Tricomas das cepas cultivadas de *Cylindrospermopsis raciborskii*, isoladas de amostras naturais do reservatório Duas Bocas, Espírito Santo (a: CyDB-1; b: CyDB-2, evidenciando heterocito e acinet).

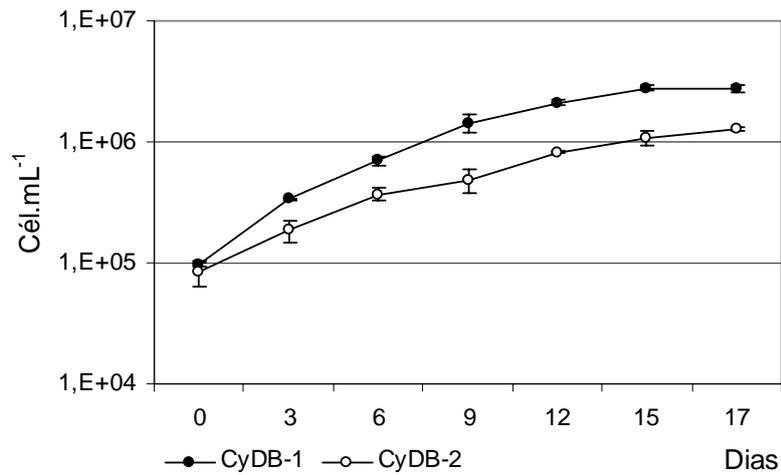


Figura 4.6: Curvas de crescimento das cepas de *C. raciborskii* (CyDB-1 e CyDB-2).

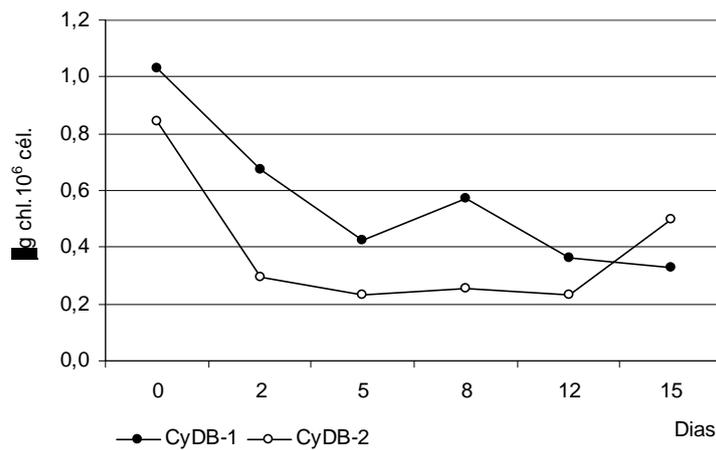


Figura 4.7: Variação da concentração de clorofila *a* em 10^6 células nos cultivos das cepas de *C. raciborskii* (CyDB-1 e CyDB-2).

4.3 Discussão

4.3.1 Ciclo sazonal do fitoplâncton

O crescimento fitoplantônico no RDB, considerado meso-eutrófico (fósforo total = $36,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e clorofila *a* = $10,9 \mu\text{g L}^{-1}$, em média) é co-limitado por N e P, mas com predominância da limitação por nitrogênio. A dinâmica do fitoplâncton nesse sistema é relacionada à forte estratificação térmica observada nos meses de verão e circulação nos meses de inverno.

Os dados da composição e abundância fitoplanctônica nesse estudo apresentaram algumas diferenças quando considerados aos dados de um estudo anterior (Delazari-Barroso, 2000). Nesse estudo, durante o mês de julho de 1998, no período de circulação da coluna d'água, a comunidade esteve dominada por pequenas desmídias, com abundância de *Cosmarium papekuilense*, *Teilingia granulata* (Roy & Bisset) Bourrely e *Staurodesmus crassus*, em toda a coluna d'água. Em março de 1999, com estratificação térmica estável, as desmídias e as cianobactérias, com abundância de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Pseudanabaena moniliformis* e *Limnothrix bicudoi*, dividiram a dominância da comunidade (Delazari-Barroso, 2000). No presente estudo, os dados mostraram um padrão inverso de dominância entre desmídias e cianobactérias, considerando o regime de estratificação e circulação da coluna d'água. As desmídias foram o grupo dominante no epilímnio durante o período de estratificação térmica, de outubro de 2002 a fevereiro de 2003. Essas algas crescem preferencialmente em águas oligotróficas e levemente ácidas, mas algumas espécies podem se desenvolver em águas eutróficas (Reynolds, 1987). A seleção das desmídias no RDB durante a estratificação pode estar relacionada à maior disponibilidade de luz e ao pH levemente ácido a neutro, devido à preferência desse grupo em usar o CO₂ como fonte de carbono (Happey-Wood, 1988). Esses fatores são importantes na determinação do crescimento das desmídias (Moss, 1973), porém o conhecimento sobre a densidade, biomassa e a variação sazonal no crescimento desse grupo de algas ainda é pequeno (Brook, 1981).

As cianobactérias foram dominantes durante o período 2, quando ocorreram eventos de circulação da coluna d'água. Isso não era esperado, pois essas algas precisam de relativa estabilidade física para desenvolver populações dominantes (Paerl, 1988; Boland & Griffiths, 1996; Dokulil & Teubner, 2000). O influxo de nutrientes do hipolímnio para as camadas superiores durante a circulação pode ter contribuído para o crescimento das cianobactérias nesse período. A maior turbidez da água e, provavelmente, a menor disponibilidade de luz nesse período, refletida por menores valores de transparência da água, selecionou as espécies de *Cylindrospermopsis*, *Limnothrix* e *Pseudanabaena*, que possuem afinidade por luminosidade baixa (Dokulil & Mayer, 1996; Havens *et al.*, 1998; Reynolds, 2006). Embora não esperado, conforme citado na literatura, a dominância de cianobactérias filamentosas nos meses de inverno já foi registrada em um reservatório oligo-mesotrófico no Brasil e foi relacionada à maior circulação interna de nutrientes em períodos de ausência de termoclina, quando ocorreram eventos de circulação (Nogueira, 2000).

4.3.2 Diversidade e correlação das espécies com as variáveis ambientais

No período 1, em condições de estratificação térmica, a diversidade fitoplanctônica foi menor e no período 2, quando ocorreu circulação, a diversidade foi maior. As condições de estabilidade física da coluna d'água, maior disponibilidade de luz e concentrações mais baixas de nutrientes, durante o período 1, favoreceram espécies unicelulares nanoplanctônicas, dominadas por desmídias. As mudanças climáticas, com a aproximação do outono e inverno promoveram um fluxo interno de nutrientes devido à circulação o que resultou em maior turbidez e menor luminosidade, selecionando cianobactérias filamentosas e favorecendo o desenvolvimento de espécies de outros grupos, principalmente clorofíceas cocóides. De fato, a riqueza de espécies foi maior no segundo período. Do total de táxons registrado, 16 % ocorreram somente no período 2, incluindo algumas cianobactérias, euglenofíceas, diatomáceas e dinoflagelados, porém com baixas contribuições para a biomassa total do fitoplâncton. No RDB, as condições físico-químicas decorrentes dos eventos de circulação são importantes para a manutenção de uma diversidade elevada, como registrada para outros sistemas tropicais (Calijuri & Santos, 1996).

Os fatores ambientais que regulam a dominância de desmídias nos sistemas de água doce não são ainda bem conhecidos. Embora não esperado, pequenas desmídias foram dominantes no epilímnio durante o período de estratificação térmica. Em lagos temperados, o crescimento de desmídias é positivamente associado à circulação da coluna d'água que é importante para compensar a falta de mobilidade dessas algas. No RDB, o crescimento de desmídias esteve associado positivamente ao pH levemente ácido e às temperaturas elevadas durante os meses de verão. Em torno de 71 % dos valores de pH estiveram entre 6,1 e 6,9 durante o período de estratificação. Nessa faixa, 70 % do carbono inorgânico estão na forma de CO₂ livre (Cole, 1994). Esse fator pode ter selecionado as desmídias, que é um grupo que usa preferencialmente o CO₂ como fonte de carbono. Os gradientes de pH e a disponibilidade de carbono estão entre as principais variáveis ambientais que selecionam as espécies do fitoplâncton (Reynolds, 1987). A abundância de espécies de *Staurodesmus* e *Staurastrum* em um lago amazônico foi relacionada ao pH ácido e a sua capacidade utilizar o CO₂ livre como fonte de carbono (Huszar, 1994).

Além das variáveis químicas, o processo físico chamado atelomixia (Lewis, 1973), que é uma variação na profundidade do epilímnio causando uma circulação intensa nessa camada, pode explicar a dominância/abundância de desmídias no RDB. A biomassa crescente de *Cosmarium asphaerosporum* var. *strigosum*, *C. papekuilense* e *Staurodesmus crassus*, de novembro a março, pôde estar relacionada à atelomixia parcial (*sensu* Barbosa & Padisák,

2002), que traz nutrientes das águas metalimnéticas para a camada superior (Lewis, 1973). A atelomixia é um fenômeno típico dos sistemas tropicais que ocorre regularmente e acontece em menor escala que o tempo de geração da maioria das espécies fitoplanctônicas (Barbosa & Padisák, 2002), o que representa um fator chave na manutenção das espécies imóveis em suspensão no epilímnio durante períodos de estratificação térmica (Lewis, 1973). Assim, o sucesso das desmídias em sistemas monomíticos tropicais durante períodos de estratificação térmica, como observado na zona lacustrina do RDB, é relacionado à atelomixia parcial. Essa dinâmica foi registrada por Barbosa & Padisák (2002) para os lagos Carioca e Dom Helvécio, no distrito de lagos do médio Rio Doce, Brasil, e por Tavera & Martinez-Almeida (2005) para o lago Zirahuén, México. A abundância de outros grupos de algas imóveis, como pequenas clorofíceas cocóides e diatomáceas, durante condições de estratificação em um reservatório oligotrófico tropical, foi atribuída também à atelomixia (Lopes *et al.*, 2005).

É necessário considerar que a composição do fitoplâncton também é influenciada pela pressão de predação pelo zooplâncton (George & Reynolds, 1997). A dominância de clorofíceas de pequeno tamanho em vez de cianobactérias grandes de difícil ingestão pode ser consequência de uma baixa pressão de herbivoria como resultado de predação elevada por peixes planctívoros, como registrado por Jensen *et al.* (1994). Porém, essa relação não foi acessada nesse estudo.

O fósforo é considerado um elemento determinante para o crescimento das desmídias. As espécies de *Staurastrum*, *Stauroidesmus* e *Cosmarium* são conhecidas como dominantes em ambientes pobres em fósforo (Huszar *et al.*, 1998). Os experimentos de Spijkerman & Coesel (1998) mostraram que *Staurastrum* e *Cosmarium* podem crescer em baixas concentrações de fósforo. Nossos dados mostraram uma associação negativa de *Staurastrum tetracerum* e *Stauroidesmus indentatus* var. *rectangularis* com o fósforo total. No RDB, o nitrogênio parece ser importante para o crescimento das desmídias, embora seja limitante. A abundância das espécies de *Actinotaenium*, *Cosmarium* e *Stauroidesmus* esteve associada positivamente ao nitrato, considerado limitante durante todo o estudo, e negativamente ao amônio. O papel do metabolismo do nitrogênio para o crescimento das desmídias tem recebido pouca atenção (Brook, 1981). O experimento de Nakarishi & Monsi (1976, *apud* Brook, 1981) mostrou que a capacidade fotossintética e o crescimento de *Cosmarium* foram mantidos mesmo em meios com baixas concentrações de nitrato. O crescimento de algumas desmídias sob condições limitantes de nitrogênio tem sido relacionado à possibilidade de que o nitrogênio proveniente de fontes como o ácido úrico e glicolatos possam ser utilizados (Brook, 1981).

No metalímnio inferior (4 - 5 m) e no fundo, foram observadas concentrações elevadas de biomassa no período 1. *Limnothrix bicudoi* contribuiu com até 95 % para a biomassa total do fitoplâncton nessas profundidades. Esse máximo metalimnético foi registrado durante todo o período de estratificação. O mesmo padrão de distribuição vertical de uma população de *Planktolyngbya* foi registrado para lagos do médio rio Doce, Brasil (Reynolds *et al.* 1983, Hino *et al.* 1986). Essa estratificação biológica é característica em alguns lagos temperados. Máximos metalimnéticos com espécies de *Oscillatoria* (Watanabe, 1979; Konopka, 1982) e *Planktothrix* (Klemer, 1976; Salmaso, 2000) já foram registrados em alguns lagos. Esse crescimento metalimnético tem sido relacionado à adaptação fisiológica a baixas temperaturas e reduzida disponibilidade de luz resultante de adaptação cromática (Reynolds *et al.*, 1983; Dokulil & Teubner, 2000; Grossman *et al.*, 2001; Reynolds, 2006). No RDB, a distribuição vertical de *Limnothrix* esteve associada, como esperado, positivamente ao fósforo total e amônio, mas negativamente com o pH. Não houve relação das cianobactérias com a razão N/P. A dominância de cianobactérias coincidiu com concentrações de fósforo < 5,2 µM, acompanhando o limite citado para cianobactérias (< 26 µM). O mesmo padrão foi registrado por Huszar & Caraco (1998) para lagos temperados.

As florações verticais de cianobactérias aumentam a densidade da água e tornam a estratificação mais estável (Kumagai *et al.*, 2000), podendo aumentar a depleção de oxigênio e o fluxo de nutrientes como fósforo dissolvido e amônio do hipolímnio. O acesso a esse suprimento de nutrientes, que é relativamente indisponível para o epilímnio, é favorecido pela habilidade de regular a posição vertical na coluna d'água através do mecanismo de flutuação por aerótopos (Hino *et al.*, 1986).

No período 2, a dominância de desmídias foi substituída pela dominância das cianobactérias em toda a coluna d'água. Essa dominância é resultado da interação de vários fatores (Blomqvist *et al.*, 1994; Dokulil & Teubner, 2000). O aumento na turbidez e a diminuição da luminosidade disponível resultantes da circulação da água parecem ser condições favoráveis para uma distribuição vertical das Oscillatoriales, embora a biomassa permanecesse elevada no metalímnio. *Planktothrix* e *Limnothrix* são consideradas como tolerantes à mistura devido a sua capacidade de suportar pouca luz (Padisák & Reynolds, 1998). O desenvolvimento de *C. raciborskii* foi maior nesse período em toda a coluna d'água e mostrou uma correlação negativa com a z_{eu} e com amônio e positiva com pH e fósforo total, como era esperado. A biomassa de *C. raciborskii* alcançou 81 % no limite da zona eufótica em agosto, logo após o período de circulação, associada a baixos níveis de nitrato e FSR, mas não de amônio. O fato de que somente 12 % dos filamentos apresentavam heterocito indicou

que o amônio, que é a forma preferencial de nitrogênio (Pádisak, 1997) pôde ter inibido a formação dessa célula, como testado por Ogawa & Carr (1969) e também discutido por Branco & Senna (1994). Embora não tenha sido encontrada relação positiva com a temperatura, os dados desse estudo indicam uma tendência positiva de crescimento de *C. raciborskii* em temperaturas entre 22 e 25 °C, que é similar à temperatura requerida para induzir a germinação dos acinetos (Padisák & Reynolds, 1998). Apesar de não terem sido observados acinetos nas amostras naturais, mas somente em condições de cultivo, o elevado crescimento de *C. raciborskii* após períodos de circulação sugere seu recrutamento por ressuspensão do sedimento (Fabbro & Duivenvoorden, 1996).

A seleção das populações fitoplanctônicas está diretamente relacionada à disponibilidade de recursos. Concentrações limitantes de nutrientes podem resultar numa pressão seletiva sobre as populações (Reynolds, 1997). Os dados do RDB (epilímnio) mostraram limitação por nitrogênio, principalmente durante o período 1, com as concentrações de N NH₄⁺ e N NO₃⁻ sempre abaixo de 4,7 μM e 2,5 μM, respectivamente. Baseado nos valores de K_m, esses dados sugerem que o nitrato exerce um potencial seletivo para os diferentes grupos fitoplanctônicos. Os dados de amônio e FSR sugerem um potencial seletivo moderado, pelo menos para os grupos fitoplanctônicos com elevado K_m (cianobactérias e clorófitas cocóides, respectivamente).

4.3.3. Grupos funcionais do fitoplâncton

A abordagem dos grupos funcionais de Reynolds (Reynolds, 1997; 2006) pode ser útil para descrever a comunidade durante diferentes fases de estabilidade física (Huszar *et al.*, 2003). Nesse sentido, essa abordagem foi usada para descrever a ecologia do fitoplâncton no RDB. Foram registrados sete grupos funcionais, dos quais três reúnem cianobactérias, dois reúnem desmídias, um engloba clorófitas cocóides e outro, dinoflagelados.

O grupo N tende a estar presente no epilímnio de lagos estratificados e águas mais eutróficas, dependendo do regime de mistura. A presença de desmídias associadas a esse grupo ainda está sendo investigada (Reynolds *et al.*, 2002). Pequenas desmídias (< 15 μm) encontradas no RDB foram inseridas não no grupo N, mas no grupo X₃, que reúne espécies eucarióticas picoplanctônicas características de camadas d'água claras, rasas e turbulentas. No RDB, os grupos N (*Staurodesmus indentatus* var. *rectangularis* e *Staurastrum tetracerum*) e X₃ (*Actinotaenium perminutum*, *Cosmarium asphaerosporum* var. *strigosum*, *C. papekuilense*, *Staurodesmus crassus* e *Staurodesmus* spp.) foram selecionados em condições de estabilidade física da coluna d'água e ocorrência de atelomixia, concentrações baixas de

nutrientes e pH levemente ácido (X_3), características registradas principalmente nos meses de verão e outono.

O grupo S_1 , que reúne cianobactérias filamentosas adaptadas à reduzida luminosidade, foi descrito para águas turvas, turbulentas, rasas e ricas em nutrientes e, nesse estudo, foi representado por *Pseudanabaena moniliformis*, *Limnothrix redekey*, *L. bicudo* e *Planktothrix isoethrix*. *Cylindrospermopsis* foi colocada no grupo S_n devido mais ao seu baixo requerimento por luz, do que sua capacidade de fixar nitrogênio (Padisák & Reynolds, 1998). No RDB, esses grupos funcionais que reúnem cianobactérias filamentosas foram selecionados em condições de maior turbidez e menor luminosidade. O grupo *Limnothrix*, *Cylindrospermopsis* e *Planktolyngbya*, presente no RDB em biomassas relativamente baixas, é comum em lagos eutróficos e hipertróficos (Fabbro & Duivenvoorden, 2000) e foi registrado tanto em sistemas temperados (Naselli-Flores & Baroni, 2000) como tropicais (Bormans *et al.*, 2005).

O grupo L_0 , com algas grandes e móveis, é característico de lagos mesotróficos estratificados. Segundo Reynolds *et al.* (2002), os grupos L ainda precisam ser revistos. No RDB, o grupo L_0 esteve representado por *Peridinium umbonatum*, que se desenvolveu no epilimnio após o período de circulação, com pequena contribuição para a biomassa total, provavelmente associado à ressuspensão do sedimento.

O grupo J reúne clorófitas cocóides sem mucilagem, características de sistemas rasos e ricos em nutrientes, e foi representado nesse estudo por *Desmodesmus bicaudatus* e *Oocystis lacustris* que cresceram em concentrações mais elevadas de nutrientes após o período de circulação.

Em síntese, os dados do RDB corroboram a idéia de que a abordagem dos grupos funcionais se aplica bem a um reservatório tropical meso-eutrófico, onde a dinâmica da comunidade fitoplânctônica é controlada principalmente por fatores alóctones, como a estrutura física da coluna d'água, regulada pelas condições climáticas. Fatores autóctones, tais como a competição ou a predação parecem desempenhar um papel secundário na regulação da dinâmica do fitoplâncton no RDB.

4.3.4 Cultivos e bioensaios com as cepas de *C. raciborskii*

C. raciborskii é conhecida por tolerar baixa intensidade luminosa em condições naturais (Padisák, 1997). Porém, em condições de cultivo, o crescimento dessa cianobactéria é positivamente influenciado por maiores intensidades luminosas, como demonstrado por Carneiro (2005). Esse autor encontrou maiores e menores taxas de crescimento sob intensidades luminosas de 100 e 40 $\mu\text{moles f\acute{o}tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, respectivamente. Nossos resultados

mostraram maiores taxas de crescimento que os de Saker *et al.* (1999) para duas cepas hepatotóxicas isoladas de um reservatório tropical na Austrália, em condições semelhantes de cultivo. As taxas de crescimento obtidas nesse estudo estão de acordo com as citadas na literatura para cianobactérias filamentosas heterocitadas ou não (0,31 a 1,56, Reynolds, 1984), em condições de cultivo com temperaturas de 20 a 25 °C e sob saturação luminosa.

A adaptação das espécies fitoplanctônicas à luz implica em mudanças no conteúdo celular de clorofila (Darley, 1982). A queda no conteúdo de clorofila *a* indica que a intensidade luminosa utilizada nos cultivos foi mais que suficiente para o crescimento de *C. raciborskii*, o que poderia indicar uma baixa tolerância a intensidades luminosas altas (Padisák, 1992). Em experimentos com cultivos de *C. raciborskii* variando-se a intensidade luminosa, realizados por Carneiro (2005), foi encontrada uma relação inversa entre o incremento de clorofila *a* e a intensidade luminosa. Segundo Darley (1992), não há aumento no conteúdo de clorofila *a* quando a energia é suficiente para a manutenção do metabolismo celular. Então nossos resultados indicam que em condições naturais, a luz poderia ser um fator limitante para o crescimento de *C. raciborskii*.

Os efeitos tóxicos causados por *C. raciborskii* em bioensaios com injeção intraperitoneal em camundongos são relacionados principalmente à danos hepáticos. Nos experimentos realizados por Seawright *et al.* (1999), doses orais de 0,2 a 6,8 mg kg⁻¹ de extratos de culturas de *C. raciborskii*, produtora de cilindrospermopsina, foram suficientes para causar óbito num intervalo de dois a cinco dias, com necrose hepática e lesões extra-hepáticas, envolvendo esôfago, rins, timo e coração. Resultados semelhantes foram obtidos por Falconer *et al.* (1999) através de bioensaios com doses intraperitoneais de extratos de culturas de *C. raciborskii*, produtora de cilindrospermopsina. Segundo esses autores, a rota de administração dos extratos tóxicos não diferencia o padrão de danos histológicos, embora a toxicidade oral seja mais baixa. Os bioensaios realizados nesse estudo, com administração de extratos de *C. raciborskii*, não mostraram efeito tóxico num período de oito dias. A maioria das cepas isoladas no Brasil tem se mostrado produtoras de saxitoxinas.

Em testes de ELISA, também não foram detectadas concentrações de microcistinas. Esses resultados, porém, não nos permite afirmar que não existam cepas tóxicas de cianobactérias no reservatório Duas Bocas. Os fatores que controlam o crescimento e regulam a produção de toxinas em cepas de cianobactérias ainda são desconhecidos. A ocorrência de cepas tóxicas tem sido relacionada à crescente eutrofização artificial dos corpos d'água (Codd, 2000), porém, não é uma consequência direta da eutrofização (Reynolds, 2006). Florações tóxicas de cianobactérias têm sido registradas em reservatórios inseridos em bacias

preservadas na Austrália e em lagos oligotróficos alpinos na Suíça (Chorus & Bartram, 1999). Desse modo, em função da densidade e biomassa de cianobactérias encontradas no RDB, faz-se necessário o monitoramento semanal de cianobactérias e cianotoxinas para que sejam tomadas medidas que garantam a qualidade da água para consumo humano.

5 Capítulo 3: “Respostas do fitoplâncton ao enriquecimento por nutrientes em diferentes escalas de tempo em um reservatório de abastecimento público (Sudeste do Brasil)”

5.1 Material e Métodos

5.1.1 Desenho experimental e amostragem

O experimento foi desenvolvido na região lacustrina do RDB ($z = 6$ m), próximo à torre de captação de água (figura 5.1), durante quatro semanas (23 de setembro a 27 de outubro de 2003), ainda na estação seca. Nove mesocosmos em forma de cilindro foram confeccionados com plástico polietileno transparente (0,2 mm), tendo 1 m de diâmetro e 3,5 m de comprimento (alcançando a profundidade da zona eufótica), fechados no fundo e com volume estimado de 2.700 L, de acordo com o modelo proposto por Arcifa & Guanoni (2003). Os mesocosmos foram instalados *in situ* e preenchidos com água da zona eufótica, através de descida e subida vertical na coluna d'água.

Três mesocosmos serviram como controle (C) e nos outros seis, foram adicionados nutrientes conforme se segue (tabela 1): em três mesocosmos foram adicionados fosfato ($P PO_4^-$), nitrato ($N NO_3^-$) e amônio ($N NH_4^+$), num total de três adições em intervalos de 3 dias (tratamento chamado de eutrofização curta - SE); nos outros três mesocosmos foram adicionados os mesmos nutrientes em menores concentrações, num total de sete adições em intervalos de 3 dias (tratamento chamado de eutrofização longa - LE). As concentrações finais adicionadas, que foram as mesmas para os dois tratamentos (SE e LE), foram 5 μM de fosfato (KH_2PO_4), 22 μM de amônio (NH_4Cl) e 107 μM de nitrato ($NaNO_3$). Tais valores representam a média das concentrações encontradas em reservatórios eutróficos no Brasil e são 22 vezes maior que as concentrações médias de fosfato e amônio e 107 vezes maior que a concentração de nitrato, encontradas no RDB.

Todos os mesocosmos foram montados em um único dia, quando foram realizadas as primeiras adições de nutrientes. As amostragens começaram no primeiro dia e então, nos dias 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22 e 34, entre 9 e 11:00 horas.

As amostras de água para análise de fitoplâncton, clorofila *a* e nutrientes foram tomadas a 0,3 m de profundidade em cada mesocosmos e também no reservatório. Foram medidos *in situ*, em cada dia de amostragem, a transparência da água (estimada com o disco de Secchi), a temperatura, o pH, a condutividade elétrica (multiparâmetros WTW Multiline P4) e a turbidez (turbidímetro Lamotte 2020).

Tabela 5.1: Concentrações de nutrientes em cada adição e em cada tratamento durante o experimento de enriquecimento artificial, realizado em setembro e outubro de 2003, no reservatório Duas Bocas, Espírito Santo (C: controles, SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa).

Reagentes	Concentração/dia (μM)	Tratamento	Concentração total (μM)
KH_2PO_4	0	C	0
	1,7	SE	5
	0,7	LE	5
NH_4Cl	0	C	0
	7,3	SE	22
	3,1	LE	22
NaNO_3	0	C	0
	35,7	SE	107
	15,3	LE	107



Figura 5.1: Vistas parciais do reservatório Duas Bocas, mostrando os mesocosmos (a, b) próximos à torre de captação de água (c) e a amostragem (d).

5.1.2 Análise das amostras

As metodologias para determinação das concentrações de nutrientes e de clorofila *a* e da razão N/P foram as mesmas descritas no item 3.1.3. exceto silicato solúvel reativo, que não foi analisado nesse trabalho.

Para determinação da biomassa fitoplanctônica, da riqueza e diversidade de espécies e dos grupos funcionais do fitoplâncton, as metodologias foram as mesmas descritas no item 4.1.3.

5.1.3 Análise dos dados

O teste não paramétrico de Kruskal Wallis foi aplicado para testar se existiram diferenças entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas. Os dados foram logaritmizados e as diferenças foram consideradas significativas com $p < 0,05$.

5.2 Resultados

As figuras apresentadas estão com texto em inglês, pois os artigos já estão formatados para publicação em periódicos internacionais.

5.2.1 Variáveis ambientais

Os resultados das variáveis ambientais nos tratamentos não foram significativamente diferentes dos obtidos no reservatório ($p < 0,05$). A temperatura média da água nos mesocosmos foi de 25,6 °C, similar aos mesocosmos controles e o reservatório (figura 5.3, tabela 5.2). A temperatura aumentou para 27,5 °C até o 16º dia, com um decréscimo entre o 7º e o 13º dia, provavelmente associado à passagem de frente fria com chuvas fortes, como mostram os resultados de temperatura do ar e pluviosidade durante o período experimental (figura 5.2).

Tabela 5.2: Valores médios (desvio-padrão entre parênteses) das variáveis ambientais registradas nos mesocosmos e no reservatório (SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa).

Variável	Reservatório	Controle	SE	LE	n total
Temperatura da água (°C)	25,5	25,6 (0,1)	25,6 (0,1)	25,5 (0,2)	90
pH	8,7	8,6 (0,2)	8,8 (0,1)	8,9 (0,1)	90
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	44,1	46,3 (2,4)	47,0 (1,3)	45,9 (0,6)	90
Transparência (m)	0,9	0,9 (0)	0,8 (0)	0,8 (0,1)	90
Turbidez (UNT)	4,8	4,6 (0,4)	4,8 (0,3)	4,8 (0,3)	90
N NH_4^+ (μM)	8,2	8,7 (0,2)	9,5 (0,3)	10,5 (0,4)	90
N NO_2^- (μM)	1,9	2,3 (0)	2,1 (0)	2,1 (0)	90
N NO_3^- (μM)	2,3	2,8 (1,0)	2,8 (0,8)	2,5 (0,9)	90
NID (μM)	3,3	3,6 (0,6)	3,6 (1,3)	3,4 (0,9)	90
FSR (μM)	8,6	10,5 (0,1)	11,4 (0,2)	11,0 (0,1)	90
Fósforo total (μM)	1,3	1,2 (0,3)	1,8 (0,8)	1,6 (0,6)	90
N/P (atômica)	13,9	11,2 (2,3)	12,0 (2,8)	11,9 (2,4)	90
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	15,3	12,0 (1,3)	20,4 (2,2)	19,1 (2,4)	90

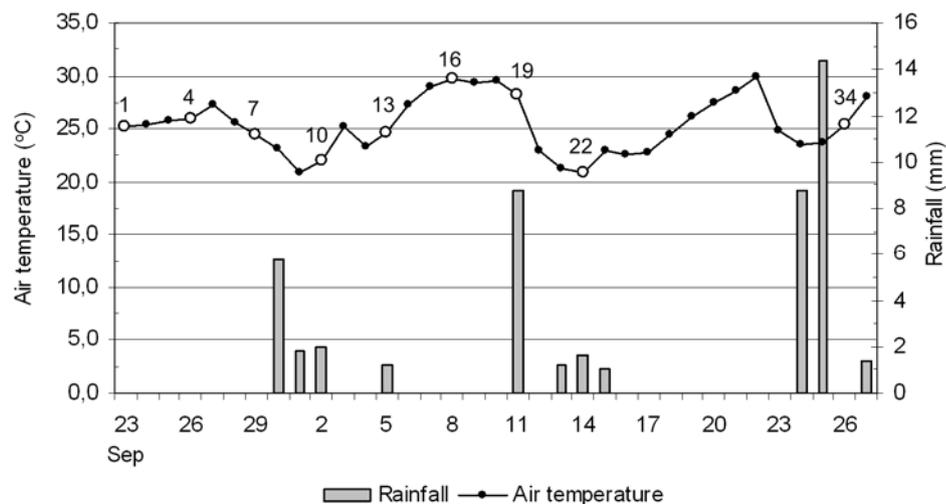


Figura 5.2: Variação na temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) e na pluviosidade (mm) durante o período experimental (os números próximos à linha pontuada representam os dias amostrais).

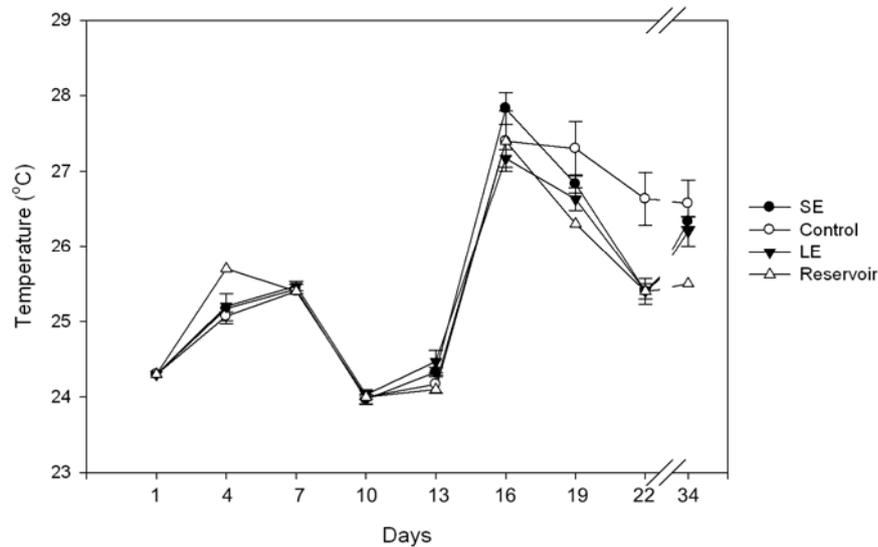


Figura 5.3: Variação na temperatura da água ($^{\circ}$ C) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

No primeiro dia do experimento, o pH apresentou valores próximos ao neutro e, a partir do 4 $^{\circ}$ dia, foram registradas condições alcalinas (figura 5.4 a). A mesma tendência de aumento foi observada para a condutividade elétrica, exceto nos mesocosmos controle, onde um decréscimo ocorreu entre o 4 $^{\circ}$ e o 16 $^{\circ}$ dia (figure 5.4 b). Os mesocosmos SE apresentaram valores elevados de condutividade, alcançando $53 \mu\text{S cm}^{-1}$ no 16 $^{\circ}$ dia. A turbidez mostrou também uma tendência de aumento ao longo do experimento, bem como queda na transparência da água, como era esperado. Valores ligeiramente mais elevados foram observados nos mesocosmos enriquecidos (SE e LE) (figura 5.4 c-d, tabela 5.2).

Os valores médios de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) nos mesocosmos enriquecidos ($3,5 \mu\text{M}$) foram similares aos encontrados no reservatório e controles ($3,4 \mu\text{M}$). NID foi representado principalmente pelo nitrato, cuja concentração média nos mesocosmos enriquecidos foi de $2,6 \mu\text{M}$. Concentrações decrescentes foram registradas até o 7 $^{\circ}$ dia, chegando a $0,7 \mu\text{M}$ (figura 5.5 b), então os valores aumentaram chegando até $4,9 \mu\text{M}$ no 19 $^{\circ}$ dia.

As concentrações médias de amônio nos mesocosmos enriquecidos e nos controles foram de $0,8$ e $0,6 \mu\text{M}$, respectivamente. Nos primeiros dias do experimento, as concentrações de amônio nos mesocosmos enriquecidos foram menores que nos controles e no reservatório (figura 5.5 c). No 10 $^{\circ}$ dia, esses valores nos mesocosmos SE e LE (média de $0,5 \mu\text{M}$) foram similares aos do reservatório e depois aumentaram até o 16 $^{\circ}$ dia. A partir do 19 $^{\circ}$ dia, as

concentrações de amônio nos mesocosmos controle diminuíram e nos enriquecidos aumentaram chegando a $1,4 \mu\text{M}$ nos mesocosmos SE e $1,6 \mu\text{M}$ nos mesocosmos LE, ao final do experimento.

Os teores de fosfato solúvel reativo (FSR) apresentaram uma variação elevada ao longo do experimento. Em geral, uma tendência de maiores valores nos mesocosmos enriquecidos foi observada (média de $0,4 \mu\text{M}$). Nos primeiros dias, concentrações decrescentes de FSR foram registradas nos mesocosmos LE então aumentaram entre o 7º e o 19º dia, exceto no 16º dia, quando os valores estiveram maiores nos mesocosmos SE ($0,7 \mu\text{M}$) (figura 5.5 d).

Os valores médios de fósforo total nos mesocosmos enriquecidos e nos controles foram de $1,7$ e $1,2 \mu\text{M}$, respectivamente. Foram observadas diferenças ao longo do experimento entre os mesocosmos SE e LE, notadamente após o 10º dia, quando os mesocosmos SE apresentaram concentrações 17,7 % maiores que os mesocosmos LE, em média, embora não significativamente diferentes ($p < 0,05$). No 19º dia, o teor de fósforo total esteve bem mais elevado nos mesocosmos LE, chegando a $3,6 \mu\text{M}$, depois a concentração decresceu (figura 5.6 a). As concentrações de clorofila *a* também foram maiores nos mesocosmos enriquecidos (figura 5.6 b e tabela 5.2). Porém, a falta de alguns dados de clorofila *a* devidos a problemas técnicos, não nos permitem inferências conclusivas. Os valores das razões N/P tiveram variação similar no reservatório, nos controles e nos mesocosmos enriquecidos (figura 5.6 c). Valores mais elevados, principalmente no reservatório, foram registrados após a ocorrência de chuvas, coincidindo com concentrações mais elevadas de nitrato (figuras 5.2 e 5.5 b).

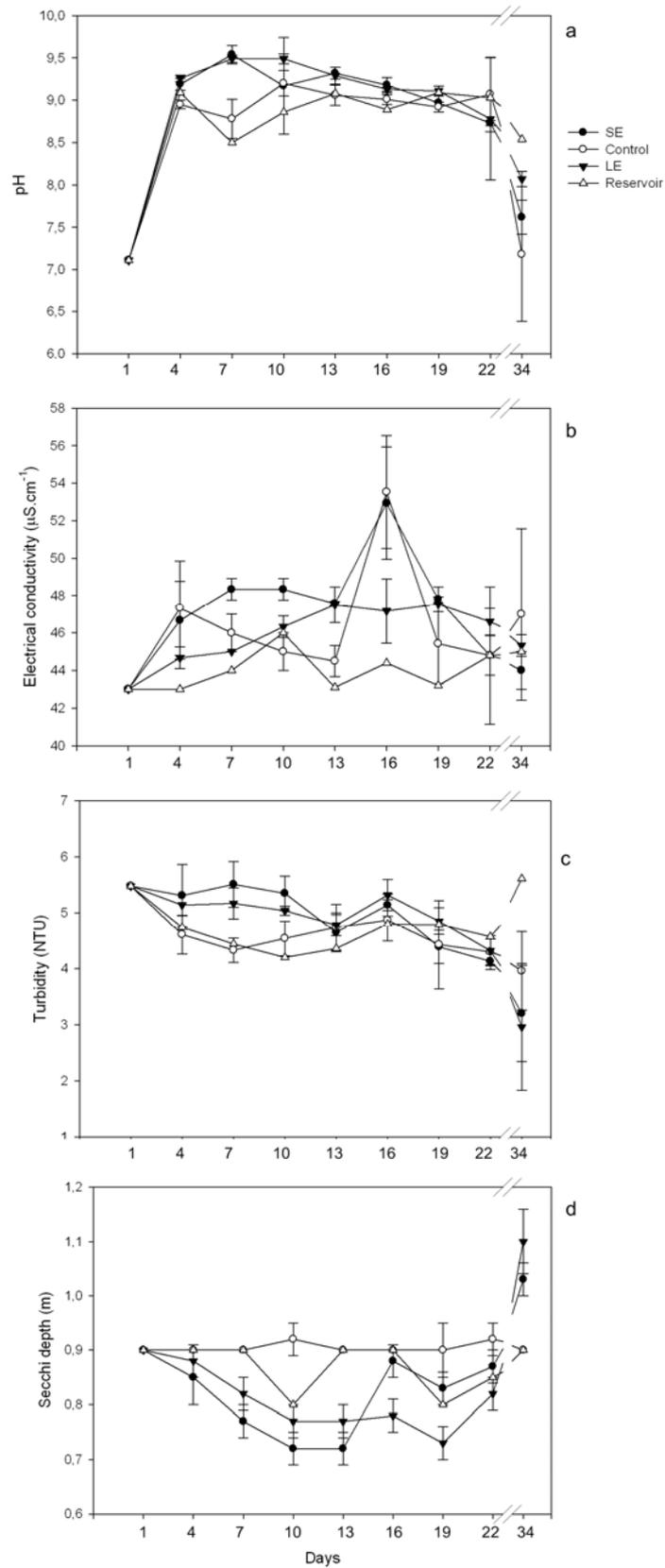


Figura 5.4: Variação nos valores de pH (a), condutividade elétrica (b), turbidez (c) e transparência (d) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

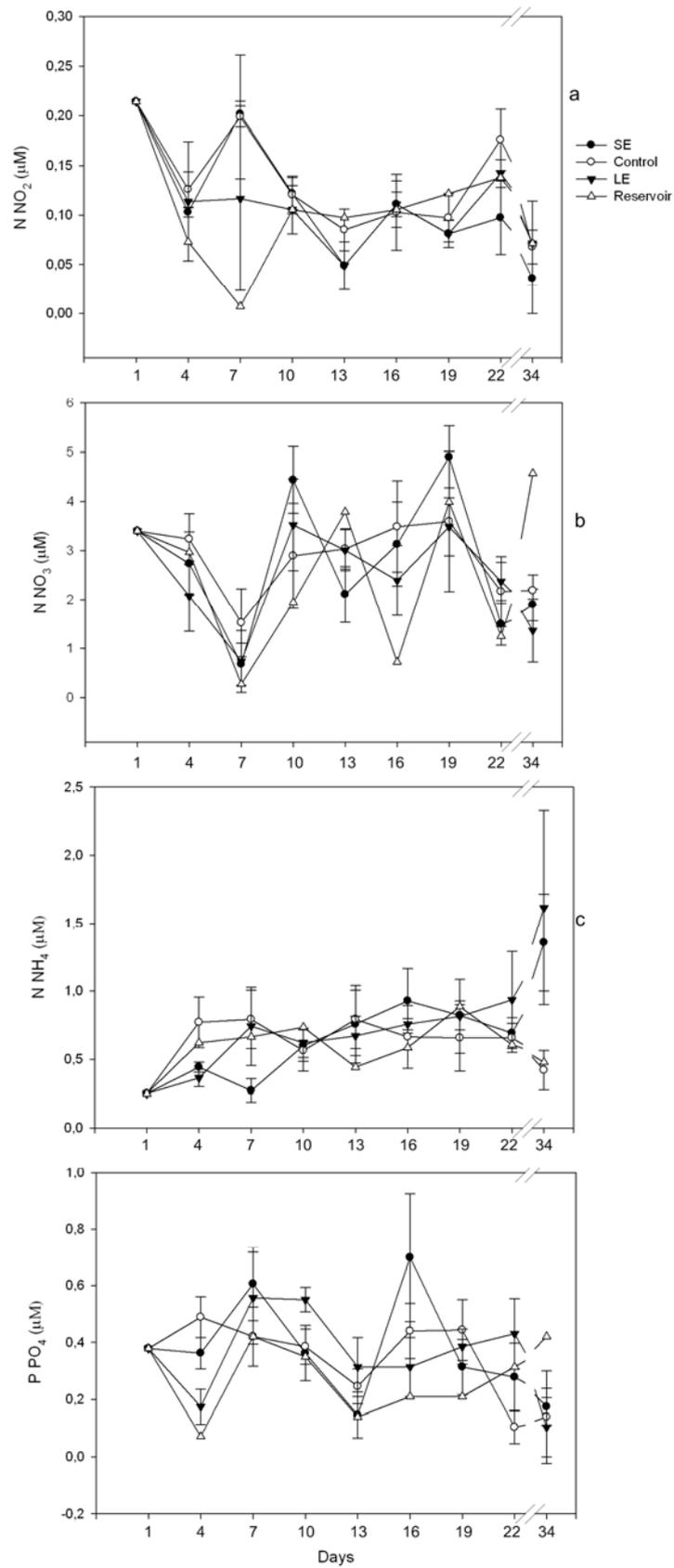


Figura 5.5: Variação nas concentrações de N NO_2^- (a), N NO_3^- (b), N NH_4^+ (c) e FSR (d) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

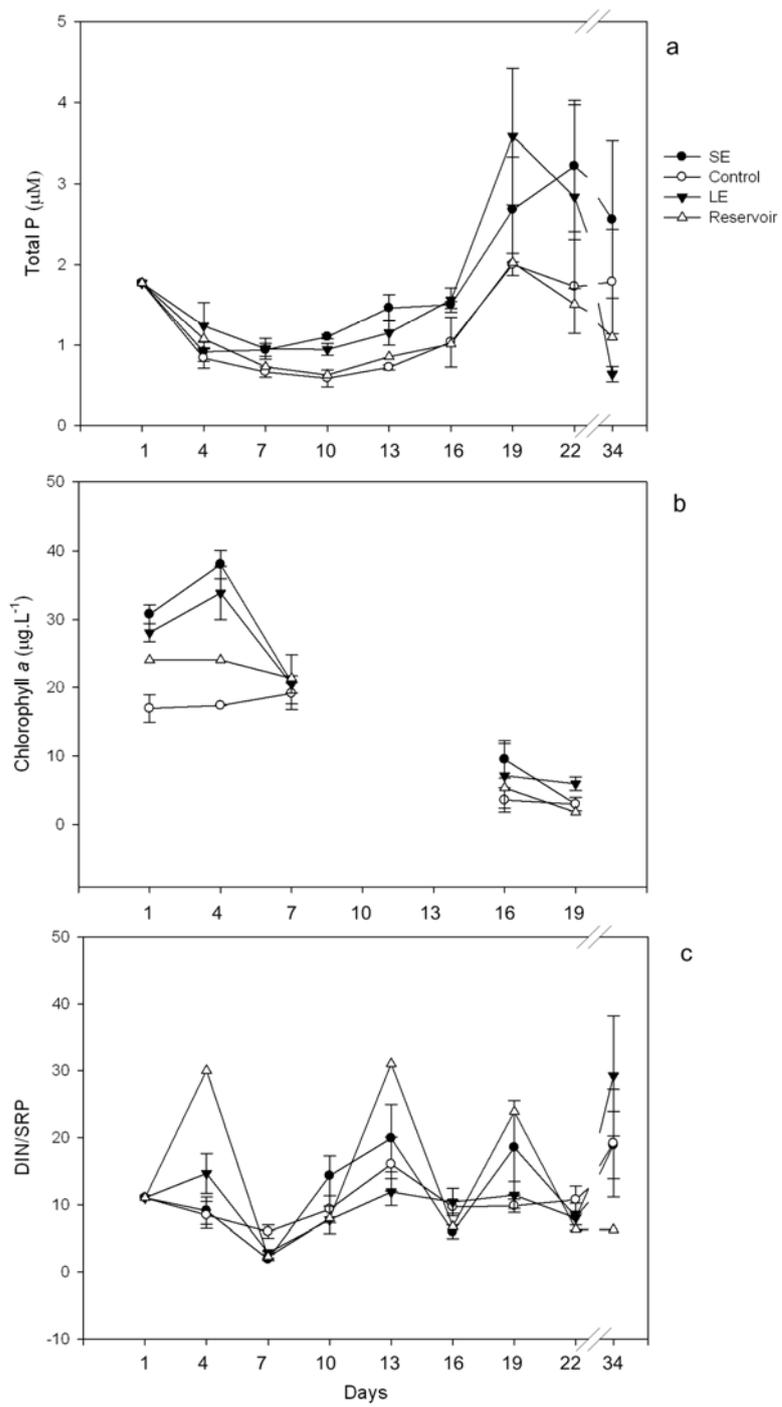


Figura 5.6: Variação nas concentrações de fósforo total (a), clorofila *a* (b) e razão N/P (c) no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

5.2.2 Respostas da comunidade fitoplanctônica

A biomassa fitoplanctônica apresentou valores médios de $9,8 \text{ mg L}^{-1}$ nos mesocosmos SE, $9,0 \text{ mg L}^{-1}$ nos mesocosmos LE, $9,1 \text{ mg L}^{-1}$ nos controles e $7,9 \text{ mg L}^{-1}$ no reservatório. Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os mesocosmos controle e os enriquecidos, foram notadas algumas tendências. Nos mesocosmos LE, a biomassa aumentou de $9,8$ a 12 mg L^{-1} até o 10º dia do experimento, enquanto nos mesocosmos SE um aumento de $9,8$ a $13,3 \text{ mg L}^{-1}$ ocorreu entre o 16º e o 19º dia (figura 5.7). Nos controles, a biomassa foi reduzida de $9,8$ a $8,3 \text{ mg L}^{-1}$ até o 9º dia, similar à variação encontrada no reservatório.

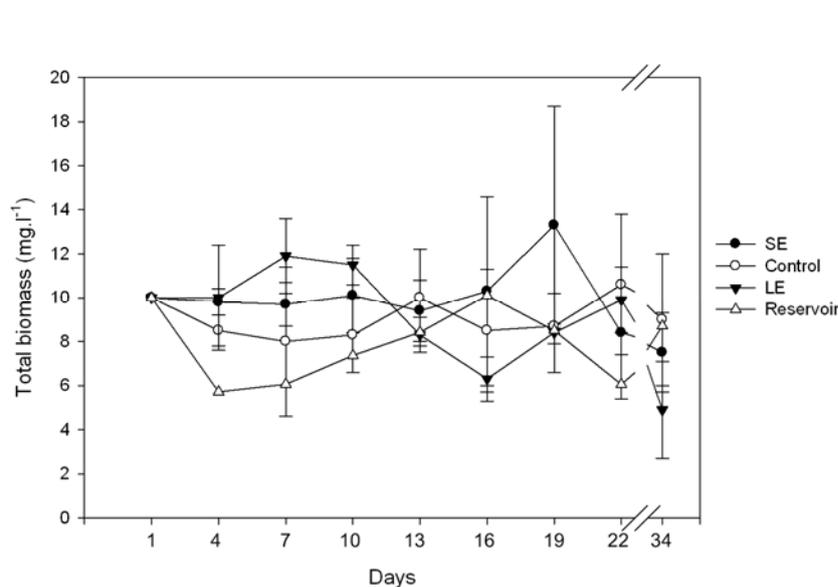


Figura 5.7: Variação na biomassa total do fitoplâncton no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

Considerando os grupos funcionais do fitoplâncton, as espécies mais abundantes (> 5 % da biomassa fitoplanctônica), foram inseridas em seis grupos (tabela 5.3). Os grupos que apresentaram biovolumes > 40 % reuniram desmídias (grupos X_3 e N) e cianobactérias (grupos S_1 e S_n). No início do experimento, os grupos funcionais do fitoplâncton tiveram riqueza e diversidade similares nos tratamentos e no reservatório. Em geral, a riqueza e a diversidade apresentaram um decréscimo com o aumento das concentrações de nutrientes. Embora não estatisticamente diferente, a riqueza diminuiu de 31 para 19 nos controles, de 31 para 18 nos mesocosmos SE, 28 para 15 nos mesocosmos LE e de 31 para 15 no reservatório. Variação similar foi observada para os valores de diversidade. Nos controles e no reservatório, a diversidade foi reduzida em 27 %, de 4 para $2,9 \text{ bits ind}^{-1}$, e nos mesocosmos

enriquecidos, uma redução de 29 % (4 para 2,8 bits ind⁻¹) foi observada, em média (figura 5.8).

Tabela 5.3: Contribuição média (%) dos grupos funcionais do fitoplâncton (GF) para a biomassa total nos mesocosmos e no reservatório (SE: eutrofização curta; LE: eutrofização longa).

Táxon	GF	Reserv.	Controle	SE	LE
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _n	19	19	18	17
<i>Limnothrix</i> sp.	S ₁	1	2	1	1
<i>Pseudanabaena moniliformis</i>	S ₁	17	16	13	13
<i>Limnothrix bicudoii</i>	S ₁	1	2	4	3
<i>Actinotaenium perminutum</i>	X ₃	4	6	10	8
<i>Cosmarium asphaerosporum</i> var. <i>strigosum</i>	X ₃	2	2	3	4
<i>C. papekuiense</i>	X ₃	1	2	3	4
<i>Staurastrum</i> sp.	X ₃	1	2	3	3
<i>Staurodesmus</i> cf. <i>pachyrhynchus</i>	X ₃	2	4	3	4
<i>S. o'mearii</i> var. <i>minutus</i>	X ₃	3	4	3	3
<i>Staurastrum smithii</i>	N	1	2	7	1
<i>S. tetracerum</i>	N	1	3	3	4
<i>Synechococcus capitatus</i>	Z	19	17	10	13
<i>Oocystis lacustris</i>	J	2	5	4	3

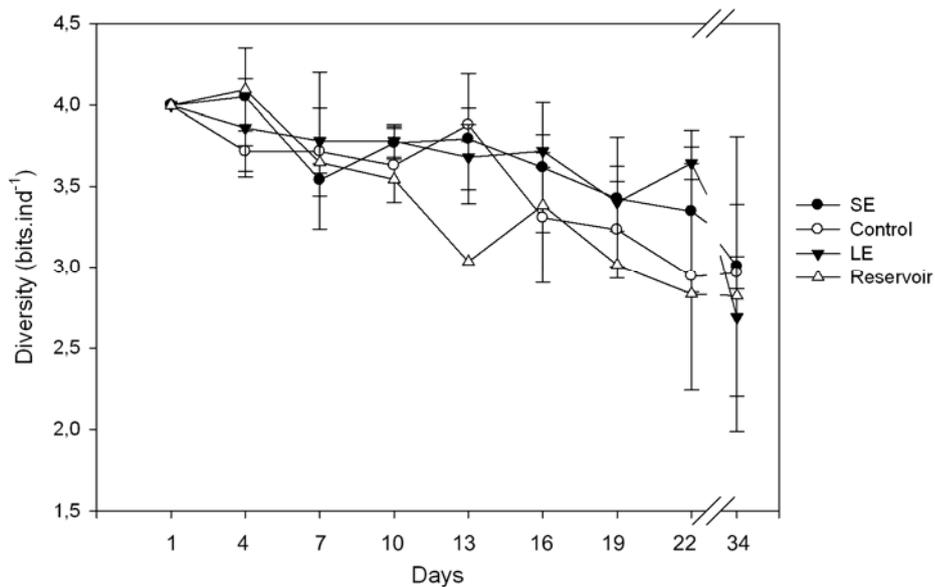


Figura 5.8: Variação no índice de diversidade de Shannon e Wiener no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

No início do experimento, o fitoplâncton nos mesocosmos controle, nos enriquecidos e no reservatório era dominado por desmídias picoplanctônicas (grupo funcional X₃) e nanoplanctônicas (grupo N), contribuindo com 50 % da biomassa total (5 mg L⁻¹), seguidas das cianobactérias (grupos funcionais S₁ e S_n, 26 % da biomassa - 2,6 mg L⁻¹), clorofíceas cocóides (grupo J, 23 % da biomassa - 2,3 mg L⁻¹) e criptofíceas (0,4 % da biomassa - 0,04 mg L⁻¹). Dentre as desmídias, *Actinotaenium perminutum* (9 %) *Cosmarium papekuilense* (8 %), *C. asphaerosporum* var, *strigosum* (7 %) e *Staurodesmus* cf, *pachyrhynchus* (7 %) foram as principais espécies, todas inseridas no grupo X₃, que está entre as associações oligotróficas, de algas em águas claras com baixas concentrações de fósforo e pH ácido (Reynolds *et al.*, 2002).

As adições de nutrientes tiveram efeitos significativos somente sobre o crescimento das desmídias, quando comparados os controles e o reservatório aos mesocosmos enriquecidos. Entretanto, comparando-se os mesocosmos SE e LE, não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$). A partir do 4º dia, as desmídias sofreram uma redução acentuada nos controles, no reservatório, nos mesocosmos SE e, menos pronunciadamente, nos mesocosmos LE.

Nos mesocosmos controle, as cianobactérias tornaram-se dominantes a partir do 4º dia até o final do experimento, alcançando 66 % da biomassa (5,7 mg L⁻¹) no 19º dia (figura 5.9). A biomassa de desmídias foi reduzida de 24 para 17 % entre o 4º e o 16º dia e então, aumentou para 31 % até o 22º dia. Uma variação similar foi observada no reservatório, mas com contribuição das desmídias menor que 18 % para a biomassa até o final do experimento (figura 5.9).

Nos mesocosmos SE, do 4º dia até o final do experimento, as cianobactérias foram o grupo predominante (48 % da biomassa, em média), alcançando um máximo de 62 % (6 mg L⁻¹) do 7º até o 10º dia (figura 5.9), coincidindo com baixas concentrações de FSR e amônio e pH > 9. As principais espécies foram *Cylindrospermopsis raciborskii* (S_n, 18 %), *Pseudanabaena moniliformis* (S₁, 13 %), e *Limnothrix bicudoi* (S₁, 5 %), cujos grupos funcionais incluem espécies tolerantes a baixas intensidades luminosas (Reynolds, 1997; Reynolds *et al.*, 2002). Entre o 10º e o 19º dia, a biomassa das desmídias aumentou alcançando 43 % (5,8 mg L⁻¹), enquanto as cianobactérias diminuíram para 36 % (3 mg L⁻¹).

O mesmo padrão foi observado para os mesocosmos LE, mas o crescimento das cianobactérias foi 18,6 % maior que nos mesocosmos SE entre o 7º e o 13º dia, embora não estatisticamente diferente ($p < 0,05$). As cianobactérias permaneceram como o principal grupo até o final do experimento (figura 5.9).

Considerando os grupos funcionais do fitoplâncton, mudanças qualitativas foram observadas ao longo do experimento. Nos mesocosmos controle, a predominância de pequenas desmídias X_3 foi substituída por cianobactérias filamentosas não heterocitadas do grupo S_1 (*P. moniliformis*, *L. bicudo* e *Limnothrix* sp.) e uma heterocitada S_n (*C. raciborskii*), até o 16º dia do experimento. Após o 16º dia, os grupos S_1 e S_n diminuíram e uma cianobactéria cocóide picoplantônica do grupo Z (*Synechococcus capitatus*) predominou nos mesocosmos controle (figura 5.10).

Nos mesocosmos SE, as desmídias X_3 foram substituídas por *C. raciborskii* (S_n) e cianobactérias não heterocitadas (S_1) até o 10º dia, e então cresceram novamente, após um evento de fortes chuvas (figura 5.2), predominando até o final do experimento (figura 5.10). A população de *C. raciborskii* cresceu até o 7º dia, coincidindo com baixas concentrações de amônio, e então, decresceu até o final do experimento. O mesmo padrão foi observado nos mesocosmos LE, mas uma crescente contribuição de *Synechococcus capitatus* (Z) foi observada até o 19º dia. *C. raciborskii* teve um crescimento menos pronunciado que nos mesocosmos SE, mas manteve o crescimento até o 10º dia (figura 5.10). Após o 10º dia, houve um decréscimo nas populações das cianobactérias S_1 e S_n , coincidindo com um aumento das desmídias X_3 e um decréscimo no pH e nas concentrações de FSR (figuras 5.4 a e 5.5 d).

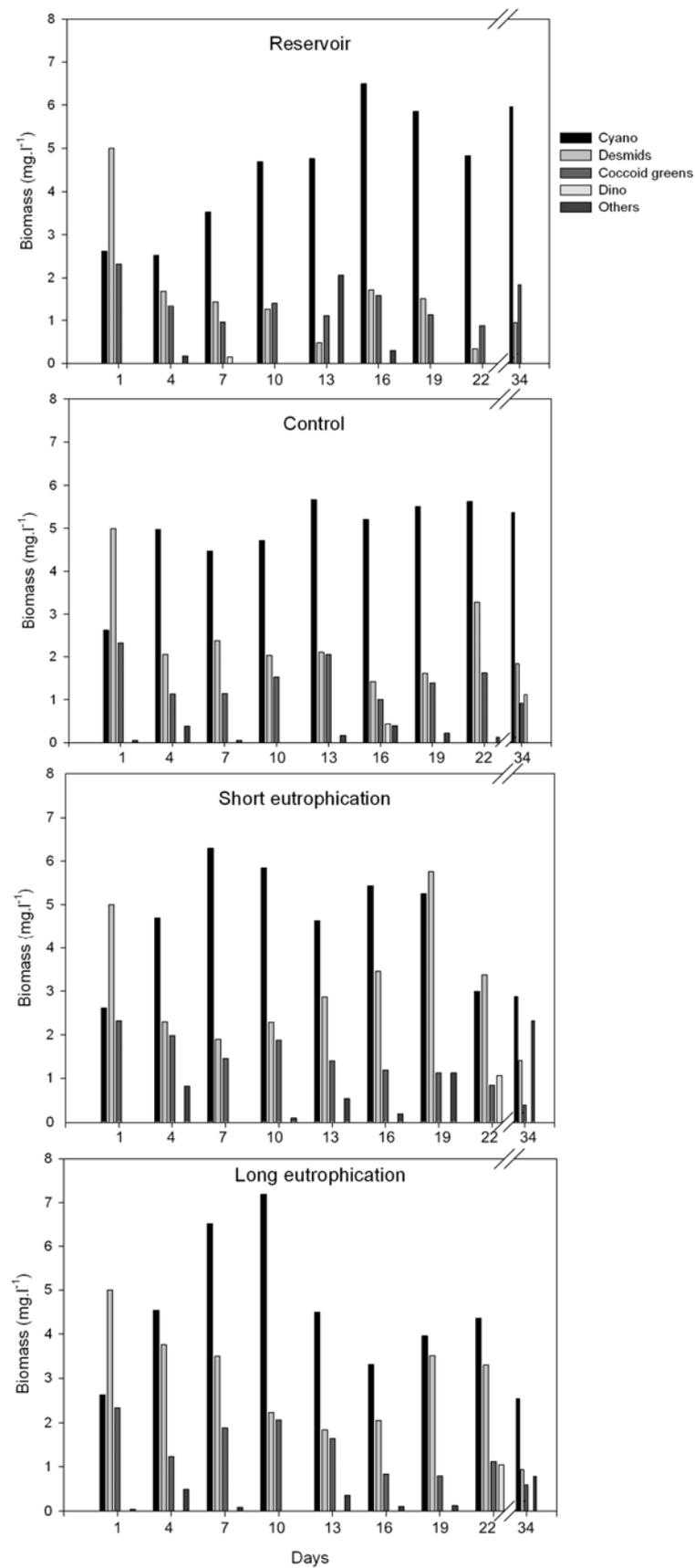


Figura 5.9: Variação na biomassa das principais classes fitoplantônicas no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

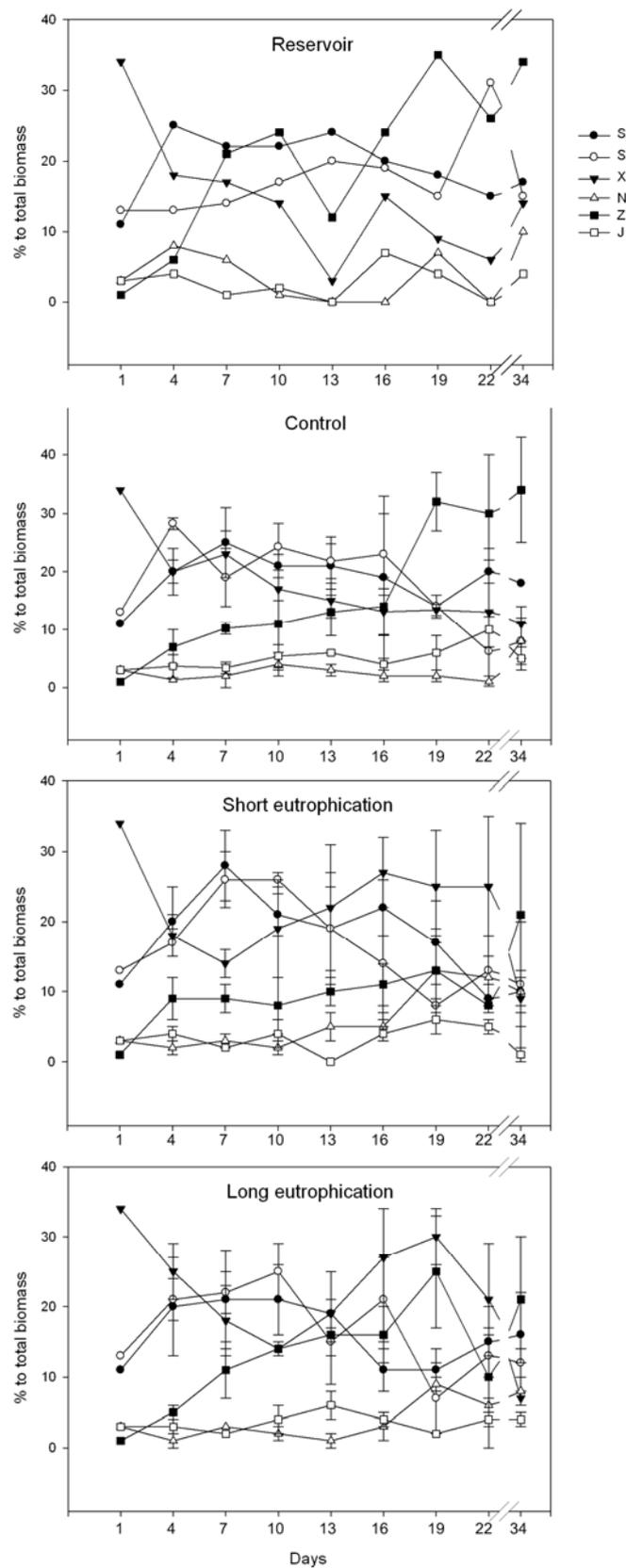


Figura 5.10: Variação da porcentagem de contribuição dos principais grupos funcionais do fitoplâncton para a biomassa total, no reservatório e nos mesocosmos durante o período experimental.

5.3 Discussão

O crescimento do fitoplâncton no reservatório Duas Bocas esteve limitado por nitrogênio durante todo o estudo e também por fósforo durante o período de estratificação térmica, que abrangeu meses da primavera, verão e outono. Embora o RDB tenha sido considerado eutrófico, de acordo com os critérios de Vollenweider & Kerekes (1980), ou mesotrófico, segundo os de Salas & Martino (1991), a limitação por nutrientes tem forte influência no crescimento do fitoplâncton. Antes da instalação dos mesocosmos, o reservatório apresentava condições mesotróficas. Os baixos teores de FSR e NID observados nos mesocosmos enriquecidos refletiram a rápida absorção pelo fitoplâncton e a importância da limitação por nutrientes no reservatório, o que causou uma resposta positiva do fitoplâncton à adição de nitrogênio e fósforo. Em geral, os valores de biomassa fitoplanctônica nos mesocosmos controle e no reservatório foram menores que nos mesocosmos enriquecidos, como mostrado pela variação da clorofila *a* (figura 5.6 b). O mesmo padrão de variação da biomassa fitoplanctônica foi observado nos controles e no reservatório, o que indica que o isolamento da água nos mesocosmos controles não teve efeito suficiente para diferenciá-los do reservatório.

No tratamento de eutrofização longa (LE), a resposta do fitoplâncton ao enriquecimento foi mais rápida (nos primeiros 10 dias) que no tratamento de eutrofização curta (SE), onde a resposta foi clara somente após o 16º dia do experimento. As concentrações de nutrientes adicionadas no mesocosmos SE foram duas vezes maior em cada adição que as dos mesocosmos LE, o que pode ter causado um estresse fisiológico ao fitoplâncton devido às novas condições químicas da água (Romo & Villena, 2005), resultando num maior tempo de adaptação às condições eutróficas e numa resposta de crescimento mais lenta.

A estrutura da comunidade fitoplanctônica é influenciada pelas concentrações de nutrientes e também pela predação pelo zooplâncton, entre outros fatores (Romo & Villena, 2005). Em lagos muito ricos em nutrientes, o fitoplâncton pode ser mais sensível às mudanças nas populações de predadores que nas concentrações de nutrientes (Lynch & Shapiro, 1981). Cottingham *et al.* (1997), comparando o crescimento do fitoplâncton em experimentos de enriquecimento, encontrou aumentos na biomassa muito menores em mesocosmos com populações de zooplâncton presentes e concluiu que nesses mesocosmos o zooplâncton influenciou claramente na resposta do fitoplâncton ao enriquecimento. Por outro lado, incrementos pequenos de biomassa em experimentos de enriquecimento, e mesmo declínios na biomassa, podem ser devido aos mesocosmos estarem isolados das fontes de nutrientes provenientes da bacia de drenagem (Schindler, 1998).

Além disso, é importante considerar a entrada de nutrientes com a pluviosidade. Nesse estudo, as maiores razões N/P foram observadas logo após eventos de fortes chuvas, o que indica a entrada de nitrogênio, como mostra a variação nas concentrações de nitrato. O aumento subsequente na biomassa fitoplanctônica no reservatório e nos controles nos leva a concluir que o regime climático é um fator chave na regulação do desenvolvimento do fitoplâncton. A contribuição externa de nutrientes, principalmente fósforo, via pluviosidade (Kim *et al.*, 2007) e via deposição atmosférica (Hessen *et al.*, 2006) tem sido relacionada como fontes importantes para o crescimento do fitoplâncton.

Nossos dados de diversidade do fitoplâncton, sob condições ricas em nutrientes, parecem não estar de acordo com a teoria da competição-recurso proposta por Tilman (Tilman, 1977), a qual diz que uma diversidade elevada ocorre sob condições limitantes de recursos. Isso parece acontecer no reservatório, onde, em condições de baixos teores de nutrientes, uma maior diversidade de espécies fitoplanctônicas foi observada. Embora a diversidade tenha diminuído com o aumento da concentração de nutrientes, como esperado e já registrado para reservatórios e lagos brasileiros (Huszar *et al.*, 1998), a diversidade foi maior nos mesocosmos enriquecidos, especialmente a partir do 16º dia do experimento, quando comparada aos mesocosmos controle e ao reservatório. Considerando que alta diversidade é representada por $H > 2,5 \text{ bits ind}^{-1}$ (Krebs, 1989), nossos dados apresentaram elevada diversidade durante todo o período experimental. A partir do 16º dia, os mesocosmos enriquecidos apresentaram maior diversidade ($> 3,5 \text{ bits ind}^{-1}$) que controles e reservatório, coincidindo com teores de nutrientes maiores que $0,3 \mu\text{M}$ de FSR e $3,7 \mu\text{M}$ de NID.

A adição de concentrações elevadas de nutrientes em menor tempo (tratamento SE) bem como de concentrações mais baixas em maior tempo (tratamento LE) causaram, inicialmente, a substituição das desmídias, características por crescerem em águas oligotróficas, pelas cianobactérias. Esse grupo é conhecido pela sua abundância em águas eutróficas, em condições de baixos teores de CO_2 e pH alcalino, temperatura elevada, baixas razões N/P e baixas concentrações de NID (Paerl 1988; Paerl & Fulton, 2006; Shapiro, 1990; Blonqvist *et al.*, 1994; Huszar *et al.*, 2000; Dokulil & Teubner, 2000; Reynolds, 2006). Apesar dessa relação com águas eutróficas, a dominância das cianobactérias tem sido registrada em vários níveis de nutrientes, em experimentos de enriquecimento artificial (Romo & Villena, 2005). Já foi registrada também a substituição das cianobactérias pelas clorofíceas em condições eutróficas experimentais (Jensen *et al.*, 1994; Gomes, 2005).

Nesse estudo, as cianobactérias mostraram uma rápida resposta de crescimento ao enriquecimento com nutrientes, pois substituíram as desmídias em todos os tratamentos.

Porém, houve uma diferenciação na seleção de espécies ao longo do experimento, devido ao enriquecimento e mesmo somente pelo isolamento da água. No reservatório, foi observado um aumento nas populações de *C. raciborskii* (S_n) e *S. capitatus* (Z), que predominaram durante todo o período, exceto por um decréscimo de *S. capitatus* entre o 10º e o 16º dia, coincidindo com uma queda na transparência da água após as chuvas. Algas picoplanctônicas do grupo funcional Z são características por crescerem em águas claras pobres em nutrientes e são sensíveis à limitação por luz (Reynolds, 1997; Reynolds *et al.*, 2002). *Pseudanabaena moniliformis* e *Limnothrix bicudo* (ambas S_1), que são tolerantes à baixa intensidade luminosa, cresceram pouco até o 13º dia, mas mais pronunciadamente após períodos de chuvas. Nos controles, as cianobactérias S_1 e S_n cresceram em detrimento das desmídias e predominaram até o 16º dia. Essa condição diferencial indicou que o aprisionamento da água influenciou a seleção de algumas espécies, mas não no grupo como um todo.

Nos mesocosmos SE, o crescimento de *C. raciborskii* (S_n) até o 7º dia, quando foi mais pronunciado, mas não estatisticamente significante ($p < 0,05$), pôde ser associado a temperaturas mais elevadas e à absorção de amônio. Em condições experimentais, Burford *et al.* (2006) encontraram as maiores taxas de absorção de amônio por *C. raciborskii* em temperaturas mais elevadas. O sucesso dessa espécie em vários sistemas aquáticos tem sido relacionado à sua habilidade de absorver amônio em baixas concentrações (Padisák, 1997; Marinho & Huszar, 2002; Burford *et al.*, 2006). Porém, nossos resultados parecem não refletir essa relação, pois o crescimento de *C. raciborskii* foi mais pronunciado nos mesocosmos SE, onde as concentrações totais de nutrientes foram adicionadas até o 7º dia do experimento. Por outro lado, o crescimento decresceu a partir do 10º dia, quando concentrações crescentes de amônio foram detectadas ($> 0,6 \mu\text{M}$).

As populações de *P. moniliformis* e *L. bicudo* (S_1) aumentaram com concentrações crescentes de nutrientes em ambos os tratamentos de enriquecimento ($> 5,1 \text{ N}$ e $0,4 \text{ P}$). Essas cianobactérias filamentosas que se adaptam à variação de luz crescem em ambientes com baixa luminosidade porque são consideradas boas antenas de luz (Reynolds, 1997). De fato, nossos resultados mostram uma relação inversa entre o desenvolvimento do grupo funcional S_1 e a transparência e turbidez da água. Um aumento crescente nas populações de *P. moniliformis* e *L. bicudo* foi observado até o 10º dia em ambos os tratamentos enriquecidos, quando valores de turbidez crescentes e declínio na transparência da água foram registrados. A variação nessas características físicas da água foi diferente nos mesocosmos SE e LE, o que causou uma diferenciação no padrão de crescimento das populações de cianobactérias. Nos mesocosmos SE, um aumento acentuado na transparência da água a partir do 13º dia coincidiu

com declínio nas populações de *P. moniliformis* e *L. bicudoii* (S₁) (figuras 5.4 d e 5.10). Nos mesocosmos LE, baixos valores de transparência entre o 10º e o 19º dia, coincidiram com novos aumentos na biomassa dessas espécies.

Pádisák & Reynolds (1998) registraram dominância de *Planktothrix*, *Limnothrix* e *Pseudanabaena* sobre espécies fixadoras de nitrogênio coincidindo com crescentes valores da razão N/P. Nesse estudo, a razão N/P esteve menor que a razão de Redfield (16: 1, Redfield, 1958) na maior parte do período experimental. Aumentos nessa razão nos mesocosmos controle e nos enriquecidos foram relacionados à entrada de chuvas (figuras 5.2 e 5.6 c). No reservatório, esse aumento mais acentuado (N/P < 30) foi devido, provavelmente, à entrada de nitrogênio do metalímnio por atelomixia, associada à passagem de frentes frias, como discutido no capítulo 1. A variação nas razões N/P não foram decisivas na seleção de espécies durante esse experimento. Reynolds (1999) sugeriu que o sucesso de espécies em experimentos de enriquecimento é determinado pela disponibilidade de cada nutriente e não das razões N/P. Se as concentrações estão acima da constante de semi-saturação para absorção (K_m), então não existe limitação. Assim, o crescimento do fitoplâncton é proporcional à concentração do nutriente adicionado e não à razão entre os nutrientes e, logo, não tem influência na determinação da associação de espécies fitoplanctônicas (Marinho & Azevedo, 2007). Então, a razão N/P não representa um fator regulador do desenvolvimento das populações algais, como alguns autores (Smith, 1983; Bulgakov & Levich, 1999; Kim *et al.*, 2007) tem sugerido.

Sob condições ricas em nutrientes, em ambos os mesocosmos enriquecidos, as desmídias foram substituídas pelas cianobactérias até o 10º dia, então voltaram a crescer. Essa flutuação entre desmídias e cianobactérias tem sido observada naturalmente no RDB (Delazari-Barroso *et al.*, 2007). A substituição das desmídias por florações de cianobactérias tem sido relacionada a mudanças no estado trófico de lagos derivadas da entrada de nutrientes relacionados às atividades antrópicas (Brook, 1965). Entretanto, experimentos de enriquecimento artificial indicam que somente o aumento dos nutrientes não necessariamente causa mudanças na composição do fitoplâncton, mas pode causar um aumento na abundância de uma ou mais espécies (Henriques & Ibañez, 1988). A dominância de clorofíceas também tem sido registrada em experimentos de enriquecimento (Jensen *et al.*, 1994). Gomes (2005) registrou uma redução nas populações de desmídias e de cianobactérias e um aumento nas populações de clorofíceas cocóides, em condições experimentais de enriquecimento em um reservatório oligotrófico no Brasil. Rejmánková & Komárkova (2005) relataram que condições de enriquecimento por fósforo resultaram em um aumento dramático nas

populações de algas verdes, incluindo desmídias dos gêneros *Cosmarium*, *Staurastrum* e *Gonatozygon*, que são indicativas de condições mais eutróficas. Nesse estudo, as desmídias decresceram inicialmente e voltaram a crescer sob maiores concentrações de nutrientes, após o 10º dia. De acordo com Brook (1965), 59 % das espécies de desmídias são mais freqüentes em águas oligotróficas, embora sejam encontradas em vários níveis de nutrientes (Nygaard, 1949). Espécies de *Cosmarium* e *Staurastrum* são mais freqüentes em águas eutróficas. No distrito de lagos de Windermere, na Inglaterra, as desmídias são encontradas em diversos níveis tróficos e podem sobreviver mesmo em condições hipertróficas (Pernington, 1943 *apud* Brook, 1965).

As pequenas desmídias no RDB (que apresentam tamanho celular menor que o registrado na literatura; Delazari-Barroso *et al.*, 2007) foram inseridas no grupo funcional X₃ (tabela 5.3). Algas desse grupo funcional estão entre as associações de águas claras oligotróficas, pobres em fósforo e com baixos valores de pH (e.g. < 8,3) (Reynolds *et al.*, 2002). Experimentos de enriquecimento artificial em lagos escoceses resultaram no desaparecimento de desmídias em pH alcalino (Brook, 1965). Nesse estudo, as populações de desmídias X₃ aumentaram após o 10º dia nos mesocosmos enriquecidos coincidindo com um decréscimo nos teores de FSR (< 0,7 µM) e nos valores de pH (< 9) (figuras 5.5 d e 5.4 a). No mesmo período, uma variação contrária do pH nos controles e no reservatório resultou na predominância de cianobactérias S₁, S_n e Z (figure 5.10). Esse fato nos leva a supor que o pH é uma variável importante na seleção das espécies de desmídias no RDB, como discutido por Moss (1973).

A dominância de clorofíceas em condições de pH alcalinos (> 9) tem sido registrada (Jeppensen *et al.*, 1990; Gomes, 2005). A entrada de CO₂ atmosférico como sendo a causa desse sucesso foi discutida por Jensen *et al.* (1994). Esses autores afirmaram que essa entrada em lagos rasos é maior por unidade de volume que em lagos profundos. Nesse sentido, é possível que essa relação seja válida para o RDB, que apresenta uma bacia em forma de U e profundidade média de 4 m, logo, essa fonte externa de carbono pode manter o desenvolvimento das desmídias em altos valores de pH.

Outra possível influência no crescimento das desmídias nesse estudo é a relação da temperatura com a taxa de crescimento. Temperaturas crescentes podem aumentar a taxa de divisão do fitoplâncton (Eppley, 1972) e a taxa de crescimento diminui exponencialmente com o aumento no tamanho celular (Reynolds, 1984). Assim, no RDB, as pequenas desmídias provavelmente têm maiores taxas de crescimento que as cianobactérias filamentosas, sob temperaturas elevadas. O crescimento das desmídias após o 10º dia coincidiu com

temperaturas mais elevadas (figura 5.3). Kagami & Urabi (2001) encontraram uma relação clara entre o tamanho e a taxa de crescimento, sob condições experimentais de enriquecimento no lago Biwa, e concluíram que baixas temperaturas podem limitar o crescimento da maioria das espécies fitoplanctônicas do mesmo modo que altas temperaturas podem aumentar essa taxa.

Em síntese, o enriquecimento de nutrientes no RDB não causou mudanças na composição específica do fitoplâncton, mas um aumento ou decréscimo na abundância foi observado. A diversidade diminuiu com o aumento nas concentrações de nutrientes e foi maior nos mesocosmos enriquecidos do que nos controles e no reservatório. Características como aumento no pH e na turbidez e diminuição na transparência da água selecionaram cianobactérias filamentosas. As desmídias responderam significativamente ao enriquecimento, o que foi relacionado a decréscimos nos valores de pH e a elevadas taxas de crescimento sob altas temperaturas. A entrada de nutrientes via pluviosidade foi uma fonte externa importante para o crescimento do fitoplâncton no RDB, que apresentou limitação por nitrogênio e, eventualmente, por fósforo.

Cabe ressaltar que a diversidade e respostas da comunidade fitoplanctônica no RDB parecem ser mais complexas e não diretamente dependentes da disponibilidade de nutrientes, indicando que provavelmente os processos de eutrofização podem não ser “per se” a principal força determinante da flutuação dessa comunidade.

6 Discussão geral

O reservatório Duas Bocas é um sistema raso que apresenta características tipicamente lacustres na sua região mais profunda. Os regimes de estratificação e mistura, influenciados pelas variações climáticas e morfométricas do sistema, são semelhantes a lagos e outros reservatórios tropicais. O reservatório foi classificado como monomítico quente, apresentando estratificação térmica de outubro de 2002 a abril de 2003 e circulação nos meses de maio e junho de 2003, favorecida pelo formato de sua bacia e pelos ventos predominantes NW/SE, incidindo perpendicularmente ao maior eixo do reservatório (1,607 m), o que diminui a capacidade de promover a circulação. A ocorrência de atelomixia parece ser característica do regime de mistura do RDB, associadas à passagens ocasionais de frentes frias causando turbulência e um aprofundamento da camada de mistura, mas não suficiente para promover a circulação completa. Esse fenômeno é importante fisicamente, por manter em suspensão no epilímnio algas imóveis (Barbosa & Padisák, 2002), e quimicamente, por promover o influxo de nutrientes do metalímnio para as camadas superficiais (Lewis, 1973).

A disponibilidade de luz para o fitoplâncton é influenciada pelo regime de mistura, sendo a razão z_{eu}/z_{mix} considerada como uma boa estimativa da disponibilidade desse recurso (Jensen *et al.*, 1994). Durante o período de estratificação térmica (período 1), a razão z_{eu}/z_{mix} permaneceu maior que 1, indicando uma tendência a não limitação por luz ao crescimento fitoplanctônico. Essa razão foi reduzida no período 2, quando a circulação da coluna d'água promoveu um aumento na turbidez, o que pode tornar a luz um recurso limitante.

Períodos longos de estratificação térmica podem levar à depleção do oxigênio dissolvido no hipolímnio, ocasionando anoxia (Lewis, 2000), como observado no RDB. Condições de anoxia no hipolímnio, valores elevados de condutividade elétrica e de amônio, resultado da mineralização da matéria orgânica, foram característicos durante todo o período 1. Essa dinâmica influencia a disponibilidade de nutrientes na coluna d'água e, conseqüentemente a biomassa fitoplanctônica, expressa pela clorofila *a*, o que permite a classificação trófica do sistema. Vários reservatórios brasileiros são classificados como eutróficos, considerando as concentrações de fósforo para sistemas tropicais (Salas & Martino, 1991). O RDB pode ser classificado como eutrófico, segundo os critérios de Vollenweider & Kerekes (1980), ou como mesotrófico, considerando-se a classificação trófica para lagos tropicais (Salas & Martino, 1991).

Nos sistemas temperados, o fósforo tem sido considerado como o principal nutriente limitante (Nürnberg, 1996; Smith, 1997) e nos sistemas tropicais, apesar de dados relativamente escassos, o nitrogênio é o principal limitante, porém a co-limitação por N e P pode ocorrer (Talling & Lemoalle, 1998; Lewis, 2000). No RDB, as concentrações reduzidas de fósforo e nitrogênio indicaram que P foi limitante durante o período 1 e N, durante todo o período estudado. Nessas condições, a limitação do fitoplâncton resultou em baixos valores de biomassa ($< 8,0 \mu\text{g L}^{-1}$ clorofila *a*) no período 1.

Um máximo metalimnético de biomassa, composto por *Limnothrix*, principalmente, e também *Planktothrix* e *Pseudanabaena*, foi associado a elevadas concentrações de fósforo total e amônio. No período 2, a circulação da coluna d'água distribuiu essa biomassa verticalmente, embora valores ainda elevados permanecessem no metalímnio.

A dinâmica do fitoplâncton no RDB está relacionada ao padrão de estratificação nos meses de verão e circulação nos meses de inverno. As desmídias foram o grupo dominante no epilímnio durante o período de estratificação térmica. Essas algas crescem preferencialmente em águas oligotróficas e levemente ácidas, mas algumas espécies podem se desenvolver em águas eutróficas (Reynolds, 1987). A seleção das desmídias no RDB durante a estratificação esteve associada ao pH levemente ácido, devido a preferência desse grupo em usar o CO_2

como fonte de carbono (Haphey-Wood, 1988), e às temperaturas elevadas durante os meses de verão. As condições de estabilidade física da coluna d'água, maior disponibilidade de luz e concentrações mais baixas de nutrientes, durante o período 1, favoreceram desmídias nanoplânctônicas como grupo dominante, conseqüentemente a diversidade foi menor nessa fase.

A ocorrência de atelomixia tem sido considerada como um fator chave na manutenção de desmídias em ambientes estratificados (Lewis, 1973; Barbosa & Padisák, 2002). A biomassa crescente de *Cosmarium asphaerosporum* var. *strigosum*, *C. papekuilense* e *Stauroidesmus crassus*, de novembro a março, pôde estar relacionada à atelomixia parcial (*sensu* Barbosa & Padisák, 2002), que traz nutrientes das águas metalimnéticas para a camada superior (Lewis, 1973).

O fósforo é considerado com um elemento determinante para o crescimento das desmídias. As espécies de *Staurastrum*, *Stauroidesmus* e *Cosmarium* são conhecidas como dominantes em ambientes pobres em fósforo (Huszar *et al.*, 1998). Os dados desse estudo mostraram uma associação negativa de *Staurastrum tetracerum* e *Stauroidesmus indentatus* var. *rectangularis* com o fósforo total. A abundância das espécies de *Actinotaenium*, *Cosmarium* e *Stauroidesmus* esteve associada positivamente ao nitrato, considerado limitante durante todo o estudo, e negativamente ao amônio.

No metalímnio foi registrada uma densa população de *Limnothrix bicudo* que contribuiu com até 95 % para a biomassa total do fitoplâncton. Esses máximos metalimnéticos tem sido registrados em lagos temperados (Watanabe 1979; Salmaso, 2000) e tropicais (Reynolds *et al.*, 1983, Hino *et al.*, 1986). No RDB, a distribuição vertical de *Limnothrix* esteve associada positivamente ao fósforo total e amônio, mas negativamente com o pH, Não houve relação das cianobactérias com a razão N/P. A dominância de cianobactérias coincidiu com concentrações de fósforo < 5,2 µM, acompanhando o limite citado para cianobactérias (< 26 µM).

No período 2, as cianobactérias substituíram as desmídias em dominância, quando ocorreram eventos de circulação da coluna d'água, o que não era esperado, pois essas algas precisam de relativa estabilidade física para desenvolver populações dominantes (Paerl, 1988; Boland & Griffiths, 1996). O influxo de nutrientes do hipolímnio para as camadas superiores durante a circulação pôde ter contribuído para o crescimento das cianobactérias nesse período. A maior turbidez da água e, provavelmente, a menor disponibilidade de luz nesse período, refletida por menores valores de transparência da água, selecionaram as espécies de

Cylindrospermopsis, *Limnothrix* e *Pseudanabaena*, que possuem afinidade por luminosidade baixa (Dokulil & Mayer, 1996; Havens *et al.*, 1998; Reynolds, 2006).

As mudanças climáticas, com a aproximação do outono e inverno, promoveram um fluxo interno de nutrientes devido à circulação, o que resultou em maior turbidez e menor luminosidade, selecionando cianobactérias filamentosas e favorecendo o desenvolvimento de espécies de outros grupos, principalmente clorofíceas cocóides, resultando numa maior riqueza de espécies e elevada diversidade.

O desenvolvimento de *C. raciborskii* foi maior no período de circulação, em toda a coluna d'água, e mostrou uma correlação negativa com a Z_{eu} e com amônio e positiva com pH e fósforo total, como era esperado. A biomassa de *C. raciborskii* alcançou 81 % no limite da zona eufótica em agosto, logo após o período de circulação, associada a baixos níveis de nitrato e FSR, mas não de amônio. Foi observada ainda, uma tendência positiva de crescimento em temperaturas entre 22 e 25 °C, que é similar à temperatura requerida para induzir a germinação dos acinetos (Padisák & Reynolds, 1998).

Foram registrados sete grupos funcionais fitoplanctônicos no RDB, dos quais três reuniram cianobactérias, dois reuniram desmídias, um representou clorofíceas cocóides e outro, dinoflagelados. As cianobactérias filamentosas não heterocitadas do grupo *Pseudanabaena*, *Limnothrix* e *Planktothrix* estão inseridas no grupo S_1 , que reúne espécies adaptadas à reduzida luminosidade em águas turvas, rasas e ricas em nutrientes. *Cylindrospermopsis* foi colocada no grupo S_n devido mais ao seu baixo requerimento por luz, do que sua capacidade de fixar nitrogênio (Padisák & Reynolds, 1998). No RDB, esses grupos funcionais que reúnem cianobactérias filamentosas foram selecionados em condições de maior turbidez e menor luminosidade.

As desmídias foram inseridas nos grupos N, caracterizado como presente no epilímnio de lagos estratificados e águas mais eutróficas, e X_3 , que reúne espécies eucarióticas picoplanctônicas características de camadas d'água claras, rasas e turbulentas (Reynolds, 2006; Reynolds, *et al.*, 2002). No RDB, os grupos N e X_3 foram selecionados em condições de estabilidade física da coluna d'água e ocorrência de atelomixia, e concentrações baixas de nutrientes. Também foram encontrados os grupos funcionais L_0 , representado por *Peridinium umbonatum* e J, composto por *Desmodesmus bicaudatus* e *Oocystis lacustris*, que se desenvolveram no epilímnio após o período de circulação, com concentrações mais elevadas de nutrientes e com pequena contribuição para a biomassa total, e grupo Z, representado por *Synechococcus capitatus*.

Antes da instalação dos mesocosmos para enriquecimento artificial, o reservatório apresentava condições mesotróficas. Os baixos teores de FSR e NID observados nos mesocosmos enriquecidos refletiram a importância da limitação por nutrientes no reservatório, o que causou uma resposta positiva do fitoplâncton à adição de nitrogênio e fósforo. Em geral, os valores de biomassa fitoplanctônica nos mesocosmos controle e no reservatório foram menores que nos mesocosmos enriquecidos, como mostrado pela variação da clorofila *a* (figura 5.6 b). Foram registrados também aumentos de biomassa nos controles e no reservatório logo após eventos de chuva, indicando que o regime climático é um fator chave na regulação do desenvolvimento do fitoplâncton devido à entrada externa de nutrientes.

A diversidade do fitoplâncton foi maior nos mesocosmos enriquecidos, evidentemente a partir do 16º dia do experimento, quando comparada aos mesocosmos controle e ao reservatório, resultando em elevada diversidade ($> 3,5 \text{ bits ind}^{-1}$), principalmente após o 16º dia, coincidindo com teores de nutrientes maiores que $0,3 \mu\text{M}$ de FSR e $3,7 \mu\text{M}$ de NID.

No tratamento de eutrofização longa (LE), a resposta do fitoplâncton ao enriquecimento foi mais rápida (nos primeiros 10 dias) que no tratamento de eutrofização curta (SE). As cianobactérias mostraram uma rápida resposta de crescimento ao enriquecimento com nutrientes, pois substituíram as desmídias, características por crescerem em águas oligotróficas, pelas cianobactérias, em todos os tratamentos.

No reservatório, foi observado um aumento nas populações de *C. raciborskii* (S_n) e *S. capitatus* (*Z*), que predominaram durante todo o período experimental. Algas picoplanctônicas do grupo funcional *Z* são características por crescerem em águas claras pobres em nutrientes e são sensíveis à limitação por luz (Reynolds, 1997; Reynolds *et al.*, 2002). *Pseudanabaena moniliformis* e *Limnothrix bicudo* (ambas S_1), que são tolerantes à baixa intensidade luminosa, cresceram mais pronunciadamente após períodos de chuvas. Nos controles, as cianobactérias S_1 e S_n cresceram em detrimento das desmídias e predominaram até o 16º dia. Essa condição diferencial indicou que o aprisionamento da água influenciou a seleção de algumas espécies, mas não no grupo como um todo.

Nos mesocosmos SE, o crescimento de *C. raciborskii* (S_n) até o 7º dia, pôde ser associado a temperaturas mais elevadas e à absorção de amônio, pois o sucesso dessa espécie tem sido relacionado à sua habilidade de absorver amônio em baixas concentrações (Padisák, 1997; Marinho & Huszar, 2002; Burford *et al.*, 2006). O crescimento decresceu a partir do 10º dia, quando concentrações crescentes de amônio foram detectadas ($> 0,6 \mu\text{M}$).

As populações de *P. moniliformis* e *L. bicudoii* (S₁) aumentaram com concentrações crescentes de nutrientes em ambos os tratamentos de enriquecimento (> 5,1 N e 0,4 P). Nossos resultados mostram uma tendência inversa entre o desenvolvimento desse grupo funcional e a transparência e a turbidez da água. Um aumento crescente nas populações de *P. moniliformis* e *L. bicudoii* foi observado até o 10º dia em ambos os tratamentos enriquecidos, quando crescentes valores de turbidez e declínio na transparência da água foram registrados. Nos mesocosmos LE, baixos valores de transparência entre o 10º e o 19º dia, coincidiram com novos aumentos na biomassa dessas espécies.

Sob condições ricas em nutrientes, em ambos os mesocosmos enriquecidos, as desmídias foram substituídas pelas cianobactérias até o 10º dia, então voltaram a crescer, coincidindo com um decréscimo nos teores de FSR (< 0,7 µM) e nos valores de pH (< 9). A dominância de clorofíceas também tem sido registrada em experimentos de enriquecimento (Jensen *et al.*, 1994). Rejmánková & Komárkova (2005) relataram que condições de enriquecimento resultaram em um aumento nas populações de algas verdes, incluindo desmídias dos gêneros *Cosmarium*, *Staurastrum* e *Gonatozygon*, que são indicativas de condições mais eutróficas. Segundo Nygaard (1949), espécies de *Cosmarium* e *Staurastrum* são as mais frequentes em águas eutróficas. Nos controles e no reservatório, uma variação crescente nos valores de pH, ao contrário da variação nos mesocosmos enriquecidos, resultou na predominância de cianobactérias S₁, S_n e Z, logo, o pH parece ser uma variável importante na seleção das desmídias no RDB. O crescimento das desmídias também foi relacionado a temperaturas mais elevadas, o que provavelmente favorece uma maior taxa de crescimento (Epply, 1972) quando comparado às cianobactérias filamentosas.

7 Conclusões

O reservatório Duas Bocas foi classificado como monomítico quente, apresentando atelomixia, e como um sistema naturalmente meso-eutrófico, embora co-limitado por nitrogênio e fósforo.

A ocorrência de atelomixia pode explicar a dominância de desmídias (X₃ e N) durante a estratificação térmica, pois as mantém em suspensão na coluna d'água e fornece nutrientes vindos do metalímnio.

A ocorrência de um máximo metalimnético de biomassa composto principalmente por *Limnothrix bicudo*, e por *L. redekei*, no período de estratificação térmica, foi associada à adaptação dessas espécies à baixa intensidade luminosa e à habilidade de regular sua posição na coluna d'água pela presença de aerótopos nas células.

A abordagem dos grupos funcionais do fitoplâncton se aplicou bem a um reservatório tropical meso-eutrófico, onde a dinâmica da comunidade é controlada principalmente por fatores alóctones, como a estrutura física da coluna d'água, regulada pelas condições climáticas. Fatores autóctones, tais como a disponibilidade de nutrientes ou a competição desempenham um papel secundário na regulação da dinâmica do fitoplâncton no RDB.

A simulação de condições eutróficas no RDB, através do enriquecimento artificial com nutrientes, não causou mudanças na composição específica do fitoplâncton, mas resultou em um aumento ou decréscimo na abundância das espécies presentes. As concentrações adicionadas não induziram florações de cianobactérias, o que indica que a limitação por nutrientes não é o principal fator envolvido na seleção das espécies presentes, ou não foram suficientes para tornar o ambiente experimental eutrófico.

As desmídias responderam significativamente ao enriquecimento, embora de forma mais lenta que as cianobactérias, o que foi relacionado a decréscimos nos valores de pH e, possivelmente, a elevadas taxas de crescimento sob altas temperaturas.

A entrada de nutrientes via pluviosidade, considerando a deposição aérea úmida, foi uma fonte externa importante para o crescimento do fitoplâncton no RDB, que apresentou limitação por nitrogênio e, eventualmente, por fósforo.

Os resultados negativos sobre o potencial tóxico de *C. raciborskii* não nos permite afirmar que não existam cepas tóxicas de cianobactérias no reservatório Duas Bocas. Esses resultados indicam que possivelmente a eutrofização artificial pode influenciar a produção de cianotoxinas, porém essa relação ainda não está clara.

Em função da densidade e biomassa de cianobactérias encontradas no RDB, faz-se necessário o monitoramento semanal de cianobactérias e cianotoxinas para que sejam tomadas medidas que garantam a qualidade da água para consumo humano.

8 Referências

- ANTON, A., KUSNAN, M., YUSOFF, F., ONG, E.S. 1996. Nutrient enrichment studies in a tropical reservoir: effect of N:P ratio on phytoplankton populations. In: Timotius, K.H., Göldenboth, F. (eds.). Tropical limnology. 1: Tropical Lakes and Reservoirs. Satya Wacana Christian University, Indonesia, pp. 179-185.
- APHA, 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington. pp. 1268.
- ARCIFA, M.S., STARLING, F.L.R.M., SIPAÚBA-TAVARES, L.H., LAZZARO, X. 1995. Experimental limnology. In: Tundisi, J. G., Bicudo, C. E. M. & Matsumura-Tundisi, T. Limnology in Brazil. ABC/SBL, Rio de Janeiro, pp. 257-282.
- ARCIFA, M.S. & GUAGNONI, W. 2003. A new model of enclosure for experiments in lentic water. Acta Limnologica Brasiliensia 15 (1): 75-79.
- BARBOSA, F.A. & PADISÁK, J. 2002. The forgotten lake stratification pattern: atelomixis, and its ecological importance. Verh. Int. Ver. Limnol. 28: 1-11.
- BLAND, R.D., BROOK, A.J. 1974. The spatial distribution of desmids in lakes in northern Minnesota, U.S.A. Freshwater Biology 4 (6): 543-556.
- BLOMQUIST, P., PETTERSON, A. & HYENSTRAND, P. 1994. Ammonium-nitrogen: a key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen fixing cyanobacteria in aquatic systems. Archiv für Hydrobiologie 132 (2): 141-164.
- BOLAND, K.T., GRIFFITHS D. J. 1996. Water column stability as a major determinant of shifts in phytoplankton composition - evidence from two tropical lakes in Northern Australia. In: Schiemer, F., Boland K.T. Perspectives in tropical limnology. Amsterdam, SPB Academic Publishing. p. 89-99.
- BORMANS, M.P., FORD, W., FABBRO, L. 2005. Spatial and temporal variability in cyanobacterial population controlled by physical processes. Journal of Plankton Research. 27(1): 61-70.
- BOUVY, M., MOLICA, R.J.R., OLIVEIRA, S., MARINHO, M., BECKER, B. 1999. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom *Cylindrospermopsis raciborskii* in a shallow reservoir in the semi-arid region on northeast Brazil. Aquatic Microbial Ecology. 20:285-297.
- BRANCO, C.W.C., SENNA, P.A.C. 1994. Factors influencing the development of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* in the Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil. Algological Studies. 75: 85-96.
- BROOK, A. J. 1965. Planktonic algae as indicators of lake types with special reference to the Desmidiaceae. Limnology and Oceanography. 10: 403-411.
- BROOK, A. J. 1981. The biology of desmids. Botanical Monographs, Vol. 16. Oxford, Blackwell Science, 276 p.

- BULGAKOV, N.G., LEVICH, A.P. 1999. The nitrogen: phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure. *Archiv für Hydrobiologie*. 146 (1): 3-22.
- BURFORD, M.A., MCNEALE, K L., MCKENZIE-SMITH, F.J. 2006. The role of nitrogen in promoting the toxic cyanophyte *Cylindrospermopsis raciborskii* in a subtropical water reservoir. *Freshwater Biology*. 51: 2143–2153.
- CALIJURI, M.C., SANTOS A.C.A. 1996. Short-term changes in the Barra Bonita reservoir (São Paulo, Brazil): emphasis on the phytoplankton communities. *Hydrobiologia*. 330 (3): 163-175.
- CALIJURI, M.C., DEBERDT, G.L.B. & MINOTI, R.T. 1999. A produtividade primária pelo fitoplâncton na represa de Salto Grande. In: Henry, R. (ed.). *Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais*. FAPESP/FUNDIBIO, Botucatu, pp. 109-148.
- CARLSON, R.E. 1977. A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography*. 22 (2): 361-369.
- CARMICHAEL, W.W. 1992. A status report on planktonic cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. US EPA, Cincinnati, Ohio. 600/R-92/079. 141 pp.
- CARMICHAEL, W.W. 1994. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*. 270(1): 78-86.
- CARMICHAEL, W.W.; AZEVEDO, S.M.F.O., AN, J.S.; MOLICA, R.J.R.; JOCHIMSEN, E.M.; LAU, S.; RINEHART, K.I.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*. 109 (7): 663-667.
- CARNEIRO, R.L. 2005. Otimização de cultivo de *Microcystis aeruginosa* Kütz Emend. Elekin (Cyanobacteria) e *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya & Subba Raju (Cyanobacteria) para produção de padrões de microcistina-LR e cilindrospermopsina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 113 p.
- CHORUS, I. & BARTRAM, J. 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. London: WHO. 416 p.
- CHU, F.S., HUANG, X., WEI, R.D. 1990. Enzyme-linked immunosorbent assay for microcystins in blue-green algal blooms. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73 (3): 451-456.
- CODD, G.A. 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritization of eutrophication control. *Ecological Engineering*. 16: 51-60.
- COLE, G. 1994. *Textbook of Limnology*. 2nd ed. Saint Louis: The C. V. Mosby. 283 p.
- CONNEL, J. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*. 199: 1304-1310.
- COTTINGHAM, K.L., KNIGHT, S.E., CARPENTER, S.R., COLE, J.J., PACE, M.L., WAGNER, A.E. 1997. Response of phytoplankton and bacteria to nutrients and zooplankton: a mesocosm experiment. *Journal of Plankton Research*. 19 (8): 995-1010.

- COWELL, B.C., DAWES, C.J. 1991. Nutrient enrichment experiments in three central Florida lakes of different trophic states. *Hydrobiologia*. 220: 217-231.
- DARLEY, W.M. 1982. *Algal Biology: a physiological approach*. Brackwel Scientific Publications, London. 168p.
- DELAZARI-BARROSO, A. 2000. Comunidade fitoplanctônica do reservatório Duas Bocas (Reserva Biológica de Duas Bocas) – ES: variação vertical e temporal em duas épocas distintas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, Brasil. 202 p.
- DELAZARI-BARROSO, A., SANT'ANNA, C.L., SENNA, P.A.C. 2007. Phytoplankton from Duas Bocas Reservoir (except diatoms). *Hoehnea*. 34 (2): 211-229.
- DOKULIL, M.T., MAYER, J. 1996. Population dynamics and photosynthetic rates of a *Cylindrospermopsis – Limnothrix* association in a highly eutrophic urban lake, Alte Donau, Vienna, Austria. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 117: 179-195.
- DOKULIL, M.T., TEUBNER K. 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*. 438: 1-12.
- EDLER, L. 1979. Recommendations for marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and chlorophyll. 38 pp. (UNESCO, Working Group 11, Baltic Marine Biologists).
- EPPLEY, R.W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin*. 70 (4): 1063-1085.
- ELSER, J.J., MARZOLF, E.R., GOLDMAN, C.R. 1990: Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwater of North America: a review and critique of experimental enrichments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 47: 1468-1477.
- FABBRO, L.D., DUIVENVOORDEN, L.J. 1996. Profile of a bloom of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolozynska) Seenaya and Subba Raju in the Fitzroy River in tropical central Queensland. *Marine and Freshwater Research*. 47: 685-694.
- FALCONER, I.R. 1996. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*. 35(6): 6-11.
- FALCONER, I.R. 1998. The background of cyanobacterial poisoning. In: Hrubec, J. (Ed.) *The handbook of environmental chemistry*. Vol. 5, Part. C: Quality and treatment of drinking water II. Springer-Verlag, Berlin. p. 54-82.
- FALCONER, I.R., HARDY, S.J., HUMPAGE, A.R., FROSCIO, S.M., TOZER, G.J., HAWKINS, P.R. 1999. Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (Cyanobacterium) *Cylindrospermopsis raciborskii* in male Swiss albino mice. *Environmental Toxicology*. 14: 143-150.
- FISHER, T.R., MELACK, J.M., GROBELAAR, J.U., HOWARTH, R.W. 1995. Nutrient limitation of phytoplankton and eutrophication of inland, estuarine and marine waters. In:

- Tiessen, H. (ed.): Phosphorus in the global environment. John Willey & Sons, New Jersey, pp. 301-325.
- FOGG, G.E. & THAKE, T. 1987. Algae cultures and phytoplankton ecology. 3rd ed. The University of Wisconsin Press Ltd., London. 269 pp.
- GEORGE, D.G., C.S. REYNOLDS. 1997. Zooplankton-phytoplankton interaction: the case for refining methods, measurements and models. *Aquatic Ecology*. 31: 59-71.
- GIANI, A. & FIGUEIREDO, C.C. 1999. Recorrência de padrões sazonais do fitoplâncton num reservatório eutrófico. In: Henry, R. (ed.): *Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais*. FAPESP/FUNDIBIO, Botucatu. pp. 531-550.
- GOMES, A.M.A. 2005. Impacto da atividade de piscicultura intensiva e da adição de nutrientes inorgânicos (N e P) na qualidade da água do reservatório de Ribeirão das Lajes – RJ. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 81 pp.
- GORHAM, P.R.; MCLACHLAV, J.R.; HAMMER, V.T., KIM, W.K. 1964. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 15: 796-804.
- GORHAM, P.R. & CARMICHAEL, W.W. 1980. Toxic substances from freshwater algae. *Programe of Water Technology* 12: 189-198.
- GROSSMAN, A.R. BHAYA, D., HE, Q. 2001. Tracking the light environment by cyanobacteria and the dynamic nature of light harvesting. *Journal of Biological Chemistry*. 276 (15): 11449-11452.
- HAMMER, U.T. 1968. Toxic blue-green algae in Saskatchewan. *The Canadian Veterinary Journal*. 9 (10): 221-229.
- HAPPEY-WOOD, C.M. 1988. Ecology of freshwater planktonic green algae. In: Sandgren, C. D. (Ed.). *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Crambridge: Cambridge University Press, p. 175-226.
- HAVENS K.E., PHILIPS E.J., CICHRA, M.F., LI B. 1998. Light availability as a possible regulator of cyanobacteria species composition in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology*. 39 (3): 547-566.
- HENRIQUES, R.P.B., IBAÑEZ, M.S.R. 1988. O efeito da estrutura de comunidades planctônicas em experimentos de enriquecimento artificial. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 11: 431-446.
- HENRY, R. TUNDISI, J.G. & CURI, P.R. 1984. Effects of phosphorus and nitrogen enrichment on the phytoplankton in a tropical reservoir (Lobo Reservoir, Brazil). *Hydrobiologia*. 118: 177-185.
- HENRY, R., BARBOSA, F.A.R. 1989. Thermal structure, heat content and stability of two lakes in The National Park of Rio Doce Valley (Minas Gerais, Brazil). *Hydrobiologia*. 171: 189-199.

HENRY, R., TUNDISI, J. G., CALIJURI, M. C. & IBANEZ, M. S. R. 1997. A comparative study of thermal, heat content and stability of stratification in three lakes. In: Tundisi, J. G., Saijo, Y. (eds.). *Limnological studies on the Rio Doce Valley Lakes, Brazil*. Brazilian Academy of Sciences, São Carlos, pp. 69-78.

HENRY, R. 1999. Heat budgets, thermal structure and dissolved oxygen in Brazilian reservoirs. In: Tundisi, J. G., Straskraba, M. (eds.): *Theoretical reservoir ecology and its applications*. Brazilian Academy of Sciences/International Institute of Ecology/Backhuys Publishers, São Carlos, pp. 125-152.

HESSEN, D.O., FAAFENG, B.A. BRETTUM, P., ANDERSEN, T. 2006. Nutrient enrichment and planktonic biomass ratios in lakes. *Ecosystems*. 9: 516-527.

HINO K., TUNDISI J.G., REYNOLDS C.S. 1986. Vertical distribution of phytoplankton in a stratified lake (Lago Dom Helvecio, Southeastern Brazil) with special reference to the metalimnion. *Japanese Journal of Limnology*. 47: 239-246.

HORN, H., UHLMANN, D. 1995. Competitive growth of blue-greens and diatoms (*Fragilaria*) in the saidenbach reservoir, Saxony. *Water Science and Technology*. 32 (4): 77-88.

HUISMAN, J., WEISSING F.J. 1994. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology*. 75: 507-520.

HUISMAN, J., WEISSING F.J. 1999. Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. *Nature*. 402: 407-410.

HUSZAR, V.L.M. 1994. Fitoplâncton de um lago amazônico impactado por rejeito de bauxita (lago Batata, Pará, Brasil): estrutura da comunidade, flutuações espaciais e temporais. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. 219 p.

HUSZAR, V.L.M., SILVA, L.H.S., DOMINGOS, P., MARINHO, M., MELO, S. 1998. Phytoplankton species composition is more sensitive than OECD criteria to the trophic status of three brazilian tropical lakes. *Hydrobiologia*. 369-370: 59-71.

HUSZAR, V.L.M., SILVA, L.H.S., MARINHO, M., DOMINGOS, P., SANT'ANNA, C.L. 2000. Cyanoprokaryote assemblages in eighth productive tropical Brazilian waters. *Hydrobiologia*. 424: 67-77.

HUSZAR, V.L.M., REYNOLDS, C.S. 1997. Phytoplankton periodicity and sequences of dominance in an Amazonian flood-plain lake (Lago Batata, Pará, Brazil): responses to gradual environmental changes. *Hydrobiologia* 346: 169-181.

HUSZAR, V.L.M., CARACO, N.F. 1998. The relationship between phytoplankton composition and physical-chemical variables: a comparison of taxonomic and morphological functional descriptors in six temperate lakes. *Freshwater Biology*. 40: 679-696.

HUSZAR, V.L.M., KRUK, C., CARACO, N.F. 2003. Steady-state assemblages of phytoplankton in four temperate lakes (NE U.S.A.). *Hydrobiol.* 502: 97-109.

- HUSZAR, V.L.M., CARACO, N.F., ROLAND, F., COLE, J. 2006. Nutrient-chlorophyll relationships in tropical-subtropical lakes: do temperate models fit? *Biogeochemistry*. 79 (1-2): 239-250.
- HUTCHINSON, G.E., LOFFLER, H. 1956. The thermal classification of lakes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 42: 84-86.
- IMBERGER, J. & HAMBLIN, P.F. 1982. Dynamics of lakes, reservoirs and cooling ponds. *Annual Review of Fluid Mechanics*. 14: 153-187.
- JARDIM, F.A., BRAGA, J.M. S., AZEVEDO, S.M.F.O. 1999. Ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* neurotóxica em lagoas cársticas – Confins – MG. In: *Anais do Congresso Brasileiro de Limnologia*. Florianópolis, SC. p. 523.
- JENSEN, P., JEPPESEN, E., OLRİK, K., KRISTENSEN, P. 1994. Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 51: 1692-1699.
- JEPPESEN, E. JENSEN, J.P., KRISTENSEN, P., SONDERGAARD, M., MORTENSEN, E., SORTKJÆR, E., OLRİK, K. 1990. Fish manipulation as a lake restoration tool in shallow, eutrophic temperate lakes 2: threshold levels, long-term stability and conclusions. *Hydrobiologia*. 200/201: 219-227
- JOCHIMSEN, E.M., CARMICHAEL, W W., AN, J.S., CARDO, D.M., COOKSON, S.T., HOLMES, C.E.M., ANTUNES, M.B.C., MELO FILHO, D.A., LYRA, T.M., BARRETO, V.S.T., AZEVEDO, S.M.F.O., JARVIS, W.R. 1998. Liver failure and death following exposure to microcystins toxins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine*. 338: 873-88.
- KAGAMI, M., URABE, J. 2001. Phytoplankton growth rate as a function of cell size: an experimental test in Lake Biwa. *Limnology*. 2: 111-117.
- KALFF, J. 2002. *Limnology: inland water ecosystems*. Prentice Hall, New Jersey. pp. 345.
- KIM, H.-S., HWANG, S.-J., SHIN, J.-K., AN, K.-G., YOON, C.-G. 2007. Effects of limiting nutrients and N:P ratios on the phytoplankton growth in a shallow hypertrophic reservoir. *Hydrobiologia*. 581: 255-267.
- KIMMEL, B.L., OWEN, T.L., PAULSON, L.J. 1990. Reservoir primary production. In: Thornton, K.W., Kimmel, B.L., Payne, F.E. *Reservoir limnology: ecological perspectives*. New York: Wiley Interscience Publication, p. 133-194.
- KLEMER, A.R. 1976. The vertical distribution of *Oscillatoria agardhii* var. *isothrix*. *Archiv für Hydrobiologie*. 78: 343-362.
- KLING, G.W. 1988. Comparative transparency, depth of mixing, and stability of stratification in lakes in Cameroon, West Africa. *Limnology and Oceanography*. 33 (1): 27-40

- KOMARKÓVA, J., LAUDARES-SILVA, R., SENNA, P.A.C. 1999. Extreme morphology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) in the lagoa do Peri, a freshwater coastal lagoon, Santa Catarina, Brazil. *Algological Studies*. 94: 207-222.
- KONOPKA, A. 1982. Physiological ecology of a metalimnetic *Oscillatoria rubecens* population. *Limnology and Oceanography*. 27: 1154-1161.
- KREBS, C.J. 1989. *Ecological Methodology*. New York: Harper & Row Publishers, 654 p.
- KRUK, C., MAZZEO, N. LACEROT, G., REYNOLDS, C.S. 2002. Classification schemes for phytoplankton: a local validation of a functional approach to the analysis of species temporal replacement. *Journal of Plankton Research*. 24 (9): 901-912.
- KUMAGAI, M., NAKANO, S., JIAO, C., HAYAKAWA, K., TSUJIMURA, S., NAKAJIMA, T., FRENETTE, J.-J., QUESADA, A. 2000. Effect of cyanobacterial blooms on thermal stratification. *Limnology*. 1: 191-165.
- LAGOS, N.; ONODERA, H.; ZAGATTO, P.A.; ANDRINOLLO, D.; AZEVEDO, S.M.F.O., OSHIMA, Y. 1999. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*. 37: 1359-1373.
- LAHTI, K. 1997. Cyanobacterial hepatotoxins and drinking waters supplies: aspects of monitoring and potential health risks. *Monographs of Boreal Environmental Research* N° 4. Finnish Environment Institute, Finland. 40 pp.
- LANARAS, T. TSITSAMIS, S. CHLICHLIA, C. COOK, C.M. 1989. Toxic cyanobacteria in greek waters. *Journal of Applied Phycology* 1: 67-73.
- LEGENDRE, P., LEGENDRE L. 1998. *Numerical ecology*. Elsevier, Amsterdam, pp. 853.
- LEWIS, W.M. Jr. 1973. The thermal regime of Lake Lanao (Philippines) and its theoretical implications for tropical lakes. *Limnology and Oceanography*. 18: 200-217.
- LEWIS, W.M. Jr. 1983. A revised classification of lakes based on mixing. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 40: 1779-1787.
- LEWIS, W.M. Jr. 1987. Tropical Limnology. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18: 159-184.
- LEWIS, W.M. Jr. 1990. Comparisons of phytoplankton biomass in temperate and tropical lakes. *Limnology and Oceanography*. 35: 1838-1845.
- LEWIS, W.M. Jr. 1996. Tropical lakes: how latitudes makes a difference. In: Schiemer, F., Boland, K.T. (ed.). *Perspectives in tropical limnology*. Academic Publishing, Amsterdam, pp. 46-64.
- LEWIS, W.M. Jr. 2000. Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 28: 210-213.

- LEWIS, W.M. Jr. 2002. Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. *Verh.Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 28: 210-213.
- LIMA, W.P. 2003. Relações hidrológicas em matas ciliares. In: Henry, R. (ed.): *Ecótonos nas interfaces dos ecossistemas aquáticos*. Rima, São Carlos, pp. 293-300.
- LOPES M.R.M., BICUDO C.E.M., FERRAGUT, M.C. 2005. Short term spatial and temporal variation of phytoplankton in a shallow tropical oligotrophic reservoir, southeast Brazil. *Hydrobiologia.* 542 (1): 235-247.
- LORENZEN, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography.* 12: 343-346.
- LUND, J. W. G., KIPLING, C., LECREN, E. D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia.* 11:143-170.
- LYNCH, M., SHAPIRO, J. 1981. Predation, enrichment, and phytoplankton community structure. *Limnology and Oceanography.* 26 (1): 86-102.
- MACINTYRE, S., MELACK, J.M. 1988. Frequency and depth of vertical mixing in an Amazon floodplain lake (L. Calado, Brazil). *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 23: 980-985.
- MACKINEY, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal of Biological Chemistry.* 140: 315-322.
- MARCHIORO, E. 1996. Avaliação de sólidos transportados, parâmetros de morfometria e solos de seções fluviais do córrego Naiáçu, na Reserva Biológica de Duas Bocas - ES. Monografia de Bacharelado, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil. 54 p.
- MARGALEF, R. *Limnologia*. Barcelona, Omega, 1983. 1010 p.
- MARINHO, M.M., HUSZAR, V.L.M. 2002. Nutrient availability and physical conditions as controlling factors of phytoplankton composition and biomass in a tropical reservoir (Southeastern Brazil). *Archiv für Hydrobiologie.* 153 (3): 443-468
- MARINHO, M.M., AZEVEDO, S.M.F.O. 2007. Influence of N/P ratio on competitive abilities for nitrogen and phosphorus by *Microcystis aeruginosa* and *Aulacoseira distans*. *Aquatic Ecology.* 41 (2): 178-192.
- MAZUMDER, A., TAYLOR, W.D. 1994. Thermal Structure of Lakes Varying in Size and Water Clarity. *Limnology and Oceanography.* 39 (4): 968-976.
- MOSS, B. 1973. The influence of environmental factors on distribution of freshwater algae: an experimental study: II: The role of pH and the carbon dioxide-bicarbonate system. *Journal of Ecology.* 61: 172-192.

- NASELLI-FLORES, L., BARONE, R. 2000. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia*. 438: 65-74.
- NOGUEIRA, M.G. 2000. Phytoplankton composition, dominance and abundance as indicators of environmental compartmentalization in Jurumirim Reservoir (Paranapanema River), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia*. 431 (2-3): 115-128
- NÜRNBERG, G. 1996. Trophic state of clear and colored, soft and hard-water lakes with special consideration of nutrients, anoxia, phytoplankton and fish. *Lake and Reservoir Management* 12 (4): 432-447.
- NYGAARD, G. 1949. Hydrobiological studies on some danish ponds and lakes. Part II. The quotient hypothesis and some new or little know phytoplankton organisms. *K. Svenska Danke VidenskAkad. Selskab*. 7: 1-293.
- OGAWA, R.E., CARR, J.F. 1969. The Influence of Nitrogen on Heterocyst Production in Blue-Green Algae. *Limnology and Oceanography*. 14 (3): 342-351.
- PADISÁK, J. 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya *et* Subba Raju, an expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arc. Hydrobiol.* 107(4): 563-593.
- PADISÁK, J. 1992. Seasonal succession of phytoplankton in a large shallow lake (Balaton, Hungary) – a dynamic approach to ecological memory, its possible role and mechanisms. *Journal of Ecology*. 80 (2): 217-230.
- PADISÁK, J., REYNOLDS, C.S. 1998. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to the cyanoprokaryotes. *Hydrobiologia*. 384: 41-53.
- PADISÁK, J., REYNOLDS, C.S. 2003. Shallow lakes: the absolute, the relative, the functional and the pragmatic. *Hydrobiologia*. 506-509: 1-11.
- PAERL, H.W. 1988. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae. In: Sandgren, C.D. (Ed.). *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 261-315.
- PAERL, H.W., FULTON, R.S. 2006. Ecology of Harmful cyanobacteria. In: Granéli, E. and Turner, T. (Eds.). *Ecological Studies*. Vol. 189. Springer-Verlag. Berlim Heidelberg. p. 25.39.
- PAYNE, I.A. 1986. *The ecology of tropical lakes and rivers*. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 301.
- PEDROZA, P., REZENDE, C.E. 1999. As muitas faces de uma lagoa. *Ciência Hoje*, 26(153): 40-47. 1999
- PERRONE, A. 1995. Estudos preliminares sobre a carga de sólidos transportados, parâmetros morfométricos e pluviométricos da bacia do Córrego Pau Amarelo - Reserva Biológica de Duas Bocas - ES. Monografia de Bacharelado. Universidade Federal do Espírito Santo. 43 p.

- PIELOU, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Biology*. 13: 131-144.
- POLLINGHER, U., BERMAN, T., KAPLAN, B., SCHARF, D. 1988. Lake Kinneret phytoplankton: response to N and P enrichments in experiments and in nature. *Hydrobiol.* 166: 65-75.
- REDFIELD, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*. 46: 205-221.
- REDFIELD, A.C., KETCHUM, B.H., RICHARDS, F.A. 1963. The influence of organisms on the composition of sea-water. In: Hill, M.N. (ed.). *The sea*. John Wiley & Sons, New York, pp. 26-77.
- REJMÁNKOVÁ, E., KOMÁRKOVÁ, J. 2005. Response of cyanobacterial mats to nutrient and salinity changes. *Aquatic Botany*. 83: 87-107.
- REYNOLDS, C.S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge, Cambridge University Press. 384 p.
- REYNOLDS, C.S. 1987. The response of phytoplankton communities to change lake environments. *Schweiz. Z. Hydrol.* 49: 220-236.
- REYNOLDS, C.S. 1992. Dynamics, selection and composition of phytoplankton in relation to vertical structure. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 35: 13-31.
- REYNOLDS, C.S. 1997. *Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystem theory*. Excellence in Ecology, vol. 9. Ecology Institute, Oldendorf Lake, Germany.
- REYNOLDS, C.S. 1999. Non-determinism to probability, or N:P in the community ecology of phytoplankton. *Archiv für Hydrobiologie*. 146: 23-35.
- REYNOLDS, C.S., 2006. *The Ecology of Phytoplankton (Ecology, Biodiversity and Conservation)*. Cambridge University Press, Cambridge, 537 pp.
- REYNOLDS C.S., TUNDISI J.G., HINO K. 1983. Observations on a metalimnetic *Lyngbya* population in a stably stratified lake (Lagoa Carioca, Eastern Brazil). *Archiv für Hydrobiologie*. 97(1): 7-17.
- REYNOLDS, C.S., PADISÁK, J., SOMMER, U. 1993. Intermediate disturbance in the ecology of phytoplankton and the maintenance of species diversity: a synthesis. *Hydrobiologia*. 249: 183-188.
- REYNOLDS, C.S., HUSZAR, V., KRUK, C., NASELLI-FLORES, L., MELO, S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*. 24 (5): 417-428.
- ROMO S., MIRACLE, M.R. 1995. Diversity of the phytoplankton assemblages of a polymictic hypertrophic lake *Arch. Hydrobiol.* 132 (3): 363-384.

- ROMO, S., VILLENNA, M.-J. 2005. Phytoplankton strategies and diversity under different nutrients levels and planktivorous fish densities in a shallow Mediterranean lake. *Journal of Plankton Research*. 27 (12): 1273-1286.
- SAKER, M.L., NEILAN, B.A., GRIFFITHS, D.J. 1999. Two morphological forms of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolated from Solomon Dam, Palm Island, Queensland. *Journal of Phycology*. 35: 599-606.
- SALAS, H., MARTINO P. 1991. A simplified phosphorus trophic state model for warm-water tropical lakes. *Water Research*. 25: 341-350.
- SALMASO, N. 2000. Factors affecting the seasonality and distribution of cyanobacteria and chlorophytes: a case study from the large lakes south of the Alps, with special reference to Lake Garda. *Hydrobiologia*. 438: 43-63.
- SCHEFFER, M. 1998. Ecology of shallow lakes. In: Usher, M.B. (ed.). *Population and Community Biology Series*, Vol. 22. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 337.
- SCHINDLER, D.W. 1998. Replication versus realism: the need for ecosystem-scale Experiments. *Ecosystems* 1: 323-334.
- SCHRÖDER, R. 1991. Relevant parameters to define trophic state of lakes. *Archiv für Hydrobiologie*. 121 (4): 463-472.
- SEAWRIGHT, A.A., NOLAN, C.C., SHAW, G.R., CHRISWELL, R.K., NORRIS, R.L., MOORE, M.R., SMITH, M.J. 1999. The oral toxicity for mice on the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology*. 14: 135-142.
- SETARO, F.V., MELACK, J.M. 1984. Responses of phytoplankton to experimental nutrient enrichment in an Amazon floodplain lake. *Limnology and Oceanography*. 29: 972-984.
- SHANNON, C.E., WEAVER, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Urbana, University of Illinois Press.
- SHAPIRO, J. 1990. Current beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for the importance of CO₂ and pH. *Ver. Int. Verein. Theor. Ang. Limnol.* 24: 38-54.
- SKULBERG, O.M., UNDERDAL, B., UTKILEN, H. 1994. Toxic water blooms with cyanophytes in Norway – current knowledge. *Algological Studies*. 75: 279-289.
- SIVONEN, K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*. 35 (6): 12-24.
- SMITH, V.H. 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favour dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*. 225: 669-671.
- SMITH, V.H. 1997. Cultural eutrophication of inland, estuarine and coastal waters. In: Pace, M. L., Goffman, P.M. (eds.). *Successes, limitations, and frontiers in ecosystem science*. Springer, New York, pp. 7-49.
- SMITH, V.H., SAMANTHA, B.J., ROBERT, W.H. 2006. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*. 51 (1/2): 351-355.

- SOMMER, U., PADISÁK, J., REYNOLDS, C.S., JUHÁSZ-NAGY, P. 1993. Hutchinson's heritage: the diversity-disturbance relationship in phytoplankton. *Hydrobiologia*. 249: 1-7.
- SOUZA, R.C.R., CARVALHO, M. C., TRUZZI, A.C. 1998. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Seenaya and Subba Raju (Cyanophyceae) dominance and contribution to the knowledge of Rio Pequeno arm, Billings Reservoir, Brazil. *Environmental Toxicology and Water Quality*. 13: 73-81.
- SPIJKERMAN, E., COESEL, P.F.M. 1998. Ecophysiological characteristics of two planktonic desmids species originating from trophically different lakes. *Hydrobiologia*. 369-370: 109-116.
- STRASKRABA, M., TUNDISI, J.G. 1999. Reservoir ecosystem functioning: theory and application. In: Tundisi, J.G., Straskraba, M. (eds.). *Theoretical reservoir ecology and its applications*. International Institute of Ecology/Backhuys Publishers/Brazilian Academy of Sciences, São Carlos, pp. 565-583.
- TALLING, J.F., LEMOALLE, J. 1998. *Ecological dynamics of tropical inland waters*. Cambridge: Cambridge University Press. 441 p.
- TAVERA, R., MARTINÉZ-ALMEIDA, V. 2005. *Atelomixis* as a possible driving force in the phytoplankton composition of Zirahuén, a warm-monomictic tropical lake. *Hydrobiol.* 533: 199-208.
- TER BRAAK, C.J.F. 1992. *CANOCO – a FORTRAN program for Canonical Community Ordination (Version 3.1)*. Microcomputer Power, Ithaca.
- TILMAN, D. 1977. Resource competition between planktonic algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology*. 58: 338-348.
- TUNDISI, J.G. 1990. Distribuição espacial, seqüência temporal e ciclo sazonal do fitoplâncton em represas: fatores limitantes e controladores. *Revista Brasileira de Biologia*. 50 (4): 937-955.
- TUNDISI, J.G. 1994. Tropical South America: present and perspectives. In: Margalef, R. (ed.). *Limnology now: a paradigm of planetary problems*. The Netherlands: Elsevier, p. 353-424.
- TUNDISI, J.G.; MATSUMURA-TUNDISI, T., ROCHA, O. 1999. Theoretical basis for reservoirs management. In: Tundisi, J.G., Straškraba, M. (eds.) *Theoretical reservoir ecology and its applications*. Brazilian Academy of Sciences/International Institute of Ecology/Backhuys Publishers, p. 505-528.
- UHELINGER, V. 1964. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. *Archiv des Sciences* 17: 121-123.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton - methodik. *Mitt. Int. Verein. Theor. Angeu. Limnol.* 9: 1-38.

VOLLENWEIDER, R.A., KERÉKES, J. 1980. The loading concept as basis for controlling eutrophication philosophy and preliminary results of the OECD Programme on Eutrophication. *Progress in Water Technology*. 12: 5-38.

WATANABE, M.F. 1979. Studies on the metalimnetic blue-green alga *Oscillatoria mougeotii* in a eutrophic lake with special reference to its population growth. *Archiv für Hydrobiologie*. 98: 66-86.

WATSON, S., KALFF, J. 1981. Relationships between nanoplankton and lake trophic status. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38 (8): 960-967.

WETZEL, R.G. 1981. *Limnología*. Barcelona: Ediciones Omega. 679 p.

WETZEL, R.G. 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. Academic Press, San Diego. 1006. p.