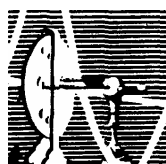


MARIA ISABEL DE ALMEIDA ROCHA

ESTUDO DA VARIAÇÃO SAZONAL DO
FITOPLÂNCTON E ZOOPLÂNCTON E DA
CONCENTRAÇÃO DE MICROCISTINAS
NESSES DOIS NÍVEIS TRÓFICOS NO
RESERVATÓRIO DO FUNIL (RESENDE-RJ)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS (BIOFÍSICA)



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

Estudo da variação sazonal do fitoplâncton e zooplâncton e da concentração de microcistinas nesses dois níveis tróficos no Reservatório do Funil (Resende-RJ)

Maria Isabel de Almeida Rocha

Dissertação de mestrado 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 grau de Mestre em Ciências.

Orientadoras:

Prof^a Valéria Freitas de Magalhães

Prof^a Sandra Maria F. O. Azevedo

Rio de Janeiro

Março de 2007

Estudo da variação sazonal do fitoplâncton e zooplâncton e da concentração de microcistinas nesses dois níveis tróficos no Reservatório do Funil (Resende-RJ).

MARIA ISABEL DE ALMEIDA ROCHA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE
JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

Banca Examinadora:

Profª Drª Chistina Wyss Castelo Branco

Profº Dr. Jean Louis Valentin

Profº Dr. Olaf Malm

Dr. Aloysio da Silva Ferrão-Filho – Revisor

Profª Drª Valéria Freitas de Magalhães - Orientadora

Profª Drª Sandra Maria Feliciano de Oliveira e Azevedo - Orientadora

FICHA CATALOGRÁFICA

Rocha, Maria Isabel de Almeida

Transferência de microcistinas na comunidade zooplanctônica do Reservatório do Funil (Resende-RJ)./Maria Isabel de Almeida Rocha – Rio de Janeiro: UFRJ/IBCCF, 2007.

XI, 60f., 10 figuras, 5 tabelas

Orientadoras: Valéria Freitas de Magalhães e Sandra Maria F. O. Azevedo
Dissertação (Mestrado) – UFRJ/IBCCF/Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, 2007.

Referências Bibliográficas: f.51-60

1. Eutrofização. 2. *Microcystis*. 3. Microcistinas. 4. Zooplâncton

DEDICATÓRIA

*Ao meu companheiro Wellington e a minha
querida Bianca, por tudo...*

*A memória de meu Pai, que muito me incentivou
e respeitou minhas escolhas*

E que a atitude de recomeçar
É todo dia, toda hora
É se respeitar na sua força e fé

(Gonzaguinha)

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/CTHidro pela concessão de bolsa de mestrado.

A FAPERJ, pelo apoio logístico para as coletas.

Ao Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho por toda infra-estrutura oferecida.

A Prof^a Valéria Magalhães, por sua orientação e pela grande amizade desenvolvida neste período.

A Prof^a Sandra Azevedo, por sua orientação e todos os seus ensinamentos, além dos “cuidados de mãe” com toda a equipe.

A Prof^a Christina Castelo Branco, minha grande incentivadora, pela ajuda nas identificações do zooplâncton e por sempre me tranquilizar em momentos difíceis.

Ao Dr. Aloysio Ferrão-Filho, pela valiosa ajuda na revisão deste trabalho.

Aos queridos amigos Jobson e Ricardo, pelos divertidos e trabalhosos dois anos de coletas.

A Elisângela, Rodrigo e Ronaldo, por me incentivarem muito e pela bonita amizade que se formou nesses dois anos de laboratório.

A toda equipe do LETC: Alessandra, Andreia, Ana Cláudia, Elisângela, Gilmar, Jobson, Levi, Maria, Pedro, Priscila, Rafael, Ramon, Raquel, Ricardo, Rodrigo, Ronaldo, Simone, por todos os momentos no laboratório e por toda a cooperação dessa maravilhosa equipe.

Ao Clube Náutico de Resende, por toda estrutura oferecida.

Aos barqueiros Jacaré e Badger e aos motoristas José Carlos e Maurício, pela presteza e palpites, sempre pertinentes.

Ao Prof^a Marcelo Marinho e a Msc. Maria Carolina Soares, pela ajuda na identificação do fitoplâncton.

Ao Prof. Fábio Rolland e as biólogas Raquel e Priscila, da UFJF, pela gentileza na utilização do laboratório.

A toda equipe do NEL-Uni-Rio que esteve sempre pronta a ajudar. Um agradecimento especial a Prof^a Betina Kozlowski-Suzuki, pelas discussões e contribuições sobre esta pesquisa.

Aos amigos de sempre: Ana Cláudia, Cacá, Carol, Cristina, Fátima, José Antônio, Mariano, Michelle, Raul e Rodrigo, por todo apoio e pela alegria de conviverem comigo esta fase. Sem vocês seria tudo mais difícil.

Aos meus irmãos Marcelo e Cristina, por respeitarem e aceitarem minha saída do escritório, sempre me incentivando.

A minha irmã Gilda, pela revisão gramatical deste trabalho.

A minha grande mãe, que tudo me ensinou e por cuidar de mim e da minha família.

A Bianca e ao Wellington, com todas as desculpas por tanto tempo ausente. Obrigada por compreenderem a importância desta fase.

A Deus, por ter me dado saúde e forças para chegar até aqui.

RESUMO

O aporte de nutrientes em lagos e reservatórios têm acelerado o processo de eutrofização que, em conjunto com fatores ambientais, criam condições adequadas para florações de cianobactérias. Nesse aspecto, o Reservatório do Funil, que fica localizado entre os estados de São Paulo e Rio de Janeiro, formado pelo Rio Paraíba do Sul, região industrial e agrícola, possui características propícias para estas florações potencialmente tóxicas. Por esse motivo, o objetivo deste trabalho foi caracterizar limnologicamente, em termos gerais, o reservatório e avaliar a ocorrência e transferência de microcistinas na comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica deste reservatório, considerando aspectos referentes à composição e variação destas comunidades. Mensalmente, ao longo de dois anos consecutivos, as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica foram determinadas e quantificadas. O fitoplâncton e o zooplâncton foram previamente separados e liofilizados e, para a extração de microcistinas, foi utilizado metanol acidificado. O extrato foi purificado e analisado por ELISA. Como resultados das análises físicas e químicas ficou demonstrado que a temperatura da água variou aproximadamente de 20 a 30°C, o pH teve características neutro-alcalinas, a concentração média de oxigênio dissolvido foi de 6,82mg.L⁻¹ e a condutividade média da água foi de 96,9µS.cm⁻¹. Esses valores, juntamente com elevados valores de nutrientes que chegam ao Reservatório do Funil, dão condições adequadas a formação de florações de cianobactérias, o que provoca redução na transparência da água. A comunidade fitoplanctônica foi dominada por cianobactérias, atingindo mais de 90% da densidade em quase todos os meses de estudo. O gênero predominante foi *Microcystis*, tanto em formas coloniais como unicelulares. O zooplâncton variou mensalmente em densidade e composição de espécies, sendo o grupo dos copépodos com as maiores densidades e o dos rotíferos o grupo que contribuiu com maior variedade de espécies. As populações de cladóceros foram bastante reduzidas, tendo destaque os de menor porte. Estas alterações na comunidade zooplanctônicas podem estar associadas à presença constante de florações de cianobactérias, favorecendo espécies que já estejam adaptadas a sobreviverem nestas condições. Em todos os meses foram encontradas concentrações de microcistinas no fitoplâncton, atingindo máximo de 3789 µg.g⁻¹, em dezembro de 2004. Essas microcistinas foram transferidas para o zooplâncton, com valores chegando a aproximadamente duas ordens de grandeza inferiores ao do fitoplâncton, com máximo de 63,15 µg.g⁻¹, em outubro de 2004. De acordo com os resultados obtidos para a concentração de microcistinas, observou-se três fases distintas: a primeira com baixa concentração de microcistinas e baixa densidade fitoplanctônica; a segunda fase com variação na concentração de microcistinas e variação na densidade populacional de *Microcystis* e a terceira fase com concentração de microcistinas próxima ao da primeira fase, mas com densidade populacional fitoplanctônica elevada, indicando, provavelmente, ter ocorrido três grupos populacionais distintos. Além destas conclusões, considera-se ainda que a comunidade zooplanctônica do Reservatório do Funil não pode ser considerada um bom vetor de microcistinas para níveis tróficos superiores.

ABSTRACT

The increase of nutrients input in lakes and reservoirs linked to different environmental factors accelerates the eutrophication process and establishes ideal conditions for cyanobacterial blooms. Funil Reservoir located between São Paulo and Rio de Janeiro States, formed by Paraíba do Sul River, was built in an industrial and agricultural region, with propitious characteristics for development of potentially toxic cyanobacterial bloom. The aim of this work was to evaluate the occurrence and transference of microcystins in the phytoplanktonic and zooplanktonic community of this reservoir, considering the composition and variation of both. Moreover, physical and chemical analyses of water were done monthly, throughout two consecutive years. Phytoplankton and zooplankton communities were previously separated, freeze-dried and, for the microcystins extraction, solubilized in acidified methanol. The extract was cleaned-up and analysed by ELISA. Physical and chemical analyses demonstrated that the temperature of water varied approximately from 20 – 30°C, pH had neutral-alkaline characteristics, the average of the dissolved oxygen concentration was 6.82 mg l⁻¹ and the conductivity was 96.9 µS cm⁻¹. These values, together with raised values of nutrients that arrive to Funil Reservoir, give adequate conditions to formation of a cyanobacterial bloom, causing reduction of the transparency of the water. The phytoplanktonic community was dominated by cyanobacteria, which reached more than 90% of the density in almost every month of study. The predominant genus was *Microcystis*, as in colonial or unicellular forms. Zooplankton varied monthly in density and composition of species. The copepods group had the highest densities and the rotifers group contributed with the highest variety of species. The population of cladocerans was reduced, with the dominance of the smallest one. These alterations in the zooplanktonic community can be associated to the constant presence of cyanobacterial bloom, which favors species already adapted to survive in these conditions. During all period microcystins were found in phytoplankton samples, reaching the maximum of 3.789 µg g⁻¹, in December, 2004. These microcystins have been transferred to zooplankton communities, with values two orders of magnitude lower than phytoplankton approximately, with maximum of 63.15 µg g⁻¹, in October, 2004. In accordance to these microcystins concentration results, it was observed three distinct phases: the first one with low microcystins concentration and low phytoplankton density; the second one with variation in microcystins concentration and in *Microcystis* density, and the third one with microcystins concentrations close to the first phase, but with an increase in phytoplanktonic population density. This is indicating, probably, the occurrence of three distinct populations. Considering these conclusions, the zooplanktonic community of the Funil Reservoir cannot be considered as a good vector of microcystins for higher trophic levels.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	1
1.1 Considerações Gerais.....	1
1.2 Cianobactérias e Cianotoxinas	3
1.3 Interações entre cianobactérias e zooplâncton	7
1.4 Área de Estudo	10
 2 Objetivos	 14
 3 Material e Métodos	 15
3.1 Dados Físicos e Químicos	15
3.2 Fitoplâncton	15
3.3 Zooplâncton	16
3.4 Coleta e separação de biomassa para quantificação de microcistinas.....	17
3.5 Extração e Pré-purificação de Microcistinas	18
3.6 Quantificação de Microcistinas	18
3.7 Tratamento estatístico dos dados	19
 4 Resultados e Discussão	 20
4.1. Variáveis físicas e químicas	20
4.2. Fitoplâncton	26
4.3. Zooplâncton	32
4.4. Microcistinas	41
 5. Conclusões	 49
 6. Referências Bibliográficas	 51

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Estrutura química geral da microcistina.....	05
Figura 2: Mapa e localização do Reservatório do Funil (Resende-RJ).....	11
Figura 3: Densidade relativa da comunidade fitoplanctônica.....	27
Figura 4: Densidade relativa das principais cianobactérias	28
Figura 5: Densidade populacional das cianobactérias	28
Figura 6: Densidade total dos demais grupos fitoplanctônicos.....	29
Figura 7: Densidade populacional do zooplâncton.....	35
Figura 8: Densidade de copépodos calanóides e colônias de <i>Microcystis</i>	36
Figura 9: Concentração de microcistinas nas frações fitoplanctônicas e zooplanctônicas.....	41
Figura 10: Variação na densidade total de <i>Microcystis</i> e na concentração de microcistinas contida na fração fitoplanctônica	42
Figura 11: Variação na densidade total do zooplâncton e na concentração de microcistinas contida nesta fração.....	44
 Tabela I: Classificação das cianotoxinas.....	 04
Tabela II: Variáveis limnológicas do Reservatório do Funil.....	21
Tabela III: Correlação de Pearson entre variáveis físicas e químicas e grandes grupos planctônicos	24
Tabela IV: Densidade média, mínima e máxima das classes fitoplanctônicas e gêneros de cianobactérias.....	27
Tabela.V: Frequência de ocorrência dos táxons zooplanctônicos	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

O aumento de nutrientes em lagos e reservatórios em virtude de atividades agrícolas, industriais e domésticas provoca um processo denominado de eutrofização. A comunidade planctônica, de maneira geral, fornece uma resposta rápida a esse processo, apresentando uma redução na sua diversidade e riqueza de organismos. Sua estrutura e composição no tempo refletem as flutuações das variáveis ambientais, físicas e químicas (Margalef, 1983).

Essa comunidade planctônica é composta por organismos que estão na coluna d'água e deslocam-se de acordo com as correntes, não possuindo grande capacidade de locomoção própria. Dentre estes organismos estão compreendidos o fitoplâncton, correspondente a flora aquática; o zooplâncton, que é constituído de micro-crustáceos, rotíferos, protozoários e algumas larvas de insetos e o bacterioplâncton, que corresponde ao grupo de bactérias autotróficas ou heterotróficas do ambiente.

Os organismos fitoplanctônicos são os principais produtores primários de ecossistemas aquáticos, como reservatórios, mares e lagos de grande porte, e a principal base dessas cadeias alimentares. Nesse compartimento, podem coexistir espécies de quase todos os grupos taxonômicos incluindo as cianobactérias e estas, por sua vez, podem habitar os ambientes de águas doce, marinhas, salobras e terrestres (Codd *et al.*, 2005).

De acordo com Barbosa *et al.* (1995), a estrutura e dinâmica populacional das comunidades fitoplanctônicas em reservatórios sofrem a influência da precipitação de chuvas, do regime de ventos e do tempo de

residência da água. A entrada de material alóctone e a matéria orgânica em suspensão podem também promover mudanças neste ambiente, reduzindo a penetração de luz e a mistura vertical, componentes importantes para a sobrevivência de organismos fitoplanctônicos. Sob estes aspectos, as comunidades fitoplanctônicas são consideradas indicadores confiáveis das condições de seu habitat. Sendo assim, Reynolds *et al.* (2002) propuseram uma metodologia que agrupa esses organismos em associações, de acordo com suas estratégias de sobrevivência de forma que as características do ambiente indicam quais organismos poderão ser encontrados naquela localidade.

Por outro lado, a comunidade zooplanctônica pode controlar a dinâmica da biomassa fitoplanctônica nos corpos d'água (Mohamed, 2001), influenciando na produção primária desses sistemas. Dependendo do estado trófico do reservatório esse controle será diferenciado, com possibilidade de maior interação predador-presa, visto que em ambientes oligotróficos a diversidade de espécies é maior que em lagos eutróficos (González *et al.*, 2006).

Dessa forma, o zooplâncton é considerado um elo importante na cadeia alimentar aquática, devido a sua posição central. Sofre controle de níveis tróficos superiores ("botton-up") e controlam níveis tróficos inferiores ("top-down"). As informações a respeito da comunidade zooplanctônica são uma importante ferramenta para se entender o funcionamento do ecossistema e para o estabelecimento de políticas de manejo em lagos e reservatórios. Sob esse aspecto, a comunidade zooplanctônica tem sido bastante estudada, especialmente suas interações com cianobactérias, em virtude da ocorrência florações em corpos d'água de ambientes lênticos.

1.2 Cianobactérias e Cianotoxinas

As elevadas concentrações de nutrientes oriundos de despejos industriais, agrícolas e domésticos têm acelerado o processo de eutrofização de lagos e reservatórios. Como consequência, observa-se a redução na diversidade de organismos, com dominância de certas espécies em detrimento de outras, depleção do oxigênio dissolvido, perda da qualidade cênica e mortandade de peixes. Porém, como importante consequência da eutrofização ressalta-se a formação de florações de microalgas ou cianobactérias que se desenvolvem bem neste tipo de ambiente, rico em nitrogênio e fósforo. Nos ambientes lênticos brasileiros é cada vez maior a dominância de cianobactérias, como demonstrado por Huszar & Silva (1999).

As cianobactérias possuem algumas vantagens adaptativas sobre seus competidores. Uma delas é a capacidade de algumas espécies de flutuarem na coluna d'água, em virtude de possuírem aerótopos. As florações, quando muito densas, formam um sombreamento na coluna d'água, tornando impossível a sobrevivência de algumas espécies fitoplanctônicas.

Outra vantagem é possuírem um baixo valor nutricional e, algumas vezes, serem tóxicas, o que as tornam pouco predadas. Dessa forma, os consumidores primários tendem a preferir outros organismos fitoplanctônicos, reduzindo suas populações e alterando também suas próprias comunidades por causa da escassez de alimento. As exceções se fazem aos grupos que não são seletivos, como os cladóceros, por exemplo. Estes organismos ingerem indiscriminadamente qualquer partícula, inclusive cianobactérias, o que faz com que essa alteração na comunidade seja uma consequência na mudança do fitoplâncton disponível.

As florações também são intensificadas pela estratificação, elevado tempo de residência do corpo d'água, ausência de ventos e elevadas temperaturas do ar. Esse conjunto de fatores são encontrados em grande parte dos reservatórios brasileiros, possibilitando a dominância de cianobactérias, cujas espécies podem ser produtoras de toxinas.

Essas toxinas são metabólitos secundários produzidos por alguns gêneros de cianobactérias e se classificam conforme sua estrutura química ou de acordo com o mecanismo de ação no organismo, cujo nome é dado a partir do órgão mais atingido. (Carmichael, 1994) (Tabela I).

Tabela I: Classificação das cianotoxinas.

Cianotoxina	Característica química	Classificação
Microcistinas e nodularinas	Peptídeos cíclicos	Hepatotoxinas
Cilindrospermopsinas	Alcalóide	Hepatotoxinas
Anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxinas	Alcalóides	Neurotoxinas
Aplysiatoxina, Lyngbiatoxina-a	Alcalóides	Dermatotoxinas

Dentre as cianotoxinas apresentadas, as microcistinas são as mais estudadas e são atribuídas a elas a maioria dos casos que envolvem intoxicação animal e humana. Esse tipo de toxina atua nos organismos inibindo proteínas fosfatase tipo 1 e 2A, que são comuns a todos os organismos, sendo responsáveis pelos processos de fosforilação de outras proteínas dentro das células, tendo também um papel importante na divisão celular (Carmichael, 1992).

As microcistinas são caracterizadas pela presença de 5 aminoácidos fixos (D-aminoácidos) e 2 variáveis (L-aminoácidos), sendo sua estrutura geral descrita como D-Ala-X-D-Me-Asp-Z-Adda-D-Glu-Mdha (Figura 1), onde X e Z são os 2 L-aminiácidos, D-Me-Asp é D-éritro ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina. Os dois aminoácidos terminais são lineares e condensados, formando sua estrutura cíclica. O aminoácido Adda é composto pelo ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico. Sua geometria é considerada essencial para a atividade biológica das microcistinas e por aumentar a sua hidrofobicidade. Além disso, parece ser de grande importância na hepatotoxicidade. (Watanabe *et al.*, 1996)

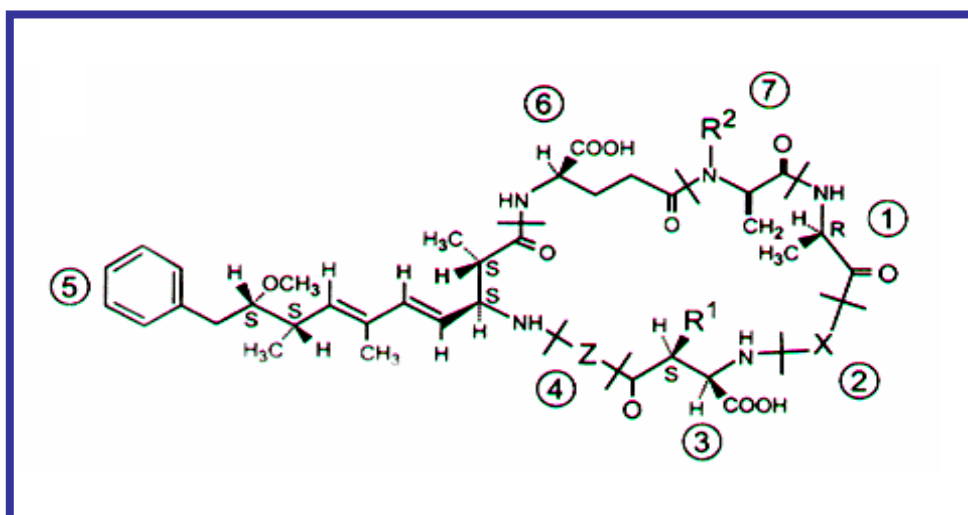


Figura 1: Estrutura química geral da microcistina. Onde: R^1 e R^2 são os radicais que podem ser metilados. X e Z são os 2 L-aminoácidos variáveis.

As variáveis isoméricas do Adda são utilizadas na nomenclatura das microcistinas, juntamente com variações estruturais encontradas em todos os sete aminoácidos, mas freqüentemente com substituição de L-aminoácidos nas posições 2 e 4, e desmetilação dos aminoácidos 3 e/ou 7. Existem já identificadas pelo menos 80 variantes de microcistinas, porém a de maior toxicidade encontrada até o momento, e que faz parte da maioria de estudos envolvendo essa molécula, é a microcistina-LR (leucina-arginina).

A DL_{50} , - dose letal para matar metade de uma população - varia bastante: Dawson (1998), indicou que estas toxinas podem variar numa faixa de 36-122 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso corpóreo, quando administrada intraperitonealmente em camundongos, mas Chorus & Barthram (1999) indicaram variação de 60-1.200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso corpóreo (i.p.). Essas alterações podem ocorrer conforme a idade, sexo e/ou estado fisiológico do animal.

Os gêneros já identificados como potentes produtores de microcistinas são *Microcystis*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Hapalosiphon*, *Radiocystis*, *Phormidium* e *Synechocystis* (Metcalf *et al.*, 2006). No entanto, representantes do gênero *Microcystis* são os mais comuns em águas brasileiras, sendo os responsáveis pela maioria dos casos envolvendo esta toxina.

Porém, os fatores que controlam sua produção ainda não são bem entendidos. No entanto, por serem inibidores de fosfatase, podem afetar fortemente as populações de zooplâncton, seja por contato direto com as toxinas, ou por ingestão de células tóxicas (DeMott & Dhawale, 1995). Por este motivo, uma das teorias mais aceitas é de que estas toxinas teriam surgido como mecanismo de defesa contra a pressão de predação exercida pelo zooplâncton (Lampert, 1981).

Jang *et al.* (2003) em estudos com três cepas de *Microcystis aeruginosa*, observaram que a concentração de toxinas de uma delas aumentou com a presença de zooplâncton herbívoro. Esta observação corrobora com a hipótese de que a indução na produção de toxina é um mecanismo de defesa das cianobactérias, mediadas por informações químicas liberadas por seu predador. Apesar disso, esta hipótese nunca foi testada adequadamente para ser confirmada.

A intoxicação de peixes e zooplâncton pode ocorrer de duas formas: diretamente, através do consumo de células na água ou, indiretamente, pelo consumo de outros animais contaminados que acumularam as microcistinas. A acumulação de microcistinas em tecidos de peixes já foi observada em condições laboratoriais (Soares *et al.*, 2004, Mohamed & Hussein, 2006) e em condições naturais (Magalhães *et al.*, 2001 e 2003). Em outros estudos de bioacumulação, essa toxina também foi encontrada no séston e no zooplâncton de uma lagoa costeira, sendo associada a redução populacional do zooplâncton neste ambiente (Ferrão-Filho *et al.*, 2002a e b).

Apesar destas toxinas serem bioacumuladas, Ibelings *et al.* (2005) não observaram sua biomagnificação em estudos ambientais. Dessa forma, faz-se necessário uma maior elucidação sobre o efeito das microcistinas em diferentes grupos zooplanctônicos de comunidades naturais, visto que as cianotoxinas, de maneira geral, podem afetar os diferentes compartimentos dos ecossistemas aquáticos (Christoffersen, 1996).

1.3 Interações entre Cianobactérias e Zooplâncton

De acordo com Lampert (1987), há mais de seis décadas pesquisadores têm estudado a eficiência das cianobactérias como recurso alimentar e sua toxicidade ao zooplâncton. Fatores bioquímicos próprios do alimento, como a quantidade de ácidos graxos, determinam a sua qualidade (Boersma & Stelzer, 2000). Porém, esse grupo de organismos fitoplanctônicos é considerado de baixo valor nutricional para os herbívoros por possuir baixo conteúdo de ácidos graxos (Hazanato & Yasuno, 1987).

As cianobactérias têm efeitos diferenciados na comunidade zooplanctônica. Essas diferenças ocorrem em função de três razões principais:

a dificuldade de manusear e ingerir colônias ou filamentos de maior tamanho (interferência mecânica); a baixa quantidade de nutrientes essenciais para a sobrevivência do zooplâncton (assimilação); e a toxicidade que essas cianobactérias podem apresentar (De Bernardi & Giussiani, 1990). Para coexistir com cianobactérias tóxicas, algumas espécies de zooplâncton desenvolveram resistências fisiológicas a cianotoxinas ou, ainda, adaptações comportamentais, para evitar a ingestão de células tóxicas (Reinikainen, *et al.*, 1998).

É evidente que a produção de toxinas gera efeitos tanto em organismos competidores (alelopatia) como também em predadores de cianobactérias, que, por sua vez, podem conferir uma vantagem adaptativa sobre as espécies não-tóxicas. Solé *et al.* (2006) indicaram que a capacidade de ser tóxica a seu consumidor é mais vantajosa para as cianobactérias, principalmente na fase inicial da floração, do que os efeitos alelopáticos sobre seus competidores.

De acordo com Leonard & Paerl (2005), o estudo em uma comunidade de zooplâncton herbívoro de um rio indicou que populações de *Cylindrospermopsis raciborskii* têm efeito negativo sobre estes consumidores. Pequenos herbívoros, como alguns rotíferos, aumentaram em densidade e diversidade na presença desta cianobactéria, sugerindo exclusão competitiva dos grandes organismos zooplanctônicos.

Fulton & Paerl (1987) demonstraram que *Microcystis aeruginosa* tem maior efeito inibitório na alimentação de grandes cladóceros e que rotíferos e copépodos parecem ser mais seletivos. Lampert (1997) demonstrou que copépodos, rotíferos e pequenos cladóceros são menos afetados por esses distúrbios mecânicos, como por exemplo, a inibição na taxa de filtração. Kurmayer & Jüttner (1999) demonstraram que a resistência à herbivoria de

Daphnia e copépodos sobre *Planktothrix* é melhor explicada por defesas químicas do que pelo tamanho do filamento. Ferrão-Filho *et al.* (2000) demonstraram que a sensibilidade entre espécies diferentes de cladóceros a células tóxicas de *Microcystis* variou consistentemente, porém não foi observada uma relação direta com o tamanho destes cladóceros.

Além disso, já foi também demonstrado que extratos de *Microcystis* podem inibir a taxa de filtração de cladóceros (DeMott *et al.*, 1991) reduzindo sua taxa de alimentação. Os autores hipotetizaram que se cianobactérias fossem oferecidas como única fonte de alimento para determinada espécie de zooplâncton, esta poderia ser extinta pela impossibilidade de alimentação decorrente da inibição na taxa de filtração. Neste mesmo estudo, foi demonstrado que são necessárias elevadas concentrações de toxina dissolvida para causar morte em dafinídeos, e que densidades muito menores de células tóxicas, com quantidades de toxinas bem menor que a purificada, podem inibir fortemente a filtração e causar a morte.

Por outro lado, os copépodos possuem certa flexibilidade comportamental que permite sua adaptação em lagos com dominância de cianobactérias, por conseguirem distinguir cepas tóxicas das não tóxicas (DeMott & Moxter, 1991). Panosso *et al.* (2003), em estudo com copépodos calanóides oriundos do Reservatório do Funil (RJ), sugeriram que essa população, em contato com florações tóxicas de *Microcystis aeruginosa* freqüentes no local, deve ter desenvolvido resistência às microcistinas, o que lhes permitia coexistir no mesmo ambiente. Nesse mesmo trabalho, foi verificada uma redução significativa no crescimento de pequenas colônias dessa cianobactéria, indicando que este pode ser um recurso alimentar importante para esse grupo de copépodos, quando na ausência de outro

alimento. Essa adaptação pode ter favorecido a coexistência destes dois grupos, neste local.

Com relação aos rotíferos, Snell (1980) indicou ainda que as cianobactérias podem ter um papel importante na seleção natural das populações desse grupo. Gilbert (1994), em estudo sobre efeitos de anatoxina-a sobre rotíferos, concluiu que pequenas colônias ou curtos filamentos, sem mucilagem, devem ser ingeridos pelos rotíferos, inibindo sua reprodução.

Portanto, de acordo com esses diferentes estudos, todos os grupos zooplancônicos são afetados na presença de cianobactérias tóxicas, podendo até mesmo serem favorecidos por reduzir a competição entre eles. Os efeitos podem ser diferentes entre espécies zooplancônicas ou até mesmo entre as diferentes cianotoxinas. A bioacumulação de cianotoxinas nesses organismos já foi observada (microcistinas: Ferrão-Filho et al., 2002b, Thøstrup & Christoffersen, 1999, Laurén-Määtä et al., 1995; saxitoxinas: Nogueira et al., 2004a; cilindrospermopsinas: Nogueira et al., 2004b; anatoxina: Gilbert, 1996; nodularina: Engström-Öst et al., 2002, Karjalainen et al., 2003), indicando que o zooplâncton pode atuar como vetor dessas toxinas para outros níveis tróficos da cadeia alimentar aquática.

1.4 Área de Estudo

O Reservatório do Funil (22° 30'S e 44° 45'W) é formado a partir do represamento do Rio Paraíba do Sul, com barragem construída na cidade de Resende-RJ, entre os Estados do Rio de Janeiro e São Paulo (Figura 2). Foi inaugurado em 1969, com a função de gerar energia elétrica, sendo também responsável em regular a vazão daquele rio, atenuando o impacto de cheias nas cidades à jusante. Além disso, possibilita a transposição do volume de

água para o conjunto de reservatórios do Sistema Light, que acabam por desaguar no Rio Guandu, principal fonte de abastecimento de água do município do Rio de Janeiro e da Baixada Fluminense, atingindo cerca de 8,5 milhões de pessoas.

Suas águas são utilizadas também para pesca e atividade recreacional. Possui uma área inundada de 40 Km² e 16.800 Km² de bacia de drenagem. Sua profundidade média é de 22m, atingindo máxima de 75m no corpo central.

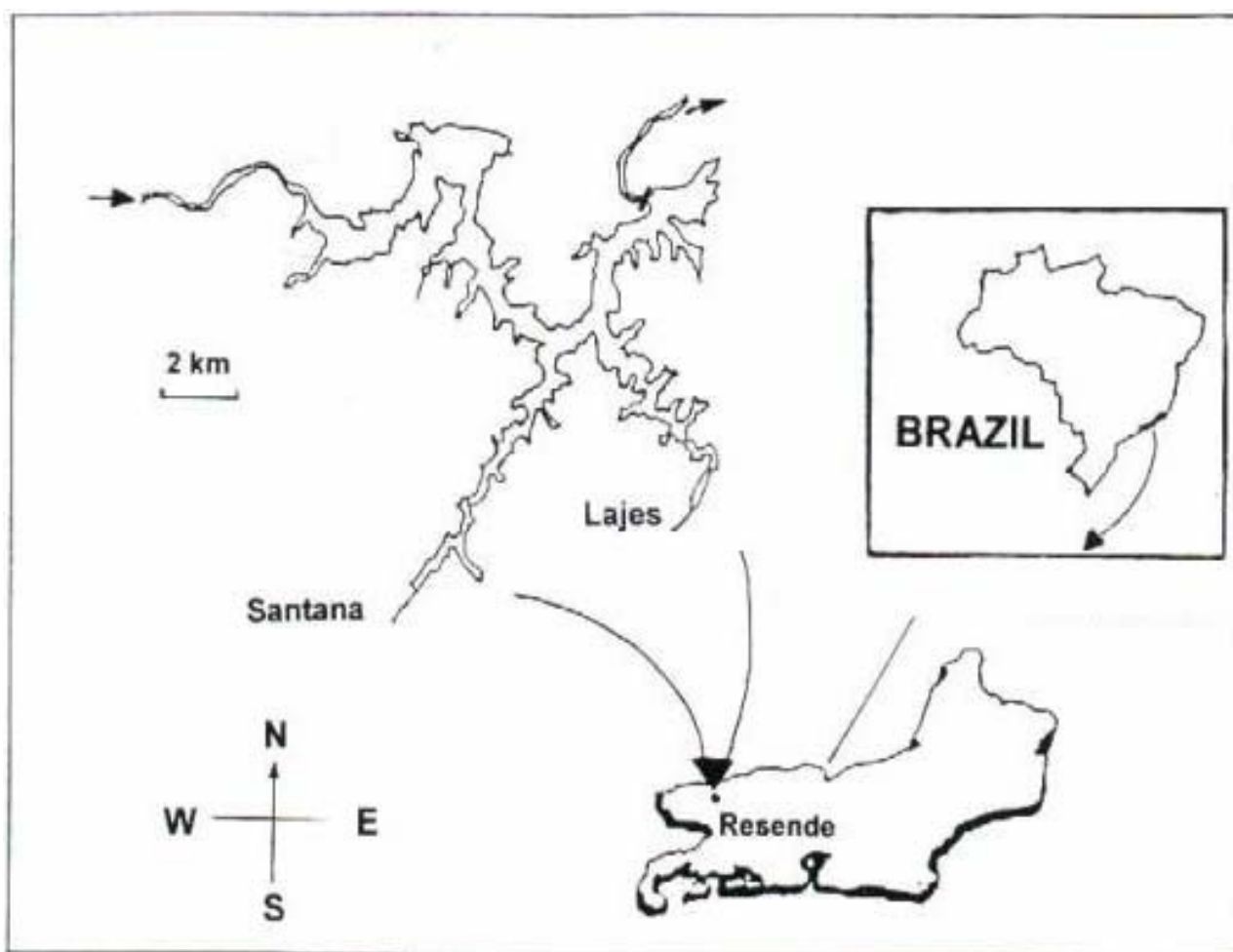


Figura 2: Mapa e localização do Reservatório do Funil (Resende-RJ).

A Usina Hidroelétrica de Funil tem sua importância para o sistema elétrico por estar localizada próxima aos grandes centros consumidores, garantindo confiabilidade ao suprimento de energia elétrica aos Estados do Rio

de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo, bem como adequando a tensão elétrica nessa região, onde estão instaladas grandes indústrias (www.furnas.com.br).

Submetido ao aporte contínuo de nutrientes, o Reservatório do Funil possui as condições ambientais adequadas ao desenvolvimento de florações de cianobactérias e dentre elas as potencialmente produtoras de cianotoxinas. De acordo com o estudo de Bobeda (1993) as florações de cianobactérias já demonstravam toxicidade naquela época, sendo *Microcystis* o gênero dominante.

A área inundada pela represa, local denominado “Salto do Funil”, era formada por vales, com o Rio Paraíba do Sul encaixado entre eles, e fazia parte da região coberta pela Mata Atlântica. Nos séculos XVII e XVIII, o local foi largamente desmatado para dar lugar à cultura cafeeira, a qual foi, posteriormente, substituída por grandes pastagens. Observa-se, atualmente, pouca cobertura vegetal e, em parte dela, ocorre o cultivo de eucaliptos para a exploração de uma empresa de celulose.

O reservatório serve, ainda, como decantador natural das águas oriundas do Vale do Paraíba paulista, região densamente povoada e industrializada. Dessa forma, rejeitos industriais e de atividade agrícola e pecuarista, bem como esgoto doméstico, propiciam condições que levam a eutrofização do Reservatório do Funil. Dentre essas características, destaca-se a elevada concentração de nutrientes dissolvidos (FUNASA, 2005), indicando ausência de limitação para o crescimento do fitoplâncton e cianobactérias. A estes fatores soma-se a sua importância para as comunidades que vivem em seu redor e o utilizam tanto para a pesca e alimentação, quanto para atividade recreacional.

Estudos anteriores realizados pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias – UFRJ (2002/2003) neste mesmo reservatório, verificaram a predominância duas espécies de *Anabaena*, *Cylindrospermopsis raciborskii* e três espécies de *Microcystis*. Os resultados referentes à análise de toxinas do séston neste período apresentaram-se positivo para hepatotoxinas e neurotoxinas.

Branco *et al.* (2002) e Rocha *et al.*, (2002), em um estudo realizado na década de 90, analisaram a comunidade zooplanctônica e variáveis limnológicas do Reservatório do Funil, mostrando que algumas espécies de rotíferos apresentaram altas densidades durante a densa floração de *M. aeruginosa*. Além disso, sugeriram que a presença de certas espécies de rotíferos e cladóceros podem atuar como indicadores de trofia deste lago. Conseqüentemente, a ocorrência de florações de *Microcystis aeruginosa* em virtude do ambiente eutrófico, poderia alterar a estrutura da comunidade zooplanctônica.

Tendo em vista o potencial tóxico das cianobactérias e a crescente eutrofização deste reservatório com condições ideais para a formação de florações, faz-se necessário um maior conhecimento sobre o efeito destas toxinas em organismos aquáticos deste corpo d'água e sua possível transferência ao longo da cadeia alimentar.

2 OBJETIVOS

GERAL

Quantificar as concentrações de microcistinas na comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica e avaliar a transferência destas toxinas para a comunidade zooplanctônica do Reservatório do Funil, durante 2 ciclos sazonais consecutivos.

ESPECÍFICOS

- Determinar as características limnológicas básicas do reservatório (pH, temperatura, condutividade, transparência da água e concentração de oxigênio dissolvido);
- Analisar as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica com base em sua diversidade, contemplando aspectos referentes às variações temporais de suas populações;
- Monitorar a concentração de microcistinas em amostras do fitoplâncton e do zooplâncton;
- Verificar a possível bioacumulação de microcistinas em organismos zooplanctônicos, durante o período estudado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

As coletas ocorreram mensalmente, a partir de março de 2004 até março de 2006, no ponto próximo à barragem do reservatório (S 22°31'46.6" W 44°33'56.3"). Os tópicos a seguir descrevem os procedimentos detalhados para determinação dos dados físicos e químicos e de amostragem para cada grupo de organismos, análise e quantificação dos mesmos e de microcistinas.

3.1 Dados físicos e químicos

Em cada coleta foram avaliadas a condutividade e a temperatura da água, por um condutivímetro YSI 30/25FT. Foram também determinados a concentração de oxigênio dissolvido e o pH, por eletrodos Mettler Toledo específicos para cada variável, modelos MO128 e MP120, respectivamente. Essas variáveis foram determinadas utilizando-se a água da sub-superfície do reservatório. A transparência da água foi avaliada através da profundidade de extinção do disco de Secchi e para a determinação do limite da zona eufótica, utilizou-se a esta medida multiplicada por três (Esteves, 1998)

3.2 Fitoplâncton

Para análise qualitativa e quantitativa do fitoplâncton, foram recolhidos cerca de 100 ml da água bruta da sub-superfície, coletados com um balde, acondicionados em frasco âmbar e preservado com lugol. A análise foi feita em câmara de sedimentação para observação em microscópio invertido (Olympus, modelo IX50, objetiva 40x), pela técnica de campos aleatórios (Utermöhl, 1958). Esta análise objetivou separar os grandes grupos fitoplânctônicos,

identificando em nível de gênero apenas as cianobactérias, na medida do possível. Para este grupo de organismos, os resultados obtidos foram expressos em indivíduos por litro e células por litro. A densidade do fitoplâncton foi obtida por um cálculo que integrou a área do campo analisado, quantidade de campos e altura da câmara.

3.3 Zooplâncton

Para análise qualitativa e quantitativa do zooplâncton, foram coletados em balde 20 litros de água da sub-superfície, e concentrados em rede de plâncton com abertura de malha de 68 μm . O concentrado foi acondicionado em frascos de vidro, contendo formol 2-4% para posterior identificação e contagem dos organismos. Este procedimento foi realizado em triplicata.

Para identificação do zooplâncton, foi utilizado microscópio óptico (Olympus, mod BX50), sendo os animais identificados em nível de espécie, sempre que possível. Para a quantificação foi utilizada uma câmara de Sedgwick-Rafter reticulada e com capacidade para 1 ml. Para melhor confiabilidade dos resultados, essas contagens foram feitas três vezes por amostra.

Para avaliação da frequência de ocorrência dos táxons foi utilizada a metodologia proposta por Gomes (1989), pela qual cada organismo que é observado em mais de 50% das amostras é considerado constante. Organismos freqüentes entre 10% e 49% das amostras são considerados comuns e os que têm uma freqüência menor que 10% são considerados raros.

O cálculo da densidade foi feito da seguinte forma:

$$\frac{\text{Média das contagens} \times \text{volume concentrado}}{20 \text{ (volume filtrado em campo)}} = x \text{ indivíduos.L}^{-1}$$

3.4 Coleta e separação de biomassa para quantificação de microcistinas

Nesta etapa foram feitos arrastos horizontais com redes de malha de 300µm e 25µm, para obtenção de biomassa da comunidade planctônica e quantificação de microcistinas. Nessa etapa, uma haste de metal foi fixada perpendicularmente à frente do barco, de modo que fosse captada água sub-superficial e as redes ficassem a uma distância de pelo menos meio metro das laterais do barco e totalmente submersas. Essas redes foram mergulhadas na água somente quando o barco já estava em movimento a uma velocidade constante e permaneceram assim por cerca de 15 minutos, quando eram então retiradas da água. Este procedimento era repetido até se obter quantidade suficiente de organismos planctônicos para a separação.

No entanto, como a separação por tamanho não é muito eficiente para a distinção do plâncton desse reservatório em fitoplâncton e zooplâncton, alíquotas dos concentrados de cada uma das redes utilizadas foram colocadas em funis de decantação, onde se acrescentou água gasosa comercial em baixa temperatura. Dessa forma, após algum tempo o zooplâncton narcotizado presente na amostra se depositava no fundo, enquanto o fitoplâncton permanecia em suspensão (Palermo, 2002). Todo esse material separado teve seu volume medido, sendo congelado e liofilizado para posterior extração da microcistina.

3.5 Extração e pré-purificação de microcistinas

As amostras separadas em campo foram liofilizadas e, posteriormente, pesou-se cerca de 10 mg da fração fitoplanctônica e cerca de 20 mg de fração zooplanctônica. A estas foram adicionados 10 ml de metanol acidificado com ácido trifluoracético (TFA) 0,1%. Após agitação por 1 hora, cada extrato foi centrifugado e o sobrenadante levado para evaporação. Após a secagem, ressuspendeu-se o material em 1 ml de água ultra pura.

O procedimento de purificação foi feito com cartuchos de resina HP20 (Diaion® resina de troca iônica, Supelco-Sigma-Aldrich). Para tanto, utilizou-se 2g de HP20 que foram colocados em 20 ml de metanol 100% por 10 minutos. Após este período, o metanol foi retirado e adicionou-se 20 ml de água ultra pura à resina. Esta etapa durou em média 5 minutos.

Para montagem do cartucho, verteu-se a água com HP20 até seu preenchimento total. Posteriormente, com o cuidado de evitar o ressecamento da resina, a amostra a ser purificada foi passada no cartucho, seguida de 10 ml de metanol nas proporções 10%, 20%, 30% (Metanol:água), para retirada de impurezas de diferentes polaridades. Ao final, fez-se a eluição com 20 ml de metanol acidificado com TFA 0,1%. Este extrato metanólico foi evaporado e ressuspenso em 1 ml de água ultra pura.

3.6 Quantificação de microcistinas

Após a extração e a pré-purificação já descritas, cada extrato aquoso foi analisado por ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), utilizando-se o Kit de placas para microcistinas, marca Beacon®. Este método consiste da identificação do antígeno - neste caso a microcistina - através de anticorpos

específicos fixados a uma placa. Esta é incubada com a amostra contendo o antígeno e, posteriormente, com um conjugado composto de antígeno ligado a uma enzima - neste caso a peroxidase. O antígeno ligado à enzima e o não ligado (a amostra) competem pela ligação com os anticorpos. Após a reação, a placa é lavada e somente o que foi ligado aos anticorpos permanece. O substrato da enzima é adicionado e a reação é colorimétrica. O resultado é obtido através dos valores de densidade ótica das amostras ($\lambda = 450 \text{ nm}$), e assim, quanto mais reação de cor houver, menos toxina existe na amostra. 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 (Soares, 2005). A leitora de placas utilizada para este procedimento foi Spectramax, da Molecular Devices.

3.7 Tratamento estatístico dos dados

Para acompanhamento da variação das comunidades planctônicas e concentração de microcistinas, foram elaboradas tabelas e gráficos no programa Windows Excel (Office XP). Além disso, foi realizada análise da correlação linear “r” de Pearson, no programa Statistica for Windows (Statsoft Inc.), versão 4.2, calculado para verificar a existência de relação entre as densidades de plâncton e as variáveis físicas e químicas, com significância para $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variáveis físicas e químicas

Os dados referentes as variáveis limnológicas, determinadas no Reservatório do Funil durante o período de estudo, estão indicados na tabela II.

A medida da transparência da água está entre as variáveis físicas que auxiliam na definição do grau de trofia de determinado corpo d'água. Esta variável é normalmente correlacionada à quantidade de partículas em suspensão e substâncias orgânicas presentes na água, determinando a penetração e dispersão de luz neste ambiente (Esteves, 1998). A transparência, aqui apontada como limite de zona eufótica, variou de 1,8m em dezembro/04 a 13,8m em agosto/04, ressaltando-se que os meses mais quentes foram os que se observaram os menores valores, especialmente de outubro/05 a fevereiro/06. Nesses meses também se observou elevada densidade de fitoplâncton, principalmente colônias de *Microcystis* e *Volvox* (clorofícea), o que contribuiu para reduzir a penetração de luz na coluna d'água.

Os valores de transparência da água observado no Reservatório do Funil ficaram próximos aos normalmente encontrados em reservatórios da região sudeste. De fato, em seis reservatórios do Rio Tietê (SP) a profundidade de extinção do disco de Secchi foi sempre superior a 1,2m (Rocha *et al.*, 2006) e, no Reservatório de Furnas (MG), Miranda *et al.* (2005) indicaram que a zona eufótica deste reservatório variou de 3 m a 12 m.

Tabela. II: Variáveis limnológicas do Reservatório do Funil. Os valores em vermelho representam o valor máximo e, em azul, o mínimo determinado durante todo o período de estudo (n.a.= não avaliado).

MÊS	Secchi (m)	Z _{eu} (m)	COND. ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$)	OD (mg/l)	TEMP. (°C)	pH
mar/04	2,0	6,0	n.a.	6,7	28,0	6,8
abr/04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
mai/04	2,2	6,6	87,8	5,7	23,0	6,6
jun/04	3,0	9,0	92,2	6,9	21,6	7,2
jul/04	3,0	9,0	96,5	4,5	20,3	6,9
ago/04	4,6	13,8	95,1	5,0	21,9	7,2
set/04	1,2	3,6	114,3	9,2	28,8	9,3
out/04	1,6	4,8	114,1	7,2	25,3	8,4
nov/04	n.a.	n.a.	116,2	n.a.	25,1	n.a.
dez/04	0,6	1,8	138,0	n.a.	26,9	n.a.
jan/05	1,0	3,0	106,0	n.a.	27,7	n.a.
fev/05	1,5	4,5	89,8	n.a.	28,8	7,7
mar/05	1,5	4,5	90,1	n.a.	27,7	n.a.
abr/05	1,7	5,1	87,6	n.a.	25,7	6,2
mai/05	2,7	8,1	82,8	6,3	24,0	5,7
jun/05	2,7	8,1	89,9	6,4	22,7	6,2
jul/05	3,0	9,0	n.a.	7,1	n.a.	n.a.
ago/05	2,3	6,9	96,4	n.a.	24,1	8,8
set/05	n.a.	n.a.	91,7	13,4	24,7	8,0
out/05	0,9	2,7	116,4	n.a.	25,5	8,2
nov/05	0,7	2,1	98,0	n.a.	27,6	8,4
dez/05	1,9	5,7	92,8	n.a.	26,8	6,9
jan/06	0,9	2,7	91,2	n.a.	29,0	6,2
fev/06	1,0	3,0	102,5	n.a.	29,3	7,5
mar/06	2,0	6,0	94,7	n.a.	28,4	n.a.
média	1,9	5,7	99,3	6,8	25,8	7,3
Desv. padrão	0,9	2,9	13,2	2,5	2,6	0,9

Outras variáveis físicas, como regime de ventos associado à profundidade do ambiente, podem contribuir para redução da transparência da água. No caso do Reservatório do Funil, esses fatores não se aplicam, pois é um corpo d'água relativamente profundo (cerca de 75m no ponto amostral), não havendo possibilidade de ressuspensão de sedimento. Isso sugere que a reduzida transparência da coluna d'água se deu, principalmente, em virtude da constante floração observada neste ambiente.

A condutividade da água do Reservatório do Funil variou de $82,8 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$, em maio/05 a $138 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ em dezembro/04. Observou-se que em agosto/04 e em julho/05 foram meses de baixa condutividade e elevada transparência da água. Além disso, nos meses em que houve relatos de chuvas na região (janeiro, fevereiro e março, junho, julho e setembro/05) foram os que apresentaram maior transparência e, menor condutividade.

Os valores de condutividade determinados estavam abaixo dos comumente encontrados em reservatórios brasileiros. Rocha *et al.* (2006) encontraram condutividade mínima de $133 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ em 2 dos 6 reservatórios estudados no baixo e médio Tietê (São Paulo). Em alguns reservatórios da região nordeste a condutividade é ainda mais elevada, em função da composição do solo. Bouvy *et al.* (2000) avaliaram 39 reservatórios desta região e encontraram valores de condutividade de até $25.000 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$, que podem ser comparados com valores de condutividade marinha. Contudo, para o Reservatório de Lajes, que está localizado na mesma região geográfica do Reservatório do Funil, os valores encontrados de condutividade foram bem menores, atingindo o valor máximo de $31 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ (FUNASA, 2005).

No ano 1995 o valor médio de condutividade da água do Reservatório do Funil era de $65 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ (Rocha *et al.*, 2002), sendo muito abaixo da

condutividade avaliada em 2004 e 2005. Pode-se afirmar que o crescente aporte de material em suspensão que chega ao Reservatório do Funil foi o principal responsável pelo aumento da condutividade neste ambiente.

A temperatura da água variou de 20,3°C, em julho/04, a 29,3°C em fevereiro/06, demonstrando uma sazonalidade temporal comum em ambientes tropicais. Os menores valores de temperatura ocorreram no inverno, tendendo a aumentar conforme a aproximação do verão. Temperaturas elevadas influenciam diretamente processos vitais das comunidades aquáticas, como por exemplo, a produtividade primária, e também promovem um crescimento acelerado de organismos fitoplanctônicos. Observou-se uma correlação positiva ($p < 0,05$) entre os meses com elevada temperatura e a densidade de *Microcystis* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, (Tabela III). Hanazato (1991) sugeriu que o aumento da temperatura da água pode promover o crescimento de bactérias que atuam no processo de decomposição quando colônias de *Microcystis* entram em senescência. Essas bactérias, por sua vez, servem de alimentos para pequenos cladóceros, dos quais algumas espécies foram constantes durante o período de estudo. Rocha *et al.* (2002) indicaram que isto poderia ocorrer no Reservatório do Funil, através do fluxo de energia da cadeia de detritívoros.

Com relação à concentração de oxigênio dissolvido na água, houve uma variação de 4,5 mg/l (julho/04) a 13,4 mg/l (setembro/05). Esta variável é influenciada pela difusão de O₂ a partir da atmosfera e do processo fotossintético, sendo consumido pela respiração de todos organismos aeróbicos, oxidação de íons metálicos e perdas para a atmosfera (Esteves, 1998). O horário de coleta no reservatório foi normalmente próximo de 11 horas da manhã, momento em que a grande densidade populacional fitoplanctônica

estava em intensa atividade fotossintética, o que provoca consumo de gás carbônico e liberação de oxigênio na zona eufótica. Este fato condiz com os elevados valores de oxigênio dissolvido encontrados neste corpo d'água.

Entretanto, a avaliação e discussão dos dados referentes à concentração de oxigênio dissolvido ficaram comprometidas em função de problemas técnicos, ocorridos durante alguns meses de coleta, impedindo um melhor acompanhamento desta variável durante os dois anos de estudo.

Tabela III: Correlação de Pearson entre variáveis físicas e químicas e grandes grupos planctônicos. Os valores em vermelho indicam as correlações que foram significativas ($p < 0,05$).

	TRANSP	COND	TEMP	pH
Cianobactérias	-0,6400	0,4600	0,6900	0,3700
<i>Microcystis</i> (colônia)	-0,68170	0,308477	0,714534	0,231733
<i>Microcystis</i> (unicelular)	-0,50721	0,199392	0,592572	0,104044
Total <i>Microcystis</i>	-0,52747	0,211201	0,608456	0,116929
<i>Cylindrospermopsis</i>	-0,55669	0,117311	0,54424	-0,03818
<i>Anabaena</i>	-0,41201	0,560156	0,434312	0,650484
<i>Pseudoanabaena</i>	-0,37205	-0,10982	0,431942	-0,20166
<i>Aphanizomenon</i>	-0,44536	0,269553	0,357483	0,557827
Clorofíceas	-0,35739	-0,15260	0,465019	-0,25566
Diatomáceas	-0,32775	0,00563	0,343671	-0,22021
Criptofíceas	-0,37539	-0,24577	0,512662	-0,28286
Copépodos	0,009182	-0,46893	0,068473	-0,48363
Rotíferos	0,03235	-0,49738	0,035322	-0,51776
Cladóceros	-0,18645	-0,34787	0,323779	-0,28204

Organismos aquáticos são bastante afetados pela alteração do pH do meio, que no Reservatório do Funil variou de 6,2, em abril/05, a 9,8 em setembro/04. Essa variável é influenciada pela intensa atividade fotossintética ocorrida na água e os valores apresentados estão dentro da faixa considerada

ótima para a sobrevivência das cianobactérias, cuja maioria das espécies apresentam melhor crescimento em águas com pH entre 6 e 9 e, conseqüentemente, são favorecidas pela disponibilidade de carbono inorgânico na forma de carbonatos e bicarbonatos. De acordo com Shapiro (1990) este grupo de organismos é favorecido pela baixa concentração de CO₂, enquanto as clorofíceas e diatomáceas são favorecidas pela situação oposta. Entre outros fatores já mencionados, isto poderia estar contribuindo para a dominância das cianobactérias sobre outros grupos fitoplanctônicos neste reservatório.

Sotero-Santos *et al.* (2006) encontraram valores médios de pH de 9,32 no Reservatório de Barra Bonita (SP) e indicaram que o pH, aliado à alta temperatura, estabilidade da coluna d'água, baixa razão N:P e altas concentrações de nutrientes contribuíram para promover intenso crescimento de cianobactérias. Apesar de não termos as concentrações de nutrientes no período estudado, sabe-se que o Reservatório do Funil vem apresentando concentrações elevadas destes compostos, principalmente decorrente dos impactos em sua bacia de drenagem. Os demais fatores também corroboram para a floração constante de cianobactérias neste ambiente.

Os valores das variáveis físicas e químicas analisadas provavelmente não foram limitantes para o zooplâncton. Porém, indiretamente afetam suas populações quando agem sobre o fitoplâncton, limitando ou auxiliando o aumento da densidade populacional de algum grupo específico.

Como já mencionado, a combinação de fatores como elevada temperatura, pH predominantemente neutro-alcalino, baixa turbulência (ambiente lântico) e alta intensidade de luz, associados ao elevado aporte de nutrientes, permitem a ocorrência de florações de cianobactérias há vários

anos no Reservatório do Funil. Dessa forma, a comunidade zooplanctônica já devem ter sido previamente selecionados a este tipo de ecossistema impactado.

4.2 Fitoplâncton

Durante o período de estudo, observou-se a dominância de cianobactérias em todos os meses. Além destas, estiveram presentes algumas espécies de Clorofíceas, Criptofíceas e Diatomáceas (Figura 3). A média dos valores absolutos de densidade, assim como de densidades máxima e mínima estão demonstrados na tabela IV.

O grupo das cianobactérias foi constituído principalmente pelos gêneros *Microcystis*, *Pseudoanabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* e *Anabaena* (Figuras 4 e 5). Porém, *Microcystis* esteve presente em todos os meses, em elevadas densidades e sua população era constituída de formas coloniais e unicelulares. Contudo, não se pode afirmar que a presença de formas unicelulares representava efetivamente o ambiente ou se era apenas um artifício de coleta, pelo qual ocorria a separação de células das colônias pequenas.

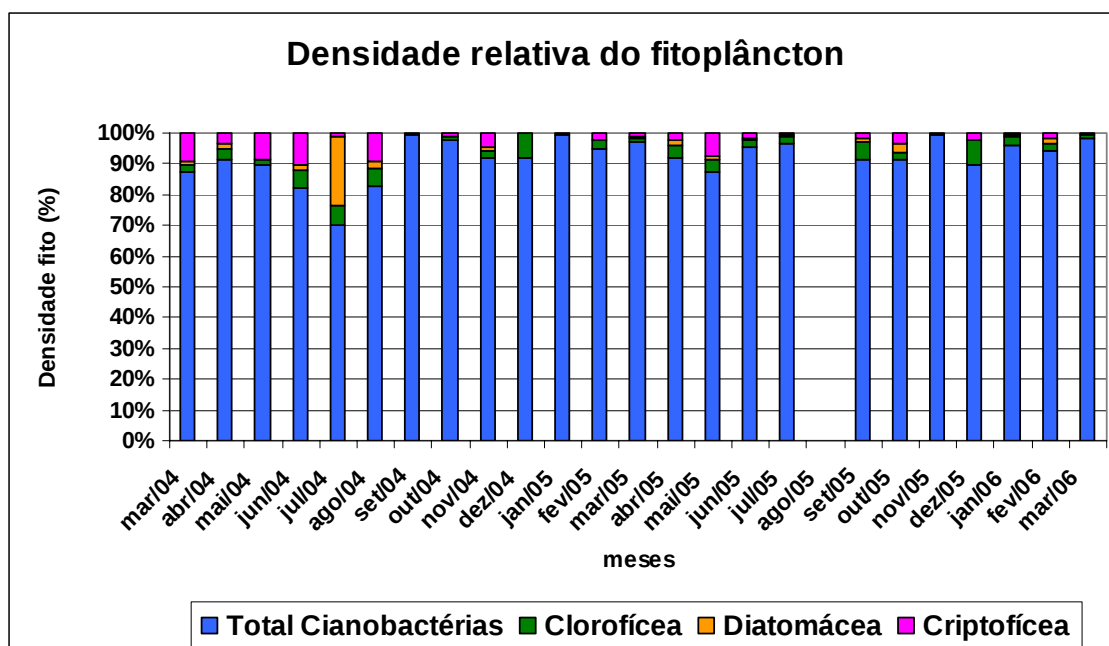


Figura 3: Densidade relativa da comunidade fitoplanctônica.

Tabela IV: Densidade média, mínima e máxima das classes fitoplanctônicas e gêneros de cianobactérias. Na densidade mínima foram considerados apenas os meses em que os organismos foram detectados.

	Densidade média (ind.L ⁻¹)	Densidade mínima (ind.L ⁻¹)	Densidade máxima (ind.L ⁻¹)
<i>Microcystis</i> (unicelular)	36.759.254	280.600 (abr/04)	194.110.400 (jan/06)
<i>Microcystis</i> (colônia)	5.295.283	536.300 (jul/05)	21.089.600 (jan/06)
<i>Cylindrospermopsis</i> (tricoma)	1.366.204	17.300 (jul/05)	9.468.800 (jan/06)
<i>Anabaena</i> (filamento)	343.758	10.400 (abr/04)	3.816.000 (out/05)
<i>Pseudoanabaena</i> (filamento)	4.371.163	20.800 (abr/04)	43.040.000 (jan/06)
<i>Aphanizomenon</i>	414.857	6.900 (jul/04)	2.275.000 (nov/05)
Clorofíceas	1.348.454	47.000 (mai/04)	7.316.800 (jan/06)
Diatomáceas	396.450	17.300 (jul/05)	5.088.000 (out/05)
Criptofíceas	782.928	17.300 (jul/05)	6.105.600 (out/05)

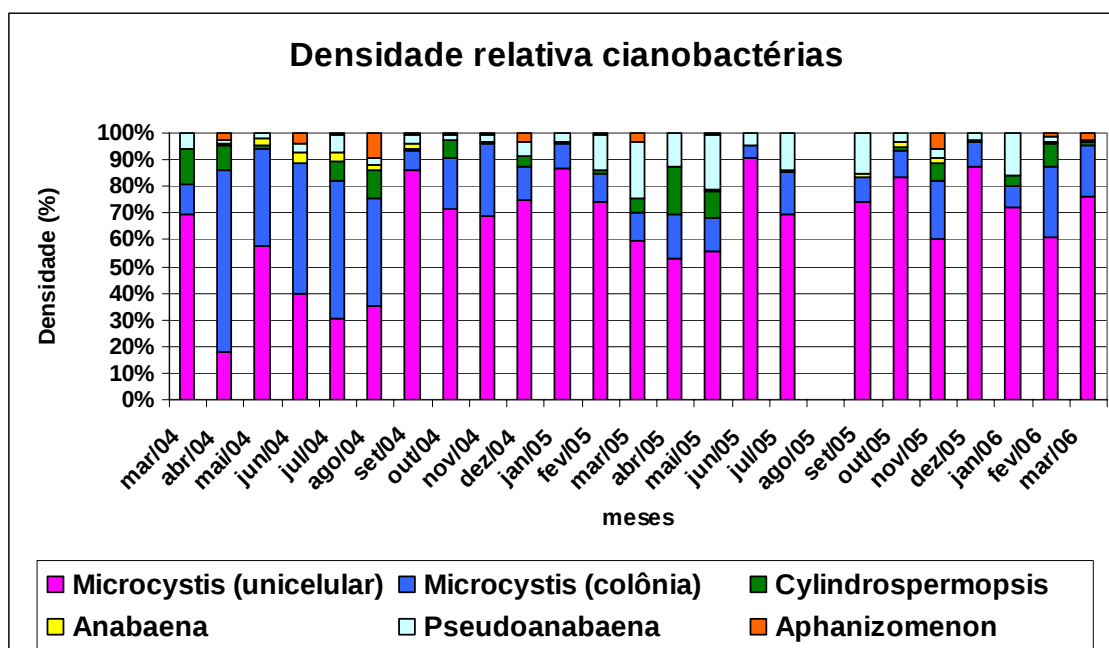


Figura 4: Densidade relativa das principais cianobactérias

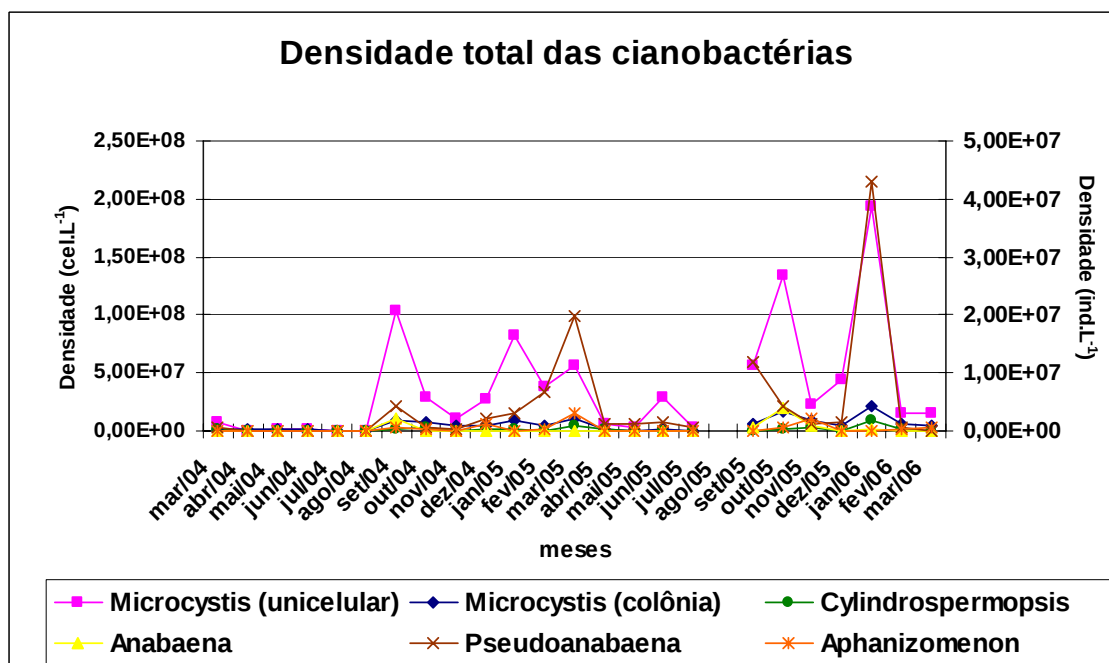


Figura 5: Densidade populacional das cianobactérias

No presente estudo, convencionou-se chamar de “demaís grupos fitoplânctônicos” a comunidade do fitoplâncton sem a inclusão das cianobactérias. Dessa forma, observou-se que em dezembro/04, setembro/05, dezembro/05 e janeiro/06, foram os meses de maiores densidades desses demais grupos (Figura 6), embora em termos relativos estes organismos não tenham sido representativos, face ao aumento da densidade fitoplanctônica de uma maneira geral.

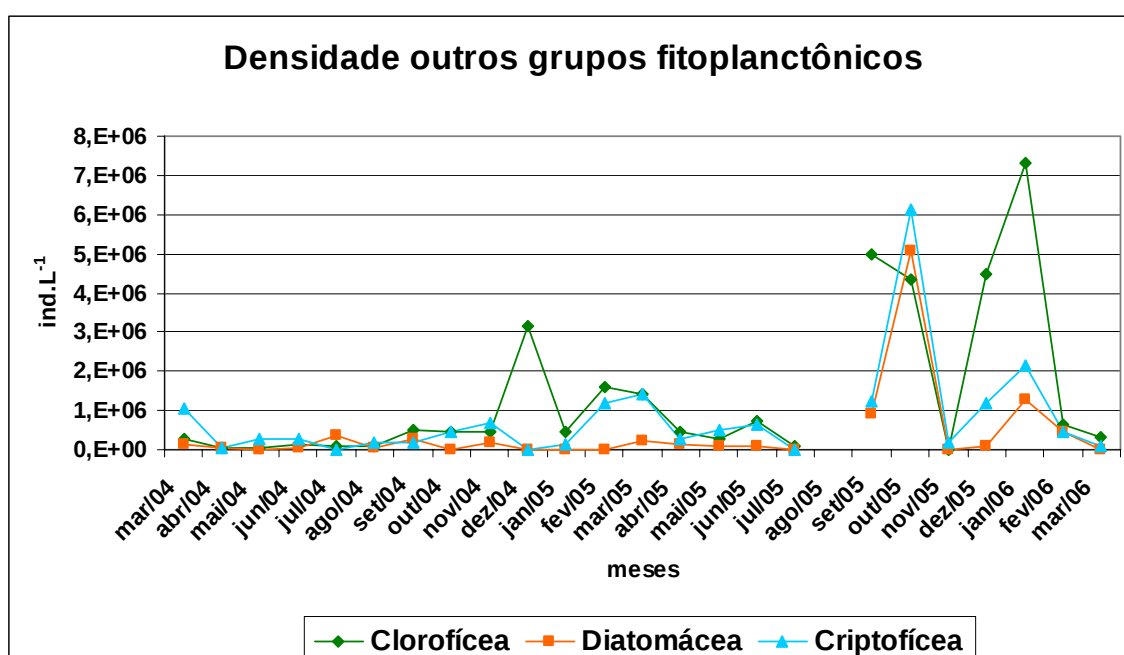


Figura 6: Densidade total dos demais grupos fitoplanctônicos

As diatomáceas variaram pouco em composição de espécies e tiveram maior representatividade na comunidade fitoplanctônica total em julho/04. Porém, atingiram maior densidade populacional em outubro/05, com 5.088.000 ind.L⁻¹. Dentre as diatomáceas presentes no Reservatório do Funil durante este estudo, o gênero *Cyclotella* teve grande representatividade na população deste grupo (dados não apresentados). Estes organismos sofrem forte ação de herbivoria, conforme observado por Gonzáles *et al.* (2006). Sendo assim, as

diatomáceas podem ter sido um importante recurso alimentar para a comunidade zooplanctônica.

As *Pseudoanabaenas* e as Criptofíceas encontradas nas amostras normalmente estavam associadas às colônias de *Microcystis*, presas em sua mucilagem. Observou-se que a densidade populacional das *Pseudoanabaenas* acompanhou a população de *Microcystis* em quase todos os meses. Esta associação já havia sido observada por Tucci *et al.* (2006), na Lagoa das Garças (SP).

Dentre as condições de sobrevivência preferidas pelas cianobactérias está a temperatura entre 25°C e 30°C. As cianobactérias se beneficiaram com o aumento da temperatura, pois apresentaram correlação positiva com esta variável (Tabela III). Em um estudo de oito corpos d'água brasileiros, Huszar *et al.* (2000), demonstraram que a temperatura também foi relacionada positivamente com a abundância relativa de cianobactérias. Isto também foi verificado por Rocha *et al.* (2002) para o Reservatório do Funil. Conforme relatado por Robarts & Zohary (1987) *apud* Msagati *et al.* (2006), a faixa de temperatura ótima para as cianobactérias é elevada para clorofíceas e diatomáceas, fazendo com que as cianobactérias se beneficiem competitivamente nessas condições. Entretanto, observando os valores absolutos mensais dos outros grupos fitoplanctônicos, notou-se que as maiores densidades destes organismos foram nos meses de temperaturas mais elevadas, o que não corresponde ao reportado na literatura.

Como já mencionado, a ocorrência de florações de cianobactérias em lagos e reservatórios brasileiros vêm crescendo ao longo dos anos. Este fato torna-se ainda mais preocupante em função da possibilidade de produção de cianotoxinas por estes organismos, principalmente em reservatórios utilizados

para abastecimento público. No Reservatório do Funil esta dominância de cianobactérias ocorre há muitos anos (FEEMA, 1987). Um estudo anterior neste ambiente (FUNASA, 2005) demonstrou a substituição na dominância de *Microcystis* por *C. raciborskii*, em dois dos doze meses analisados. Esta substituição parece ocorrer com grande frequência em reservatórios brasileiros (Costa et al, 2006; Chellapa & Costa, 2003; Marinho & Huszar, 2002; Branco & Senna, 1994). Um dos mecanismos que pode estar envolvido nessa substituição é o fato de *C. raciborskii* ser fixadora de nitrogênio e, em condições limitantes, esta espécie pode se beneficiar competitivamente em relação ao gênero *Microcystis*. No entanto, esta alternância, ou mesmo a co-dominância, não ocorreu durante a atual pesquisa, sendo *Microcystis* dominante durante todos os meses. Isto pode ser explicado em virtude de ausência de limitação por nutrientes já observada no Reservatório do Funil (FUNASA, *op. cit.*). Além das condições favoráveis neste ambiente, espécies de *Microcystis* têm vantagem adaptativa por possuírem mucilagem, melhorando a capacidade de flutuarem na coluna d'água e possibilitando melhor aproveitamento da disponibilidade de luz.

Outro fator que contribui para a dominância das *Microcystis* é a capacidade de formação de colônias, cujo tamanho pode contribuir para redução da herbivoria, conforme demonstrado por Ferrão-Filho & Azevedo (2003). Apesar de *C. raciborskii* poder formar grandes filamentos, Bouvy et al. (2001) demonstraram que seus filamentos podem ser cortados por copépodos e, dessa forma, as pequenas partes que se separaram serviriam de alimento para outros organismos zooplânctônicos. Assim, a pressão de predação sobre *C. raciborskii* por zooplâncton herbívoro pode ser maior que sobre *Microcystis*,

contribuindo para manter a dominância deste gênero na comunidade fitoplanctônica do ambiente estudado.

De acordo com Rocha *et al.* (2002) houve aumento da densidade de *Microcystis* no ambiente estudado, em dezembro de 1995, chegando a 250.000 colônias.L⁻¹. Porém, essa contagem foi feita através de coleta com rede, o que selecionou apenas indivíduos de tamanho superior a 68 µm.

Na região amazônica, Vieira *et al.* (2005), demonstraram que cepas de *Microcystis* isoladas de amostras fitoplanctônicas eram produtoras de microcistinas. No Reservatório do Funil cepas de *Microcystis* já foram isoladas e caracterizadas como produtoras de microcistinas, mas não se pode afirmar que apenas este gênero seja produtor destas toxinas, visto que *Anabaena* também é potencialmente produtora de microcistinas. Além disso, deve-se ressaltar que a comunidade picoplanctônica não foi avaliada no presente estudo e,consequentemente, não se estimou sua capacidade de produzir microcistina, como já demonstrado por Domingos *et al.* (1999).

4.3 Zooplâncton

A comunidade zooplanctônica deste reservatório, durante o período estudado, foi constituída de 2 táxons de copépodos, 27 espécies de rotíferos e 6 de cladóceros, que estão listados na Tabela V. Também foram encontrados turbelários, larvas de insetos, tecameba e alguns outros protozoários. Porém no presente estudo foram considerados apenas os três primeiros grupos, que foram também os mais representativos em frequência e abundância (Figura 7).

Tabela.V: Frequência de ocorrência dos táxons (Gomes, 1989). Inclui valores mínimos, máximos e a média das densidades, ao longo dos meses. Na densidade mínima foram considerados apenas os meses em que foram detectados.

	Táxons	frequência	Densidade média (ind.L ⁻¹)	Mínimo (ind.L ⁻¹)	Máximo (ind.L ⁻¹)
copépodos	nauplios	constante	30,96	1,93(ago/05)	304,89(mai/05)
	copepoditos	constante	20,15	0,25(out/04)	59,06 (mai/05)
	copépodo calanóide	constante	9,28	0,05(jul/04)	32,24 (nov/05)
	copépodo ciclopóide	constante	1,3	0,07(jun/05)	3,55 (mai/05)
rotíferos	<i>Ascomorpha ecaudis</i> (Perty, 1850)	comum	0,2	0,01(abr/05)	0,81 (jun/05)
	<i>Ascomorpha saltans</i> (BARSTCH, 1870)	rara	0,02	0,50(mai/05)	0,50 (mai/05)
	<i>Asplanchna</i> sp. (Gosse, 1850)	comum	0,26	0,01(abr/05)	2,34 (ago/04)
	<i>Brachionus calyciflorus</i> (Pallas, 1766)	comum	0,68	0,03 (jun/04)	6,21 (jan/06)
	<i>B.dolobratius</i> (Harring, 1915)	rara	0,02	0,05(abr/04)	0,46 (fev/06)
	<i>Collotoca</i> sp. (Harring, 1913)	constante	0,86	0,04 (jan/06)	2,91 (jun/05)
	<i>Conochillus</i> sp. (Ehrb., 1834)	constante	0,47	0,08 (fev/06)	1,90 (abr/04)
	<i>C.unicornis</i> (Rousselet, 1892)	constante	2,94	0,20 (jul/04 e jun/05)	8,52 (mar/04)
	<i>Euchlanis dilatata</i> (Ehrb., 1832)	comum	0,91	0,11(abr/05)	9,76 (jan/06)
	<i>Filinia longiseta</i> (Ehrb., 1834)	comum	0,04	0,04 (jun/04)	0,58 (abr/04)
	<i>Filinia</i> sp. (Bory de St. Vincent, 1824)	comum	0,02	0,04(abr/04)	0,39 (mai/05)
	<i>Hexarthra</i> sp. (Schmarda, 1854)	comum	0,19	0,05(abr/04)	2,02 (mai/05)
	<i>Kelicotia</i> sp. (Ehrb., 1834)	constante	0,34	0,10(mai/05)	1,41 (fev/06)
	<i>Keratella americana</i> (Carlin, 1943)	constante	2,57	0,07 (jul/05)	29,62 (dez/04)
	<i>Keratella coclearis</i> (Gosse, 1851)	constante	0,87	0,04(abr/05)	5,62 (jan/06)

	<i>Keratella lenzi</i> (Hauer, 1953)	comum	0,08	0,06 (jun/04 e fev/05)	0,86 (mar/04)
	<i>Keratella tropica</i> (Apstein, 1907)	constante	0,56	0,04(abr/04)	6,28 (mar/05)
	<i>Lecane monostilo</i> (Bartos, 1959)	rara	0,01	0,11(mai/04)	0,18 (fev/06)
	<i>Lecane</i> sp. (Nitzsch, 1827)	comum	0,05	0,03 (jun/05)	0,54 (jul/05)
	<i>Macrochaetus</i> sp. (Perty, 1850)	rara	0,01	0,14(abr/04)	0,14 (abr/04)
	<i>Mytilinia</i> sp. (Bory de St. Vincent, 1836)	rara	0	0,10 (jan/05)	0,10 (jan/05)
	<i>Polyarthra vulgaris</i> (Carlin, 1943)	constante	4,37	0,03 (jul/04)	54,20 (mai/05)
	<i>Rotaria</i> sp. (Scopoli, 1777)	comum	0,06	0,01(abr/05)	0,75 (abr/04)
	rotífero sp.	comum	0,06	0,06(mai/04)	1,21 (mai/05)
	<i>Synchaeta</i> sp. (Ehrb., 1832)	rara	0,02	0,03(ago/04)	0,47 (jun/05)
	<i>Testudinella</i> sp. (Bory de St. Vincent, 1826)	comum	0,07	0,06 (jun/04)	0,50 (nov/04)
	<i>Trycocerca similis</i> (Wierzejski, 1893)	comum	1,36	0,03 (jun e jul/04)	14,10 (jan/05)
cladóceros	<i>Diaphanosoma birgei</i> (Krineck, 1981)	constante	2,47	0,05 (jul/04 e set/05)	22,99 (dez/04)
	<i>Ceriodaphnia cornuta</i> (Sars, 1886)	constante	0,7	0,10(abr/05)	6,63 (mar/06)
	<i>Moina</i> sp. (Baird, 1850)	constante	0,59	0,05 (set/05)	3,25 (mar/06)
	<i>Bosmina</i> sp. (Baird, 1845)	constante	0,17	0,04(mar/05)	1,71 (mai/05)
	<i>Daphnia gessneri</i> (Herbst, 1967)	comum	0,18	0,01 (abr/05)	2,64 (set/04)
	<i>Simocephalus</i> sp. (Schoedler, 1858)	rara	0,02	0,03 (jul/05)	0,21 (mar/06)

O grupo dos copépodos foi o mais representativo em densidade e também esteve presente em todas as amostras, principalmente as formas jovens. Essa dominância é bastante comum em corpos d'água (Bouvy *et al.*, 2001; Mattos *et al.*, 1997, Branco, 1991), assim como a oscilação populacional

mensal deste grupo. Uma hipótese para explicar esta oscilação é a limitação por recurso alimentar, predação e variação sazonal nas características físicas e químicas do ambiente (Dussart & Defaye, 1995).

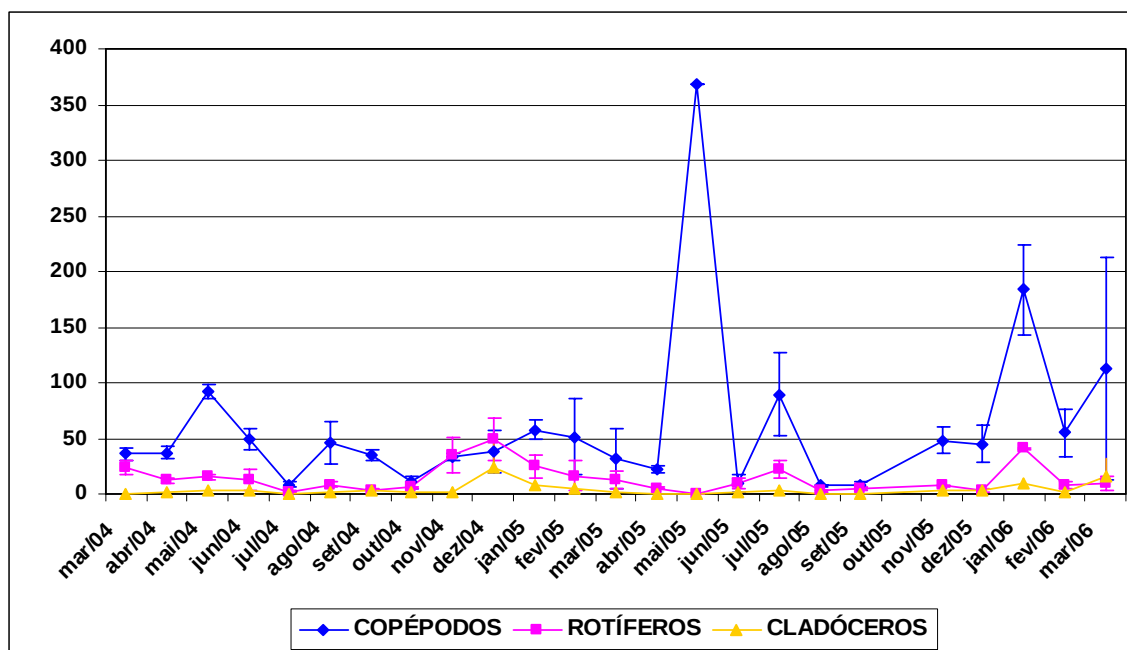


Figura 7: Densidade populacional do zooplâncton

No entanto, o aumento na densidade dos copépodos parece que não esteve associado a algas de elevado valor nutricional, como as clorofíceas. Por outro lado, conforme demonstrado na figura 8, a densidade de copépodos calanóides adultos parece estar relacionada à densidade das *Microcystis*. Apesar das cianobactérias possuírem baixo valor nutricional para o zooplâncton, alguns copépodos são capazes de capturar e manusear grandes partículas de alimento (DeMott *et al.*, 1991), consumirem cianobactérias não tóxicas (DeMott & Moxter, 1991) e podem apresentar alta taxa de ingestão das colônias (Kozłowski-Suzuki *et al.*, 2003). Ferrão-Filho *et al.* (2002a), em estudos na Lagoa de Jacarepaguá (RJ), demonstraram correlação positiva entre cianobactérias e copépodos, indicando que esta interação é comum em ambientes naturais.

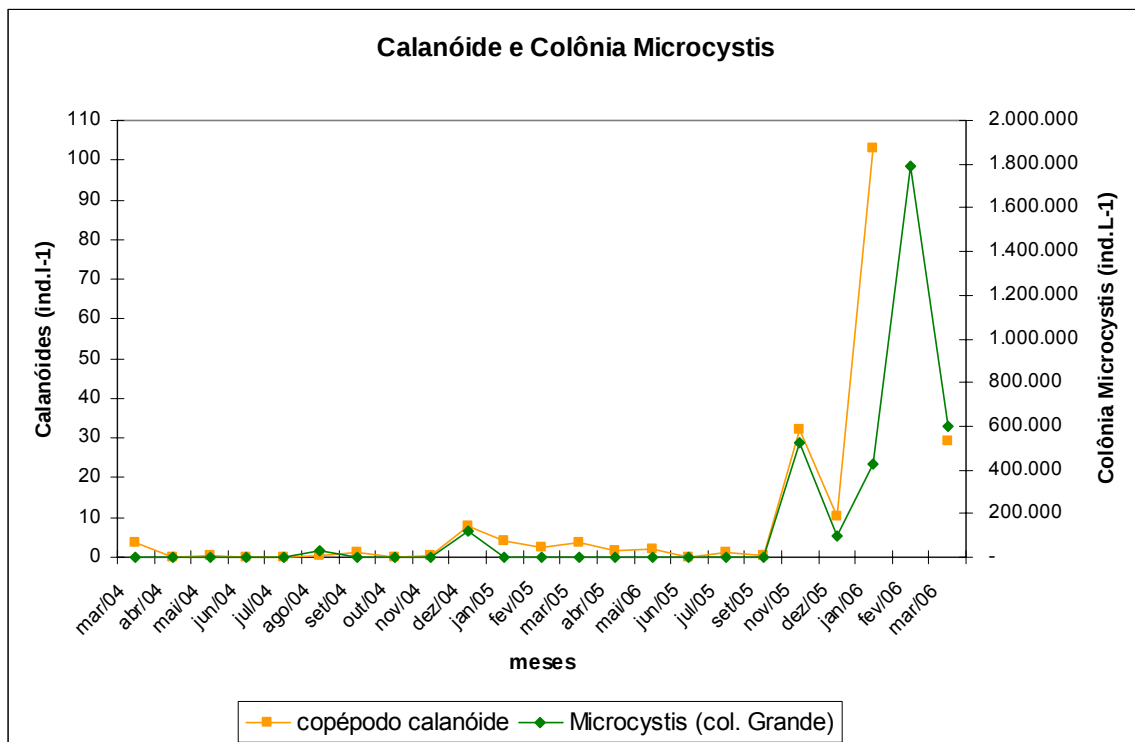


Figura 8: Densidade de copépodos calanóides e colônias de *Microcystis*.

Panosso *et al.* (2003), em estudos com copépodos calanóides naturais do Reservatório do Funil, indicaram que as cianobactérias não são necessariamente um recurso alimentar inadequado para estes organismos. Entretanto, uma pequena porcentagem de outros grupos fitoplanctônicos e protistas podem representar um significativo recurso alimentar para este grupo. Este mesmo trabalho não demonstrou como este copépodo consegue evitar a ingestão de partículas tóxicas, como sugeriram outros autores (DeMott & Moxter, 1991; Watanabe *et al.*, 1992; Kurmayer & Jütner, 1999; Ives, 1987), mas observaram uma redução na taxa de ingestão do alimento. Esses autores sugeriram ainda que populações de copépodos de ambientes tropicais, em contato freqüente com florações de cianobactérias tóxicas, poderiam desenvolver resistência às suas toxinas. Os resultados apresentados para estas populações no presente trabalho concordam com esses autores.

Os copépodos mais abundantes encontrados no Reservatório do Funil foram os calanóides. De acordo com Rocha *et al.* (2002), neste mesmo ambiente durante o ano de 1995, os copépodos adultos mais abundantes eram os ciclopóides e, em virtude de seu hábito alimentar raptorial, poderiam se alimentar de grandes partículas como colônias e filamentos. Esses organismos podem ter tido seu crescimento populacional comprometido ao longo desses anos, ou podem estar habitando preferencialmente outras camadas da coluna d'água, alterando seu hábito alimentar, já que são omnívoros.

Leonard & Paerl (2005), ao estudarem a comunidade zooplancônica de um lago na Flórida (EUA), observaram que a diversidade dessa comunidade aumentava quando a população de *Cylindrospermopsis raciborskii* era reduzida ou ausente. Demonstraram também que a densidade dos copépodos era afetada negativamente por esta cianobactéria. No Reservatório do Funil não foi verificada esta associação negativa com copépodos nem o aumento da diversidade com o declínio das cianobactérias. Como a população de *C. raciborskii* era reduzida em relação às outras cianobactérias, outros fatores podem ter influenciado para a redução ou aumento da densidade e diversidade do zooplâncton, como a concentração de toxinas das cianobactérias ou a presença de alimentos nutritivos, respectivamente.

O grupo dos rotíferos foi o que apresentou maior riqueza na composição das espécies, chegando ao máximo de 18 espécies em abril/04, mas contribuindo com apenas 4 espécies em agosto, novembro de dezembro/05. De acordo com Gilbert (1994), os rotíferos são freqüentemente os principais componentes do plâncton dos ambientes de água doce, especialmente quando grandes cladóceros são raros ou ausentes. Isto ocorre porque algumas espécies de rotíferos ocupam o mesmo nicho alimentar de alguns cladóceros, e

dessa forma, qualquer fator que prejudique a reprodução ou sobrevivência desses cladóceros torna-se uma vantagem competitiva em favor dos rotíferos. A competição por alimento pode ter ocorrido previamente no Reservatório do Funil, visto que os grandes cladóceros foram raros e pouco abundantes.

Snell (1980) indicou que as cianobactérias podem reduzir a taxa reprodutiva de rotíferos e por isso podem ter um papel importante na seleção natural dessas populações. No entanto, durante o período de estudo no Reservatório do Funil, aparentemente as populações dos rotíferos não foram influenciadas pela presença constante de cianobactérias.

O gênero *Keratella* foi constante durante todo o estudo, com elevadas densidades em alguns meses. Vasconcelos (1994) encontrou alta densidade de *Keratella coclearis* quando o fitoplâncton foi dominado por cianobactérias e grandes diatomáceas, indicando que esta espécie pode se alimentar destes organismos. Smith & Gilbert (1995) sugeriram que em baixas concentrações de células de *Microcystis*, espécies de *Keratella* podem ser resistentes às toxinas ou se adaptar de forma a utilizar essas células como recurso alimentar.

Organismos da espécie *Brachionus calyciflorus* não foram abundantes no presente estudo, como avaliado por Rocha *et al.* (2002) há uma década. Conforme apontado por Fulton & Paerl (1987) esta espécie atua como predador não seletivo de colônias de *Microcystis*. Sua população no Reservatório do Funil deve ter sido excluída ou reduzida por outros fatores que não as interações com o fitoplâncton.

Os cladóceros neste estudo formaram o grupo de menor densidade e riqueza, apresentando apenas 6 espécies. Dentre estas, destacam-se *Diaphanosoma birgei*, com densidade média de 2,47 ind.L⁻¹ e *Ceriodaphnia cornuta*, *Moina* sp. e *Bosmina* sp., que foram constantes ao longo

do período amostral. Destaca-se que os cladóceros mais constantes eram de pequeno ou médio porte, corroborando com dados laboratoriais que indicam que espécies de tamanhos pequenos são menos sensíveis à toxicidade de cianobactérias e também resistem melhor a longos períodos sem alimento (Ferrão-Filho *et al.*, 2000; Guo & Xie, 2006).

A baixa densidade dos cladóceros, neste ambiente, pode estar relacionada a constante floração de cianobactérias tóxicas. Porém, de acordo com Ferrão-Filho & Arcifa (2006), os cladóceros podem ser limitados por outros elementos, como fósforo e carbono. Outros autores indicam que história de vida da espécie é um fator importante para determinar sua sensibilidade as cianotoxinas e deficiência nutricional. De fato, acredita-se que as espécies que constituem a comunidade de cladóceros do Reservatório do Funil já estão adaptadas e conseguem conviver com as florações.

O trabalho de Mohamed (2001) indicou que populações de *Daphnia* podem se alimentar de *Microcystis*, quando da ausência de outra fonte de alimento, apesar deste ser considerado um fraco recurso alimentar, como já mencionado. No Reservatório do Funil este gênero de cladóceros teve maior densidade em setembro/04, quando a densidade de cianobactérias também estava elevada. Neste caso, parece que a população de *Daphnia* pode ter tido sua população aumentada independente do recurso alimentar. Trabeau *et al.* (2004) demonstraram que o declínio da população deste cladóceros, em um lago temperado, esteve relacionado ao aumento da biomassa de *Microcystis*. Porém, este fato não pôde ser confirmado no presente trabalho, visto que a população de *Daphnia* era muito pequena. Se considerarmos o decréscimo de sua população no mês de outubro/04, observa-se que houve nesse mesmo

período uma redução populacional de todas as cianobactérias, indicando não haver relação com a densidade dessas cianobactérias.

Alguns cladóceros, por não serem seletivos na alimentação têm o mecanismo de filtração prejudicado pela presença de cianobactérias coloniais ou filamentosas. Entretanto, esses efeitos inibitórios pareceram não ocorrer aos pequenos cladóceros presentes no ambiente estudado, que conforme relatado por Hazanato (1991), podem se alimentar de bactérias associadas a processos de decomposição, como é o caso de *Bosmina* sp.

Ceriodaphnia cornuta, espécie que esteve presente nas amostras de quase todos os meses, está normalmente associada a ambientes com baixa concentração de oxigênio dissolvido e altas variações de temperatura (Villalobos & González, 2006). Esses autores indicam que esta espécie pode sobreviver em ambientes de baixa qualidade nutricional e, em alguns casos, podem consumir cianobactérias. Isto pode explicar a sua ocorrência constante no Reservatório do Funil, independente da quantidade e qualidade do fitoplâncton presente.

DeMott *et al.* (1991) sugeriram que adaptações comportamentais e fisiológicas na comunidade zooplanctônica aumentam a capacidade de coexistência com cianobactérias tóxicas. Pelas co-ocorrências observadas entre o fitoplâncton e zooplâncton do Reservatório do Funil, acredita-se que a comunidade zooplanctônica esteja adaptada à escassez de alimento de elevado valor nutricional, coexistindo com cianobactérias; ou que esteja utilizando eficientemente o pouco recurso alimentar de boa qualidade nutricional. Outra possível explicação é que algumas espécies poderiam se alimentar de bactérias que sobrevivem da decomposição fitoplanctônica.

Portanto, a constante floração de cianobactérias tóxicas no Reservatório do Funil poderia limitar a sobrevivência de espécies que não consigam se alimentar destes organismos, ou tenham suas taxas reprodutivas reduzidas, prejudicando gerações futuras ou que sejam sensíveis às toxinas. Por outro lado, poderiam também promover a seleção de espécies herbívoras que possam ter algum ganho nutricional ou vantagem adaptativa na presença destas cianobactérias.

4.4 Microcistinas

A variação da concentração de microcistinas livres, expressa em $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, está apresentada na Figura 9. Ressalta-se que os meses nos quais os valores não foram apresentados, este fato deveu-se aos seguintes fatores: impossibilidade de separação da fração zooplancônica e da fração fitoplanctônica de maior tamanho ou insuficiência da massa de zooplâncton para a análise.

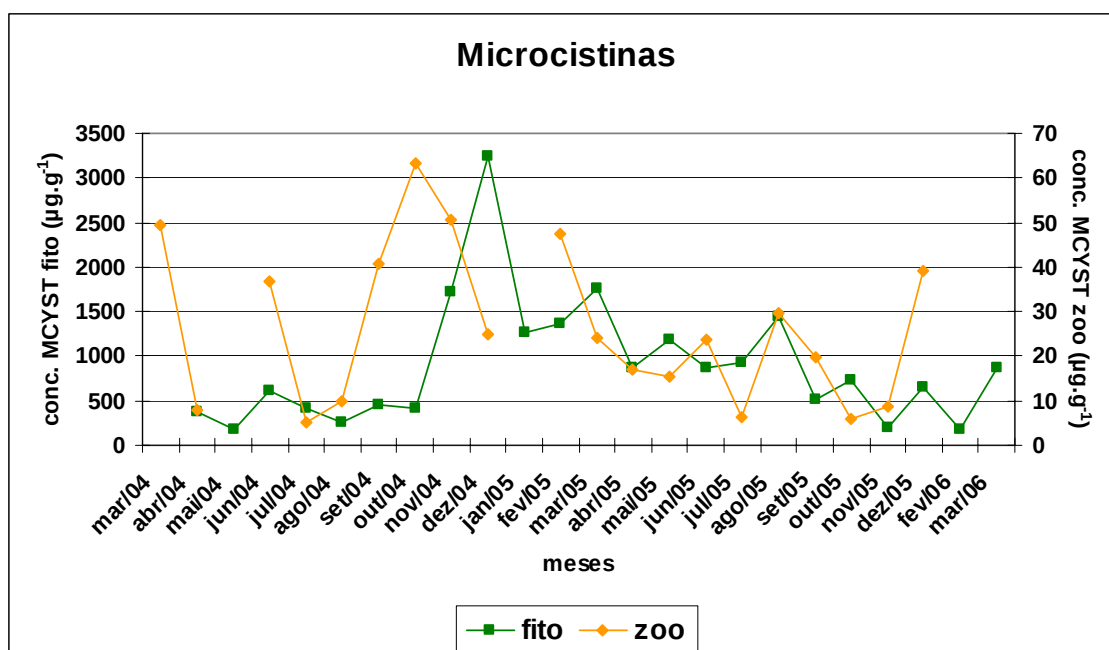


Figura 9: Concentração de microcistinas nas frações fitoplanctônicas e zooplanctônicas.

Com relação à concentração de microcistina contida na fração fitoplanctônica, observou-se 3 fases distintas ao longo do período de estudo: a primeira, de baixa concentração de microcistinas, que foi de abril/04 a outubro/04; a segunda fase, onde houve aumento e variação nas concentrações, período que foi de novembro/04 a maio/05 e, finalmente, a terceira fase, que foi de junho/05 a março/06, período no qual houve nova redução nas concentrações de microcistinas.

Comparando-se essas três fases com a variação de densidade das populações de *Microcystis* (Figura 10), nota-se que a primeira fase corresponde ao período de baixa densidade das cianobactérias, associada a uma concentração de microcistinas com valores próximos a 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Na segunda fase, observa-se um aumento nas populações de *Microcystis*, seguido de um aumento nas concentrações de microcistinas. Já na terceira fase, observa-se que houve um grande aumento na densidade de *Microcystis*, mas com a concentração de microcistinas próximas aos valores encontrados na primeira fase.

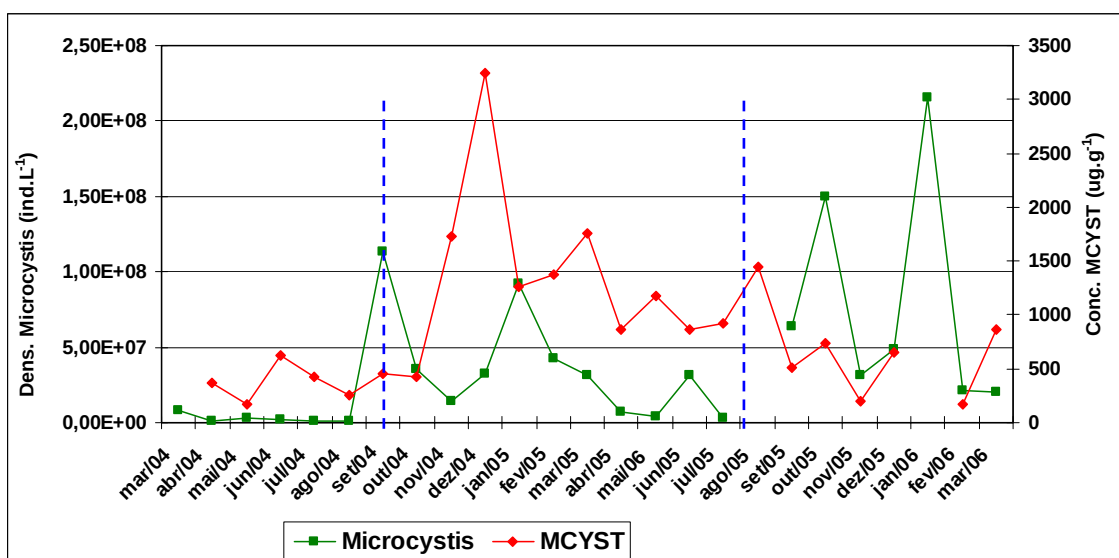


Figura 10: Variação na densidade total de *Microcystis* e na concentração de microcistinas contida na fração fitoplanctônica, demonstrando as três fases

Sabe-se que as *Microcystis* do Reservatório do Funil são produtoras de microcistinas. A razão dessa separação em 3 fases distintas é que foi observado em um primeiro período uma densidade reduzida de cianobactérias, inclusive do gênero *Microcystis*. Entretanto, a concentração de microcistinas foi moderada, e praticamente igual a da terceira fase, na qual as cianobactérias estavam em densidades muito elevadas. Por esse motivo, acredita-se que houve 3 populações distintas de *Microcystis*. Porém, não se pode confirmar estes dados, visto que seria necessário um exame mais detalhado, em nível molecular, para se obter a confirmação da ocorrência de populações distintas, em momentos diferentes.

Os valores de concentração de microcistinas, apesar de elevados, estão dentro da faixa sugerida por Christoffersen (1996) para amostras fitoplanctônicas, entre menos de 1 a 8.600 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco. Outros 6 reservatórios brasileiros da região sudeste apresentaram concentrações menores de microcistinas nas florações (Rocha, *et al.*, 2006). Porém, a comparação desses resultados fica comprometida em decorrência das variações metodológicas e sensibilidade dos métodos empregados.

Além disso, observa-se uma grande oscilação nas concentrações de microcistinas na comunidade zooplanctônica. Nos meses de março, junho, setembro, outubro, novembro e dezembro/04 e fevereiro, junho, agosto e dezembro/05 a comunidade zooplanctônica apresentou maior concentração de microcistinas (Figura 11). Esses meses coincidem com reduzida densidade nos organismos zooplanctônicos. Dessa forma, o zooplâncton do Reservatório do Funil parece ser afetado pelo aumento na concentração de microcistinas.

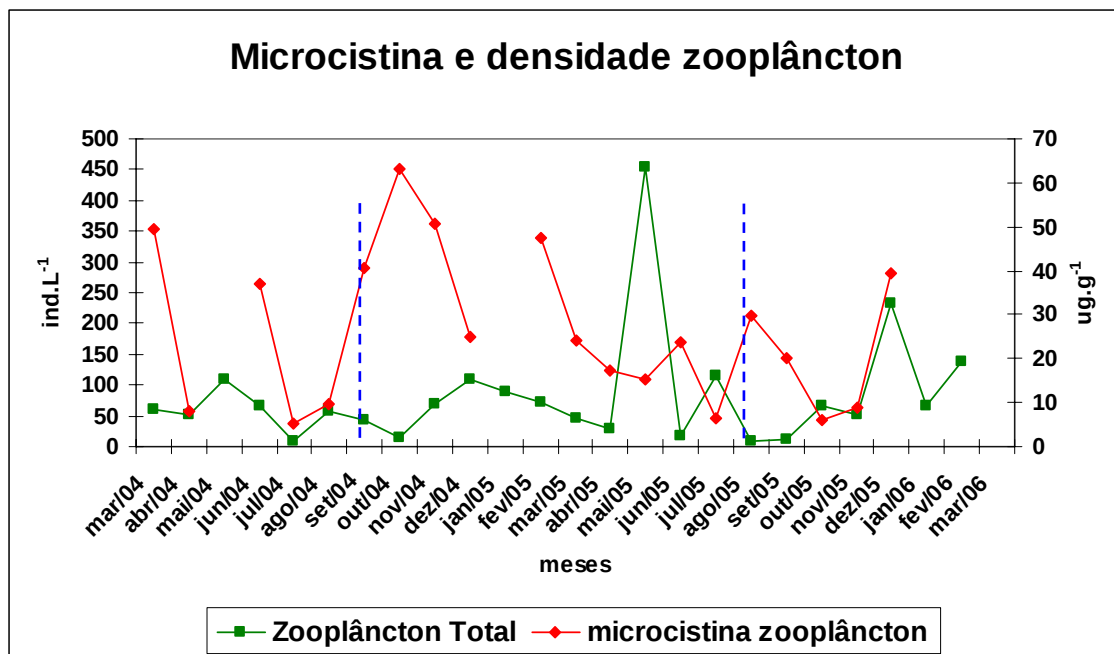


Figura 11: Variação na densidade total do zooplâncton e na concentração de microcistinas contida nesta fração, demonstrando as três fases

No mês de outubro/04, no qual foi detectada a maior concentração de microcistinas no zooplâncton, apresentou também uma densidade populacional muito reduzida. Esta redução pode estar relacionada a efeitos destas toxinas, já que não houve grandes variações na densidade fitoplanctônica e nem nas variáveis limnológicas. Considerando as três fases já descritas para as populações de *Microcystis* e as concentrações de microcistinas, observa-se que na primeira fase, na qual acredita-se que a população de *Microcystis* produziu mais toxina por célula, este zooplâncton acumulou grande concentração de microcistinas. Na terceira fase, a densidade zooplanctônica aumentou, acompanhando a concentração de microcistinas, visto que nesta fase a população de *Microcystis* produziu menores concentrações desta toxina por indivíduo. Isto corrobora com a hipótese de que o zooplâncton do Reservatório do Funil, apesar de interagir com as cianobactérias, está sendo limitado por elevadas concentrações de microcistinas.

Alguns rotíferos, como *Keratella americana* e *Polyarthra vulgaris* tiveram grande aumento na densidade de suas populações nos meses de dezembro/04 e novembro/04. Esse período foi de elevada concentração de microcistinas no zooplâncton e, portanto, estas espécies podem ter acumulado microcistinas, sem nenhum efeito adverso para sua sobrevivência. Com isso, conseguiriam uma vantagem competitiva sobre outras espécies mais sensíveis. Ferrão-Filho *et al.* (2002b), sugeriram que os rotíferos podem ingerir grandes quantidades de *Microcystis* tóxica, seja em células simples ou pequenas colônias e podem acumular microcistinas.

De acordo com Gilbert (1996), cianobactérias tóxicas podem afetar alguns rotíferos mais severamente quando no ambiente coincidem altas temperaturas e baixa disponibilidade de alimentos. Estes dois fatores foram quase sempre uma constante no reservatório estudado, mas parece que o grupo dos rotíferos não foi afetado por isso. Alguns meses em que esses fatores estiveram presentes (março/04, dezembro/04 e janeiro/05), a densidade de rotíferos também foi elevada, indicando que as microcistinas não afetaram intensamente estas populações. Contudo, as microcistinas também são desfavoráveis a alguns cladóceros que podem competir com espécies de rotíferos, o que indica que esses rotíferos podem ser beneficiados indiretamente quando do aumento na concentração de microcistinas.

Rohrlack *et al.* (1999) pesquisaram a ingestão de extratos *Microcystis* por *Daphnia*, sendo uma cepa tóxica e a outra não tóxica e concluíram que houve a intoxicação desse cladóceros pela toxina, porém com ambos os extratos o processo de ingestão era inibido. Isto indica que parece não haver relação entre a presença de microcistinas na célula e a inibição dos aparatos de filtração desse cladóceros. Portanto, o que deve ocorrer no ambiente natural

é que antes de sofrerem os efeitos tóxicos, os cladóceros, de maneira geral, podem ter seu mecanismo de filtração inibido ao tentar ingerir certas cianobactérias.

Em um estudo recente, Wilson & Ray (no prelo) incluíram microcistinas em células liofilizadas de *Clorella*, que é uma clorofícea bastante predada pelo zooplâncton. Este extrato foi oferecido como alimento a dois clones de *Daphnia*, de duas diferentes localidades: um lago mesotrófico, com floração de cianobactérias e o outro, oligotrófico, sem florações. Os resultados indicaram que o clone mais resistente a ingestão de células vivas de *Microcystis* sofria mais os efeitos tóxicos da microcistina quando esta era adicionada pura ao extrato da clorofícea. Os autores apontaram a possibilidade de herbívoros seqüestrarem algum componente das células de *Microcystis*, que evitaria a auto-intoxicação destas cianobactérias e que são repassados a estes cladóceros quando ingeridos.

Considerando-se a hipótese de que as cianotoxinas seriam produzidas como forma de evitar a predação e, de acordo com os resultados apresentados no Reservatório do Funil, concluiu-se que a densidade da comunidade zooplanctônica esteve muito reduzida para ter um grande impacto no fitoplâncton. Pode-se inferir, portanto, que a comunidade fitoplanctônica sofreu processo de exclusão competitiva de alguns organismos, favorecendo as cianobactérias. Portanto, é provável que a comunidade zooplanctônica tenha se adaptado a ausência de alimento nutritivo e à toxicidade dessas cianobactérias, sofrendo reduções e alterando suas populações ou ainda que esta comunidade tenha se adaptado, incluindo espécies que se alimentam preferencialmente de bactérias.

Fatores genéticos, fisiológicos e ambientais afetam a resistência do zooplâncton (Reinikainen *et al.*, 1998). Como no presente estudo não foi observada uma relação direta entre a composição e densidade da comunidade zooplanctônica e a concentração de microcistinas, acredita-se que estes organismos já estejam resistentes por estarem expostos há mais de uma década às florações tóxicas (Bobeda, 1993; Branco *et al.*, 2002; Rocha *et al.*, 2002). Essa tolerância às toxinas já foi sugerida por Reinikainen *et al.* (2002), no mar Báltico, onde ocorrem florações tóxicas de *Nodularia* há mais de 10 anos.

O impacto das microcistinas na comunidade zooplanctônica depende do comportamento alimentar e da assimilação (DeMott & Dhawale, 1995, Rohrlack *et al.*, 2005). Entretanto, em trabalhos realizados com populações naturais, como o presente estudo, torna-se difícil observar esses parâmetros individualmente, visto que no ambiente essa comunidade pode ter indivíduos em diferentes estágios de vida, diferentes formas de alimentação e podem estar em diferentes profundidades ao longo da coluna d'água. Da mesma forma, as populações de cianobactérias podem apresentar indivíduos em diferentes fases de crescimento, produzindo diferentes concentrações de toxinas. Por isso são tão importantes trabalhos de campo aliados a pesquisas laboratoriais.

Por outro lado, de acordo com relatos de pescadores locais, a quantidade de peixes no reservatório tem diminuído bastante ao longo dos anos. Este fato pode ser explicado por três hipóteses: 1) em função da escassez de zooplâncton; 2) os peixes podem estar sendo afetados pelas microcistinas, já que a bioacumulação destas pode ocorrer em peixes (Magalhães *et al.*, 2001 e 2003; Soares *et al.*, 2004); 3) outros fatores que

interferem na qualidade ambiental adequada para a reprodução e o crescimento dos peixes (ALERJ, 2006)

Vários autores sugerem que o zooplâncton atua como vetor de cianotoxinas para níveis tróficos superiores da cadeia alimentar (Watanabe et al., 1992; Thøstrup & Christoffersen, 1999; Mohamed, 2001; Ferrão-Filho et al., 2002b, Karjalainen, et al., 2003). Koslowski-Suzuki et al. (2006) também discutiram a possibilidade do zooplâncton atuar como vetor, mas devido a pequena quantidade acumulada nesses organismos, esta transferência deve ser limitada. Karjalainen et al. (2005) demonstraram que nodularina foi transferida do zooplâncton para larvas planctívoras e que a concentração de toxinas nestas larvas foi muito menor do que as contidas no zooplâncton.

De acordo com os resultados obtidos, o processo de transferência de microcistinas ocorreu do fitoplâncton para o zooplâncton com redução de aproximadamente duas ordens de grandeza. Isso indica que o zooplâncton pode atuar como vetor de microcistinas, sendo um bom indicador de qualidade da água neste reservatório, mas não deve ser considerado um bom vetor de transferência de microcistinas na cadeia trófica.

5 CONCLUSÕES

1) O Reservatório do Funil possui características neutroalcalinas, com temperaturas elevadas no verão, tendendo a redução no inverno. Essas características limnológicas contribuem para formação de florações de cianobactérias e a baixa transparência da água nos meses mais quentes é reflexo dessas florações.

2) A comunidade fitoplanctônica foi dominada por cianobactérias durante todo o período de estudo, com densidade populacional média superior a 90% para este grupo.

3) Na comunidade zooplanctônica, os rotíferos estiveram sempre presentes em termos de riqueza de organismos. Porém, os copépodos foram os que contribuíram com maior densidade. No grupo dos cladóceros prevaleceram os de menor porte, ainda que em quantidades reduzidas.

4) As microcistinas estiveram presentes na fração fitoplanctônica e zooplanctônica de amostras da sub-superfície no ponto da barragem do Reservatório do Funil durante todos os meses de estudo. As concentrações variaram de, aproximadamente $172 \mu\text{g.g}^{-1}$ a $3789 \mu\text{g.g}^{-1}$ no fitoplâncton e de $6 \mu\text{g.g}^{-1}$ a $63 \mu\text{g.g}^{-1}$ no zooplâncton.

- 5) Foram observadas três fases distintas correlacionando as densidade do fitoplâncton e a concentração de microcistinas, indicando que pode ter ocorrido três populações distintas de *Microcystis*, com produções diferenciadas de microcistinas
- 6) Foi comprovada a transferência de microcistinas do fitoplâncton para o zooplâncton, com redução de aproximadamente duas ordens de grandeza.
- 7) O zooplâncton do Reservatório do Funil, na sub-superfície do ponto amostral, não pode ser considerado um bom vetor de microcistinas para níveis tróficos superiores na cadeia alimentar.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALERJ-Assembléia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro, 2006. Relatório técnico. Rio Paraíba do Sul – Reservatório do Funil: Poluição e Degradação Ambiental. Comissão permanente de defesa do Meio Ambiente. 52p.

BARBOSA, F.A.R., BICUDO, C.E.M., HUSZAR, V.L.M., 1995. Phytoplankton studies in Brazil: Community structure variation and diversity. *In: Limnology in Brazil*. SP. Brazilian Academy of Sciences, Brazilian Limnological Society. p.19-36-Junho/95.

BOBEDA, C. 1993. Isolamento, purificação e caracterização de microcistinas (heptapeptídeos cíclicos) encontradas em uma floração de cianobactérias ocorrida no Reservatório do Funil (Resende, RJ). Dissertação de Mestrado. UFRJ-NPPN. 96p.

BOERSMA, M. & STELZER, C-P. 2000. Response of zooplankton community to the addition of unsaturated fatty acids: na enclosure study. Freshwater Biology 45: 179-188

BOUVY, M., PAGANO, M., TROUSSELLIER, M. 2001. Effects of a cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) on bacteria and zooplankton communities in Ingazeira reservoir (northeast Brazil). Aquatic Microbial Ecology. 25: 215-227

BOUVY, M., FALCAO, D., MARINHO, M. PAGANO, M., MOURA, A. 2000. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. Aquatic Microbial Ecology 23:

BRANCO, C.W.C., ROCHA, M.I.A., PINTO, G.F.S., GÔMARA, G.A., DE FILIPPO, R, 2002. Limnological features of Funil reservoir (RJ, Brazil) and indicator properties of rotifers and cladocerans of the zooplankton community. Lakes & Reservoirs: Research and Management 7: 87-92

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. Arch. Hydrobiol. Alg. Stud. 75, 85-96.

BRANCO, C.W.C., 1991. A comunidade planctônica e a qualidade da água no Lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. 279p.

CARMICHAEL, W.W. 1994. The toxins of Cyanobacteria. *Scientific American* 270 (1): 78-86

CARMICHAEL, W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology* 72: 445-459.

CHELLAPA, N. T. & COSTA, M.A.M. 2003. Dominant and co-existing species of cyanobacteria from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State, Brazil. *Acta Oecologica* 24: S3-S10

CHORUS, I., BARTRAM, J. (1999). Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Manegement. 416p. WHO (World Health Organization) E&FN Spon, London

CHRISTOFFERSEN, K. 1996. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. *Phycologia* 35 (6): 42-50.

CODD, G.A., MORRISON, L.F., METCALF, J.S. 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology* 203: 264-272.

COSTA, I.A.S., AZEVEDO, S.M.F.O., SENNA, P.A.C., BERNARDO, R.R., COSTA, S.M. & CHEPALLA, N.T. 2006. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria bloom in a Brazilian semiarid reservoir. *Braz. J. Biol.*, 66 (1B): 211-219.

DAWSON, R.M. 1998. The toxicology of microcystins. *Toxicon*. 36 (7): 953-962.

DE BERNARDI, R. & GIUSSANI, G. 1990. Are blue-green algae a suitable food for zooplankton? An overview. *Hydrobiologia* 200/201: 29-41.

DEMOTT, W. & DHAWALE, S. 1995. Inhibition of in vitro protein phosphatase activity in three zooplankton species by microcystin-LR, a toxin from cyanobacteria. *Arch. Hydrobiol.* 134 (4) 417-424.

DEMOTT, W.R. & MOXTER, F. 1991. Foraging on cyanobacteria by copepods: responses to chemical defenses and resource abundance. *Ecology* 72 (5): 1820-1834.

DEMOTT, W.R., ZHANG, Q., CARMICHAEL, W.W. 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. Limnology and Oceanography. 36 (7): 1346-1357.

DOMINGOS, P.; RUBIM, K.T.; MOLICA, R.J.R.; AZEVEDO, S.M.F.O.; CARMICHAEL, W.W. 1999. First report of microcystin production by picoplankton cyanobacteria isolated from a northeast Brazilian drinking water supply. Environ. Toxicology. 14: 31-35.

DUSSART, B.H. & DEFAYE, D. 1995. Copepoda. *In*: Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world n.7. SPB Academic Publishing. 277p.

ENGSTRÖM-ÖST, J., LEHTINIEMI, M., GREEN, S., KOZLOWSKI-SUZUKI, B., VIITASALO, M. 2002. Does cyanobacterial toxin accumulation in mysid shrimps and fish via copepods? Journal of experimental marine biology and ecology 276: 95-107.

ESTEVEZ, F.A., 1998. Fundamentos de Limnologia. Ed. Interciência Rio de Janeiro. 2ª ed. 602p.

FERRÃO-FILHO, A.S., AZEVEDO, S.M.F.O., DEMOTT, W. 2000. Effects of toxic and non-toxic cyanobacteria on the life history of tropical and temperate cladocerans. Freshwater Biology 45: 1-19.

FERRÃO-FILHO, A.S., DOMINGOS, P., AZEVEDO, S.M.F.O., 2002a. Influences of a *Microcystis aeruginosa* KÜTZING bloom on zooplankton populations in Jacarepagua lagoon (Rio de Janeiro, Brazil) Limnologia 32: 295-308.

FERRÃO-FILHO, A.S., KOZLOWSKI-SUZUKI, B., AZEVEDO, S.M.F.O. 2002b. Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. Aquatic Toxicology 59: 201-208.

FERRÃO-FILHO, A.S. & AZEVEDO, S.M.F.O., 2003. Effects of unicellular and colonial forms of toxic *Microcystis aeruginosa* from laboratory cultures and natural populations on tropical cladocerans. Aquatic Ecology 37: 23-35.

FERRÃO-FILHO, A.S. & ARCIFA, M.S., 2006. Growth responses of tropical cladocerans to seston from Lake Monte Alegre (Brazil) supplemented with phosphorus, fatty acids, a green algae and a cyanobacterium. Hydrobiologia 563: 155-165.

FULTON, R.S. & PAERL, H.W., 1987. Toxic and inhibitory effects of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton. Journal of Plankton Research. 9(5): 837-855.

FUNASA, 2005. Efeitos de fatores físicos e químicos no crescimento de cianobactérias e proposição de técnicas de tratamento de água para remoção de cianobactérias e cianotoxinas. Relatório Final-Programa de Pesquisa em Saúde e Saneamento. 54p.

GILBERT, J.J. 1994. Susceptibility of planktonic rotifers to a toxic strains of *Anabaena flos-aquae*. Limnol. Oceanogr. 39 (6): 1286-1297.

GILBERT, J.J. 1996. Effect of food availability on the response of planktonic rotifers to a toxic strain of the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*. Limnologia Oceanografia. 41 (7): 1565-1572.

GOMES, A.S. 1989. Distribuição espacial dos moluscos bivalves na região da plataforma continental de Cabo Frio, Praia da Massambaba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado. UFRJ. 122p.

GONZÁLEZ, E.J., MATSUMURA-TUNDISI, T., TUNDISI, J.G., 2006. Dieta natural del zooplankton em dos embalses tropicales (Broa y Barra Bonita, SP, Brasil) com diferentes estados tróficos. *In*: Eutrofização na América do Sul: Causas, conseqüências e tecnologias de gerenciamento e controle. IIE p.457-472-Fev/2006.

GUO, N. & XIE, P., 2006. Development of tolerance against toxic *Microcystis aeruginosa* in three cladocerans and the ecological implications. Environmental Pollution 1-6 - *in press*.

HANAZATO, T. 1991. Interrelations between *Microcystis* and cladocera in the highly eutrophic Lake Kasumigaura, Japan. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 76: 21-36.

HAZANATO, T. YASUNO, M. 1987. Evaluation of *Microcystis* as food for zooplankton in an eutrophic lake. Hydrobiologia 144: 251-259.

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

HUSZAR, V.L.M. & SILVA, L.H.S. 1999. A Estrutura da Comunidade Fitoplanctônica no Brasil: Cinco Décadas de Estudos. Limnotemas, 2: 1-21.

IBELINGS, B.W., BRUNING, K., JONGE, J., WOLFSTEIN, L.M., PIRES, D., POSTUMA, J., BUGER, T., 2005. Distribution of microcystins in a lake foodweb: no evidence for biomagnification. Microbial Ecology 49: 487-500.

IVES, J.D., 1987. Possibel mechanisms underlying copepod grazing responses to levels of toxicity in red tide dinoflagellates. J. Esp. Mar. Biol. Ecol. 112: 131-145.

JANG, M-H, HA, K., JOO, G-J., TAKAMURA, N. 2003. Toxin production on cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. Freshwater biology 48: 1540-1550.

KARJALAINEN, M., REINIKAINEN, M., SPOOF, L, MERILUOTO, J.O., SIVONEN, K, VITASALO, M. 2005. Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: consequences for pike larvae and mysid shrimps. Environmental toxicology 20: 354-362.

KARJALAINEN, M., REINIKAINEN, M., LINDVALL, F., SPOOF, L., MERILUOTO, J.A.O., 2003 Uptake and accumulation of dissolved radiolabeled nodularin in Baltic Sea zooplankton. Environ. Toxicol. 18: 52-60.

KOZLOWSKI-SUZUKI, B., CARLSSON, P., RÜHL. A., GRANELI, E., 2006. Food selectivity and grazing impact on toxic *Dinophysis* spp. by copepods feeding on natural plankton assemblages. Harmful algae 5: 57-68.

KOZLOWSKI-SUZUKI, B., KARJALAINEN, M., LEHTINIEMI, M., ENGSTRÖM-ÖST, J., KOSKI, M., CARLSSON, P. 2003. Feeding, reproduction and toxin accumulation by the copepods *Acartia bifilosa* and *Eurytemos affinis* in the presence of the toxic cyanobacterium *Nodularia spumigena*. Mar Ecol. Prog. Ser. 249: 237-249

KURMAYER, R & JÜTTNER, F., 1999. Strategies for the coexistence of zooplankton with the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in Lake Zürich. Journal of plankton research 21 (4): 659-683.

LAMPERT, W., 1997. Zooplankton research: the contribution of limnology to general ecological paradigms. Aquatic Ecology 31: 19-27

LAMPERT, W., 1987. Laboratory studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 21: 483-490.

LAMPERT, W., 1981. Toxicity of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*: effective defense mechanism against grazing pressure by *Daphnia*. Intern. Verein. Theor. Angew. Limnol. Verh. 21: 1436-1440.

LAURÉN-MÄÄTTÄ, C., HIETALA, J., REINIKAINEN, M. WALLS, M., 1995. Do *Microcystis aeruginosa* toxins accumulate in food web: a laboratory study. Hydrobiologia 304: 23-27.

LEONARD, J.A. & PAERL, H.W., 2005. Zooplankton community structure, microzooplankton grazing impact and seston energy content in the St. Johns River system, Florida as influenced by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. Hydrobiologia 537: 89-97.

MAGALHÃES, V.F., SOARES, R.M., AZEVEDO, S.M.F.O., 2001. Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risks. Toxicon 39: 1077-1085.

MAGALHÃES, V.F., MARINHO, M.M., DOMINGOS, P., OLIVEIRA, A.C., COSTA, S.M., AZEVEDO, L.O., AZEVEDO, S.M.F.O., 2003. *Microcystis* (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brazil, RJ) Toxicon 42: 289-295.

MARGALEF, R. 1983. Limnologia. Ed. Omega. Barcelona. 1010p.

MARINHO, M. M. & HUSZAR, V.L. (2002). Nutrient availability and physical conditions as controlling factors of phytoplankton composition and biomass in a tropical reservoir(Southeastern Brazil). Arch Hydrobiol. 153: 443-468

MATTOS, S.P., ESTUQUI, V.R., CAVALCANTI, C.G.B. 1997. Lake Paranoá (Brazil): Limnological aspects with emphasis on the distribution of the zooplanktonic community (1982 to 1994). Verh. Internat. Limnol. 26: 542-547.

METCALF, J.S., MERILUOTO, J.A.O., CODD, G.A., 2006. Legal and security requeriments for the air transportation of cyanotoxins and toxicogenic cyanobacterial cells for legitimate research and analytical purposes. Toxicology letters 163: 85-90.

MIRANDA, M.S.S.; WISNIENWISKI, M.J.S.; FRAIETTA, F.M.M. 2005. Distribuição espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica no Reservatório de Furnas-Rio Sapucaí/Rio São Tomé – Alfenas-MG. Anais X Congr. Brasil. Limnol. 24-29 julho de 2005. Ilhéus-BA

MOHAMED, Z.A., & HUSSEIN, A.A., 2006. Depuration of microcystins in tilapia fish exposed to natural populations of toxic cyanobacteria: A laboratory study. Ecotoxicology and Environmental Safety 63: 424-429.

MOHAMED, Z.A., 2001. Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by *Daphnia* in some Egyptian irrigation canals. Ecotoxicology and Environmental Safety. 50: 4-8.

MSAGATI, T.A.M., SIAME, B.A., SHUSHU, D.D., 2006. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. Aquatic Toxicology 78: 382-397

NOGUEIRA, I.C.G., PEREIRA, P., DIAS, E., PFLUMGMACHER, S., WIEGAND, C., FRANCA, S., VASCONCELOS, V., 2004a. Accumulation of paralytic shellfish toxins (PST) from the cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi* by the cladoceran *Daphnia magna*. Toxicon 44: 773-780.

NOGUEIRA, I.C.G., SAKER, M.L., PFLUMGMACHER, S., WIEGAND, C., VASCONCELOS, V.M., 2004b. Toxicity of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* to *Daphnia magna*. Environ. Toxicol. 19: 453-459.

PALERMO, E., 2002. Avaliação dos níveis de mercúrio no Reservatório de Ribeirão das Lajes. Dissertação de Mestrado. IBCCF^o-UFRJ.

PANOSSO, R., CARLSSON, P., KOZLOWSKI-SUZUKI, B., AZEVEDO, S.M.F.O., GRANÉLI, E., 2003. Effects of grazing by neotropical copepod, *Notodiaptomus*, on a natural cyanobacterial assemblage and on toxic and non-toxic cyanobacterial strains. Journal of plankton research 25(9): 1169-1175.

REINIKAINEN, M., LINDVALL, F., MERILUOTO, J.O., REPKA, S., SIVONEN, K, SPOOF, L, WAHLSTEN, M. 2002. Effects of dissolved cyanobacterial toxins on the survival and egg hatching of estuarine calanoid copepods. Marine Biology 140: 577-583.

REINIKAINEN, M., HIETALA, J., WALLS, M. 1998. Adaptations and resistance of zooplankton to stress: effects of genetic environmental and physiological factors. Ecotoxic. and environm. safety 40: 77-80.

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.

ROCHA, M.I.A., BRANCO, C.W.C., SAMPAIO, G.F., GÔMARA, G.A., DEFILIPPO, R., 2002. Spatial and temporal variation of limnological features, *Microcystis aeruginosa* and zooplankton in an eutrophic reservoir (Funil Reservoir, Rio de Janeiro). Acta Limnol. Bras. 14(3): 73-86.

ROCHA, O., SOTERO-SANTOS, R.B., MINILLO, A. ESPÍNDOLA, E.L.G. & YUNES, J.S. 2006. Cianotoxicidade em águas doces tropicais: o impacto da eutrofização. *In*: Eutrofização na América do Sul: Causas, consequências e tecnologias de gerenciamento e controle. II E p.353-372-Fev/2006.

ROHRLACK, T., DITTMANN, E., HENNING, M., BÖRNER, T., KOHL, J.G., 1999. Role of microcystins in poisoning and food ingestion inhibition of *Daphnia galeata* caused by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Applied and Environmental Microbiology 65 (2): 737-739.

ROHRLACK, T., CHRISTOFFERSEN, K., DITTMAN, E., NOGUEIRA, I., VASCONCELOS, V., BÖRNER, T., 2005 Ingestion of microcystin by *Daphnia*: Intestinal uptake and toxic effects. Limnology and Oceanography. 50 (2): 440-448.

SHAPIRO, J., 1990. Currents beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for the importance of CO₂ and pH. Verh. Internat. Verein. Limnol. 24: 38-54.

SMITH, A.D. & GILBERT, J.J. 1995. Relative susceptibilities of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa*. Arch. Hydrobiol. 132 (3): 309-336.

SNELL, T.W., 1980. Blue-green algae and selection in rotifer populations. Oecologia 46: 343-346.

SOARES, R.M. 2005. Aspectos da biodistribuição e efeitos de microcistinas (hepatotoxinas de cianobactérias) em mamíferos. Tese de Doutorado. UFRJ-IBCCF° 117P.

SOARES, R.M., MAGALHÃES, V.F., AZEVEDO, S.M.F.O., 2004. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. Aquatic Toxicology 70: 1-10.

SOLÉ, J. GARCIA-LADONA, E., ESTRADA, M. 2006. The role of selective predation in harmful algal bloom. Journal of marine systems. 62: 46-54.

SOTERO-SANTOS, R.B., SILVA, C.R.S.E., VERANI, N.F., NONAKA, K.O., ROCHA, O. 2006. Toxicity of cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (Middle Tietê River, São Paulo, Brazil). Ecotoxicology and Environmental Safety. 64 (2): 163-170.

THOSTRUP, L. & CHRISTOFFERSEN, K., 1999. Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*. Arch Hydrobiology 145 (4): 447-467.

TRABEAU, M., BRUHN-KEUP, R., McDERMOTT, C., KEOMANY, M., MILLSAPS, A., EMERY, A., STASIO JR., B., 2004. Midsummer decline of a *Daphnia* population attributed in part to cyanobacterial capsule production. Journal of plankton research 26 (8): 949-961.

TUCCI, A.; SANT'ANNA, C.L.; GENTIL, P.C.; AZEVEDO, M.T.P. 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças: um reservatório urbano eutrófico – São Paulo-SP. Hoehnea. 33(2): 147-175.

UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitative phytoplankton metodik. Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol., 9: 1-38.

VASCONCELOS, V.M. 1994. Seasonal fluctuation of planktonic rotifers in Azibo reservoir (Portugal). Hydrobiologia 294: 177-184.

VIEIRA, J.M.S.; AZEVEDO, M.T.P.; AZEVEDO, S.M.F.O., HONDA, R.Y.; CORRÊA, B. 2005. Toxic cyanobacteria and microcystin concentrations in a public water supply reservoir in the Brazilian Amazônia region. Toxicon 45: 901-909.

VILLALOBOS, M.J., GONZÁLES, E.J., 2006. Estudios sobre la biología y ecología de *Ceriodaphnia cornuta* SARS: una revisión. Interciencia 31 (5): 351-356.

WATANABE, M., HARADA, K-I., CARMICHAEL, W.W., FUJIC, H., 1996. Toxic Microcystis. CRC Press, Inc. 261p.

WATANABE, M.M., KAYA, K., TAKAMURA, N. 1992. Fate of the toxic cyclic heptapeptides, the microcystins, from blooms of *Microcystis* (cyanobacteria) in a hypereutrophic lake. Phycologia 28: 761-767.

WILSON, A.E. & RAY, M.E. 2007. A direct test of cyanobacterial chemical defense: variable effects of microcystin-treated food on two *Daphnia pulex* clones. Limnology and Oceanography. No prelo.