

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS**

**“ESTUDO DAS INTERAÇÕES FITOPLÂNCTON-
PROTOZOOPLÂNCTON NO RESERVATÓRIO DE BARRA BONITA,
SP, COM ÊNFASE NA TOXICIDADE DE MICROCISTINAS”**

LARYSSA MELO ROSA ARAUJO

**SÃO CARLOS
2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS**

LARYSSA MELO ROSA ARAUJO

**“ESTUDO DAS INTERAÇÕES FITOPLÂNCTON-
PROTOZOOPLÂNCTON NO RESERVATÓRIO DE BARRA BONITA,
SP, COM ÊNFASE NA TOXICIDADE DE MICROCISTINAS”**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ecologia e Recursos Naturais do
Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde da Universidade Federal de
São Carlos, como parte dos
requisitos para a obtenção do título
de Mestre em Ecologia e Recursos
Naturais, área de concentração:
Ecologia e Recursos Naturais.**

Orientação Prof. Dra. Mirna Helena Regali Seleglim

Co-orientação Prof. Dr. Alessandro Minillo

SÃO CARLOS

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

A663ei

Araujo, Laryssa Melo Rosa.

Estudo das interações fitoplâncton-protozooplâncton no reservatório de Barra Bonita, SP, com ênfase na toxicidade de microcistinas / Laryssa Melo Rosa Araujo. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

124 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Limnologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Fitoplâncton. 4. Protozoário. I. Título.

CDD: 574.52632 (20^a)

Laryssa Melo Rosa Araujo

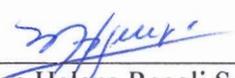
Estudo das interações fitoplâncton-protozooplâncton no reservatório de Barra Bonita, SP, com ênfase na toxicidade de microcistinas

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 03 de agosto de 2009

BANCA EXAMINADORA

Presidente



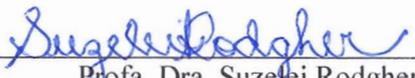
Prof. Dra. Mirna Helena Regali Seleghim
(Orientadora)

1º Examinador



Prof. Dra. Odete Rocha
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dra. Suzetei Rodgher
CNEN/Poços de Caldas-MG

*À minha família,
por sempre acreditar em mim.*

AGRADECIMENTOS

A todos os meus familiares, especialmente aos meus pais, Dalva e Antônio, por proporcionarem todas as condições para que eu chegasse até aqui. Ao meu irmão Leryson, aos meus queridos avós, João e Isaura, as minhas tias Ivanilde e Josefa, ao meu tio Antônio e aos meus primos Alan, Raymis e Reyner, pela ajuda, atenção, carinho e amor.

À Professora Dra. Mirna Helena Regali Seleghim, pela orientação, sugestões e ensinamentos sobre microbiologia, em especial dos protozoários (área pouco explorada por mim até então) que contribuíram para a realização e desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Alessandro Minillo, pela co-orientação, incentivo, confiança, colaboração e amizade que contribuiu muito para a finalização deste trabalho.

À Professora Dra. Odete Rocha, pela atenção, esclarecimentos, sugestões e disponibilidade de equipamentos para a execução deste trabalho.

Ao Professor Dr. Edson Pereira Tangerino, pela oportunidade da realização da iniciação científica na graduação e que junto com o Dr. Alessandro foram os primeiros a me incentivar a fazer pós-graduação.

À querida Darci pelos ensinamentos, sugestões e atenção. Aos técnicos Airton, Alcides e Luis pela ajuda nas coletas. Ao doutor e técnico José Valdecir pela ajuda nas análises de nutrientes e clorofila-a.

Aos colegas de laboratório Mayara, Érica, Henrique, Thais, Ana Claudia, Karina, Luciana, Bruna, Bruna Bueno, Adrislaine, Vinícius, Luis Fernando, Fernando e Clara pelas conversas, sugestões e momentos de descontração e de dificuldades. Agradecimento especial a Mayara pelos diversos dias ao meu lado contando *Paramecium*.

As amigas Camila, Vanessa, Andressa, Giseli, Natália, Renata, Lidiane e Loany pelos momentos de ouvintes e de descontração, pelas palavras de carinho e conforto e aos abraços nos momentos de dificuldade.

As amigas dos tempos de graduação, Suelen, Rívea, Daiane e Cylene, que mesmo distantes estavam sempre presentes.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais pela oportunidade e aos Departamentos de Ecologia e Biologia Evolutiva-UFSCar e de Engenharia Civil-Feis-Unesp, pela infra-estrutura cedida para a realização do mestrado.

RESUMO

A crescente eutrofização dos ambientes aquáticos, resultante de atividades humanas, tem causado florações de cianobactérias, que são descritas, no mundo todo, como causadoras da intoxicação e morte de humanos, animais domésticos e selvagens. Com base na possibilidade da biotransferência destas toxinas ao longo da cadeia trófica, estudos têm sido realizados nos últimos anos com intuito de sua comprovação e seus efeitos associados. Os protozoários são organismos microzooplancônicos de expressiva relevância na cadeia alimentar aquática e podem ser úteis como organismos indicadores na avaliação da qualidade da água. O presente estudo teve como objetivos avaliar os níveis de cianotoxinas (microcistina-LR) intra e extracelulares presentes no reservatório de Barra Bonita, SP durante os eventos de floração de cianobactérias, bem como avaliar as populações fitoplancônicas e protozooplancônicas durante estes eventos, além disso foram também avaliados os efeitos de cianotoxinas obtidas a partir de cianobactérias produzidas em laboratório e coletadas em ambiente natural sobre populações do protozoário *Paramecium caudatum* em ensaios de laboratório. Devido o grau de eutrofização do ambiente de estudo, as cianofíceas foram o grupo fitoplancônico com maior densidade, com destaque para as espécies do gênero *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. protocystis* e *M. panniformes*) e *Pseudanabaena mucicola*. O presente trabalho registrou apenas as concentrações de microcistina-LR, sendo suas concentrações medianas quando comparadas a outros dados registrados em diferentes ambientes aquáticos no Brasil, nos quais foram detectadas mais de uma variante de cianotoxina. As espécies *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* foram as espécies dominantes do ambiente durante os eventos de florações de cianobactérias. Quanto à diversidade de espécies protozooplancônicas e suas densidades, elas foram inferiores às relatadas na literatura para ambientes com semelhante grau de trofia, indicando que os protozoários parecem ser afetados negativamente pelas florações de cianobactérias e cianotoxinas (microcistinas) detectadas nas amostras analisadas. As amostras laboratoriais de *Microcystis* e as ambientais, demonstraram ter toxicidade aos *Paramecium caudatum*, sendo observada uma maior tolerância destes organismos aos extratos semi-purificados de microcistina-LR das amostras de cultivo em relação às amostras ambientais.

Palavras-chave: Eutrofização. Fitoplâncton. Microcistina. Protozooplâncton. Ecotoxicidade.

ABSTRACT

The increasing eutrophication of aquatic environments, resulting from the human activities, is related to cyanobacterial blooms that are described, all over the world, as the agents causing toxicity and death in humans, domestic and wild animals. Recently, studies are being conducted aiming to prove the possibility of the biotransference of the cyanobacterial toxins to the trophic web and their associated effects. Protozoans are very important organisms to the aquatic food web and can be useful as indicators in water quality assessment. The present study evaluated, during cyanobacteria bloom events in Barra Bonita reservoir (SP), the intra and extracellular cyanotoxin levels (microcystin LR) and also phyto and protozooplanktonic populations. Besides, it was also evaluated, in laboratory experiments, the effects of the cyanotoxins obtained from cultures of *Microcystis* and from material collected in Barra Bonita reservoir on the protozoan *Paramecium caudatum*. Due to the eutrophication degree of the studied reservoir, the cyanobacteria, specially *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. protocystis* and *M. panniformes*) and *Pseudanabaena mucicola*, were the dominant phytoplanktonic organisms. In this work it was registered only the concentrations of microcystin LR. The concentrations of this toxin were median among those found for other Brazilian aquatic environments where it was detected more than one cyanotoxin variant. *Halteria grandinella* and *Vorticella aquadulcis* were the dominant protozoans in the environment during the cyanobacterial bloom events. The protozooplanktonic densities and species composition were lower than those found in the literature for environments with the same trophic status, indicating that the protozoan seem to be negatively affected by the cyanobacterial blooms and cyanotoxins (microcystins) detected in the samples. Samples from *Microcystis* cultures and from the reservoir demonstrated to be toxic to *P. caudatum*, although they were more tolerant to the semi purified extracts from cultures than to the environmental samples.

Key Words: Eutrophication. Phytoplankton. Microcystin. Protozooplankton. Ecotoxicity.

ABREVIATURAS

C-18	carbono 18
cél(s)	célula(s)
CL ₅₀ ou LC ₅₀	concentração letal a 50% dos organismos
Cla	clorofila-a
cm	centímetro
DL ₅₀	dose letal a 50% dos organismos
e.g.	exemplo geral
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ET	estado trófico
h(s)	hora(s)
IET	índice de estado trófico
ind	indivíduos
Kg	kilograma
L	litro
M	molar
m	metro
MC	microcistina
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
mm ²	milímetro quadrado
mm ³	milímetro cúbico
mS	mili Simens
n ^o	número
NaOH	hidróxido de sódio
NT	nitrogênio total
org	organismo
PDA	photon diod array
PO ₄	ortofosfato
ppm	partes por milhão
PT	fósforo total
r	coeficiente de correlação linear de Spearman
rpm	rotações por minuto
S	Secchi
s	segundo
TFA	ácido trifluoracético
UV	ultra violeta
V e v	volume
μE	Micro Einsten
μg	micrograma
μl	microlitro
μm	micrômetro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização do reservatório de Barra Bonita, SP e ponto de coleta.....	24
Figura 2: Esquema da montagem dos ensaios de toxicidade com as soluções estoque dos extratos liofilizados das amostras de cultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>M. spp.</i> e das florações ambientais.....	33
Figura 3: Valores de pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e temperatura da água registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	35
Figura 4: Valores da transparência da água (m) e limite da zona eufótica (m) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	36
Figura 5: Valores das concentrações de nitrito ($\mu\text{g/L}$), nitrato ($\mu\text{g/L}$), íon amônio ($\mu\text{g/L}$) e nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	37
Figura 6: Concentrações de fosfato inorgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato orgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g/L}$) e fósforo total ($\mu\text{g/L}$) determinados para as amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita.....	38
Figura 7: Valores de silicato (mg/L) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	39
Figura 8: Valores de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) e feofitina ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	40
Figura 9: Valores do índice de estado trófico para Secchi, clorofila-a, fosfato inorgânico e fósforo total registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	41
Figura 10: Valores do índice de estado trófico médio calculado durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	42
Figura 11: Abundância relativa e variação temporal das classes fitoplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	44
Figura 12: Densidade das classes fitoplanctônicas (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	46
Figura 13: Densidades das espécies de cianobactérias (colônias – filamentos/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	48
Figura 14: Densidade celular de cianobactérias registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	50
Figura 15: Riqueza de organismos fitoplanctônicos ($\text{n}^\circ\text{espécies/L}$) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	51
Figura 16: Diversidade de organismos fitoplanctônicos registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	52
Figura 17: Diversidade e riqueza ($\text{n}^\circ\text{espécies/L}$) dos organismos fitoplanctônicos registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	53
Figura 18: Abundância relativa e variação temporal dos organismos protozooplantônicos (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	55

Figura 19: Densidade dos organismos protozooplânctônicos (org/L) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	56
Figura 20: Riqueza de organismos protozooplânctônicos (n°espécies/L) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	60
Figura 21: Diversidade de organismos protozooplânctônicos registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	61
Figura 22: Diversidade e riqueza (n°espécies/L) de organismos protozooplânctônicos registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	62
Figura 23: Densidade de protozoários (%) presentes no reservatório de Barra Bonita no período de coleta de acordo com sua cadeia trófica em: algívoros (A), bacterívoros (B); algívoros e bacterívoros (A, B); algívoros, bacterívoros e mixotróficos (A, B, M); algívoros e mixotróficos (A, M); bacterívoros e mixotróficos (B, M); onívoros (O); mixotróficos (M) e predadores (PR).....	63
Figura 24: Concentrações de microcistina-LR intra e extracelular ($\mu\text{g/L}$) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	64
Figura 25: Concentrações de microcistina-LR intra, extracelular e total ($\mu\text{g/L}$) e densidade de células de cianobactérias (cél/mL) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	65
Figura 26: Densidade de fitoplâncton total (org/L), densidade de cianobactérias (colônias-filamentos/L) e densidade de protozoários (org/L) quantificadas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	66
Figura 27: Densidade de células de cianobactérias (cél/mL) e densidade de protozoários (org/L), quantificadas durante o período de coleta no reservatório de Barra Bonita.....	67
Figura 28: Densidade de protozoários (org/L) e as concentrações das microcistina-LR intra, extracelular e total ($\mu\text{g/L}$) quantificadas no reservatório de Barra Bonita durante o período de coleta.....	68
Figura 29: Densidade de <i>Vorticella aquadulcis</i> (org/L), formas coloniais de <i>Microcystis</i> spp. (org/L) e clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) determinadas nas amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita, no período de coleta.....	69
Figura 30: Valores médios de LC_{50} calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de <i>Microcystis aeruginosa</i> cultivada em laboratório.....	70
Figura 31: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra de <i>Microcystis aeruginosa</i> cultivada em laboratório.....	71
Figura 32: Valores médios de LC_{50} calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Julho/07 coletada no reservatório de Barra Bonita.....	72
Figura 33: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Julho/07 no reservatório de Barra Bonita.....	73
Figura 34: Valores médios de LC_{50} calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Novembro/07 coletada no reservatório de Barra Bonita.....	74
Figura 35: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.....	74
Figura 36: Valores médios de LC_{50} calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Janeiro/08 coletada no reservatório de Barra Bonita.....	75

Figura 37: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.....	76
Figura 38: Valores médios de LC ₅₀ calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra não tóxica de <i>Microcystis</i> sp. cultivada em laboratório.....	77
Figura 39: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra não tóxica de <i>Microcystis</i> sp. cultivada em laboratório.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação do grau de trofia segundo Carlson modificado por Toledo Jr <i>et al.</i> (1983).....	30
Tabela 2: Valores de pH, condutividade elétrica (mS/cm), oxigênio dissolvido (mg/L) e temperatura da água (°C) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	108
Tabela 3: Valores da transparência da água (m) e limite da zona eufótica (m) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	108
Tabela 4: Valores das concentrações de nitrito ($\mu\text{g/L}$), nitrato ($\mu\text{g/L}$), íon amônio ($\mu\text{g/L}$), nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g/L}$), fosfato inorgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato orgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g/L}$), fósforo total ($\mu\text{g/L}$), silicato (mg/L) e relação NT:PT registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	108
Tabela 5: Valores de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) e feofitina ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	108
Tabela 6: Valores do índice de estado trófico para Secchi, clorofila-a, fosfato inorgânico, fósforo total e índice de estado trófico médio registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	109
Tabela 7: Densidade dos organismos (org/L) e densidade relativa (%) das classes fitoplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita....	109
Tabela 8: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Julho/07 no reservatório de Barra Bonita.....	109
Tabela 9: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.....	110
Tabela 10: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.....	111
Tabela 11: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Maio/08 no reservatório de Barra Bonita.....	111
Tabela 12: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Junho/08 no reservatório de Barra Bonita.....	112
Tabela 13: Riqueza e diversidade das espécies fitoplanctônicas registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	113
Tabela 14: Densidade de cianobactérias (cél/mL) e concentrações de microcistina intracelular, extracelular e total ($\mu\text{g/L}$) e densidade de protozoários (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	113
Tabela 15: Densidade dos organismos (org/L) e densidade relativa (%) dos grupos protozooplanctônicos registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	113
Tabela 16: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em julho/07 no reservatório de Barra Bonita.....	114

Tabela 17: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.....	114
Tabela 18: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.....	115
Tabela 19: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em maio/08 no reservatório de Barra Bonita.....	115
Tabela 20: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em junho/08 no reservatório de Barra Bonita.....	116
Tabela 21: Riqueza e diversidade das espécies protozooplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.....	116
Tabela 22: Densidade de protozoários (org/L e %) presentes no reservatório de Barra Bonita no período de coleta de acordo com sua cadeia trófica em: algívoros (A), bacterívoros (B); algívoros e bacterívoros (A, B); algívoros, bacterívoros e mixotróficos (A, B, M); algívoros e mixotróficos (A, M); bacterívoros e mixotróficos (B, M); onívoros (O); mixotróficos (M) e predadores (PR).....	117
Tabela 23: Índice de saprobidade de Pantle e Buck (IS), índice de estado trófico (IET) e a classificação d'água de Barra Bonita de acordo com estes índices.....	117
Tabela 24: Densidade de <i>Vorticella aquadulcis</i> (org/L), formas coloniais de <i>Microcystis</i> spp (org/L) e clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) determinadas no período de coleta no reservatório de Barra Bonita.....	117
Tabela 25: Coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis densidade de protozoários, densidade de cianobactérias, densidade de células de cianobactérias, clorofila-a, colônias de <i>Microcystis</i> spp., densidade de <i>Vorticella aquadulcis</i> e concentrações de microcistina-LR intracelular, extracelular e total determinadas no período de coleta no reservatório de Barra Bonita.....	118
Tabela 26: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 1º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo tóxico de <i>Microcystis</i> spp.....	118
Tabela 27: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 1º teste preliminar realizado com concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo tóxico de <i>Microcystis</i> spp.....	118
Tabela 28: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR do cultivo tóxico de <i>Microcystis</i> spp. , intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com <i>Paramecium caudatum</i>	119
Tabela 29: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 1º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Julho/07.....	119
Tabela 30: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 2º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Julho/07.....	120

Tabela 31: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Julho/07, intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com <i>Paramecium caudatum</i>	120
Tabela 32: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 1º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.....	121
Tabela 33: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 2º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.....	121
Tabela 34: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 3º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.....	121
Tabela 35: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Novembro/07, intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com <i>Paramecium caudatum</i>	122
Tabela 36: Número de <i>Paramecium caudatum</i> vivos no 1º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.....	122
Tabela 37: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Janeiro/08, intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com <i>Paramecium caudatum</i>	123
Tabela 38: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo não tóxico de <i>Microcystis</i> sp., intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com <i>Paramecium caudatum</i>	124

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Cianobactérias e suas Florações no Brasil.....	18
1.2 Cianotoxinas	19
1.3 Microinvertebrados em Ecossistemas Aquáticos	20
1.4 Efeitos das Microcistinas sobre os Microinvertebrados Aquáticos	20
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	22
3. OBJETIVO GERAL.....	23
3.1 Objetivos Específicos	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Local de Estudo	23
4.2 Coleta e Preservação das Amostras	24
4.3 Análises Qualitativa e Quantitativa dos Grupos Planctônicos.....	25
4.3.1 Análise Qualitativa do Fitoplâncton e Protozooplâncton	25
4.3.2 Análise Quantitativa do Fitoplâncton	25
4.3.3 Análise Quantitativa das Células de Cianobactérias.....	26
4.3.4 Análise Quantitativa do Protozooplâncton	26
4.4 Determinação de Clorofila-a e Feofitina	27
4.5 Nutrientes.....	28
4.6 Extração das Cianotoxinas.....	28
4.6.1 Análise de Microcistina com Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE)	29
4.7 Índice de Saprobiidade de Pantle e Buck.....	29
4.8 Índice de Diversidade de Shannon (H').....	29
4.9 Índice de Estado Trófico.....	30
4.10 Cultivos dos Organismos Planctônicos.....	30
4.10.1 Cultivos de Protozoários.....	30
4.10.2 Cultura de Cianobactérias.....	31
4.11 Delineamento dos Ensaio em Laboratório com Protozoários	32
4.11.1 Preparação dos Extratos Liofilizados de Microcistina Utilizados nos Ensaio com Protozoários	32
4.11.2 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de <i>Microcystis aeruginosa</i> Cultivada em Laboratório.....	32
4.11.3 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de Cianobactérias Coletadas em Campo....	33
4.11.4 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de <i>Microcystis</i> sp. Não Tóxica Cultivada em Laboratório.....	34

4.12 Análises Estatísticas.....	34
5. RESULTADOS	35
5.1 Dados Abióticos.....	35
5.1.1 Variáveis Físicas e Químicas	35
5.1.2 Limite da Zona Eufótica	36
5.1.3 Concentração de Nutrientes	36
5.1.3.1 Formas Nitrogenadas	36
5.1.3.2 Formas fosfatadas	38
5.1.3.3 Silicatos.....	39
5.2 Clorofila-a e Feofitina.....	39
5.3 Índices de Estado Trófico	40
5.4 Composição, Distribuição Temporal e Densidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	42
5.4.1 Composição da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	42
5.4.2 Distribuição Temporal e Abundância Relativa das Diferentes Classes Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita	43
5.4.3 Densidade das Classes Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita.....	44
5.4.4 Distribuição e Densidade dos Táxons Fitoplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita - com ênfase nas cianobactérias	46
Chlorophyceae	46
5.4.4.1 Densidade (células/mL) de Cianobactérias nas Florações do Reservatório de Barra Bonita.....	49
5.4.5 Riqueza e Diversidade das Comunidades Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita.....	50
5.4.5.1 Riqueza	50
5.4.5.2 Diversidade	51
5.5 Composição, Distribuição Temporal e Densidade da Comunidade Protozooplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	53
5.5.1 Composição da Comunidade Protozooplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	53
5.5.2 Distribuição Temporal e Abundância Relativa dos Grupos Protozooplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita.....	54
5.5.3 Densidade dos Grupos Protozooplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita.....	56
5.5.4 Distribuição e Densidade dos Táxons Protozooplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita.....	57

5.5.5 Riqueza, Diversidade e Tipo de Alimentação das Comunidades Protozooplantônicas no Reservatório de Barra Bonita.....	59
5.5.5.1 Riqueza	59
5.5.5.2 Diversidade	60
5.5.5.3 Tipo de Alimentação.....	62
5.5.6 Índices de Saprobidade de Pantle e Buck	63
5.7 Avaliação da Concentração de Microcistina e Relação com as Densidades Fitoplantônicas e Protozooplantônicas das Amostras Ambientais.....	64
5.7.1 Microcistina-LR Detectada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no Reservatório de Barra Bonita.....	64
5.7.2 Relação entre Cianotoxinas e Densidades de células de Cianobactérias no Reservatório de Barra Bonita.....	65
5.7.3 Relação entre Cianotoxinas, Densidades de Células de Cianobactérias e Densidade de Protozoários no Reservatório de Barra Bonita	66
5.7.4 Relação entre as Colônias de <i>Microcystis</i> spp. e <i>Vorticella aquadulcis</i> no Reservatório de Barra Bonita.....	68
5.8 Bioensaios de Toxicidade	69
5.8.1 Bioensaios com Amostra de Cultivo da Linhagem NPLJ-4 de <i>Microcystis aeruginosa</i>	69
5.8.2 Bioensaios com Amostra da Coleta de Julho/07	71
5.8.3 Bioensaios com Amostra da Coleta de Novembro/07	73
5.8.4 Bioensaios com Amostra da Coleta de Janeiro/08.....	75
5.8.5 Bioensaios com Amostra de Cultivo em Laboratório da Cepa Não Tóxica de <i>Microcystis</i> sp.	76
6. DISCUSSÃO	78
6.1 Dados Abióticos.....	78
6.1.1 Variáveis Físicas e Químicas	78
6.1.2 Limite da Zona Eufótica	79
6.1.3 Concentração de Nutrientes	80
6.1.3.1 Formas Nitrogenadas	80
6.1.3.2 Formas Fosfatadas	81
6.1.3.3 Silicatos.....	83
6.1.3.4 Razão NT/PT	83
6.2 Clorofila-a e Feofitina.....	83

6.3 Índice de Estado Trófico.....	84
6.4 Composição, Distribuição e Densidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita - com ênfase nas cianobactérias.....	85
6.5 Análise da Riqueza e Diversidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	89
6.6 Detecção de Cianotoxinas no Reservatório de Barra Bonita.....	89
6.7 Composição, Distribuição, Densidade e Tipos Alimentares da Comunidade Protozooplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	91
6.8 Relação entre as Colônias de <i>Microcystis</i> sp e <i>Vorticella aquadulcis</i> no Reservatório de Barra Bonita.....	94
6.9 Análise da Riqueza e Diversidade da Comunidade Protozooplanctônica no Reservatório de Barra Bonita.....	95
6.10 Bioensaios de Toxicidade.....	95
7. CONCLUSÕES.....	97
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
ANEXOS.....	107

1. INTRODUÇÃO

A presença de florações de cianobactérias tóxicas em corpos d'água naturais e construídos pelo homem tem sido freqüentemente reportada em diferentes regiões do mundo, causando severos problemas a animais selvagens, domésticos, à biota aquática e aos seres humanos (CHORUS, 2001), sendo responsáveis pela maioria dos casos de intoxicações envolvendo ficotoxinas de águas doces ou marinhas (CARMICHAEL, 1992).

As alergias e intoxicações em humanos podem ocorrer pelo contato com a água contendo células tóxicas ou pelo consumo de peixes e água contaminados, respectivamente. Além disso, exposição a águas recreacionais contendo cianobactérias tóxicas tem causado doenças, desde pneumonia aguda e hepatoenterites até moderadas gastroenterites e irritações da pele (FALCONER, 1999). Intoxicações de populações humanas pelo consumo de água contaminada por cianotoxinas já foram relatadas na Austrália, Inglaterra, China e África do Sul (FALCONER *et al.*, 1994).

1.1 Cianobactérias e suas Florações no Brasil

As cianobactérias são organismos microscópicos, podendo ser unicelulares, filamentosas ou coloniais, que apresentam características de algas (contém clorofila-a e realizam fotossíntese aeróbica) e de bactérias (células procariontes que possuem parede celular semelhante à das bactérias).

As cianobactérias exibem uma versatilidade fisiológica e uma ampla tolerância ecológica que contribuem para o seu sucesso competitivo e ocupação em diferentes ambientes aquáticos (DOKULIL; TEUBNER, 2000). De acordo com Huszar *et al.* (2000), o grupo das cianobactérias destaca-se expressivamente por sua dominância (biomassa e/ou densidade) em sistemas aquáticos naturais ou artificiais no Brasil. Em casos específicos, como em ambientes lênticos, 62% dos reservatórios e 42% dos lagos são dominados por cianobactérias (HUSZAR; SILVA, 1999). Este fato assume crescente relevância uma vez que estudos têm demonstrado, cada vez mais, o potencial tóxico de muitas espécies de cianobactérias no Brasil (JOCHIMSEN *et al.*, 1998; POURIA *et al.*, 1998; CARMICHAEL *et al.*, 2001).

Diversos registros de florações de cianobactérias têm sido realizados no Brasil, sendo que uma expressiva parcela destes (>50%) tem apresentado potencial tóxico (COSTA; AZEVEDO, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1998). Segundo Sant'Anna e Azevedo (2000), existem, no país, cerca de 20 espécies de 14 gêneros de cianobactérias que são tóxicas, porém, em vários estados brasileiros, principalmente aqueles situados nas regiões norte, nordeste e centro

oeste, os dados continuam subestimados.

Estudos realizados por Sant`Anna e Azevedo (2000) em reservatórios brasileiros têm demonstrado que as principais características para a proliferação e manutenção dos florescimentos de cianobactérias são ambientes eutróficos e hipertróficos, com concentrações de P-total entre 50-660µg/L; pH levemente elevado (7,0 a 9,0); baixa profundidade (entre 2,8 à 14 metros); temperatura da água relativamente alta (acima de 20 °C); razão NT/PT total entre 2 e 19.

1.2 Cianotoxinas

As cianotoxinas são metabólitos secundários produzidos por um grande número de espécies de cianobactérias, que podem ser liberados para a água após o colapso dos florescimentos ou durante a atividade de crescimento destas populações (SIVONEN *et al.*, 1992).

Diferentes gêneros e espécies de cianobactérias formadoras de florações são capazes de produzir estes compostos tóxicos. Atualmente são conhecidas 3 classes de cianotoxinas, que se dividem segundo sua ação farmacológica em hepatotoxinas, neurotoxinas e citotoxinas. Atualmente, muitos estudos estão concentrados nas duas primeiras classes, em virtude do número elevado de caso de intoxicações que as envolvem (CHORUS; BARTRAM, 1999; CODD, 2000).

As hepatotoxinas são peptídeos cíclicos constituídos por aminoácidos. As mais estudadas são as microcistinas, nodularinas e cilindrospermopsinas, um alcalóide guanidínico cíclico (SIVONEN, 1996, CHORUS; BARTRAM, 1999). Estas agem no fígado, causando a desestruturação dos hepatócitos, levando à ruptura interna do órgão, podendo ser responsáveis pela formação de tumores (CHORUS; BARTRAM, 1999). As microcistinas consistem em heptapeptídeos cíclicos solúveis em água produzidos por cianobactérias tóxicas de espécies do gênero *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc* e *Oscillatoria*, que podem apresentar um grande número de variantes estruturais conhecidos (SIVONEN *et al.* 1992). Alguns estudos correlacionam as microcistinas como potentes promotoras de tumores hepáticos em ratos quando submetidos a doses abaixo do limite de toxicidade aguda (FALCONER, 1999). A sua toxicidade em bioensaios com ratos ou camundongos pode apresentar valores de DL₅₀ (i.p.) entre 50 e 300 mg/Kg de peso corpóreo e entre 5.000 e 10.900 µg/Kg de peso corpóreo por administração oral (CHORUS; BARTRAM, 1999). Em humanos, seus efeitos de intoxicações podem incluir desde distúrbios gastrointestinais, pneumonia, dores de cabeça e enjoos

(FALCONER, 1999).

1.3 Microinvertebrados em Ecossistemas Aquáticos

De todos os invertebrados aquáticos, os protozoários são considerados importantes componentes para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos. Dentre estes, os ciliados são os mais marcantes tanto no plâncton das águas doces, desempenhando um papel fundamental nas cadeias tróficas, pelo consumo de bactérias, algas e flagelados, sendo responsáveis pela transferência de energia em uma cadeia alimentar alternativa, a alça microbiana (“Microbial loop”); quanto no tratamento de esgotos, onde possuem um importante papel na produção de efluentes limpos (PORTER *et al.*, 1985). Estes microorganismos podem ser úteis como organismos indicadores na avaliação da qualidade da água, sendo a presença de certas espécies indicadora do predomínio de condições de oxidação ou de redução nos processos de decomposição da matéria orgânica (e.g. SLÁDECEK, 1969; FOISSNER, 1992). Embora vários trabalhos incluindo protozoários em estudos do plâncton tenham sido registrados na literatura (e.g. PACE; ORCUTT, 1981; SHERR; SHERR, 1984; PORTER *et al.*, 1985) poucos têm incluído estes microinvertebrados em um contexto quantitativo durante eventos de florações de cianobactérias (CHRISTOFFERSEN *et al.*, 2002).

1.4 Efeitos das Microcistinas sobre os Microinvertebrados Aquáticos

O conhecimento sobre as implicações ecológicas das microcistinas para a cadeia alimentar aquática são em parte especulativas, dada a gama de efeitos sub-letais que esses compostos podem promover (CHRISTOFFERSEN, 1996a), bem como a real capacidade de bioacumulação destas cianotoxinas em diferentes níveis tróficos em um ambiente aquático (IBELINGS *et al.*, 2005).

Visando esclarecer os reais efeitos das cianotoxinas no ambiente aquático, a maioria das pesquisas com microcistinas estuda sua toxicidade aguda em organismos de laboratório. Estudos sobre a toxidade aguda e crônica envolvendo organismos que habitam corpos d’água propensos a florações são poucos, bem como os que têm focalizado sobre o destino das microcistinas na cadeia alimentar aquática e sua possível acumulação.

Protozoários e organismos macrozooplancônicos são importantes elos da cadeia alimentar aquática, particularmente em lagos onde o zooplâncton alimenta-se do limitado fitoplâncton (e.g., quando cianobactérias coloniais e filamentosas são pouco predadas pelo

zooplâncton) (HAVENS, 1998). Flagelados e ciliados têm sido observados se alimentando de formas unicelulares e filamentosas de cianobactérias (SAITO *et al.*, 2003), embora algumas espécies apresentem uma preferência alimentar sobre outras bactérias, quando existe a possibilidade de escolha (CARON *et al.*, 1991). Reduções no número e na taxa de crescimento de nanoflagelados heterotróficos foram observadas durante florações tóxicas de *Microcystis* em um lago eutrófico na Dinamarca (CHRISTOFFERSEN, 1996b). Embora a probabilidade de difusão passiva de microcistinas no interior da biota seja limitada, especialmente em sistemas bem tamponados (DE MAAGD *et al.*, 1999), o relativo impacto de exposição de toxinas dissolvidas em comparação com a ingestão de células de cianobactérias tóxicas intactas sobre comunidades naturais de protozoários não foi diretamente quantificado (ZURAWELL *et al.*, 2005).

Uma série de estudos em laboratório tem verificado os efeitos de toxinas dissolvidas sobre protozoários. Ramsom *et al.* (1978 *apud* Zurawell *et al.*, 2005) realizaram o primeiro estudo demonstrando a toxicidade de cianobactérias em protozoários. Nesse estudo, extratos de células de *Fischerella epiphytica* e *Gloeotrichia echinulata* e sonicados de células de *Nostoc linckia* produziram a morte e redução da atividade do ciliado *Paramecium caudatum*. Nalecz-Jawecki (2004) relatou que o valor da LC_{50-24h} de microcistina-LR para o ciliado *Spirostomum ambiguum* variou de 2 a 5 ppm, o que demonstra que sua utilização como indicador na detecção de microcistina em ambientes aquáticos não pode ser feita, devido a sua baixa tolerância. Experimentos em laboratório com populações mistas e isoladas de flagelados expostos a 1 e 10 µg/L MC, demonstraram uma redução na taxa de crescimento de 24 a 28%, e de 36 a 41% respectivamente (CHRISTOFFERSEN, 1996b). Em contraste, experimentos similares com culturas de *Heteromita globosa*, *Spumella sp* e microcistinas apresentaram reduções mínimas na taxa de crescimento, sugerindo que diferenças podem existir entre as espécies (CHRISTOFFERSEN, 1996b).

War e Codd (1999) testaram a toxicidade de 4 variantes de microcistinas sobre o protozoário *Tetrahymena pyriformis*. Todas as 4 variantes inibiram a taxa de crescimento da população e reduziram a densidade da cultura. Além disso, respiração de *T. pyriformis* foi inibida dependendo do tempo de exposição e da concentração da toxina. A magnitude destas reduções foi diretamente correlacionada com a proporção das variantes das toxinas estudadas (2:2; 2:9; 3:5; e 3:6 para MC:LR, MC:LY, MC:LW e MC:LF, respectivamente).

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

As florações de cianobactérias são descritas no mundo todo como causadoras de intoxicação e morte de animais domésticos e selvagens (CHORUS; BARTRAM, 1999; FALCONER, 1999), tendo sido comprovada a ação nociva de suas toxinas também em seres humanos (POURIA *et al.*, 1998; FALCONER, 1999) e sua possível bioacumulação ao longo da cadeia trófica (MAGALHÃES *et al.*, 2003). No Brasil um dos mais graves episódios que se conhece sobre a ação nociva destas toxinas ocorreu na cidade de Caruaru (PE) em 1996. Nesse incidente, 54 pacientes renais crônicos vieram a falecer em virtude da presença de microcistinas na água utilizada nas sessões de hemodiálise (POURIA *et al.*, 1998; CARMICHAEL *et al.* 2001).

Por outro lado, o Estado de São Paulo é o mais populoso e industrializado do país, apresentando uma expressiva porcentagem de seus rios e lagos severamente ameaçados ou em sério estado de degradação (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 1992). Com base no potencial tóxico apresentado por alguns gêneros de cianobactérias e, na já constatada ocorrência dessas florações em lagos e reservatórios no estado de São Paulo (SANT'ANNA; AZEVEDO, 2000), programas contínuos de estudo nesses ambientes tornam-se importantes para o fornecimento de subsídios para a avaliação dos possíveis riscos desses organismos tanto à biota aquática como à saúde humana, visto que medidas desta natureza estão sendo adotadas freqüentemente em outros países (CHORUS; BARTRAM, 1999; FALCONER, 1999; CODD, 2000).

Nesse sentido a ecotoxicologia aquática surgiu como uma forma adequada de prevenção e controle da qualidade de água (COSTA, 1997). A adoção de testes de toxicidade tem se consolidado como um importante método de predições sobre riscos de extinção, constituindo-se em uma ferramenta para a compreensão da extensão dos impactos, uma vez que os organismos vivos utilizados nos testes de toxicidade funcionam como verdadeiros biosensores que respondem à presença de contaminantes (ESPÍNDOLA *et al.*, 2003)

O uso de organismos aquáticos em testes de toxicidade com cianobactérias permite uma avaliação qualitativa e quantitativa dos efeitos tóxicos de uma cepa, permitindo uma melhor compreensão do seu impacto no ambiente natural e dos mecanismos relacionados à regulação da toxicidade, com base na possibilidade da biotransferência e intoxicação humana por cianotoxinas (MAGALHÃES *et al.* 2003).

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a diversidade e densidade das comunidades fitoplanctônicas e protozooplacntônicas presentes no reservatório de Barra Bonita, Sp, durante evenyos de florações de cianobactérias. Além dos efeitos das cianotoxinas obtidas a partir de cianobactérias produzidas em laboratório e coletadas em ambiente natural sobre populações do protozoário *Paramecium caudatum* em ensaios de toxicidade.

3.1 Objetivos Específicos

- a) Avaliar as populações fitoplanctônicas e protozooplanctônicas no reservatório de Barra Bonita durante eventos de florações de cianobactérias comprovadamente tóxicas.
- b) Avaliar os níveis de cianotoxinas (microcistinas) intra e extracelulares no reservatório de Barra Bonita durante os eventos de floração;
- c) Estabelecer as concentrações de cianotoxinas (microcistinas) inibitórias do crescimento ou letais para o protozoário *Paramecium caudatum* em ensaios de toxicidade;
- d) Avaliar a toxicidade de extratos de culturas de cianobactérias sobre populações do protozoário *Paramecium caudatum* em ensaios de toxicidade;
- e) Avaliar a toxicidade de extratos algais provenientes do reservatório de Barra Bonita afetado por florações de cianobactérias sobre populações do protozoário *P. caudatum* em ensaios de toxicidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de Estudo

O estudo foi realizado no reservatório de Barra Bonita (22° 29' S e 48° 34' W) que possui área alagada de 310 Km², profundidade média de 10,1 m, volume total de 3.135 m³ x10⁶, tempo de residência de 37 a 137 dias, vazão média anual de 402 m³/s (CETESB, 2001; BARBOSA *et al.*, 1999). O reservatório é localizado no Estado de São Paulo e é formado pelo represamento dos rios Tietê e Piracicaba (Figura 1), próximo da região mais populosa e industrializada da América do Sul, recebendo pesadas cargas de efluentes domésticos, industriais e agrícolas (SOTERO-SANTOS *et al.*, 2006). Conseqüentemente, o reservatório apresenta características de um ambiente eutrófico, com freqüentes florescimentos de cianobactérias registrados na última década.

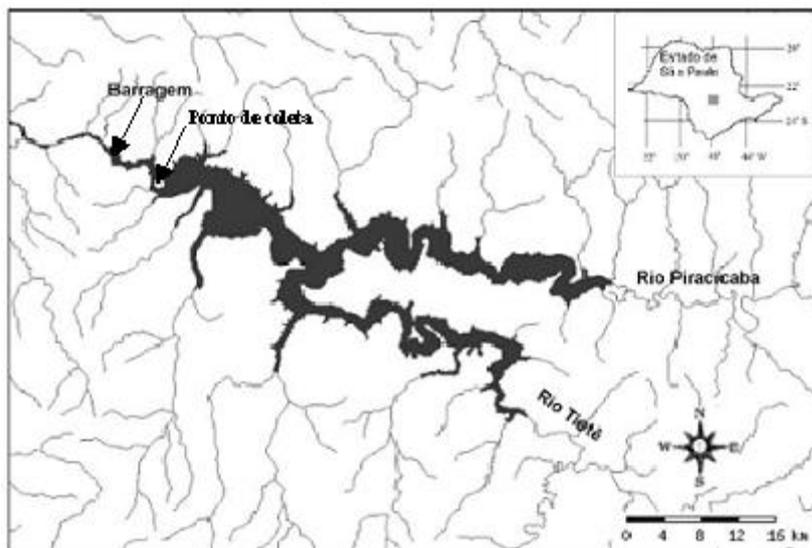


Figura 1: Localização do reservatório de Barra Bonita, SP e do ponto de coleta

4.2 Coleta e Preservação das Amostras

Durante o período de estudo foram realizadas coletas nos meses de Julho e Novembro/07 e Janeiro, Maio e Junho/08, em um ponto central à montante do reservatório. No local, foram tomadas medidas de pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e temperatura da água com uma sonda multissensor Horiba, enquanto que a transparência da água foi medida utilizando um disco de Secchi.

Florações de cianobactérias presentes neste reservatório foram coletadas na superfície com uso de balde (10 L). Após cada coleta foram retiradas alíquotas de 500 mL da amostra a qual foi levada ao laboratório para detecção de cianotoxinas (microcistinas) intra e extracelulares (dissolvida na água). O restante do material coletado foi acondicionado em garrafas (2 L), congelado e liofilizado à 30^oC. Os extratos algais liofilizados foram armazenados em freezer para posteriores ensaios de laboratório.

As amostras de água foram coletadas a 0,5 m da superfície do reservatório, com auxílio de garrafa de Van Dorn (5 L). Com estas amostras foram efetuadas determinações da concentração de nutrientes, clorofila-a, feofitina e identificação e contagem de fitoplâncton e protozooplâncton.

Para auxiliar na identificação do plâncton, também foram coletadas amostras d'água da superfície por meio de rede de plâncton de 20 µm de diâmetro de poro, para análise microscópica *a fresco* que foi realizada no dia da coleta.

4.3 Análises Qualitativa e Quantitativa dos Grupos Planctônicos

4.3.1 Análise Qualitativa do Fitoplâncton e Protozooplâncton

Para a análise qualitativa do fitoplâncton e protozooplâncton, foram coletadas amostras d'água de superfície por meio de arrastos horizontais utilizando rede de plâncton (20 µm abertura de malha). As amostras (200 mL) fitoplanctônicas foram fixadas com solução de formol 4% e analisadas com o auxílio de lâmina e lamínula. No caso das amostras protozooplanctônicas, estas não foram fixadas, sendo as análises realizadas com o auxílio de lâmina. Tanto a identificação dos organismos fitoplanctônicos como dos protozooplanctônicos foi feita em microscópio óptico binocular Leica DM/LS.

A identificação dos organismos foi realizada segundo características morfológicas e morfométricas, sendo essa análise efetuada ao menor nível taxonômico possível com base em bibliografia específica e recorreu-se, ao auxílio de especialistas quando necessário.

4.3.2 Análise Quantitativa do Fitoplâncton

Para a análise quantitativa do fitoplâncton foram fixadas 200 mL de amostra, com solução ácida de lugol (0,5%). A análise quantitativa do fitoplâncton foi realizada em microscópio invertido Olympus, após prévia sedimentação em câmara de Utermöhl de 15 mL (UTERMÖHL, 1958). A contagem dos indivíduos foi realizada em transectos horizontais e verticais, e o limite de contagem por câmara de sedimentação foi determinado por meio da curva de estabilização, obtida a partir do número de espécies novas adicionadas em relação ao número de campos contados. Os indivíduos foram enumerados em campos aleatórios, sendo os resultados expressos em densidade (org/mL) e calculados de acordo com a fórmula descrita por Ros (1979).

$$\text{organismos/mL} = (n/sc) \cdot (1/h) \cdot (F)$$

onde: **n** = número de indivíduos efetivamente contados; **s** = área do campo em mm² no aumento de 40 X; **c** = número de campos contados; **h** = altura da câmara de sedimentação em mm; **F** = fator de correção para mililitro (10³ mm³/1 mL)

Ao final, os *taxa* inventariados foram apresentados em uma listagem, segundo critérios de classe, família, gênero e espécie quando possível.

4.3.3 Análise Quantitativa das Células de Cianobactérias

Para a quantificação de células de cianobactérias, sub-amostras retiradas das amostras fixadas com lugol foram submetidas à digestão à quente com solução de hidróxido de sódio (NaOH), conforme o proposto por Reynolds e Jaworski (1978) e Box (1981), e modificado em laboratório.

A solução final de hidróxido de sódio (NaOH) utilizada apresentou concentração de 1,0 M, sendo utilizado 20µl da solução de NaOH a 1,0 M para cada 2 mL de amostra. As amostras foram mantidas em estufa a +/- 90°C por 10 minutos e agitadas por mais 10 minutos com o auxílio de um agitador tipo Vortex, esse procedimento foi repetido até a duração de 2 horas. Após a digestão foram realizadas três contagens de células em Hemacitômetro de Neubauer, sendo os valores médios das contagens expresso em células/mL.

4.3.4 Análise Quantitativa do Protozooplâncton

Para a análise quantitativa do protozooplâncton, foram coletadas três amostras de 200 mL de volume (tréplicas), as quais foram imediatamente fixadas com 8,6 mL de solução saturada de cloreto de mercúrio e coradas com oito gotas de azul de bromofenol a 0,04% (PACE e ORCUTT, 1981). No laboratório, os frascos contendo as amostras foram deixados em repouso durante um período mínimo de 24 horas para a sedimentação do material particulado, segundo Margalef (1969). Por ocasião das análises, o sobrenadante de cada frasco foi devidamente descartado e o material restante contado em três câmaras de Sedgwick-Rafter de 1mL de volume, após ser homogeneizado manualmente. As câmaras de Sedgwick-Rafter com as sub-amostras foram analisadas em microscópio ótico (aumento de 100X e 200X) e, após as contagens, a densidade de protozoários/mL nos ambientes obtida segundo a fórmula:

$$\text{Protoz./mL}^* = \frac{v \cdot \Sigma \text{protz} \cdot V}{n}$$

onde: **v** = volume (mL) da amostra concentrada; **V** = volume (mL) de amostra fixada; **n** = número de câmaras contadas; **Σprotz** = somatória dos protozoários contados nas câmaras.

* notar que o número de protozoários por mL foi calculado independentemente para cada frasco (réplica) e posteriormente feita a média para se chegar ao valor de protozoários/mL no local de coleta.

A identificação dos protozoários foi baseada nos trabalhos de Deflandre (1928), Foissner e Berger (1996), Foissner (1999), Kudo (1966) e Patterson (1996).

4.4 Determinação de Clorofila-a e Feofitina

A determinação da clorofila-a e feofitina foi realizada segundo o método espectrofotométrico de Marker *et al.* (1980), no qual os pigmentos foram extraídos de material retido em membranas de filtração, utilizando-se solvente orgânico polar (etanol).

As amostras de água coletadas (500 mL) foram filtradas, em duplicatas, em membranas de fibra de vidro (GF/F Whatman®), estas foram secas sobre papel absorvente no escuro e guardadas dobradas em freezer até o momento da extração.

A extração foi feita em penumbra, com maceração mecânica das membranas sobre um almofariz, onde foram colocados pequenas quantidades de etanol 90% frio e em seguida etanol 90% quente (80-85°C).

O macerado de cada amostra e sua réplica foram mantidos em geladeira por 24 horas até a extração se completar. Após esse período cada macerado foi filtrado com filtro (GF/F), recolhido e guardado em tubos protegidos da luz até a leitura em espectrofotômetro. As leituras no espectrofotômetro foram realizadas no comprimento de onda de 750 e 665 nm não acidificada e acidificada. Para o cálculo da clorofila-a e feopigmentos utilizou-se as equações de Lorenzen (1967):

$$\text{clorofila-a } (\mu\text{g/L}) = \frac{27,91(\text{Eb} - \text{Ea}) \cdot v}{V \cdot l}$$

$$\text{feofitina } (\mu\text{g/L}) = \frac{27,91 [(1,7 \cdot \text{Ea}) - \text{Eb}] \cdot v}{V \cdot l}$$

onde **Eb** = absorbância do extrato a 665nm antes da acidificação menos a absorbância a 750nm;

Ea = absorbância do extrato a 665nm depois da acidificação menos a absorbância a 750nm;

v = volume do solvente usado no extrato (mL);

V = volume da amostra filtrada (L);

l = percurso ótico da cubeta (cm);

27,91 = constante utilizada para o etanol 90% (calculada a partir do coeficiente de absorção específica).

4.5 Nutrientes

As determinações da concentração de nutrientes como nitrito foram feitas segundo Golterman *et al.* (1978), nitrato segundo Mackereth *et al.* (1978), amônia segundo Koroleff (1976), nitrogênio total segundo Valderrama (1981), fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico dissolvido segundo Strickland e Parsons (1960), fósforo total segundo Valderrama (1981) e silicato reativo segundo Golterman *et al.* (1978).

4.6 Extração das Cianotoxinas

Para a detecção e medida da concentração de cianotoxinas (microcistinas) intra e extracelulares presentes em amostras de água do reservatório de Barra Bonita, sub-amostras de 500 mL de cada coleta foram filtradas em membranas de fibra de vidro tipo GF/F (Whatman®), sendo a microcistina intracelular extraída e quantificada da biomassa de células retidas no filtro e a microcistina extracelular a dissolvida na sub-amostra filtrada. Ambas as amostras foram congeladas para posterior análise.

A extração da microcistina intracelular dos filtros foi realizada por meio de exposição em solução de metanol 75% (v/v) por 18 horas no escuro a 4 °C para extração total desta cianotoxina. Após esse período o sobrenadante foi centrifugado (4000 rpm por 5 minutos) e posteriormente filtrado novamente em filtro GF/F para remoção de detritos celulares. Ambos os filtrados foram submetidos posteriormente ao processo de concentração em fase sólida segundo Meriluoto e Spoof (2005). Neste processo o filtrado foi concentrado em cartuchos C18 pré-ativados com 10 mL de metanol 100%, seguido de 10 mL de água mili-Q. Após a passagem da amostra no cartucho, este foi lavado com 4 mL de metanol 20% e seco pela passagem de ar da bomba de vácuo por 2 minutos. A eluição da microcistina foi feita com 4 mL de solução de acetonitrila com 0,05% (v/v) de ácido trifluoracético (TFA), sendo o eluato evaporado a 50°C com injeção de 6,5 L/min de nitrogênio.

4.6.1 Análise de Microcistina com Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE)

A microcistina foi separada e quantificada utilizando um cromatógrafo CLAE Shimadzu, com detector de UV de fotodiodo de varredura (PDA-100, Shimadzu) utilizando uma coluna de fase reversa C-18 Shim-pack (5 μm , 4,6 x 150 mm) a um fluxo de 1 mL min.⁻¹. A fase móvel foi constituída por duas componentes, uma com água Milli-Q com 0,05% (v/v) de TFA e a outra por acetonitrila com 0,05% (v/v) de TFA. O tempo de corrida de cada amostra teve duração de 11 minutos, sendo cada amostra analisada em triplicata.

4.7 Índice de Saprobiidade de Pantle e Buck

A densidade média de protozoários, obtida em cada coleta, foi utilizada para o cálculo do índice de saprobiidade de Pantle e Buck (ISPB) (apud FOISSNER, 1992) em substituição ao número individual estimado para cada espécie:

$$\text{ISPB} = \frac{\sum (N \times SI_i)}{\sum N}$$

N = número de ocorrência de cada espécie:

1 = pouco, 3 = muito, 5 = ocorrência em massa

SI_i = Índice de saprobiidade da espécie i (FOISSNER, 1992)

Classificação segundo o número obtido no ISPB:

- 1,0 a 1,5 - Limpo = oligossaprobiidade = qualidade de água classe I.
- 1,5 a 2,5 - Leve a moderadamente poluído = beta-mesossaprobiidade = classe II.
- 2,5 a 3,5 - Fortemente Poluída = alfa-mesossaprobiidade = classe III.
- 3,5 a \geq 4,0 - Extremamente poluída = polissaprobiidade = classe IV.

4.8 Índice de Diversidade de Shannon (H')

Foi calculado o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') (RICKLEFS, 2003), a partir das freqüências relativas dos morfotipos encontrados em cada ambiente, conforme descrito na fórmula:

$$H' = - \sum p_i \log_{10} p_i$$

onde p_i = proporção de observações encontradas na categoria i (freqüência relativa).

4.9 Índice de Estado Trófico

Para o presente estudo foi utilizado o índice de estado trófico de Carlson modificado por Toledo Jr. *et al.* (1983). O cálculo deste índice usa as medidas do disco de Secchi, as concentrações de fósforo total, ortofosfato e clorofila-a, sendo o cálculo feito da seguinte forma:

- Disco de Secchi = IET (S) = $10 \times \{6 - [(0,64 + \ln S) / \ln 2]\}$
- Fósforo total = IET (PT) = $10 \times \{6 - [\ln (80,32/PT) / \ln 2]\}$
- Ortofosfato = IET (PO₄) = $10 \times \{6 - [(\ln 21,67/ PO_4) / \ln 2]\}$
- Clorofila-a = IET (Cla) = $10 \times \{6 - [(2,04 - 0,695 \ln Cla) / \ln 2]\}$

Segundo o autor, a profundidade do Secchi é muito afetada pela alta turbidez dos reservatórios em grande porte por ano. Desta forma, esse parâmetro não é muito representativo para indicar o seu estado trófico. O autor sugere então, ponderar o IET médio, de forma a dar menos peso ao índice referente à profundidade Secchi, ao invés de simplesmente eliminá-lo, como segue a equação a seguir:

$$\text{IET médio} = \{\text{IET (S)} + 2 \times [\text{IET (PT)} + \text{IET (PO}_4\text{)} + \text{IET (Cla)}]\} / 7$$

Para a classificação do grau de trofia foram utilizados os seguintes critérios segundo Carlson (1977) modificado por Toledo Jr *et al.* (1983).

Tabela 1: Classificação do grau de trofia segundo Carlson modificado por Toledo Jr *et al.* (1983).

Estado Trófico	Índice de Estado Trófico
Oligotrófico	< 44
Mesotrófico	44 - 54
Eutrófico	54 – 74
Hipereutrófico	> 74

4.10 Cultivos dos Organismos Planctônicos

4.10.1 Cultivos de Protozoários

O protozoário utilizado nos experimentos foi o ciliado *Paramecium caudatum*, isolado da Represa do Monjolinho, São Carlos – SP, situada no campus da Universidade

Federal de São Carlos – UFSCar (22° 01' 03'' S e 47° 53' 27'' W). A cultura deste protozoário é mantida na coleção de protozoários do Laboratório de Ecologia de Microorganismos Aquáticos (Lema) do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, *campus* de São Carlos.

Os protozoários foram cultivados segundo Nerad e Daggett (1992). O cultivo foi feito em tubos de ensaio com tampão de algodão e gaze, contendo uma base de 5 mL de solução de ágar 2% inclinado, 10 mL de água mineral autoclavada por 20 minutos a 121°C da marca Minalba® (composição: cálcio 17,14 mg L⁻¹; magnésio 9,83 mg L⁻¹; sódio 1,10 mg L⁻¹; cloretos 0,13 mg L⁻¹; nitratos 0,8 mg L⁻¹; sulfatos 0,2 mg L⁻¹; bicarbonatos 105,15 mg L⁻¹; fluoretos 0,05 mg L⁻¹; bário 0,024 mg L⁻¹ e estrôncio 0,020 mg L⁻¹, pH 8,3), 1 grão de arroz com casca estéril e uma concentração de 10⁶ cel/mL de *Enterobacter aerogenes*. Para a manutenção do cultivo os organismos foram mantidos em incubadora a 25°C com fotoperíodo de 12 horas e em temperatura ambiente na sala de microscopia de epifluorescência do Lema, sendo realizado repique destes a cada 15 dias.

No repique os tubos foram homogeneizados manualmente, para a retirada de 0,5 mL da solução com o auxílio de micropipeta automática e transferido para outro tubo de ensaio com meio de cultivo novo. Na ocasião dos testes de toxicidade os organismos foram aclimatados a 30°C em câmara de germinação no escuro.

4.10.2 Cultura de Cianobactérias

Foi utilizada a linhagem tóxica NPLJ-4 da cianobactéria, *Microcystis aeruginosa*, mantida em uma sala de cultivo a 25°C, com intensidade luminosa de 107 µE.m⁻¹.s⁻¹ com lâmpadas fluorescentes com fotoperíodo de 12 horas. A cultura dessa cianobactéria foi cedida pelo Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – FEIS – UNESP. Estas foram produzidas em culturas *batch* em frascos de 20 a 40 L, em meio ASM-1 (GORHAM *et al.*, 1964), ajustado para pH 8,0 e autoclavado a 121°C por 15 minutos (CETESB, 1993), mantido em suspensão sob fluxo de ar de 1 litro/min, durante 30 dias, sendo o ar impulsionado por aeradores. As células foram retiradas para os ensaios durante a fase estacionária do crescimento, congeladas e liofilizadas à 30°C para armazenamento em freezer.

Também foi utilizada uma linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., mantida em uma câmara de cultivo a 25°C, com intensidade luminosa de 107 µE.m⁻¹.s⁻¹ com lâmpadas fluorescentes com fotoperíodo de 12 horas. A cultura desta cianobactéria foi cedida pelo Laboratório de Ficologia – UFSCar – São Carlos. Estas foram produzidas em culturas *batch*

em frascos de 250 e 500 mL, em meio ASM-1, com agitação manual duas vezes ao dia, durante 30 dias. As células foram retiradas para os ensaios durante a fase estacionária do crescimento, congeladas e liofilizadas à 30⁰C para armazenamento em freezer.

4.11 Delineamento dos Ensaios em Laboratório com Protozoários

Foram realizados três ensaios de toxicidade com protozoários durante este estudo: 1) um utilizando extratos de culturas laboratoriais da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, produtora de microcistina; 2) um com extratos de culturas laboratoriais de *Microcystis* sp. não produtora de microcistina e 3) outro utilizando extratos das amostras de florações de cianobactérias coletas no Reservatório de Barra Bonita-SP.

4.11.1 Preparação dos Extratos Liofilizados de Microcistina Utilizados nos Ensaio com Protozoários

Para preparação dos extratos cultivados e coletados em campo, contendo microcistinas, foram pesados 10 g do material liofilizado, diluídos em 150 mL de metanol 75%, a solução foi mantida refrigerada por 24 horas no mínimo. Após esta extração inicial, a amostra homogeneizada foi centrifugada (4000 rpm – 5 minutos), e o sobrenadante filtrado em membrana de fibra de vidro GF/C, para a retirada do metanol da amostra foi utilizado um rota-evaporador, a solução final foi estocada em frascos de vidro antes dos ensaios (solução estoque) e mantidas congeladas em freezer até o momento de utilização. As concentrações utilizadas nos testes foram preparadas a partir da diluição da solução estoque.

4.11.2 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de *Microcystis aeruginosa* Cultivada em Laboratório

Os ensaios foram realizados em microplacas de poliestireno para cultivo com 24 poços (perfurações). Foram retiradas alíquotas dos tubos de ensaios contendo a cultura de protozoários (*Paramecium caudatum*), após o tempo de incubação de 72 horas, período no qual o organismo encontra-se em fase log de crescimento, com pipetas de Pasteur estéreis e com a ajuda de micropipetas os protozoários foram lavados em água mineral estéril e transferidos 10 indivíduos para cada poço, contendo extratos de liofilizados de culturas de *Microcystis aeruginosa* produtora de microcistina. Foram testadas cinco concentrações

crecentes de microcistinas em quaduplicata, as quais foram obtidas a partir da diluição da solução estoque em água mineral autoclavada, tais concentrações foram determinadas em testes preliminares (Figura 2). Como controle negativo, foi utilizado somente o protozoário em água mineral, também em quaduplicata. Cada ensaio teve duração de 24 horas, durante este período a microplaca foi mantida na incubadora a 30°C no escuro, sendo retirada para leitura a cada 4 horas, momento em que foi realizada a contagem do número de protozoários sobreviventes em cada poço para o cálculo da LC_{50} .

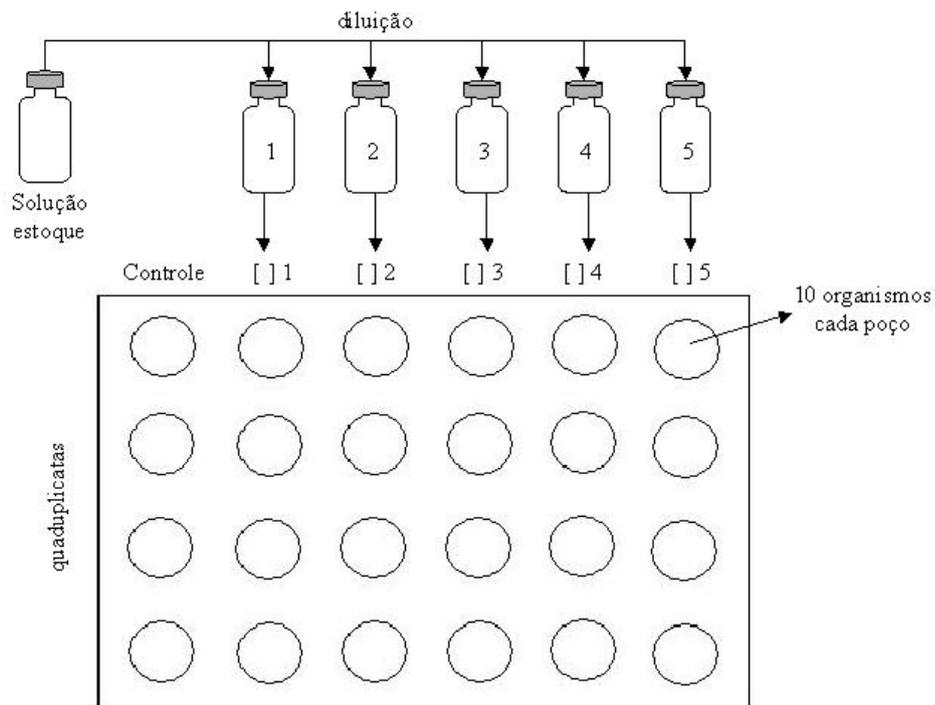


Figura 2: Esquema da montagem dos ensaios de toxicidade com as soluções estoque dos extratos liofilizados das amostras do cultivo de *Microcystis aeruginosa*, *M. sp* e das florações ambientais

4.11.3 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de Cianobactérias Coletadas em Campo

Neste ensaio foram reproduzidas as mesmas condições apresentadas no ensaio anterior, mas utilizando extratos de material algal de florações de cianobactérias coletado no reservatório eutrófico de Barra Bonita - SP. Os protozoários *P. caudatum* foram expostos ao extrato produzido a partir do material liofilizado, após o tempo de incubação de 72 horas. Novamente foram testadas as cinco concentrações de microcistinas em quaduplicata. Para se saber as concentrações a serem utilizadas nestes testes de toxicidade também foram realizados

testes preliminares até que fossem encontradas as faixas de concentrações a serem utilizadas (Figura 2). O tratamento controle foi o mesmo do teste anterior. Cada ensaio teve duração de 24 horas, durante este período a microplaca foi mantida na incubadora a 30°C no escuro, sendo retirada para leitura a cada 4 horas, momento em que foi realizada a contagem do número de protozoários sobreviventes em cada poço para o cálculo da LC₅₀.

4.11.4 Ensaio com Extratos Semi-Purificados de *Microcystis* sp. Não Tóxica Cultivada em Laboratório

Neste ensaio foram reproduzidas as mesmas condições apresentadas nos dois ensaios anteriores, mas utilizando extratos de material algal de uma cultura não tóxica de *Microcystis* sp. Os extratos produzidos a partir do material liofilizado foram expostos aos protozoários mantidos em cultura no laboratório (*Paramecium caudatum*), após o tempo de incubação de 72 horas. Neste experimento as soluções teste foram feitas utilizando os mesmos valores utilizados nas diluições da solução estoque preparada a partir dos extratos de liofilizados de culturas de *Microcystis aeruginosa* (Figura 2). O controle branco foi o mesmo dos testes anteriores. Cada ensaio teve duração de 24 horas, durante este período a microplaca foi mantida na incubadora a 30°C no escuro, sendo retirada para leitura a cada 4 horas, momento em que foi realizada a contagem do número de protozoários sobreviventes em cada poço para o cálculo da LC₅₀.

4.12 Análises Estatísticas

Os resultados obtidos durante esse estudo foram armazenados em planilhas eletrônicas dos programas Excel (Windows XP) e Origin (versão 6.0). O coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis analisadas foi calculado utilizando o programa BioEstat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007). O cálculo do valor do LC₅₀ foi feito utilizando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1978).

5. RESULTADOS

5.1 Dados Abióticos

5.1.1 Variáveis Físicas e Químicas

Os dados relativos ao pH, condutividade (mS/cm), oxigênio dissolvido (mg/L) e temperatura da água (°C), a 0,5 m de profundidade estão apresentados na figura 3 e tabela 2 (Anexo). Os resultados obtidos de pH demonstraram certa variação ao longo do período de estudo entre valores ácidos a básicos. Esses valores apresentaram oscilações de 5,6 em Julho/07 a um valor máximo de 8,15 em Junho/08.

Os valores de condutividade elétrica (mS/cm) registrados no reservatório de estudo foram maiores nos meses chuvosos (Novembro/07 e Janeiro/08), enquanto que os menores valores foram registrados nos períodos de seca (Julho/07, Maio e Junho/08) (Figura 3).

As temperaturas da água registradas no momento da coleta seguiram o mesmo padrão da condutividade elétrica, onde os menores valores foram verificados no período seco e os mais elevados durante os meses chuvosos. Esses valores variaram de 19,6 a 27°C (Figura 3).

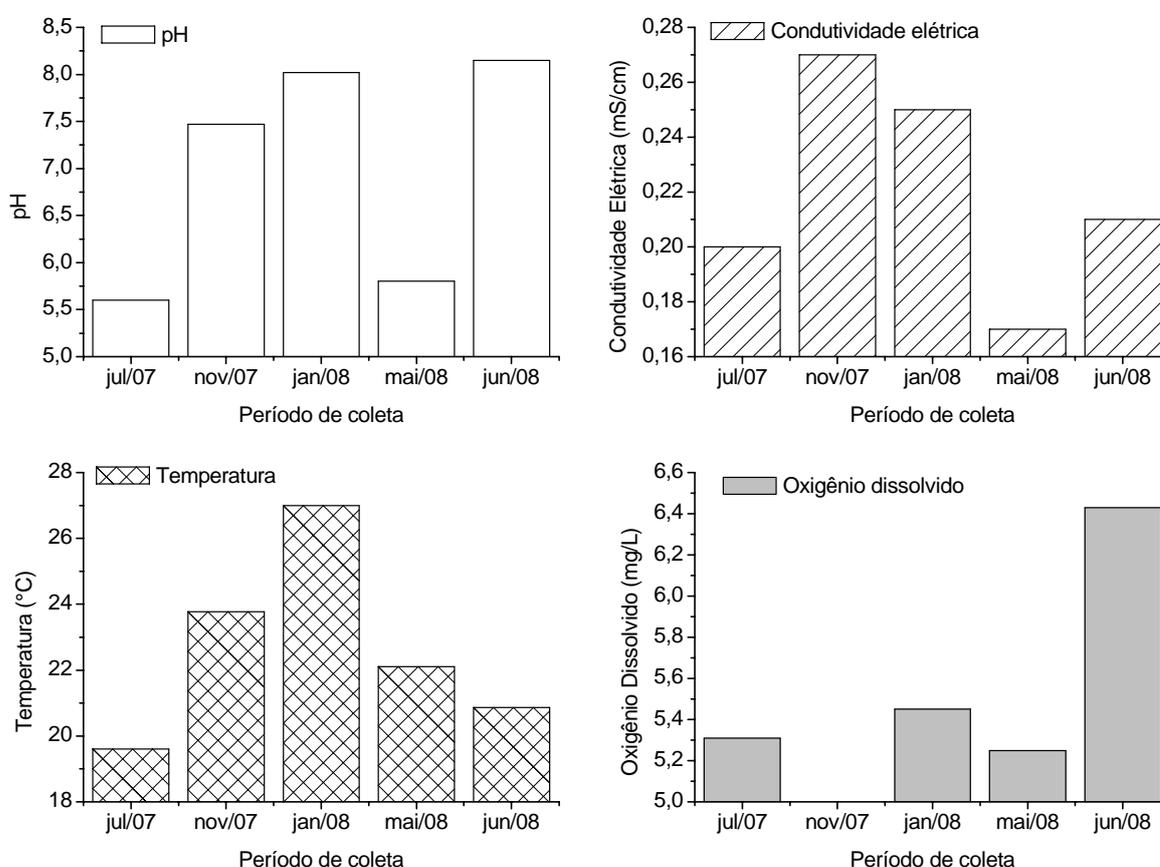


Figura 3: Valores de pH, condutividade elétrica (mS/cm), oxigênio dissolvido (mg/L) e temperatura da água (°C) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Os valores de oxigênio dissolvido registrados estiveram, na maioria das coletas, próximos, exceto em Junho/08, onde foi verificado o maior valor 6,43 mg/L, e em Novembro/07, na qual não foi possível o registro do valor devido a problemas no momento da coleta. Nos demais meses (Julho/07 e Janeiro e Maio/08) os valores de oxigênio dissolvido foram 5,31, 5,45 e 5,25 mg/L (Figura 3).

5.1.2 Limite da Zona Eufótica

Os valores de transparência da água e do limite da zona eufótica obtidos em cada coleta estão apresentados na figura 4 e tabela 3 (Anexos). Os resultados para o limite da zona eufótica tiveram uma variação ao longo do período de estudo. Os menores valores foram registrados na estação chuvosa (Novembro/07 e Janeiro/08) e os maiores valores no período de seca. O valor mínimo registrado para a zona eufótica foi de 3,78 metros (Novembro/07) e o máximo foi de 8,37 metros em Junho/08.

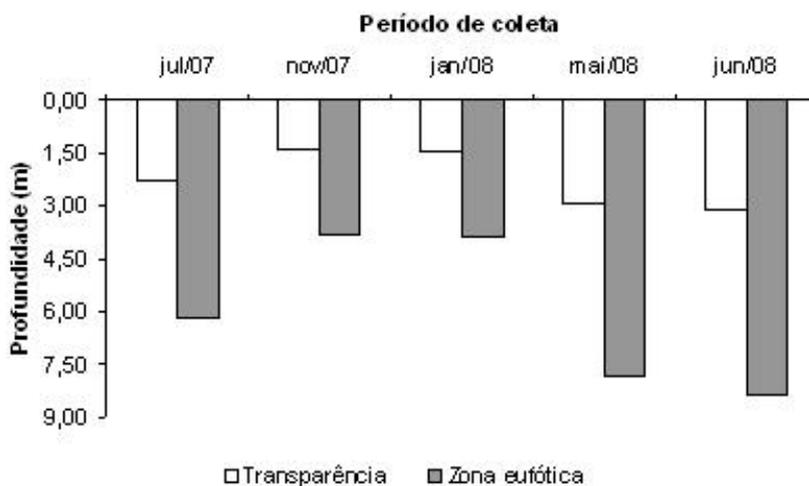


Figura 4: Valores da transparência da água (m) e limite da zona eufótica (m) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.1.3 Concentração de Nutrientes

5.1.3.1 Formas Nitrogenadas

Os resultados obtidos para as diferentes formas nitrogenadas orgânicas e inorgânicas encontradas no reservatório de Barra Bonita demonstraram variação temporal ao longo do

estudo. Os resultados calculados para as diversas formas nitrogenadas estão apresentadas na figura 5 e tabela 4 (Anexos).

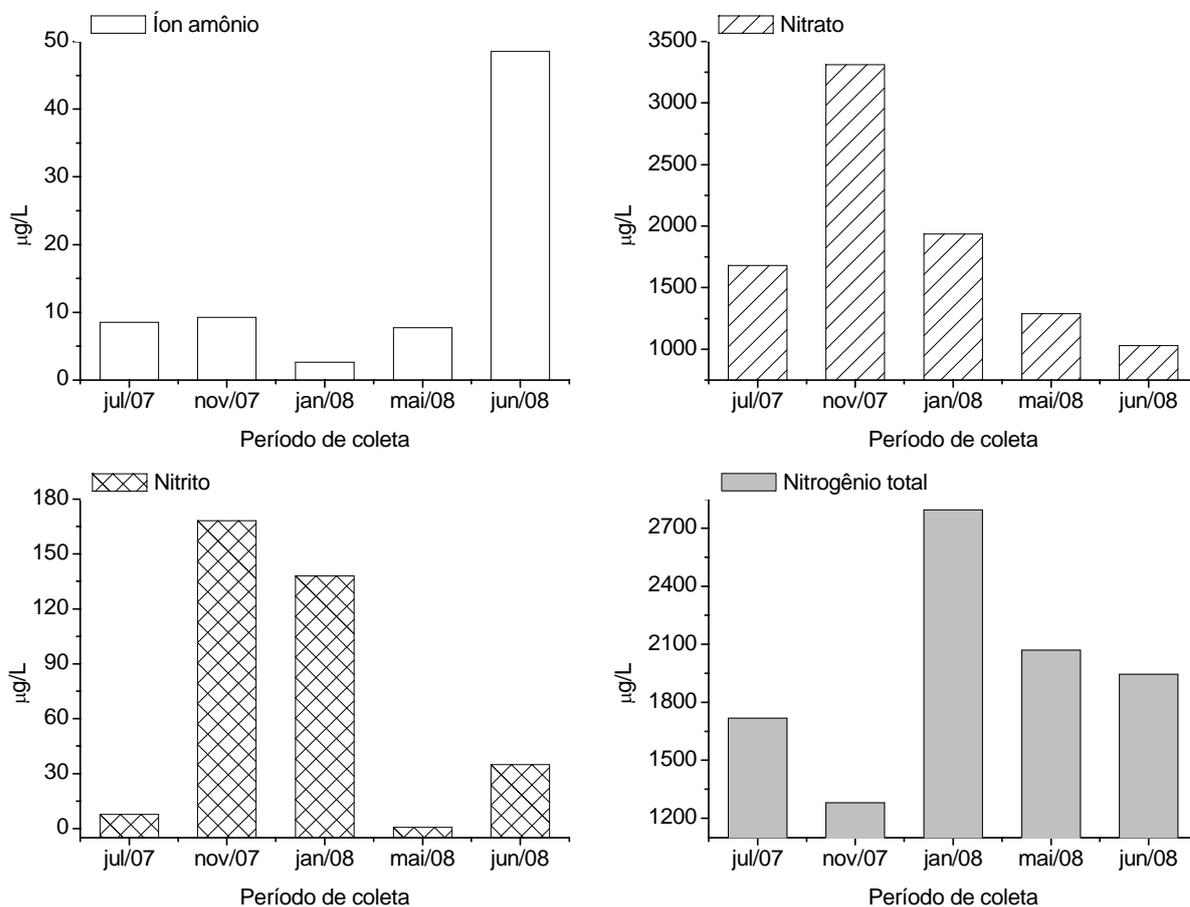


Figura 5: Valores das concentrações de nitrito ($\mu\text{g/L}$), nitrato ($\mu\text{g/L}$), íon amônio ($\mu\text{g/L}$) e nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Dentre as formas nitrogenadas, o íon amônio apresentou baixas concentrações em relação a outras formas. Os valores do íon amônio variaram entre 2,66 a 48,52 $\mu\text{g/L}$ (Figura 5). Por outro lado, os valores registrados de nitrato foram os maiores entre as formas nitrogenadas e variaram de 1029,85 a 3310,70 $\mu\text{g/L}$ (Figura 5).

As concentrações de nitrito apresentaram oscilações durante o período de estudo. A menor concentração deste íon foi registrada em Maio/08 (0,58 $\mu\text{g/L}$) e a maior – 168,14 $\mu\text{g/L}$ em Novembro/07 (Figura 5). Já as concentrações de nitrogênio total variaram de 1280,14 a 2793,48 $\mu\text{g/L}$ (Figura 5).

5.1.3.2 Formas fosfatadas

Os resultados referentes às diferentes formas fosfatadas demonstraram variabilidade temporal no reservatório de Barra Bonita. Todos os resultados obtidos estão na figura 6 e tabela 4 (Anexos).

As concentrações de fosfato inorgânico apresentaram variações expressivas entre seus valores. O maior valor de fosfato inorgânico – 127,6 $\mu\text{g/L}$, foi registrado em Novembro/07 e o menor – 27,03 $\mu\text{g/L}$ em Maio/08 (Figura 6).

Os resultados referentes ao fosfato total dissolvido tiveram variação semelhante ao do fosfato inorgânico. A menor concentração de fosfato total dissolvido foi registrada em Maio/08 com o valor de 48,24 $\mu\text{g/L}$ e a maior de 155,2 $\mu\text{g/L}$ em Novembro/07 (Figura 6).

Já os valores de fósforo total variaram de 83,28 $\mu\text{g/L}$ a 222,58 $\mu\text{g/L}$ no período de estudo. Os valores da concentração de fosfato orgânico foram calculados pela diferença entre os valores determinados para fosfato inorgânico e total dissolvido, tendo suas concentrações variando entre 3,36 e 64,44 $\mu\text{g/L}$ (Figura 6).

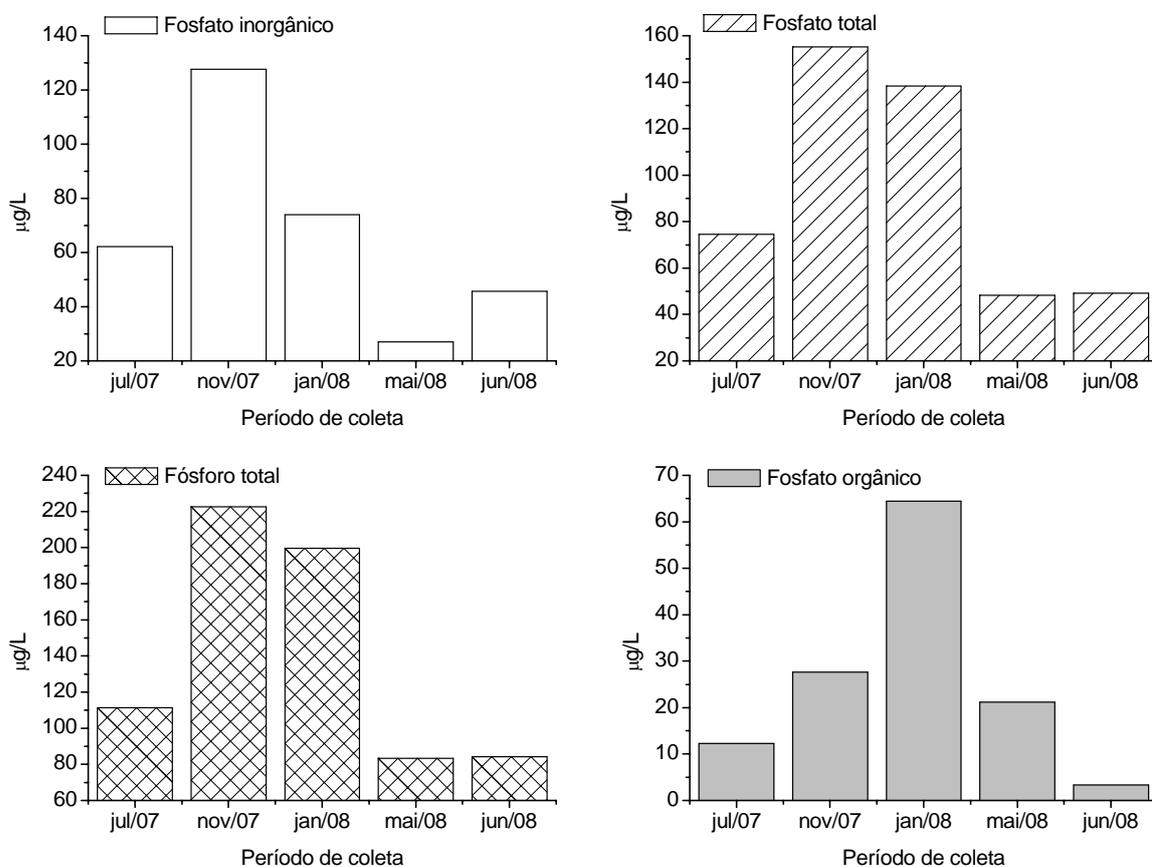


Figura 6: Concentrações de fosfato inorgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato orgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g/L}$) e fósforo total ($\mu\text{g/L}$) determinados para as amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita.

5.1.3.3 Silicatos

Os valores de silicato no reservatório de Barra Bonita estão apresentados na figura 7 e tabela 4 (Anexos). Os valores de silicato foram menores no período chuvoso (Novembro/07 e Janeiro/08) e maiores no período de seca (Julho/07 e Maio e Junho /08). O menor valor de silicato registrado foi de 3,5 mg/L (Novembro/07) e o maior 6,02 mg/L (Julho/07) (Figura 7).

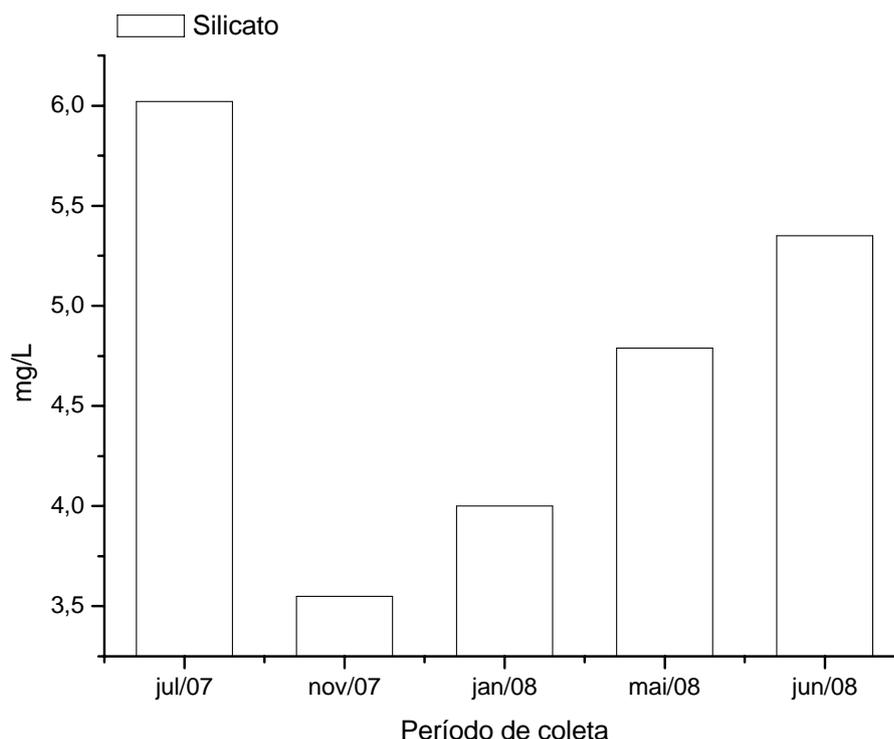


Figura 7: Valores de silicato (mg/L) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.2 Clorofila-a e Feofitina

Os resultados obtidos para as concentrações de clorofila-a e feofitina nas amostras do reservatório de Barra Bonita estão apresentadas na figura 8 e tabela 5 (Anexos).

As concentrações de clorofila-a foram maiores no período chuvoso com valores de 18,0 e 48,14 $\mu\text{g/L}$ (Novembro/07 e Janeiro/08, respectivamente) em comparação ao período seco. Em Janeiro/08 foi registrado o maior valor de feofitina (13,98 $\mu\text{g/L}$), já na coleta de Novembro/07 a concentração de feofitina foi de 3,98 $\mu\text{g/L}$ (Figura 8).

No período de seca foram registrados os menores valores de clorofila-a com concentrações de 3,77 e 4,44 $\mu\text{g/L}$ (Maio e Junho/08, respectivamente). Neste mesmo período as concentrações de feofitina foram superiores que as de clorofila-a e estes valores

foram as maiores concentrações de feofitina registradas, 8,54 e 6,21 $\mu\text{g/L}$ respectivamente (Figura 8).

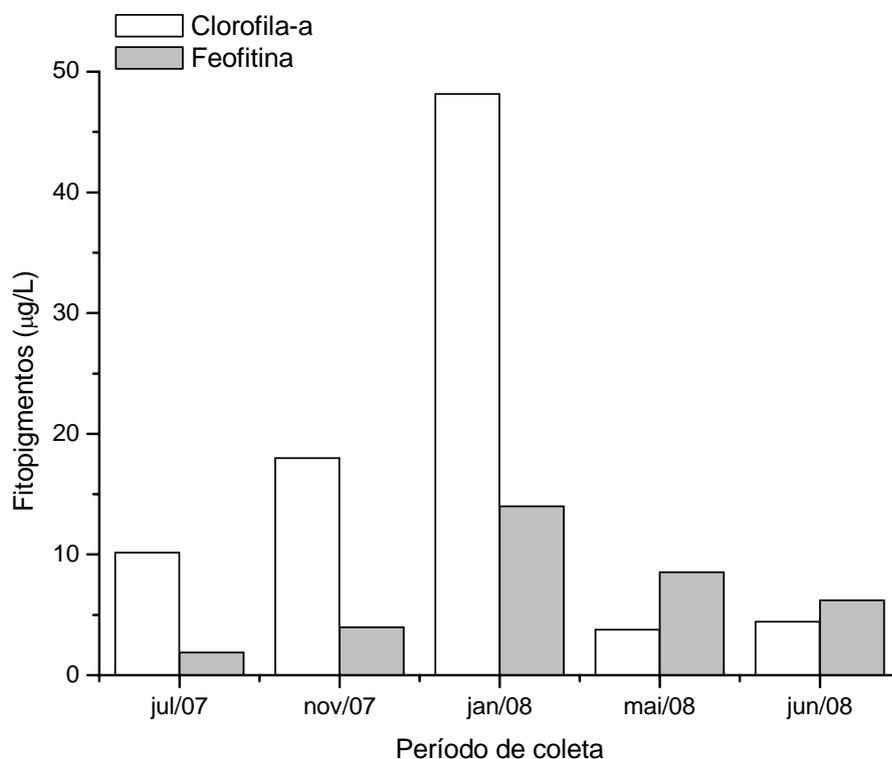


Figura 8: Valores de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) e feofitina ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Na figura 8 podemos verificar que em Julho/07 a concentração de clorofila-a não foi tão baixa como as demais no período seco com valor de 10,16 $\mu\text{g/L}$, isso pode ser devido às chuvas que ocorreram durante a semana de coleta. O valor de feofitina nesta coleta foi a menor durante o período de estudo, com concentração de 1,88 $\mu\text{g/L}$.

5.3 Índices de Estado Trófico

Os resultados obtidos para o índice de estado trófico e índice de estado trófico médio estão apresentados nas figuras 9 e 10 e tabela 6 (Anexo).

Avaliando os resultados o índice de estado trófico para a transparência de água (Secchi), verificou-se que houve uma variação entre seus valores durante o período de estudo. De modo geral o reservatório foi classificado como mesotrófico no período chuvoso (Novembro/07 e Janeiro/08), passando para oligotrófico no período seco (Julho/07, Maio e Junho/08) (Figura 9).

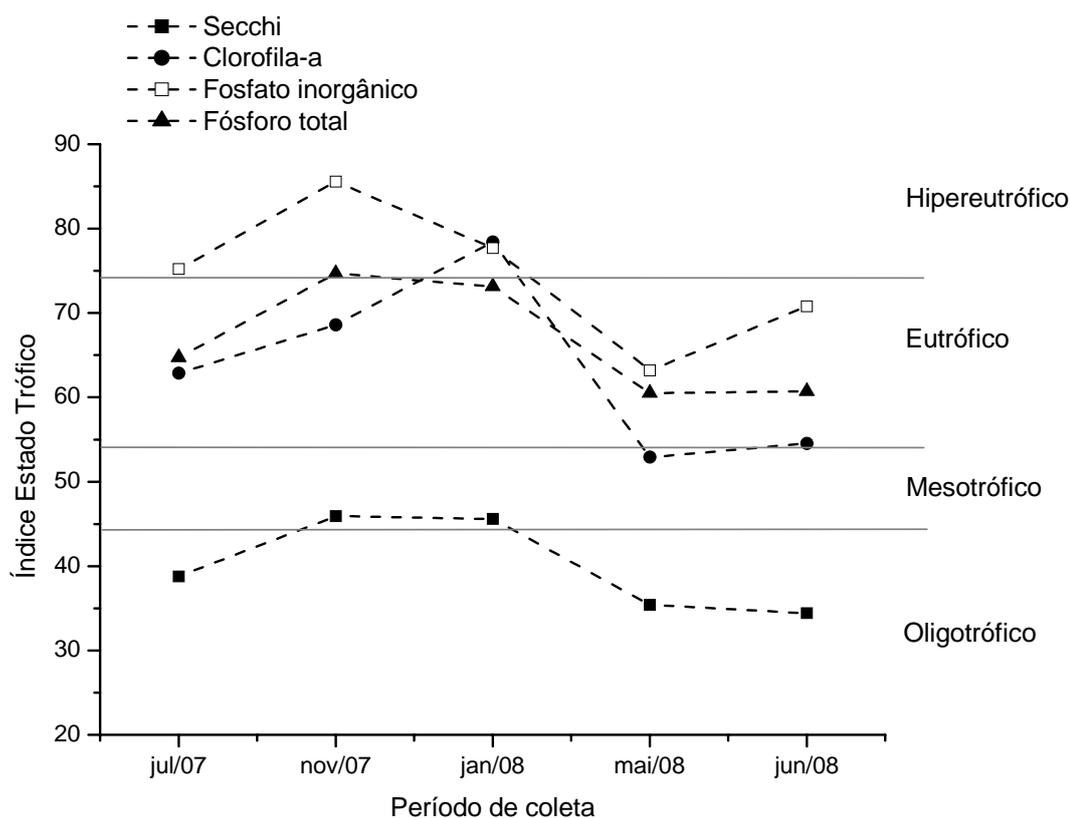


Figura 9: Valores do índice de estado trófico para Secchi, clorofila-a, fosfato inorgânico e fósforo total registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Para o índice de estado trófico de clorofila-a não foi encontrado nenhum padrão em relação à variabilidade de resultados. Segundo os dados de clorofila-a o reservatório de Barra Bonita foi classificado como hipereutrófico em Janeiro/08, mesotrófico em Maio/08 e eutrófico nas demais coletas (Figura 9).

O mesmo ocorreu no índice de estado trófico para o fosfato inorgânico. Seguindo este parâmetro o reservatório foi classificado como hipereutrófico nas coletas de Julho/07, Novembro/07 e Janeiro/08 e eutrófico nas coletas de Maio e Junho/08 (Figura 9).

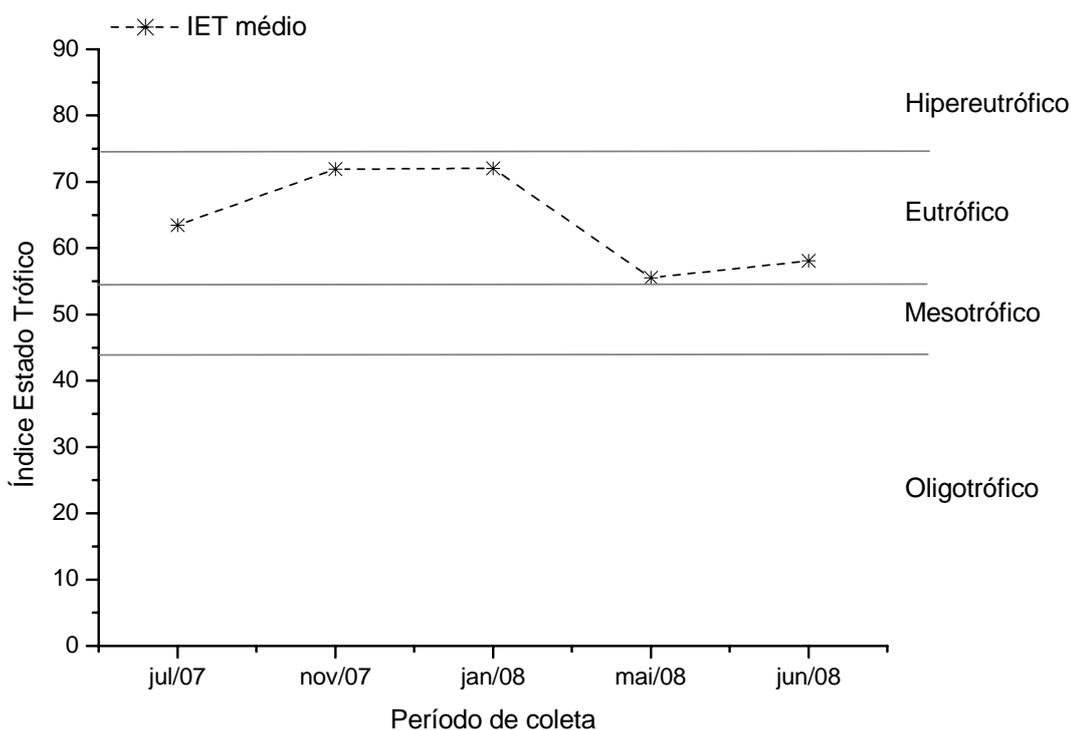


Figura 10: Valores do índice de estado trófico médio calculado durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Em relação ao fósforo total também não foi observado nenhum padrão temporal para os resultados relativo a este parâmetro, classificando o reservatório como hipereutrófico em Novembro/07 e eutrófico nas demais coletas (Figura 9). Os resultados obtidos para o índice de estado trófico médio para o reservatório de Barra Bonita foi eutrófico em todas as coletas (Figura 10).

5.4 Composição, Distribuição Temporal e Densidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita

5.4.1 Composição da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita

A partir das análises quantitativas das amostras da comunidade fitoplanctônica do reservatório de Barra Bonita, foram identificados 34 táxons, distribuídos em 4 classes (Quadro 1). A classe Chlorophyceae apresentou o maior número espécies, com 14 táxons, seguida da classe Cyanophyceae com 10 táxons, Bacillariophyceae com 6 táxons e Zygnemaphyceae com 4 táxons.

Quadro 1: Táxons registrados nas análises quantitativas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Cyanophyceae		
<i>Anabaena circinalis</i>	<i>Microcystis panniformes</i>	<i>Planktothrix</i> sp.
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	<i>Microcystis protocystis</i>	<i>Pseudanabaena mucicola</i>
Células livres de <i>Microcystis</i> spp.	<i>Phormidium</i> sp.	<i>Sphaerocavum</i> sp.
<i>Microcystis aeruginosa</i>		
Chlorophyceae		
<i>Actinastrum</i> sp.	<i>Micractinium</i> sp1	<i>Pediastrum tetras</i>
<i>Botriococcus braunii</i>	<i>Micractinium</i> sp2	<i>Scenedesmus</i> sp.
<i>Coelastrum microporum</i>	<i>Oocystis</i> sp.	<i>Tetraëdron</i> sp.
<i>Coelastrum reticulatum</i>	<i>Pediastrum duplex</i>	<i>Treubaria</i> sp.
<i>Eutetramorus</i> sp.	<i>Pediastrum simplex</i>	
Zygnemaphyceae		
<i>Closterium</i> sp.	<i>Staurastrum</i> sp2	<i>Staurastrum</i> sp3
<i>Staurastrum</i> sp1		
Bacillariophyceae		
<i>Aulacoseira ambígua</i>	<i>Acanthoceras</i> sp.	<i>Navicula</i> sp.
<i>Aulacoseira granulata</i>	<i>Cyclotella</i> sp.	<i>Urosolenia</i> sp.

5.4.2 Distribuição Temporal e Abundância Relativa das Diferentes Classes Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita

Os resultados referentes à distribuição temporal das classes fitoplanctônicas presentes no reservatório de estudo estão presentes na figura 11 e tabela 7 (Anexos).

Em uma análise temporal das amostras coletadas verificou-se uma predominância da classe Cyanophyceae, com valores entre 73,5 a 97,4% da composição da comunidade fitoplanctônica analisada (Figura 11). Os representantes da classe Bacillariophyceae contribuíram com 2,4 a 21,1% da composição total, seguida da classe Chlorophyceae com valores entre 0,1 a 9,8% e da classe Zygnemaphyceae com 0,1 a 1,1%.

Em Julho/07 foram registrados um total de 11 táxons, sendo 6 pertencentes a classe Cyanophyceae, 1 a Chlorophyceae e 4 a Bacillariophyceae. Já em Novembro/07 foi registrado o maior número de táxons (28), deste total 13 pertenciam a classe Chlorophyceae, 9 as Cyanophyceae, 4 as Bacillariophyceae e 2 as Zygnemaphyceae (Tabela 7 – Anexos).

Na coleta de Janeiro/08 foram registrados 11 táxons, destes 7 pertencentes a classe Cyanophyceae, as classes Chlorophyceae e Zygnemaphyceae tiveram um representante cada e 2 táxons pertencentes a classe Bacillariophyceae. Em Maio/08 foram registrados 21 táxons, sendo 9 pertencentes a classe Cyanophyceae, 5 a Bacillariophyceae, 4 a Chlorophyceae e 3 a

Zygnemaphyceae. Na última coleta (Junho/08) foram registrados 18 táxons, a classe com maior número de táxons foi a Cyanophyceae (9 táxons), seguida da Bacillariophyceae, Chlorophyceae e Zygnemaphyceae (5, 2 e 2 respectivamente) (Tabela 7 – Anexos).

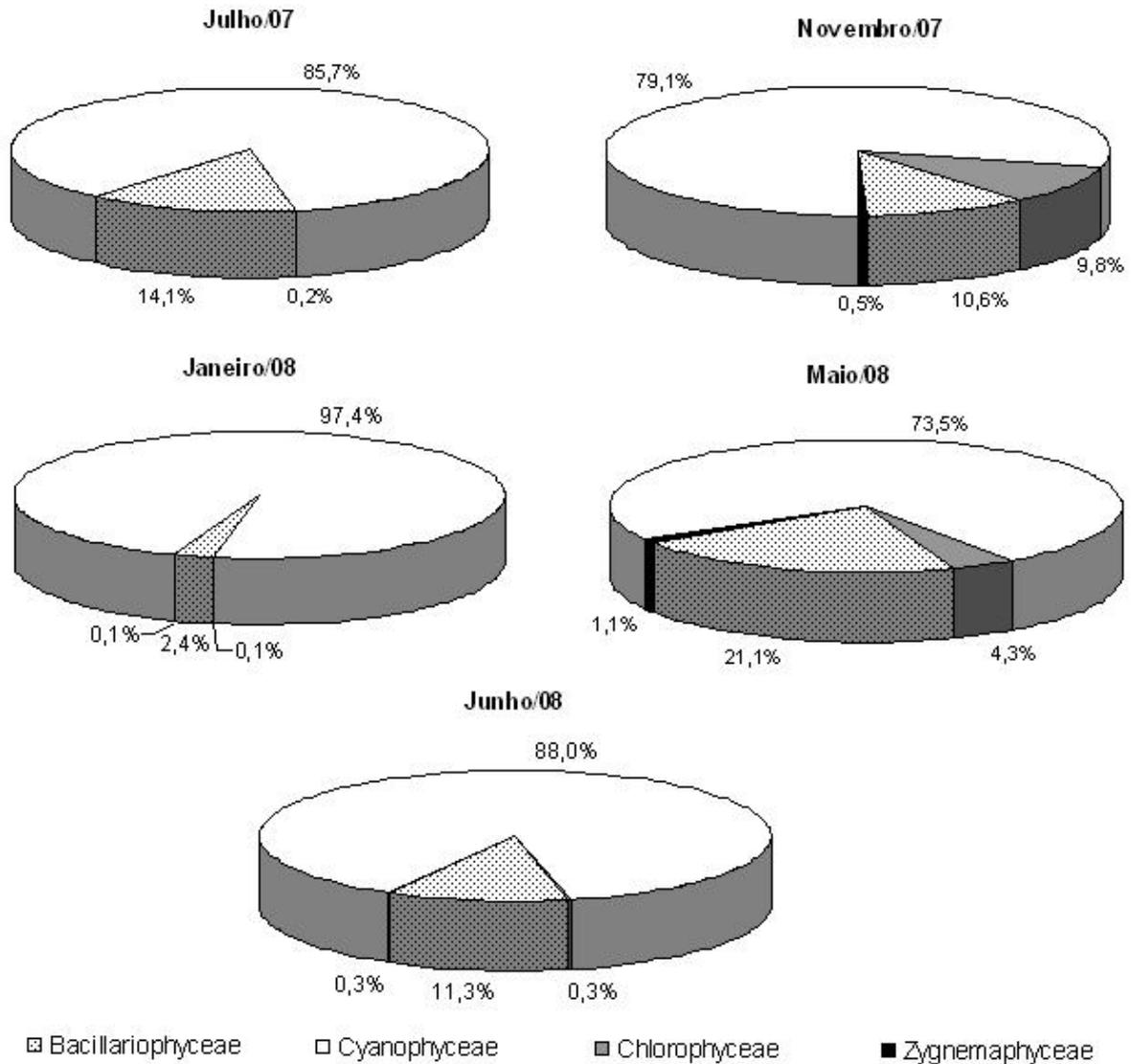


Figura 11: Abundância relativa e variação temporal das classes fitoplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.4.3 Densidade das Classes Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita

Os valores obtidos para as densidades das classes fitoplanctônicas no reservatório de Barra Bonita estão apresentados na figura 12 e tabela 7 (Anexos).

Os resultados referentes às densidades fitoplanctônicas demonstraram variações temporais ao longo do período de estudo, sendo maiores no período chuvoso (Novembro/07 e Janeiro/08) e menores no período de seca (Julho/07, Maio e Junho/08).

Dentre as classes fitoplanctônicas, a classe Cyanophyceae apresentou a maior densidade, seguida pela Bacillariophyceae, Chlorophyceae e Zygnemaphyceae. Apenas a classe Chlorophyceae apresentou uma variabilidade temporal nos valores de sua densidade, porém não foi observado um padrão.

Avaliando os dados de densidade obtidos, verificou-se que a maior densidade total ocorreu em Janeiro/08 (15.749,99 org/L). Na qual a classe Cyanophyceae teve a maior densidade (15.346,15 org./L), a menor densidade foi da classe Zygnemaphyceae (12,82 org/L). A menor densidade total ocorreu em Maio/08 (2535,63 org/L), na qual novamente a classe Cyanophyceae (1863,25 org/L) teve a maior densidade, e a classe Zygnemaphyceae teve a menor densidade (28,49 org/L).

Em Julho/07 a densidade fitoplanctônica total foi de 2871,81 org./L, nesta coleta foram identificados organismos de apenas 3 classes: Cyanophyceae (2461,55 org/L), Bacillariophyceae (405,13 org/L) e Chlorophyceae (5,13 org/L).

Na coleta de Novembro/07 a classe com maior densidade foi Cyanophyceae com 2903,84 org/L, seguida da classe Bacillariophyceae (391,02 org/L), Chlorophyceae (358,96 org/L) e Zygnemaphyceae (19,23 org/L).

A análise da comunidade fitoplanctônica em Junho/08 demonstrou que a classe com maior densidade foi Cyanophyceae (2883,2 org/L), seguida da classe Bacillariophyceae (370,37 org/L) e das classes Chlorophyceae e Zygnemaphyceae que tiveram as menores densidades (11,4 org/L ambas).

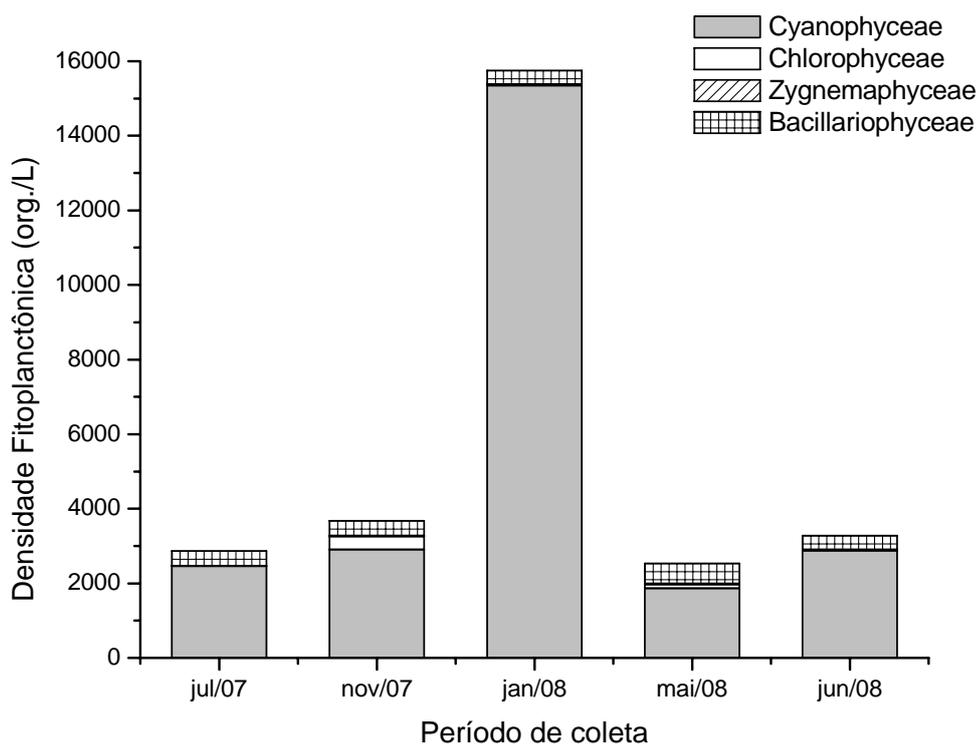


Figura 12: Densidade das classes fitoplanctônicas (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.4.4 Distribuição e Densidade dos Táxons Fitoplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita - com ênfase nas cianobactérias

Os resultados referentes a distribuição e densidade dos diferentes táxons fitoplanctônicos encontrados no reservatório de Barra Bonita estão apresentados nas tabelas de 8 a 12 (Anexos). Uma análise considerando os diferentes táxons são apresentados a seguir.

Chlorophyceae

Os valores referentes à densidade dos representantes da classe Chlorophyceae demonstraram que os taxa *Actinastrum* sp., *Coelastrum microporum* e *Oocystis* sp. foram os mais abundantes nas amostras analisadas. Já as espécies *Botriococcus braunii*, *Micractinium* sp1 e sp2 e *Treubaria* sp. apresentaram as menores densidades no reservatório, durante o período de estudo (Tabelas de 8 a 12).

Em Julho/07 e Janeiro/08 foi identificado apenas um táxon nas amostras de cada uma dessas coletas, *Micractinium* sp1 e *Oocystis* sp. (5,13 e 19,23 org/L, respectivamente). Já em

Junho/08 foram identificadas duas espécies de clorofíceas, ambas com a mesma densidade fitoplanctônica – 5,7 org/L, *Micractinium* sp1 e *Actinastrum* sp.

Coelastrum microporum e *Oocystis* sp. foram as espécies com a maior densidade em Novembro/07 (76,92 org/L ambas) e as espécies com menor densidade foram *Botriococcus braunii*, *Micractinium* sp2 e *Treubaria* sp. (6,41 org/L ambas). Em Maio/08 a maior densidade registrada foi do táxon *Actinastrum* sp. (62,68 org/L) e a menor dos taxa *Oocystis* sp. e *Eutetramorus* sp. (11,4 org/L).

Bacillariophyceae

Os valores referentes à densidade dos representantes da classe Bacillariophyceae demonstraram que os taxa *Navícula* sp. e *Aulacoseira granulata* foram os mais abundantes nas amostras analisadas. Já *Acanthoceras* sp. e *Urosolenia* sp. apresentaram as menores densidades no reservatório, durante o período de estudo (Tabelas de 8 a 12).

Na coleta de Julho/07, a classe com maior densidade foi *Aulacoseira granulata* (205,13 org/L) e a com menor foi *Aulacoseira ambígua* (30,77 org/L). *Cyclotella* sp. foi a espécie com maior densidade em Novembro/07 (192,31 org/L), e *Aulacoseira granulata* a de menor densidade (32,05 org/L).

Em Janeiro/08 foram identificados apenas dois taxa de classe Bacillariophyceae, *Navícula* sp. com maior densidade (352,56 org/L) e *Cyclotella* sp. com menor densidade (19,23 org/L).

O táxon com maior densidade na coleta de Maio/08 foi *Aulacoseira granulata* (258,97 org/L) e o de menor densidade foi *Acanthoceras* sp. (5,7 org/L). Novamente em Junho/08 a espécie *Aulacoseira granulata* teve a maior densidade (199,43 org/L), sendo que a menor densidade foi da espécie *Urosolenia* sp. (11,4 org/L)

Zygnemaphyceae

A classe Zygnemaphyceae foi a que apresentou o menor número de representantes e menores densidades também (Tabela 7). Em Julho/07 não foram identificados representantes desta classe, na coleta de Janeiro/08 foi identificada apenas uma espécie *Staurastrum* sp2 (12,82 org/L). Na coleta de Novembro/07 o táxon com maior densidade foi *Staurastrum* sp1 (12,82 org/L) e o com menor densidade foi *Closterium* sp. (6,41 org/L).

Closterium sp. foi a espécie com maior densidade em Maio/08 (17,09 org/L) e as espécies com menor densidade foram *Staurastrum* sp2 e sp3 (5,7 org/L). Em Junho/08 as espécies *Closterium* sp. e *Staurastrum* sp1 tiveram a mesma densidade: 5,7 org/L.

Cyanophyceae

Durante o período de estudo foram encontradas florações de cianobactérias no reservatório de Barra Bonita. Estas florações apresentaram uma composição mista. Foram encontradas 10 espécies de cianobactérias no reservatório de estudo, 5 espécies da ordem *Chroococcales* (células livres de *Microcystis* spp., *M. aeruginosa*, *M. panniformes*, *M. protocystis* e *Sphaerocavum* sp.), 2 da ordem *Nostocales* (*Anabaena circinalis* e *Cylindrospermopsis* sp.) e 3 da ordem *Oscillatoriales* (*Phormidium* sp., *Planktothrix* sp. e *Pseudanabaena mucicola*). Os resultados referentes à composição, distribuição e densidade das espécies de cianobactérias presentes nos eventos de florações no reservatório de estudo estão apresentados na figura 13 e tabelas de 8 a 12 (Anexos).

Os valores referentes à densidade dos representantes da classe Cyanophyceae demonstraram que os taxa *Microcystis* spp., *Microcystis aeruginosa*, e *Pseudanabaena mucicola* foram as espécies mais abundantes nas amostras analisadas. Já as espécies *Anabaena circinalis*, *Cylindrospermopsis* sp., *Microcystis protocystis*, *Phormidium* sp. e *Sphaerocavum* sp. apresentaram as menores densidades no reservatório, durante o período de estudo (Tabelas de 8 a 12).

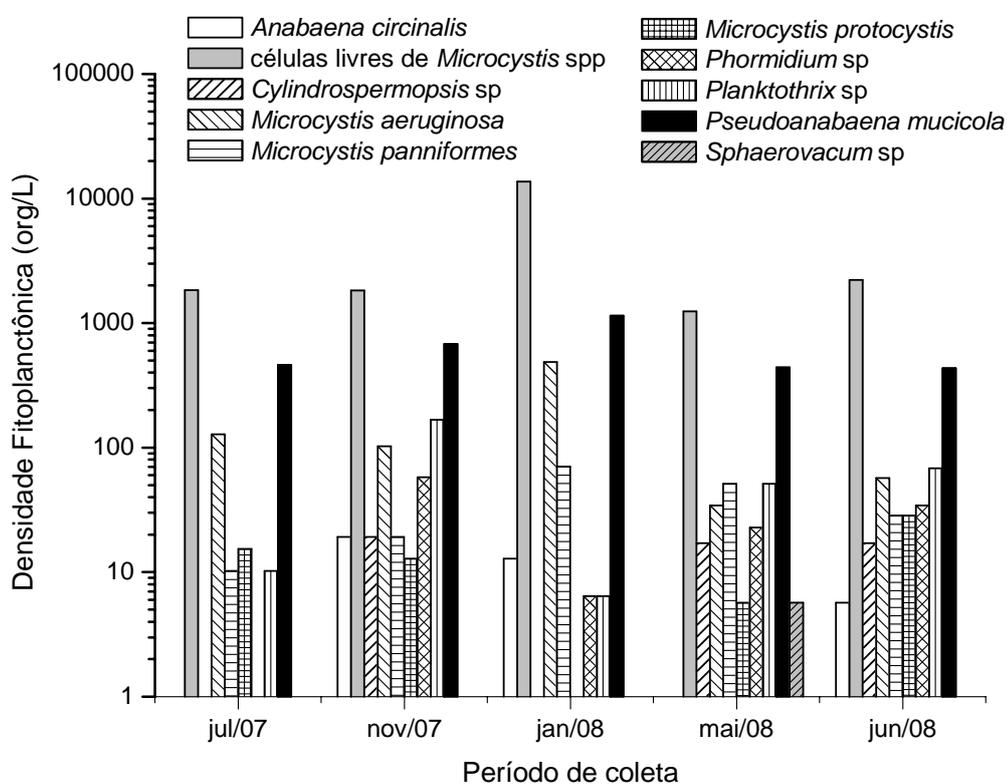


Figura 13: Densidades das espécies de cianobactérias (colônias – filamentos/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

A maior densidade de cianobactérias ocorreu em Janeiro/08 (15.346,2 org/L), a menor densidade ocorreu em Maio/08 (1.863,3 org/L). Em Julho/07 foram identificadas 6 espécies de cianobactérias, sendo a menor densidade a dos táxons *Microcystis panniformes* e *Planktothrix* sp. (10,3 org/L). Já em Novembro/07 foram registrados 9 táxons de cianobactérias, e a menor densidade foi da espécie *Microcystis protocystis* (12,8 org/L). Os resultados da contagem mostraram que em todas as coletas (Julho/07 a Junho/08) as células livres de *Microcystis* spp. registraram as maiores densidades (1.236,5 a 13.621,8 org/L) (Figura 13).

Na coleta de Janeiro/08 foram registrados 7 taxa de cianofíceas, destes *Phormidium* sp. e *Planktothrix* sp. apresentaram as menores densidades (6,4 org/L). *Sphaerocavum* sp. e *Microcystis protocystis*, foram às espécies que apresentaram as menores densidades (5,7 org/L) na coleta de Maio/08, na qual foram registradas 9 espécies de cianobactérias. No mês de Junho/08 foram novamente identificados 9 táxons de cianobactérias, sendo que a menor densidade registrada (5,7 org/L) foi da espécie *Anabaena circinalis* (Figura 13).

5.4.4.1 Densidade (células/mL) de Cianobactérias nas Florações do Reservatório de Barra Bonita

Os resultados obtidos no experimento de digestão da bainha de mucilagem das cianobactérias, em especial as do gênero *Microcystis*, demonstraram variações temporais dos valores de densidade.

A maior densidade de células de cianobactérias (182.083 céls/mL) ocorreu em Janeiro/08 e a menor em Maio/08 (9.583,0 céls/mL). Na coleta de Julho/07 foi registrada uma densidade de 140.000 céls/mL de cianobactérias, já em Novembro/07 essa densidade foi de 16.250 céls/mL, e na última coleta, em Junho/08 a densidade celular de cianobactérias foi de 15.000 céls/mL (Figura 14 e Tabela 14).

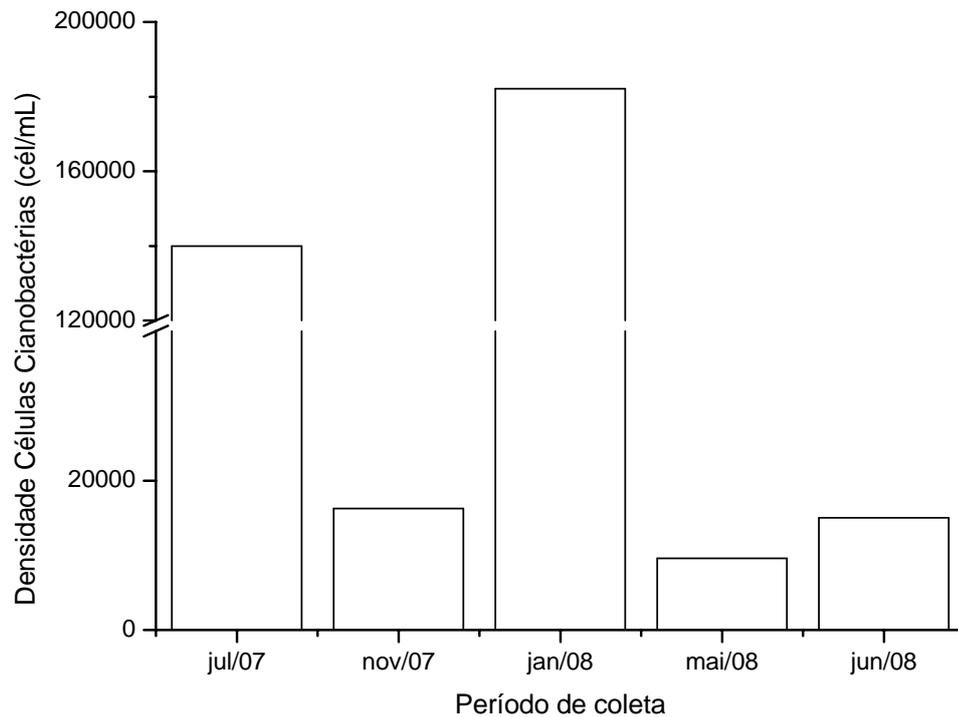


Figura 14: Densidades celular de cianobactérias (cél/mL) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.4.5 Riqueza e Diversidade das Comunidades Fitoplanctônicas no Reservatório de Barra Bonita

5.4.5.1 Riqueza

Os maiores valores de riqueza da comunidade fitoplanctônica foram registrados em amostras de água coletada no reservatório de Barra Bonita, SP nos períodos intermediários do ciclo hidrológico (entre a estação de chuva e seca). Durante o período de coleta a maior riqueza (28) foi registrada em Novembro/07, nesta coleta a classe com o maior número de táxons foi Chlorophyceae, com 13 e a menor foi a classe Zygnemaphyceae (2 *taxa*) (Figura 15 e Tabela 13 - Anexos).

Os menores valores de riqueza registrados ocorreram em Julho/07 e Janeiro/08, cada qual com 11 táxons, destes 6 e 7 respectivamente pertencentes a classe Cyanophyceae, a que teve a maior riqueza e a menor riqueza foi da classe Chlorophyceae (1) em Julho/07 e Chlorophyceae e Zygnemaphyceae (1 ambas) em Janeiro/08.

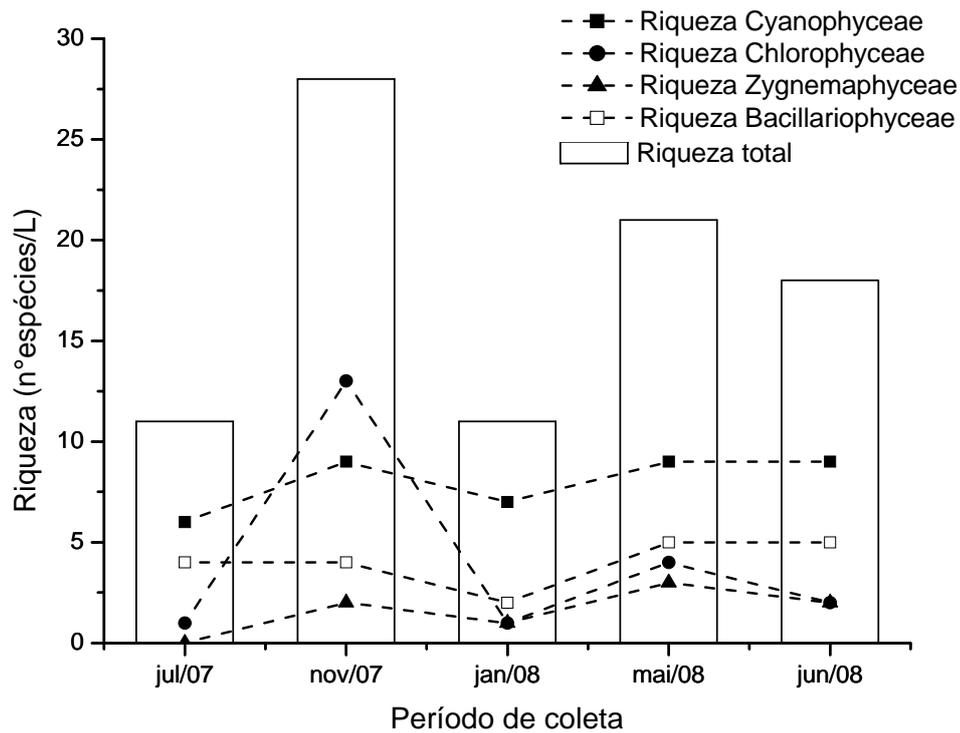


Figura 15: Riqueza de organismos fitoplancônicos (nº espécies/L) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Em Maio/08 a riqueza registrada foi de 21, sendo que, novamente, a classe Cyanophyceae teve o maior número de taxa (9) e a classe Zygnemaphyceae o menor (3). O mesmo ocorreu na coleta de Junho/08, na qual as cianofíceas foram representadas por 9 *taxa* e as zignemafíceas e clorofíceas por apenas 2 (Figura 15 e Tabela 13).

5.4.5.2 Diversidade

Os resultados obtidos para a diversidade da comunidade fitoplancônica do reservatório de Barra Bonita, segundo o índice de Shannon, mostraram que houve uma pequena variação entre seus valores ao longo do período de estudo. De modo geral a diversidade foi maior nos períodos intermediários do ciclo hidrológico (entre os períodos de seca e chuva) (Figura 16 e Tabela 13 - Anexos). A maior diversidade foi registrada em Novembro/07 (0,83) e a menor em Janeiro/08 (0,25).

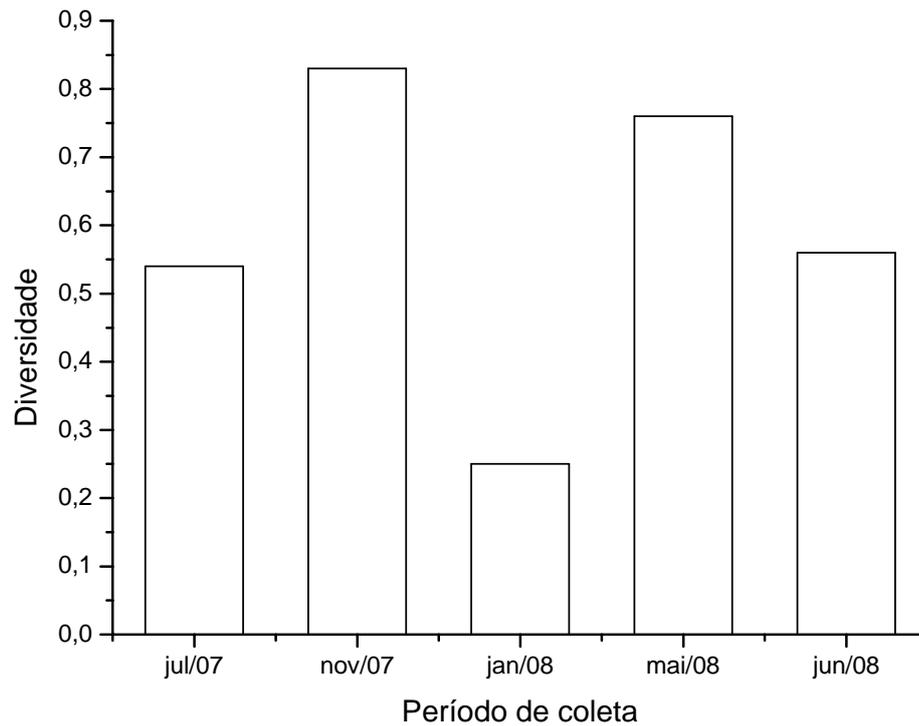


Figura 16: Diversidade de organismos fitoplanctônicos registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Quando comparamos os resultados de diversidade e riqueza de espécies presentes na amostras, verifica-se uma similaridade entre os dados. Ocorreu uma exceção durante as coletas (Janeiro/08), sendo considerado um caso isolado. Os resultados referentes a comparação entre os dados de riqueza de espécies e diversidade estão apresentados na figura 17 e tabela 13 (Anexos).

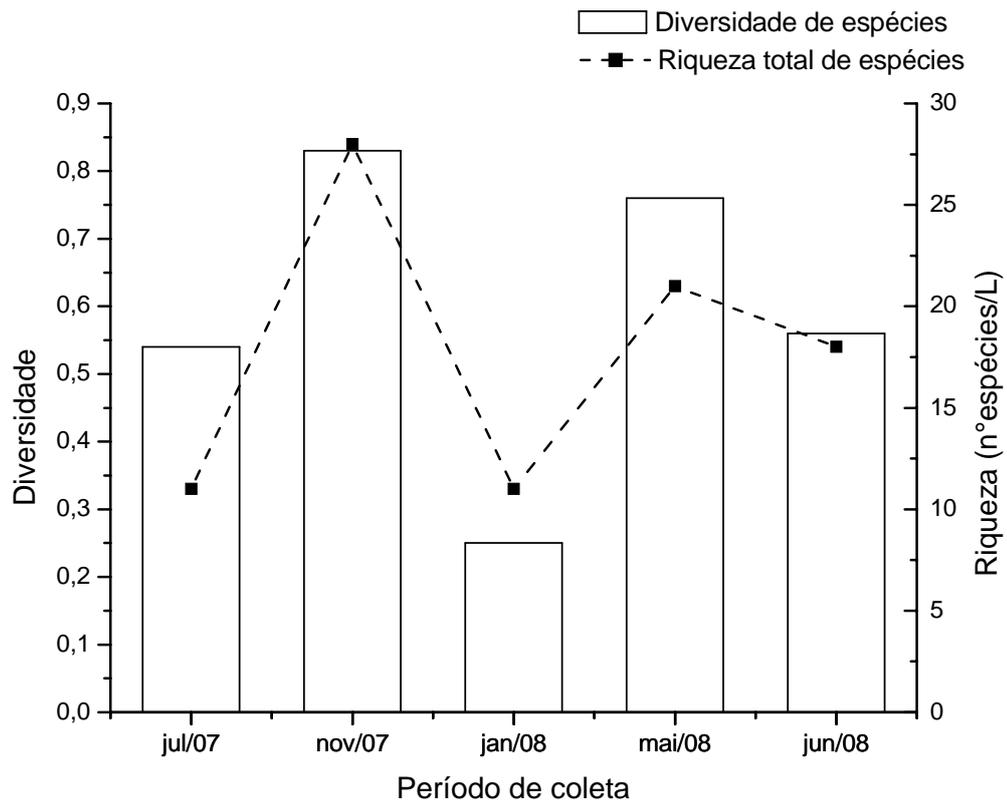


Figura 17: Diversidade e riqueza (n°espécies/L) dos organismos fitoplanctônicos registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.5 Composição, Distribuição Temporal e Densidade da Comunidade Protozooplancônica no Reservatório de Barra Bonita

5.5.1 Composição da Comunidade Protozooplancônica no Reservatório de Barra Bonita

A partir das análises quantitativas das amostras da comunidade protozooplancônica do reservatório de Barra Bonita, foram identificados 25 *taxa*, distribuídos em 2 classes (Ciliata e Sarcodina) e 7 grupos (Quadro 2). A classe Ciliata apresentou o maior número de grupos (5) e espécies, com 23 *taxa*, seguida da classe Sarcodina com 2 grupos e *taxa*.

Quadro 2: *Taxa* registrados nas análises quantitativas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Ciliata		
Gymnostomatida		
<i>Askenasia chlorelligera</i>	<i>Enchelys gasterosteus</i>	<i>Mesodinium pulex</i>
<i>Askenasia volvox</i>		
Hymenostomata		
<i>Cinetochilum margaritaceum</i>		
Oligotrichida		
<i>Halteria bifurcada</i>	<i>Limnostrombidium viride</i>	<i>Rimostrombidium sp</i>
<i>Halteria grandinella</i>	<i>Pelagostrombidium fallax</i>	<i>Strobilidium caudatum</i>
<i>Limnostrombidium pelagicum</i>	<i>Pelagostrombidium mirabile</i>	<i>Strobilidium humile</i>
Peritrichia		
<i>Epistylis coronata</i>	<i>Trichodina pediculus</i>	<i>Vorticella campanula</i>
<i>Epistylis sp</i>	<i>Vorticella aquadulcis</i>	
Prostomatida		
<i>Coleps elongatus</i>	<i>Urotricha armata</i> ou <i>U. platystoma</i>	<i>Urotricha spp</i>
<i>Coleps hirtus hirtus</i>		
Sarcodina		
Heliozoida		
<i>Raphidocystis sp</i>		
Testacealobosea		
<i>Arcella vulgaris</i>		

5.5.2 Distribuição Temporal e Abundância Relativa dos Grupos Protozooplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita

Os resultados referentes à distribuição temporal dos grupos protozooplanctônicos presentes no reservatório de estudo estão presentes na figura 18 e tabela 15 (Anexos).

Em uma análise temporal das amostras coletadas verificou-se a predominância de Oligotrichida, com 18 a 67% da composição da comunidade protozooplanctônica analisada (Figura 18) e em seguida Peritrichia, representando 10 a 74%. Os Gymnostomatida contribuíram com 1 a 28% da composição total, seguidos dos Prostomatida com valores entre 1 a 11%. Os Heliozoida, Hymenostomata e Testacealobosea foram identificadas em apenas uma das cinco coletas realizadas e contribuíram respectivamente com 1, 3 e 2% da composição da comunidade protozooplanctônica (Figura 18).

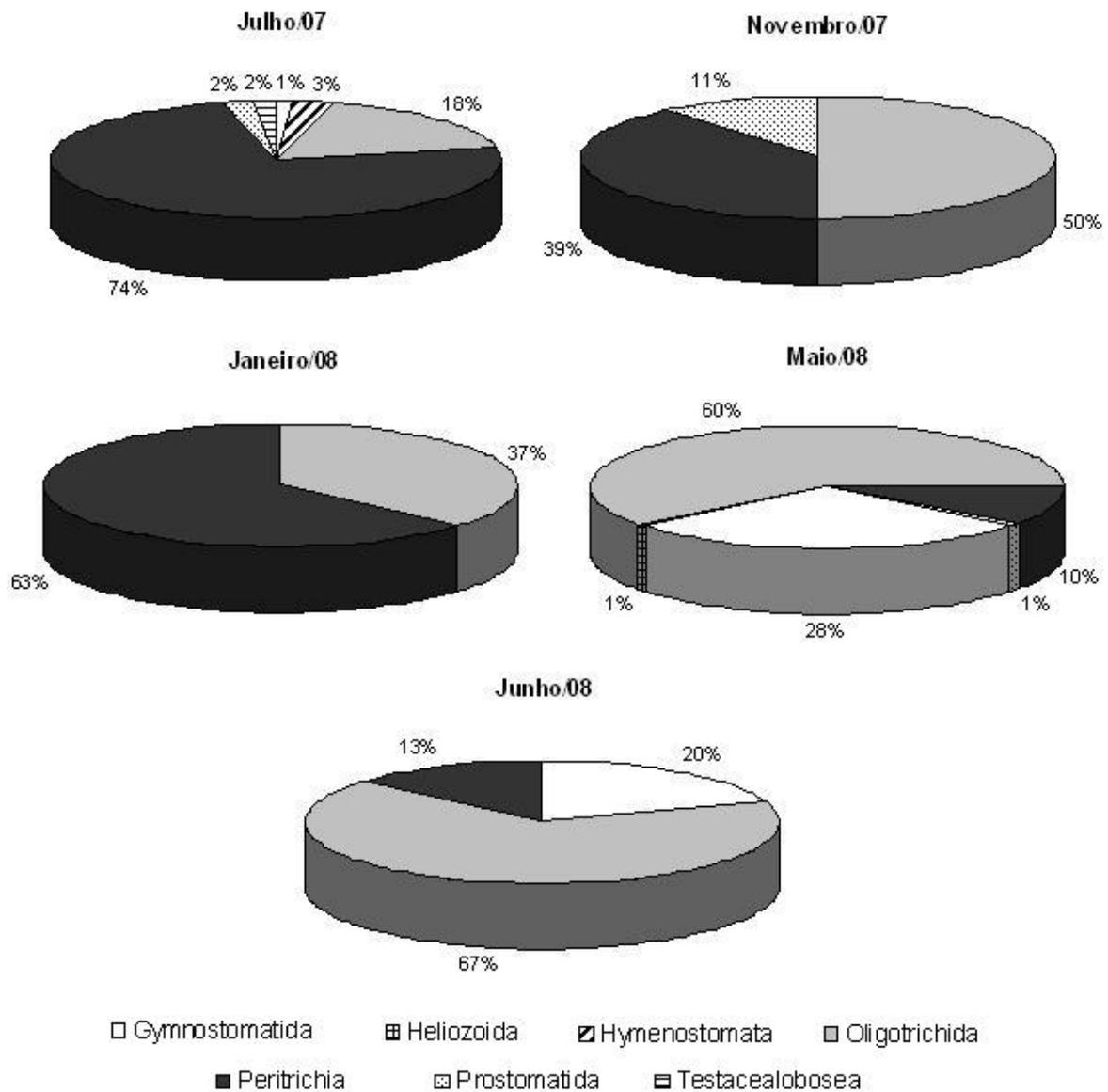


Figura 18: Abundância relativa e variação temporal dos organismos protozooplânctônicos (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Em Julho/07 foram registrados um total de 12 *taxa*, sendo 4 pertencentes a Peritrichia, 3 aos Oligotrichida, 2 aos Gymnostomatida e 1 aos Prostomatida, Hymenostomata e Testacealobosea. Na coleta de Novembro/07 foram registrados 10 *taxa*, deste total 5 pertenciam aos Oligotrichida, 3 aos Prostomatida e 2 aos Peritrichia.

A coleta com o menor número de *taxa* ocorreu em Janeiro/08, na qual foram registrados 4 *taxa*, destes 3 pertencentes aos Oligotrichida e 1 táxon aos Peritrichia. Já em Maio/08 foi registrado o maior número de *taxa* (14), sendo 7 pertencentes aos Oligotrichida, 4 aos Prostomatida e 1 aos grupos Gymnostomatida, Heliozoida e Peritrichia. Na última coleta (Junho/08) foram registrados 11 *taxa*, o grupo com maior número de *taxa* foi Oligotrichida (7

taxa), seguido por Gymnostomatida e Peritrichia (3 e 1 respectivamente).

5.5.3 Densidade dos Grupos Protozooplantônicos no Reservatório de Barra Bonita

Os valores obtidos para as densidades dos grupos protozooplantônicos no reservatório de Barra Bonita estão apresentados na figura 19 e tabelas de 16 a 20 (Anexos). Os resultados referentes às densidades protozooplantônicas demonstraram variações temporais ao longo do período de estudo, porém não foi notado nenhum padrão.

Dentre os grupos protozooplantônicos, os Oligotrichida apresentaram a maior densidade, seguidos pelos Peritrichia, Gygnnostomatida, Prostomatida, Hymenostomata, Testacealobosea e Heliozoida.

Avaliando os dados de densidade total de protozoários obtidos, verificou-se que a maior densidade ocorreu em Janeiro/08 (2.664,2 org/L). Nesta coleta os Peritrichia tiveram a maior densidade (1.685,3 org/L) e a menor foi dos Oligotrichida (978,9 org/L).

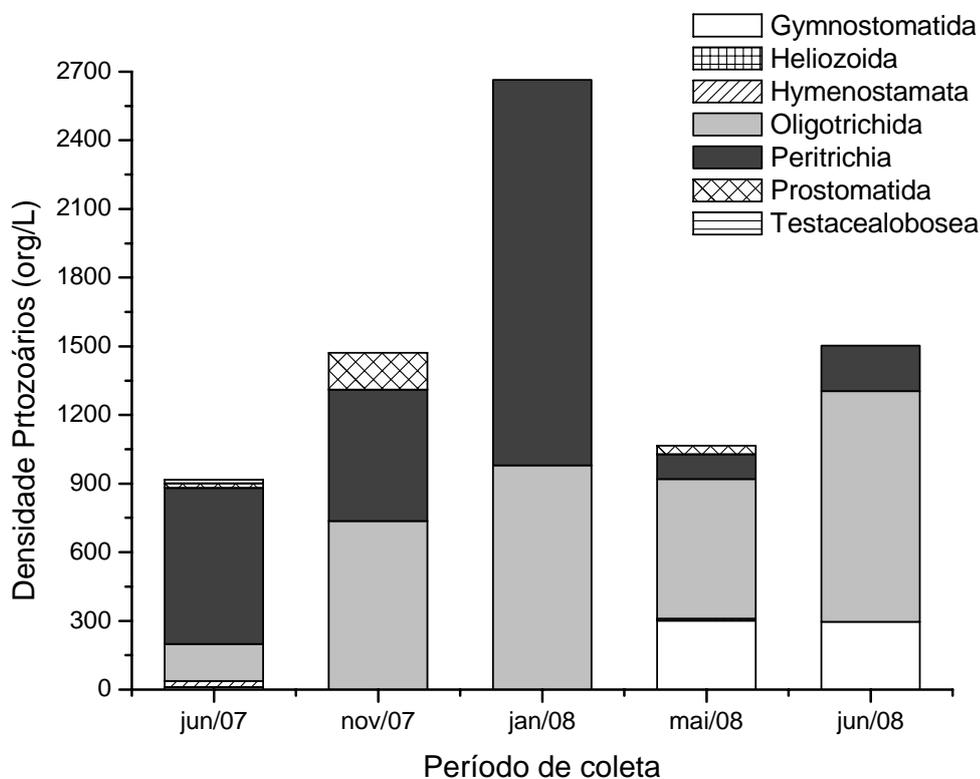


Figura 19: Densidade dos organismos protozooplantônicos (org/L) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

A menor densidade total ocorreu em Julho/07 (917,4 org/L), os Gymnostomatida tiveram a menor densidade (10,5 org/L) e os Peritrichia a maior (682 org/L).

Em Maio/08 a densidade protozooplanctônica total foi de 1.064,9 org/L, na qual Oligotrichida teve a maior densidade (610,4 org/L), e os Heliozoidea tiveram a menor densidade (8,8 org/L). Na coleta de Novembro/07 os Oligotrichidas tiveram a maior densidade (736 org/L), seguidos dos Peritrichia (573,71 org/L) e Prostomatida (161,3 org/L). Em Junho/08 a maior densidade foi dos Oligotrichida (1.008,3 org/L), seguidos pelos Gymnostomatida (296,1 org/L) e Peritrichia (199 org/L) (Figura 19).

5.5.4 Distribuição e Densidade dos Táxons Protozooplanctônicos no Reservatório de Barra Bonita

Os resultados referentes à distribuição e densidade dos diferentes *taxa* protozooplanctônicos encontrados em Barra Bonita estão apresentados nas tabelas de 16 a 20 (Anexos). Uma análise considerando os diferentes *taxa* é apresentada a seguir.

Gymnostomatida

Os valores referentes à densidade dos representantes do grupo Gymnostomatida demonstraram que *Mesodinium pulex* foi a espécie mais abundante nas amostras analisadas. Já *Enchelys gasterosteus* apresentou a menor densidade durante o período de estudo (Tabelas de 16 a 20).

Os *taxa* pertencentes ao grupo Gymnostomatida foram identificados em três das cinco coletas (Julho/07 e Maio e Junho/08) realizadas durante o período de estudo. Em Julho/07 foram identificados dois táxons, *Enchelys gasterosteus* e *Mesodinium pulex* com densidades de 5,5 e 5,0 org/L respectivamente. Já em Maio/08 foi identificado apenas um táxon pertencente aos gimnostomatídeos – *Mesodinium pulex* com densidade de 300,75 org/L.

Na coleta de Junho/08 o táxon com maior densidade foi *Mesodinium pulex* (232,56 org/L), seguido de *Askenasia chlorelligera* (45,22 org/L) e *Askenasia volvox* (18,33 org/L).

Heliozoidea

O representante do grupo Heliozoidea (*Raphidocystis* sp.) foi identificado apenas na coleta de Maio/08 com densidade de 8,75 org/L (Tabela 19).

Hymenostomata

Cinetochilum margaritaceum foi único representante dos Hymenostomata, o qual foi identificado na coleta de Julho/07 com densidade de 26,50 org/L (Tabela 16).

Oligotrichida

Dentre os Oligotrichida, *Halteria grandinella* foi o táxon mais abundante nas amostras analisadas em todas as coletas realizadas (150,75 org/L - Julho/07, 456,58 org/L - Novembro/07, 864,38 org/L - Janeiro/08, 427,88 org/L – Maio/08 e 596,72 org/L – Junho/08). Já *Strobilidium humile* apresentou a menor densidade durante o período de estudo (Tabelas de 16 a 20).

Em Julho/07 os taxa com menor densidade foram *Halteria bifurcada* e *Pelagostrombidium fallax* (5,65 org/L). Já em Novembro/07 o táxon com menor densidade foi *Strobilidium humile* (5,83 org/L).

Na coleta de Janeiro/08 o táxon com menor densidade foi *Rimostrombidium* sp. (11,33 org/L). Em Maio/08 o táxon com menor densidade foi *Strobilidium humile* com 4,4 org/L. E em Junho/08 o táxon com menor densidade foi *Halteria bifurcada* (5,56 org/L).

Peritrichia

Os valores referentes à densidade dos representantes dos Peritrichia demonstraram que o táxon *Vorticella aquadulcis* foi o mais abundante nas amostras analisadas em todas as coletas (600 org/L - Julho/07, 560,58 org/L - Novembro/07, 1685,29 org/L - Janeiro/08, 108,63 org/L – Maio/08 e 198,33 org/L – Junho/08). Nas últimas três, coletas (Janeiro, Maio e Junho/08), esta espécie foi o único representante dos Peritrichia identificado nas amostras. Já a espécie *Trichodina pediculus* apresentou a menor densidade durante o período de estudo (Tabelas de 16 a 20), com 5,0 org/L em Julho/07. Já em Novembro/07 a espécie com menor densidade foi *Epistylis coronata* (13,13 org/L).

Prostomatida

Os taxa pertencentes aos Prostomatida foram identificados apenas nas coletas de Julho e Novembro/07 e Maio/08. Em Julho/07 foi identificado apenas a espécie *Urotricha* sp, com densidade de 20,7 org/L. A espécie *Coleps hirtus hirtus* foi a que apresentou maior densidade nas amostras analisadas. Já *Urotricha platystoma* e *Urotricha* sp apresentaram as menores densidades durante o período de estudo (Tabelas 16, 17 e 19).

Na coleta de Novembro/07 o táxon com maior densidade (94,50 org/L) foi *Coleps*

hirtus hirtus e o de menor densidade (4,38 org/L) foi *Urotricha* sp. Já em Maio/08 os taxa com menor densidade foram *Coleps elongatus* e *Urotricha platystoma* (4,38 org/L cada) e o de maior foi *Urotricha* sp (19,75 org./L).

Testacealobosea

O grupo Testacealobosea teve apenas um representante identificado, *Arcella vulgaris*, sendo o táxon identificado na coleta de Julho/07 com densidade de 15,5 org/L (Tabela 16).

5.5.5 Riqueza, Diversidade e Tipo de Alimentação das Comunidades Protozooplancônicas no Reservatório de Barra Bonita

5.5.5.1 Riqueza

No reservatório de Barra Bonita, a riqueza de protozoários foi maior no período de seca em especial em Maio/08, (14). Nesta coleta o grupo com maior número de taxa foi Oligotrichida, com 7 taxa e os com menores foram Gymnostomatida, Heliozoidea e Peritrichia (1 táxons) (Figura 20 e Tabela 21 - Anexos).

A menor riqueza registrada ocorreu em Janeiro/08, na qual foi registrada 4 taxa, destes 3 pertencentes aos Oligotrichida e 1 aos Peritrichia (Figura 20 e Tabela 21 - Anexos). Em Julho/07 a riqueza de protozoários registrada foi 12, onde o grupo Peritrichia teve o maior número de representantes (4), sendo os Hymenostomata, Prostomatida e Testacealobosea os grupos com o menor número de táxons (1).

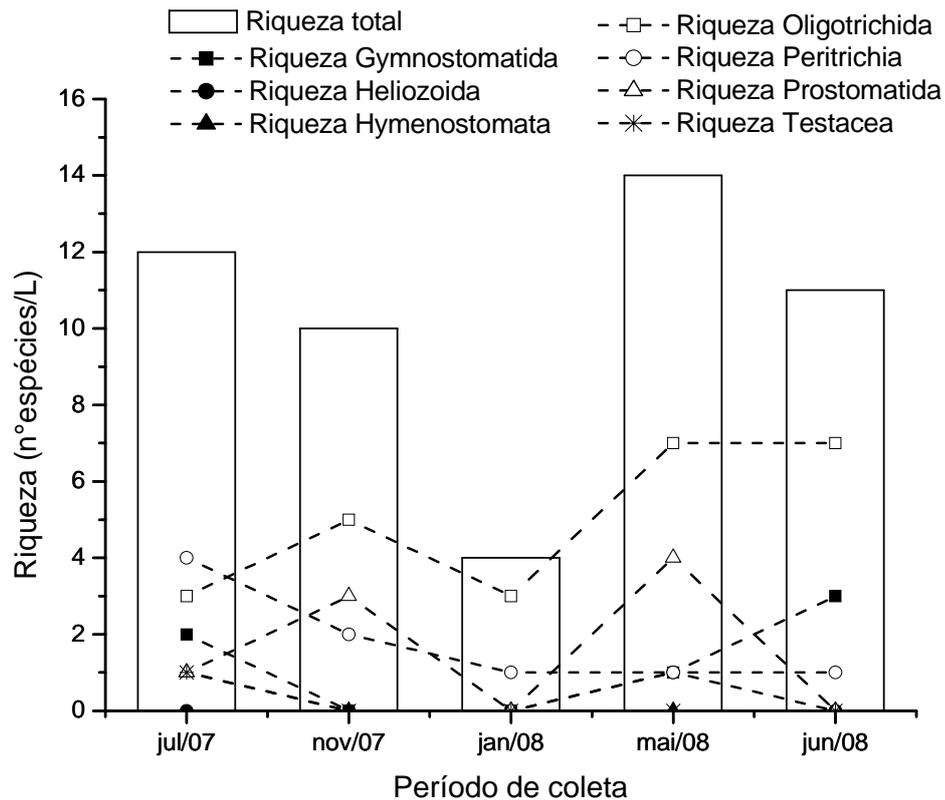


Figura 20: Riqueza de organismos protozooplânctônicos (nº espécies/L) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Na coleta de Novembro/07 ocorreram 10 *taxa*, 5 pertencentes aos Oligotrichida, 3 aos Prostomatida e 2 aos Peritrichia (Figura 20 e Tabela 21 - Anexos). Foram registrados 11 táxons na coleta de Junho/08, sendo que o grupo com maior número de representantes foi Oligotrichida (7) e o com menor Peritrichia (1 táxon) (Figura 20 e Tabela 21 - Anexos).

5.5.5.2 Diversidade

Os índices de Shannon calculados para as amostras do reservatório de Barra Bonita mostraram que houve uma pequena variação entre seus valores ao longo do período de estudo. De modo geral a diversidade foi maior nos períodos intermediários do ciclo hidrológico (entre os períodos de seca e chuva) (Figura 21 e Tabela 21 - Anexos). A maior diversidade foi registrada em maio e Junho/08 (0,75) e a menor em Janeiro/08 (0,35).

Quando comparamos os resultados de diversidade e riqueza de espécies presentes na amostras, verifica-se uma similaridade entre os dados. Ocorreu uma exceção (Junho/08) durante as coletas, sendo considerado um caso isolado. Os resultados referentes a comparação

entre os dados de riqueza de espécies e diversidade estão apresentados na figura 22 e tabela 21 (Anexos).

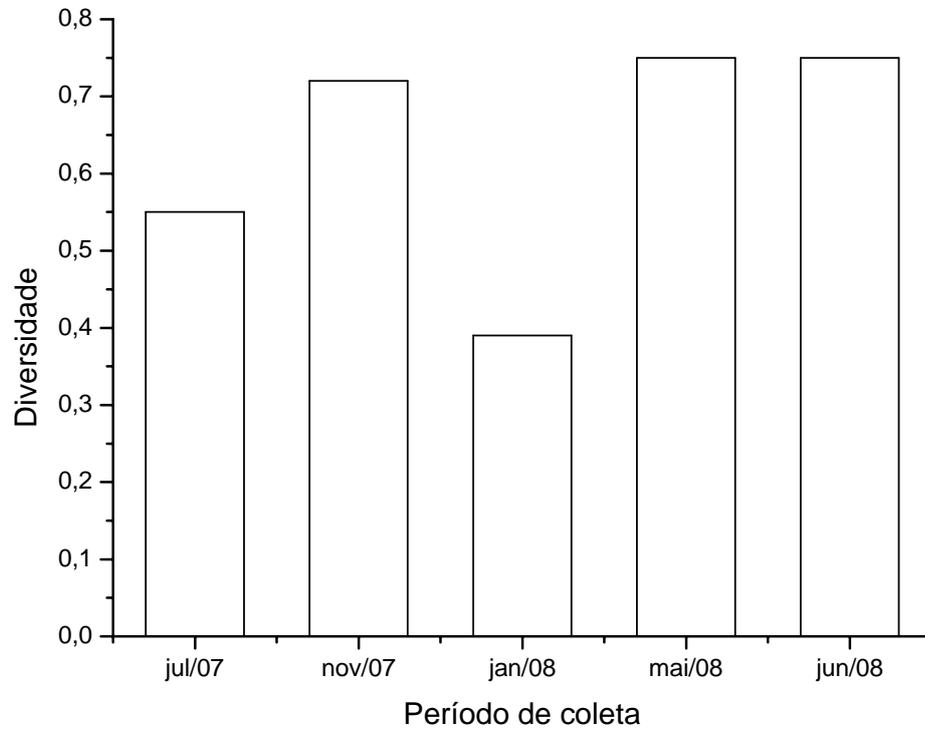


Figura 21: Diversidade de organismos protozooplancctônicos registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

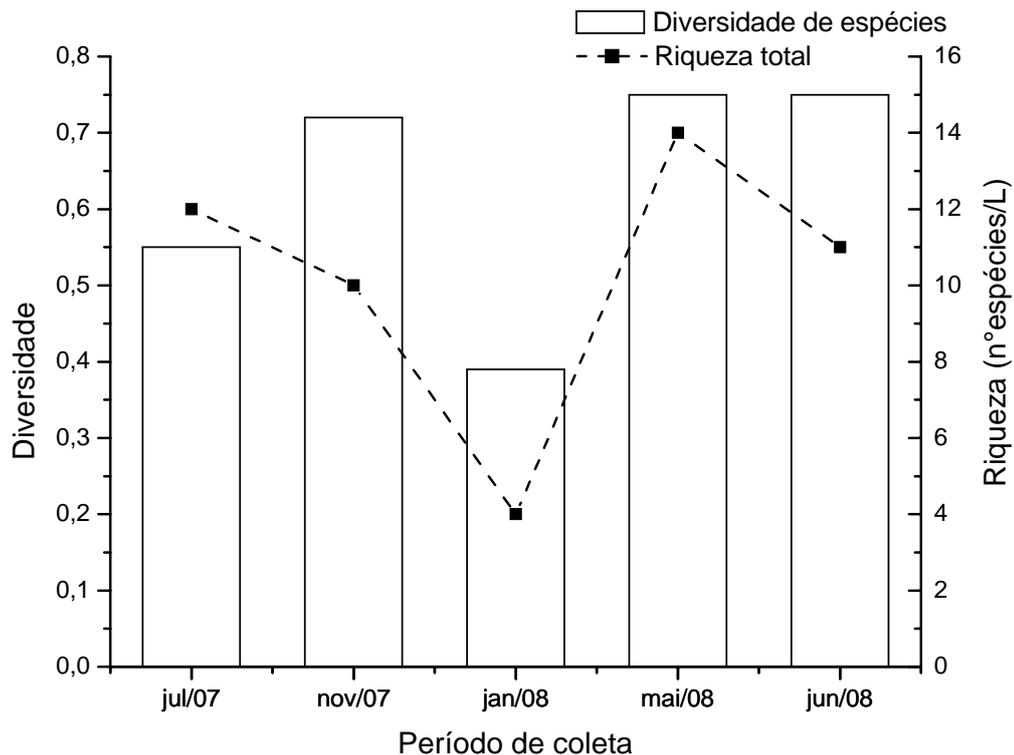


Figura 22: Diversidade e riqueza (nºespécies/L) de organismos protozooplânctônicos registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.5.5.3 Tipo de Alimentação

Os protozoários também podem ser classificados segundo Foissner (1999), de acordo com seu nível trófico, em algívoros (A), sendo que alguns organismos podem ter preferência alimentar por cianobactéria e/ou diatomácea; bacterívoros (B); algívoros e bacterívoros (A, B); algívoros, bacterívoros e mixotróficos (A, B, M); algívoros e mixotróficos (A, M); bacterívoros e mixotróficos (B, M); onívoros (O); mixotróficos (M) e predadores (PR). A figura 23 mostra os tipos alimentares predominantes, considerando suas densidades, nos diferentes meses amostrados (Tabela 22– Anexos).

Os protozoários bacterívoros foram encontrados em maior densidade nas três primeiras coletas (Julho e Novembro/07 e Janeiro/08), representando de 44,9 a 78,1% do total de indivíduos encontrados nas coletas. Nestas três primeiras coletas também foram verificadas as menores diversidades de tipos alimentares com 5, 4 e 3 tipos alimentares, respectivamente a Julho e Novembro/07 e Janeiro/08 (Figura 23 e Tabela 22).

Nas coletas de Maio e Junho/08 foram registradas as maiores diversidades de tipos alimentares (8) e o tipo de alimentação com maior densidade foi algívora/bacterívora (46,5 a

48,9%), havendo a preferência por cianobactérias pelo gênero *Rimostrombidium* (FOISSNER, 1992) (Figura 23 e Tabela 22).

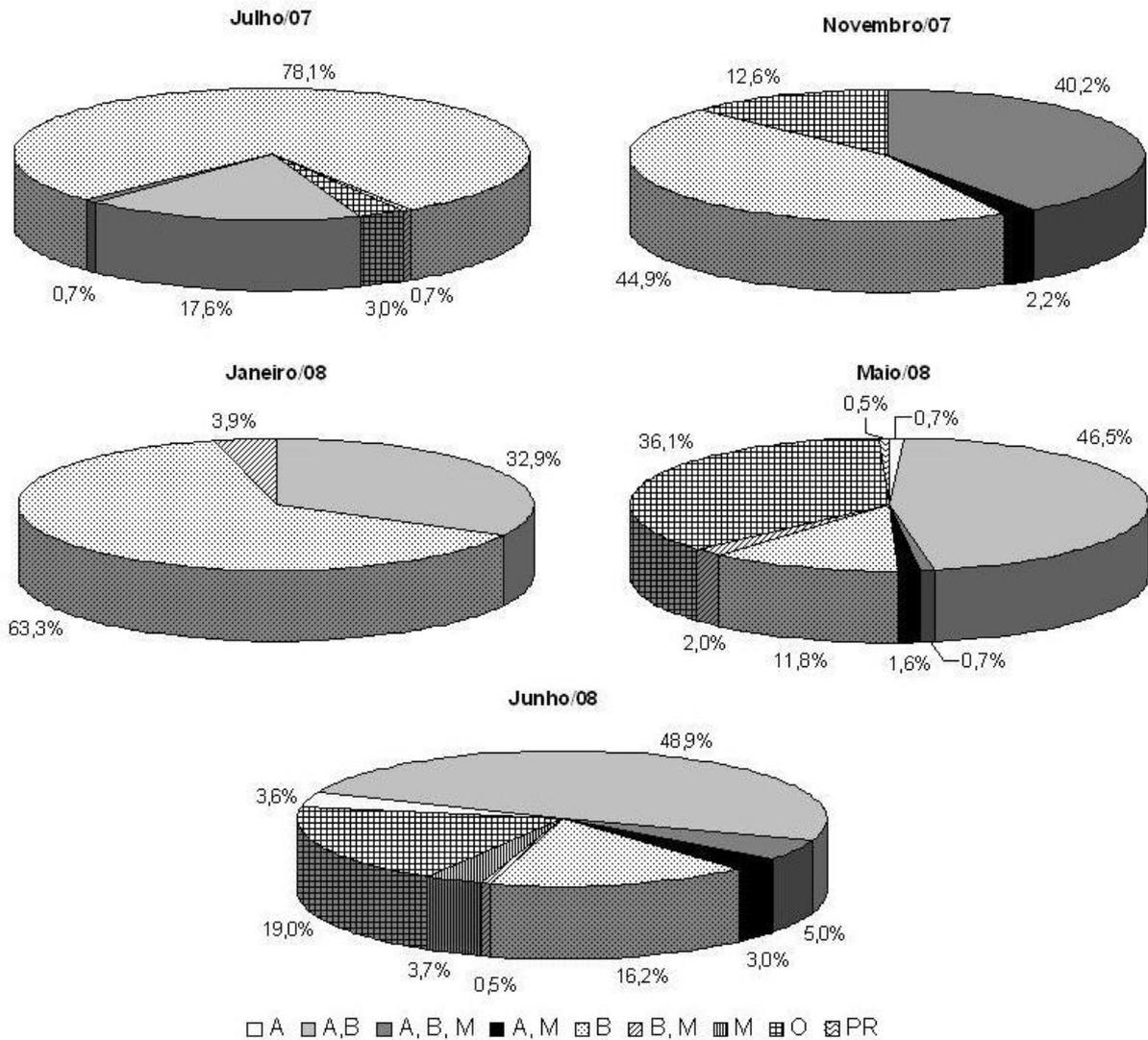


Figura 23: Densidade de protozoários (%) presentes no reservatório de Barra Bonita no período de coleta de acordo com sua cadeia trófica em: algívoros (A), bacterívoros (B); algívoros e bacterívoros (A, B); algívoros, bacterívoros e mixotróficos (A, B, M); algívoros e mixotróficos (A, M); bacterívoros e mixotróficos (B, M); onívoros (O); mixotróficos (M) e predadores (PR).

5.5.6 Índices de Saprobiidade de Pantle e Buck

De acordo com o índice de saprobiidade (Tabela 23 – Anexos), as amostras de água coletadas no reservatório de Barra Bonita foram classificadas como leve a moderadamente poluídas (beta-mesosaprobiidade), em todas as coletas.

5.7 Avaliação da Concentração de Microcistina e Relação com as Densidades Fitoplancônicas e Protozooplancônicas das Amostras Ambientais

5.7.1 Microcistina-LR Detectada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no Reservatório de Barra Bonita

Os resultados obtidos para microcistina-LR nas amostras apresentaram variações temporais no reservatório de Barra Bonita ao longo do período de estudo. A maior concentração de microcistina-LR extracelular (livre na coluna d'água) foi detectada em Julho/07 (255,8 $\mu\text{g/L}$) e a menor concentração foi registrada em Maio/08 (25,26 $\mu\text{g/L}$). Em relação à microcistina-LR intracelular a maior concentração ocorreu em Janeiro/08 (113,56 $\mu\text{g/L}$) e a menor em Junho/08 (39,74 $\mu\text{g/L}$). Os resultados referentes às concentrações de microcistina-LR no reservatório de estudo estão apresentadas na figura 24 e tabela 14 (Anexos).

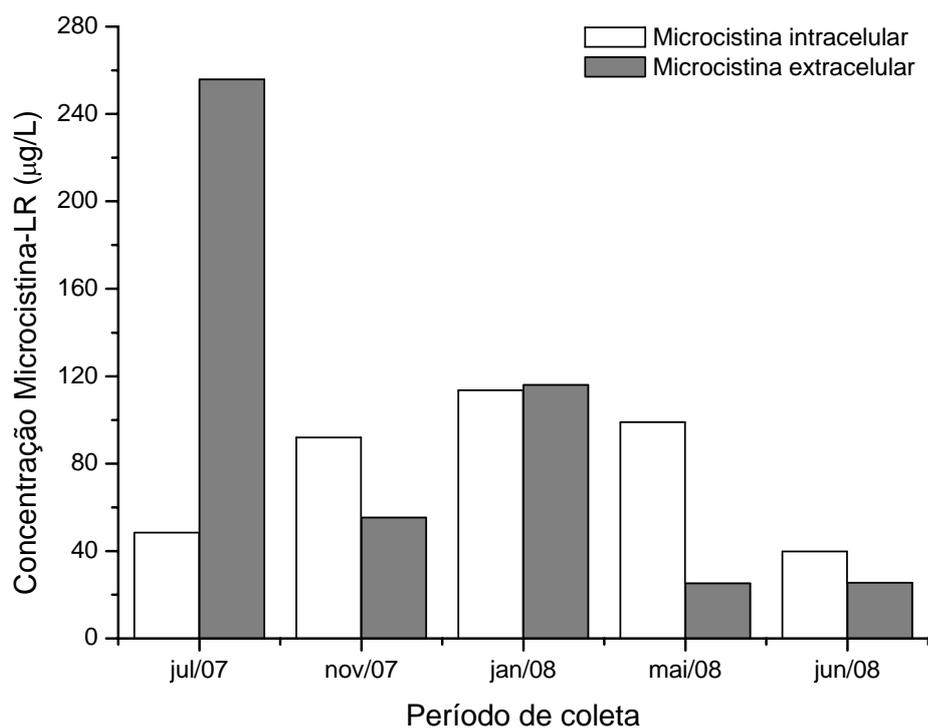


Figura 24: Concentrações de microcistina-LR intra e extracelular ($\mu\text{g/L}$) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.7.2 Relação entre Cianotoxinas e Densidades de células de Cianobactérias no Reservatório de Barra Bonita

Na análise de correlação de Spearman entre as concentrações de microcistina-LR intracelular, extracelular e totais (somatório da concentração de microcistina intra e extracelular) com os valores de densidade de células de cianobactérias, foi constatada a associação entre a densidade de células de cianobactérias e a concentração de microcistinas totais ($r = 0,8$ e $p = 0,1$). Foi verificada também uma correlação positiva ($r = 0,9$ e $p = 0,04$) entre as variáveis, densidade celular de cianobactérias e microcistina extracelular. Porém a correlação entre a densidade celular de cianobactérias e a concentração de microcistina intracelular foi baixa ($r = 0,3$ e $p = 0,6$). Os resultados referentes à relação entre as concentrações de cianotoxinas e densidade de células de cianobactérias estão apresentadas na figura 25, sendo seus valores de correlação descritos na tabela 25 (Anexos).

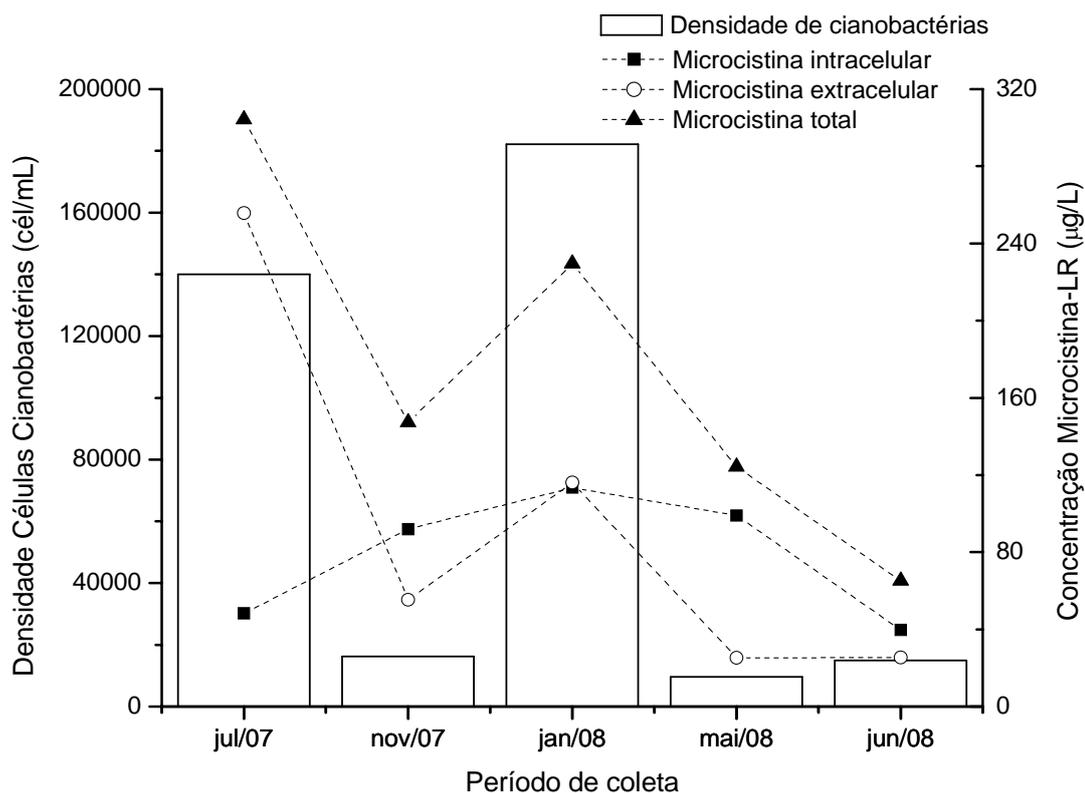


Figura 25: Concentrações de microcistina-LR intra, extracelular e total (µg/L) e densidade de células de cianobactérias (cél/mL) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

5.7.3 Relação entre Cianotoxinas, Densidades de Células de Cianobactérias e Densidade de Protozoários no Reservatório de Barra Bonita

A análise de correlação de Spearman mostrou uma correlação positiva ($r = 0,8$ e $p = 0,104$) entre as densidades de fitoplâncton (org/L) com protozoários (org/L). A mesma correlação foi verificada entre as densidades de cianobactérias (org/L) e densidade de protozoários (org/L) ($r = 0,8$ e $p = 0,104$) (Figura 26 e Tabela 25 - Anexos).

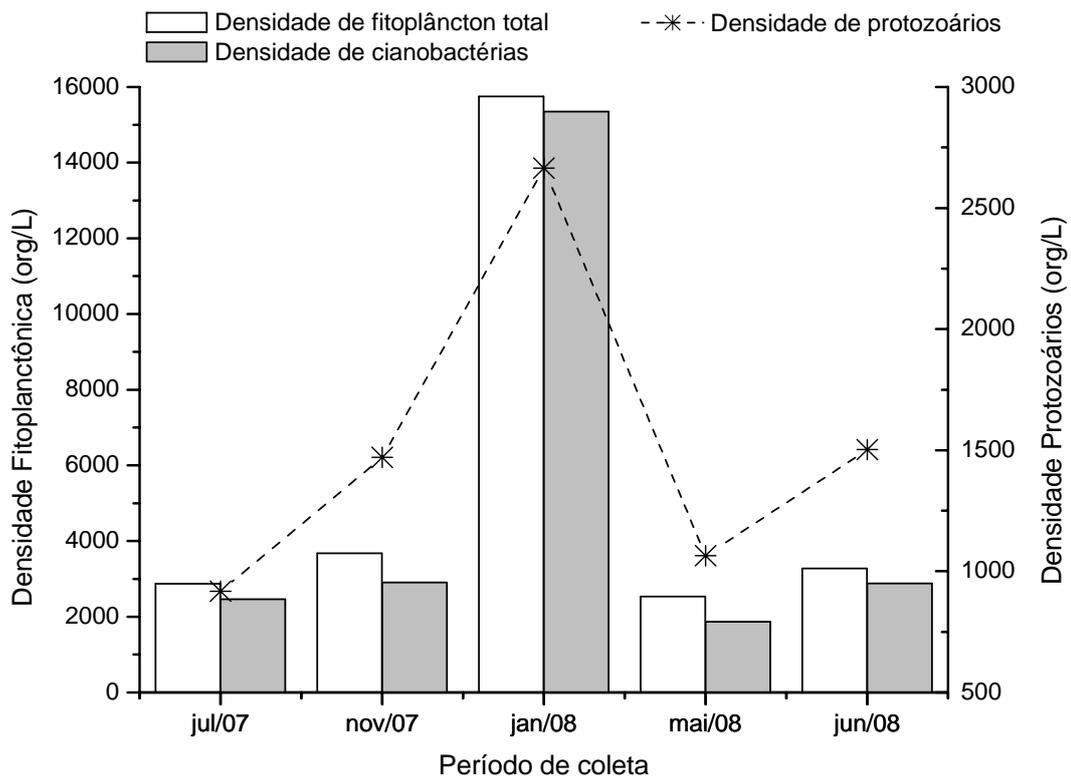


Figura 26: Densidade de fitoplâncton total (org/L), densidade de cianobactérias (colônias – filamentos/L) e densidade de protozoários (org/L), quantificadas durante o período de coleta no reservatório de Barra Bonita.

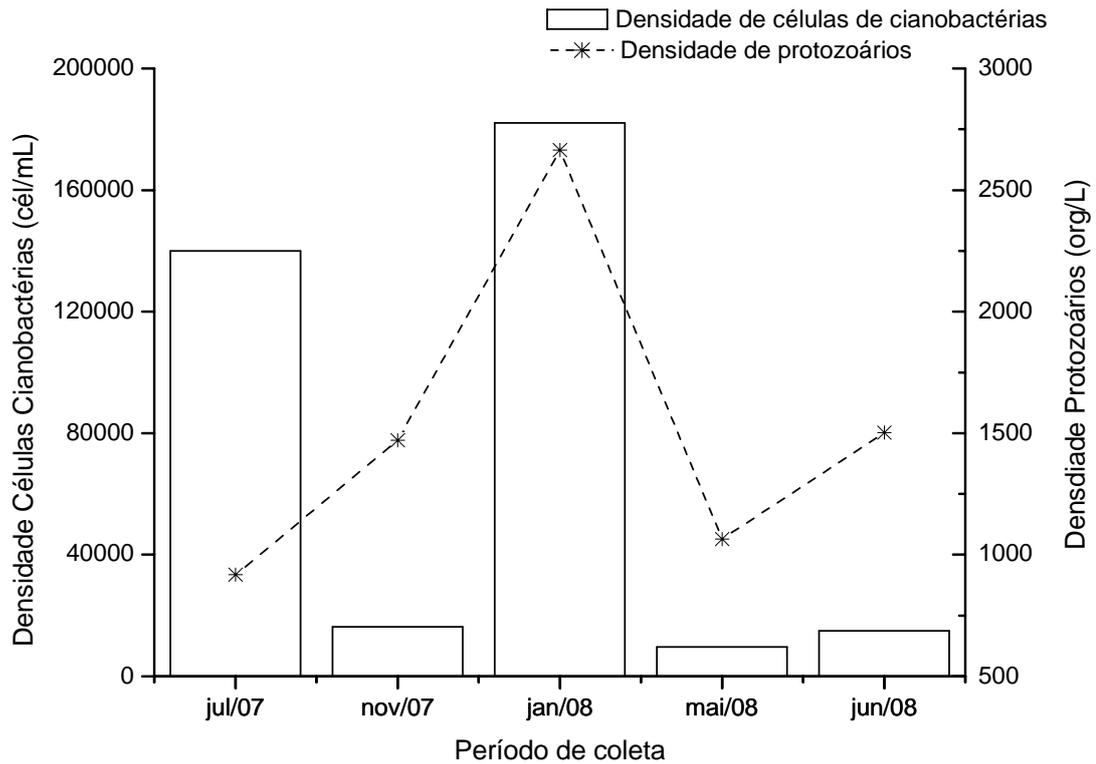


Figura 27: Densidade de células de cianobactérias (cél/mL) e densidade de protozoários (org/L), quantificadas durante o período de coleta no reservatório de Barra Bonita.

Porém, houve uma baixa correlação entre a densidade de células de cianobactérias e a densidade de protozoários ($r = 0,3$ e $p = 0,624$) (Figura 27). Também houve uma baixa correlação ($r = 0,3$ e $p = 0,624$) entre a concentração de microcistina-LR intracelular ($\mu\text{g/L}$) e a densidade de protozoários (org/L). Em relação às concentrações de microcistina-LR extracelular e total e a densidade de protozoários foi verificada uma correlação negativa ($r = -0,1$ com $p = 0,87$ e $r = -0,3$ com $p = 0,624$, respectivamente) (Figura 28 e Tabela 25 - Anexos).

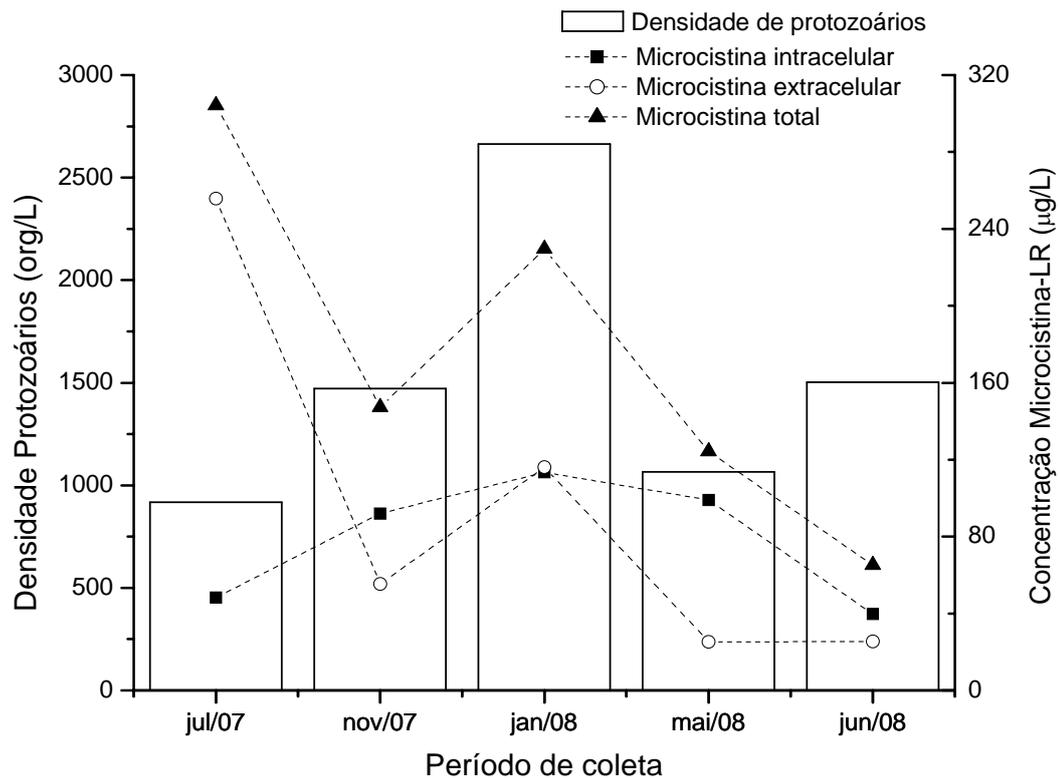


Figura 28: Densidade de protozoários (org/L) e as concentrações das microcistina-LR intra, extracelular e total (µg/L) quantificadas no reservatório de Barra Bonita durante o período de coleta.

5.7.4 Relação entre as Colônias de *Microcystis* spp. e *Vorticella aquadulcis* no Reservatório de Barra Bonita

Dentre os táxons de protozoários identificados a espécie *Vorticella aquadulcis* em especial, apresentou uma correlação positiva ($r = 0,9$ e $p = 0,037$) com a clorofila-a. Porém na segunda coleta houve um aumento no valor de clorofila-a, mas não do protozoário, isso pode ser explicado pela queda da densidade de formas coloniais de *Microcystis* spp. (Figura 26 e Tabela 24 e 25 - Anexos) às quais costuma utilizar como substrato para sua fixação.

Tal fato foi reforçado pela correlação positiva encontrada entre *Vorticella aquadulcis* e as formas coloniais de *Microcystis* spp. ($r = 1$ e $p = <0,0001$) com as quais os protozoários foram constantemente observados associados (Figura 29 e Tabela 25 - Anexos).

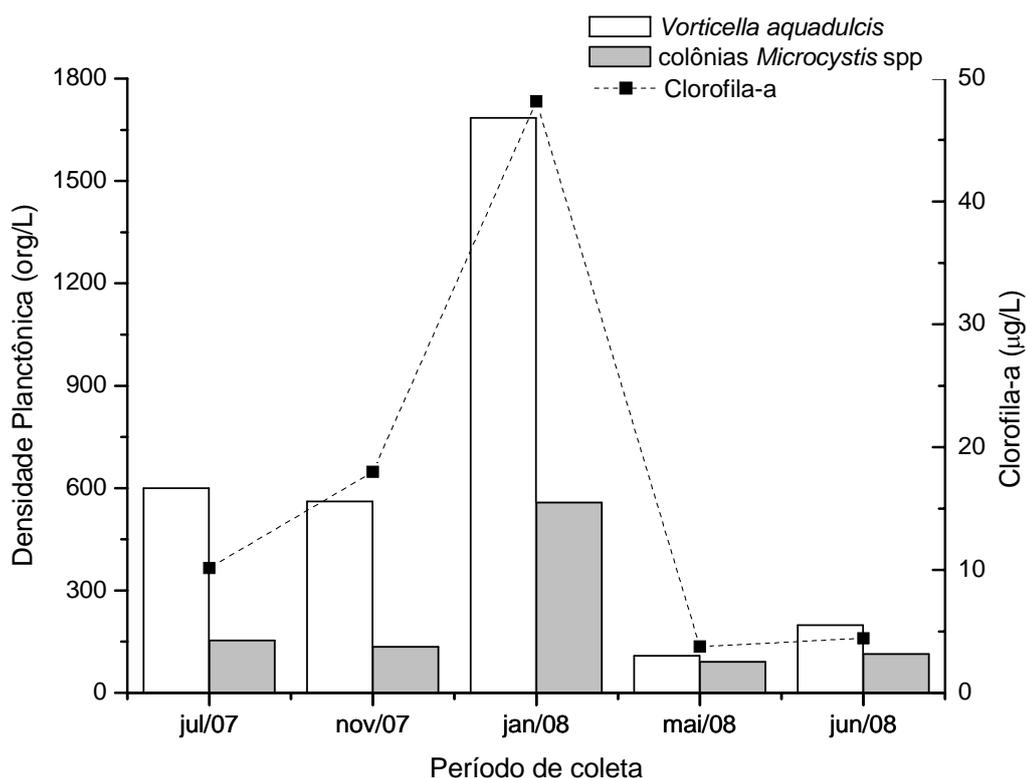


Figura 29: Densidade de *Vorticella aquadulcis* (org/L), formas coloniais de *Microcystis* spp. (org/L) e clorofila-a (µg/L) determinadas nas amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita, no período de coleta.

5.8 Bioensaios de Toxicidade

Os bioensaios realizados com os extratos liofilizados das florações de cianobactérias coletadas no reservatório de Barra Bonita (Julho e Novembro/07 e Janeiro/08) e dos cultivos em laboratório de *Microcystis aeruginosa* (cepa NPLJ-4) e *Microcystis* sp., revelaram efeitos tóxicos para o organismo teste utilizado durante o estudo. Os resultados referentes aos ensaios ecotoxicológicos estão apresentados nas figuras de 30 a 39 e nas tabelas de 26 a 38 (Anexos).

Para cada amostra foram realizados testes preliminares para se chegar a uma faixa de concentrações que pudesse ser utilizada nos testes de toxicidade.

5.8.1 Bioensaios com Amostra de Cultivo da Linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*

No bioensaio preliminar realizado com a amostra de *Microcystis aeruginosa* cultivada no laboratório de Saneamento de Ilha Solteira – Unesp, foram utilizadas as

concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 5 $\mu\text{g/mL}$ de microcistina-LR, porém estas concentrações demonstraram baixa toxicidade, não sendo possível o cálculo do valor da concentração letal a 50% dos organismos ($\text{LC}_{50-24\text{h}}$), uma vez que na maior concentração utilizada no teste teve menos de 50% dos organismos mortos após 24 horas (Tabela 26 – Anexos). Em um segundo experimento da etapa preliminar com esta amostra foram testadas outras cinco concentrações: 0,5, 10, 30, 50 e 70 $\mu\text{g/mL}$, o qual demonstrou letalidade a 100% dos organismos nas concentrações de 50 e 70 $\mu\text{g/mL}$ após 2 horas de experimento (Tabela 27 – Anexos).

Para o teste de toxicidade definitivo com a amostra de *M. aeruginosa* utilizadas então, as concentrações de 0,5, 5, 10, 20 e 30 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados da média da LC_{50} avaliada a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra do cultivo de *M. aeruginosa*, oscilaram entre 5,51 a 27,77 $\mu\text{g/mL}$. A média de $\text{LC}_{50-24\text{h}}$ foi de 9,84 $\mu\text{g/mL}$, com desvio padrão de 2,67. A taxa de mortalidade média após 24 horas variou entre 12,5 e 100 % (Figuras 30 e 31 e Tabela 28 - Anexos).

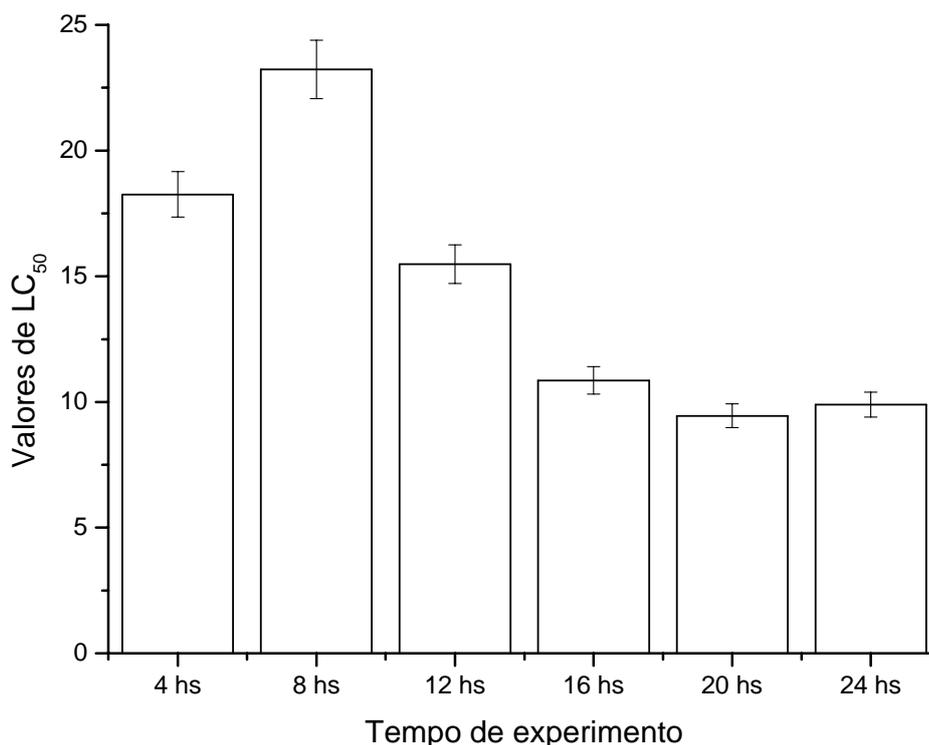


Figura 30: Valores médios da LC_{50} calculada a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de *Microcystis aeruginosa* cultivada em laboratório.

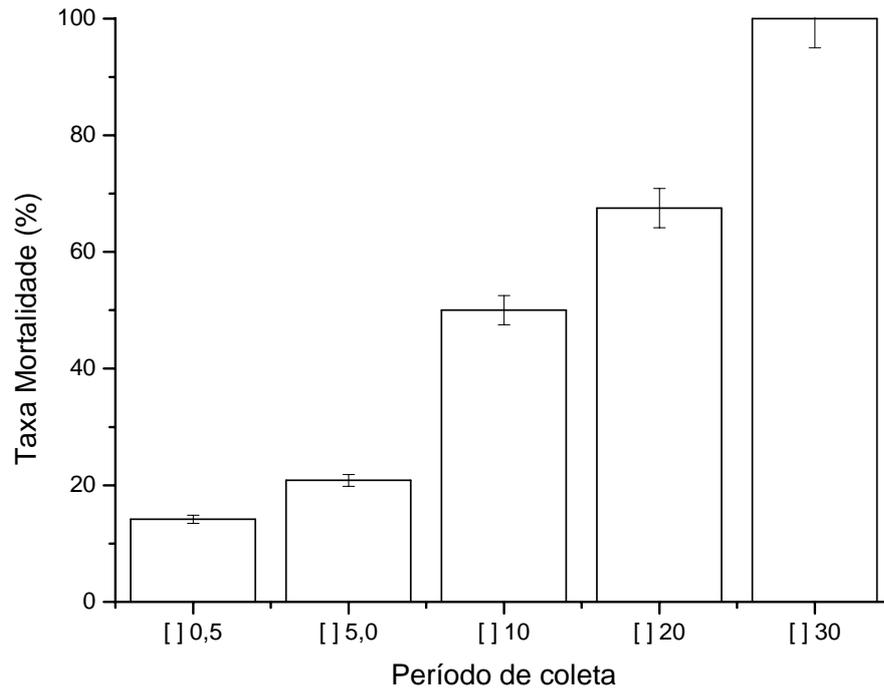


Figura 31: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra tóxica de *Microcystis aeruginosa* cultivada em laboratório.

5.8.2 Bioensaios com Amostra da Coleta de Julho/07

Nos bioensaios de toxicidade realizados com a floração de cianobactérias coletada em Barra Bonita em Julho/07, foram a princípio testadas com as mesmas concentrações de microcistina-LR (MC-LR) utilizadas nos testes com a amostra do cultivo de *M. aeruginosa* (0,5, 5, 10, 20 e 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$), porém este primeiro teste mostrou-se altamente tóxico nas concentrações acima de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, matando 100% dos organismos-teste em 2 horas (Tabela 29 – Anexos). No segundo teste preliminar desta amostra foram utilizadas as concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, porém a amostra ainda mostrou-se tóxica nas concentrações acima de 2,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 100% dos organismos decorridas 2 horas de experimento (Tabela 30 – Anexos).

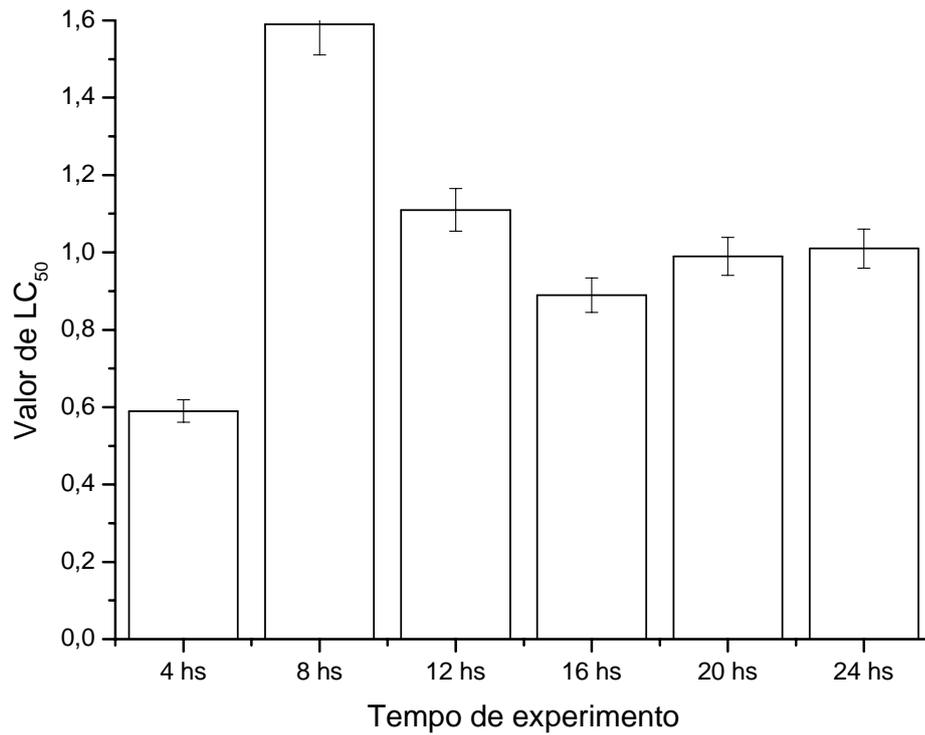


Figura 32: Valores médios de LC₅₀ calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Julho/07 coletada no reservatório de Barra Bonita.

Os experimentos finais desta amostra foram realizados utilizando as concentrações de 0,1, 0,5, 1, 1,5 e 1,8 µg/mL de MC-LR. O valor médio do LC₅₀-24h foi de 1,01 µg/mL, com desvio padrão de 0,22 e taxa de mortalidade média entre 2,5 e 100% ao final do ensaio. Os valores médios de LC₅₀-4h avaliados durante o experimento variaram entre 0,71 e 1,76 µg/mL (Figuras 32 e 33 e Tabela 31 - Anexos).

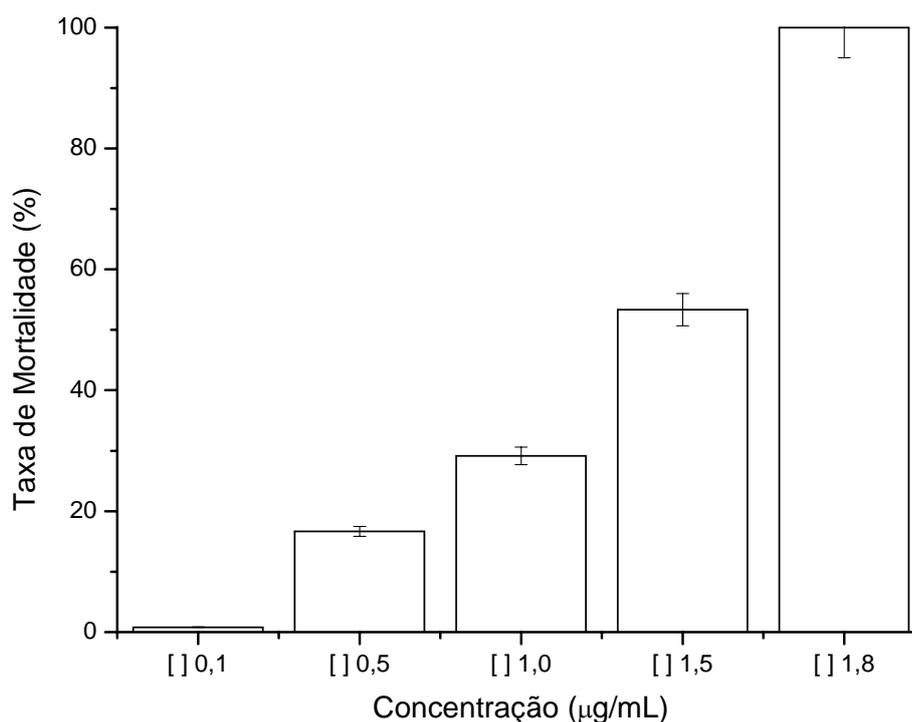


Figura 33: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Julho/07 no reservatório de Barra Bonita.

5.8.3 Bioensaios com Amostra da Coleta de Novembro/07

Para a amostra coletada em Barra Bonita em Novembro/07, foi realizado o 1º bioensaio preliminar com as concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 4 µg/mL de MC-LR, porém estas mostraram ter baixo efeito tóxico nas primeiras 12 horas para a determinação do LC₅₀-24h (Tabela 32 – Anexos). Numa segunda tentativa foram utilizadas as concentrações de 0,5, 2,5, 5, 10 e 20 µg/mL de MC-LR, entretanto as concentrações de 10 e 20 µg/mL demonstraram 100% de toxicidade aos *Paramecium caudatum* nas primeiras 2 horas de experimento (Tabela 33 – Anexos). Em um terceiro bioensaio realizado os protozoários mostraram-se muito sensíveis a concentração de 8,0 µg/mL de MC-LR (Tabela 34 – Anexos).

Devido aos resultados anteriores, os experimentos finais foram realizados utilizando as concentrações de 0,5, 1, 2,5, 4 e 6 µg/mL de MC-LR, com as quais foram calculados valores médios de LC₅₀-4h entre 2,33 e 5,33 µg/mL. A média dos valores de LC₅₀-24h foi de 2,47 µg/mL de MC-LR, com um desvio padrão de 0,22 e taxas de mortalidade média entre 17,5 e 100% (Figuras 34 e 35 e Tabela 35 - Anexos).

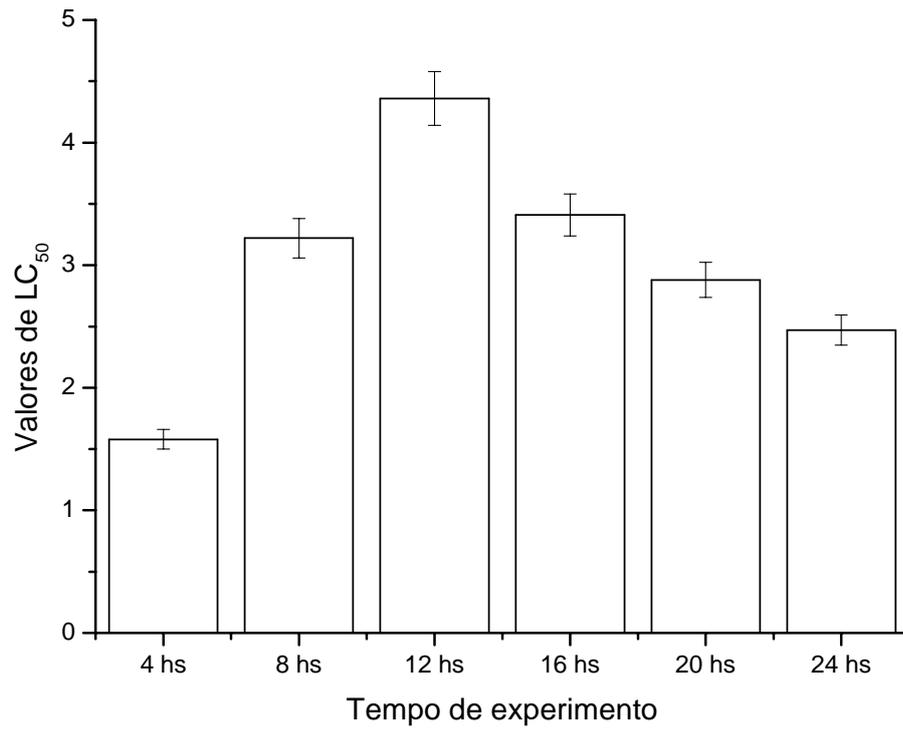


Figura 34: Valores médios de LC₅₀ calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Novembro/07 coletada no reservatório de Barra Bonita.

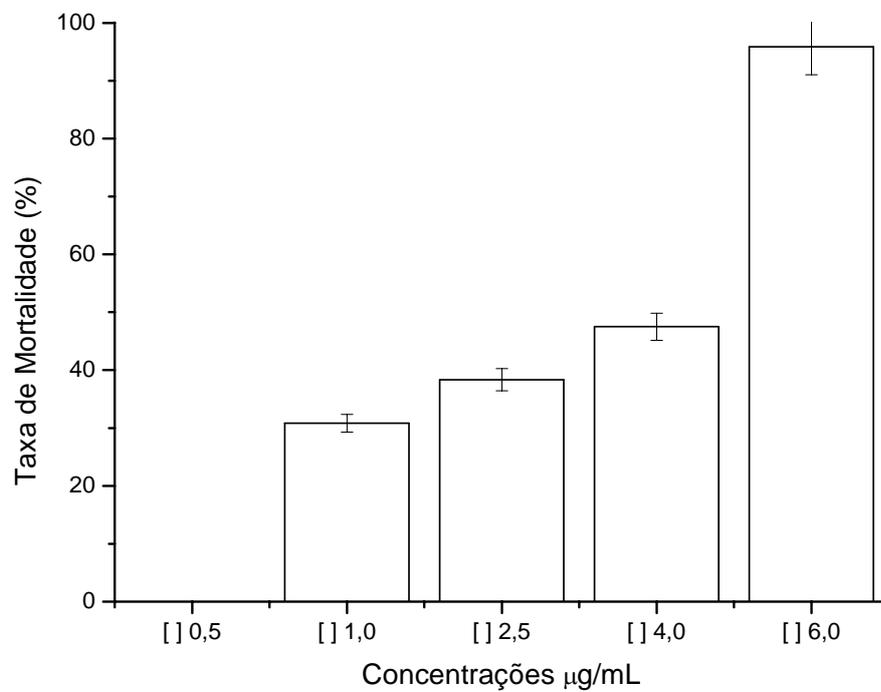


Figura 35: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.

5.8.4 Bioensaios com Amostra da Coleta de Janeiro/08

Diante das concentrações utilizadas nas amostras ambientais anteriores, o teste preliminar da amostra de floração de cianobactérias coletada em Janeiro/08 foi realizado com as concentrações de 0,1, 0,5, 1,0, 1,8 e 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de MC-LR, porém como houve mortalidade menor que 50% dos organismos não foi possível o cálculo de $\text{LC}_{50-24\text{h}}$ (Tabela 36 – Anexos).

Os testes definitivos desta amostra foram realizados com as concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 4 $\mu\text{g/mL}$ de MC-LR. Os experimentos tiveram os valores médios de $\text{LC}_{50-4\text{h}}$ variando entre 1,29 e 3,24 de MC-LR, com $\text{LC}_{50-24\text{h}}$ médio de 1,62 $\mu\text{g/mL}$ para MC-LR, com desvio padrão de 0,49 e taxa de mortalidade média ao término do bioensaio entre 15 e 100% (Figura 36 e 37 e Tabela 37 - Anexos).

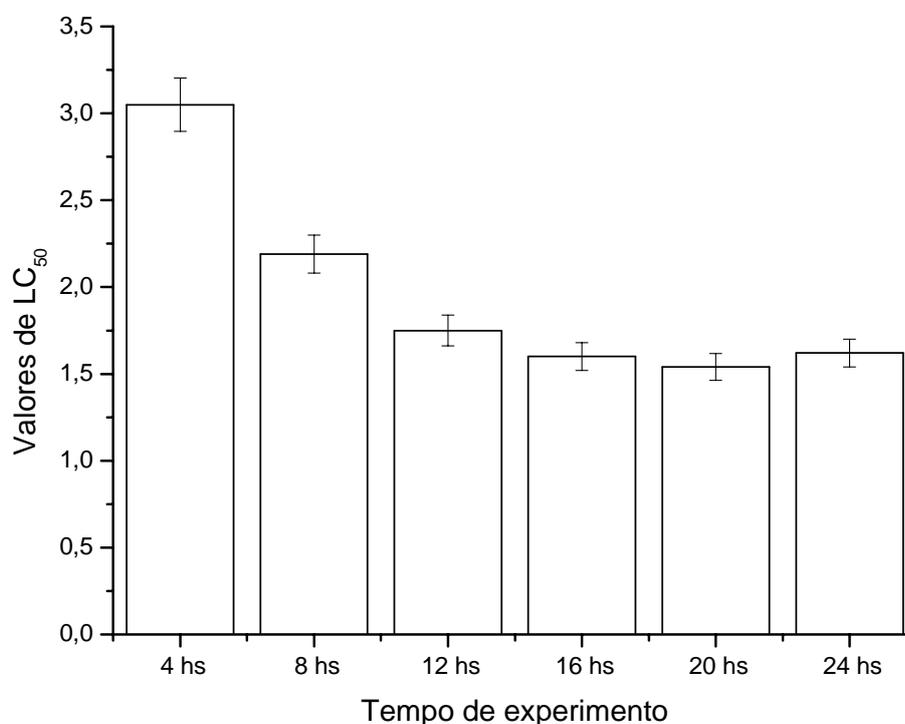


Figura 36: Valores médios de LC_{50} calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra de Janeiro/08 coletada no reservatório de Barra Bonita.

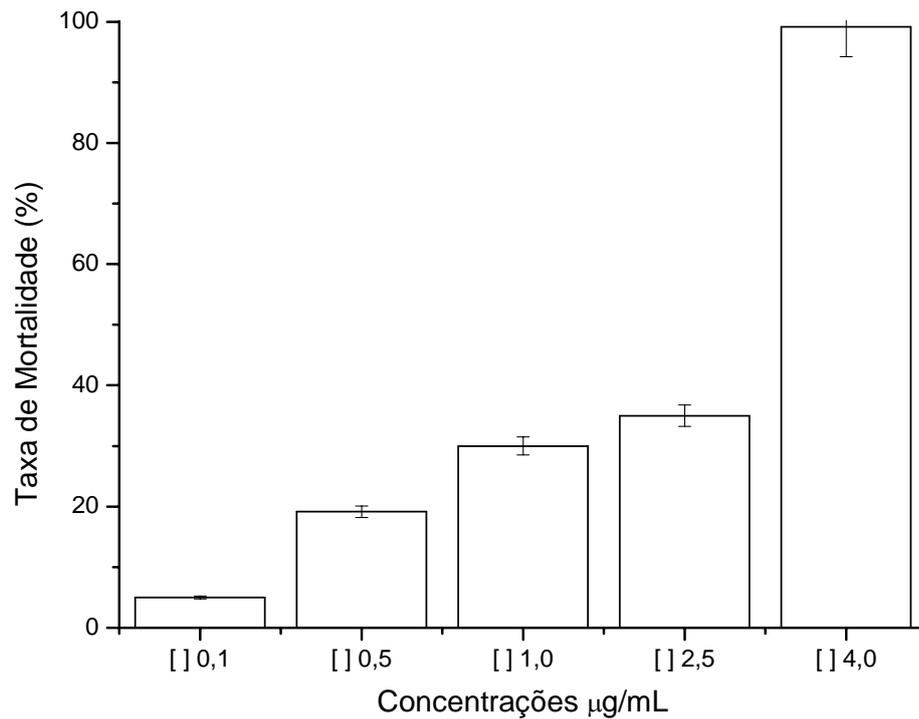


Figura 37: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra coletada em Janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.

5.8.5 Bioensaios com Amostra de Cultivo em Laboratório da Cepa Não Tóxica de *Microcystis* sp.

Os resultados dos testes realizados com a amostra de cultivo de *Microcystis* sp. não tóxica, a partir do mesmo modo como foram preparadas as amostras do cultivo de *M. aeruginosa*, demonstraram ter toxicidade.

Os valores de LC_{50-4h} calculados para esta amostra oscilaram em média entre os valores relativos as concentrações de 7,08 e 14,14 µg/mL de MC-LR, já a média do LC_{50-24h} foi relativo ao valor de 9,55 µg/mL de MC-LR, com desvio padrão de 3,01 e taxa de mortalidade média de 2,5 a 100 % (Figuras 38 e 39 e Tabela 38- Anexos).

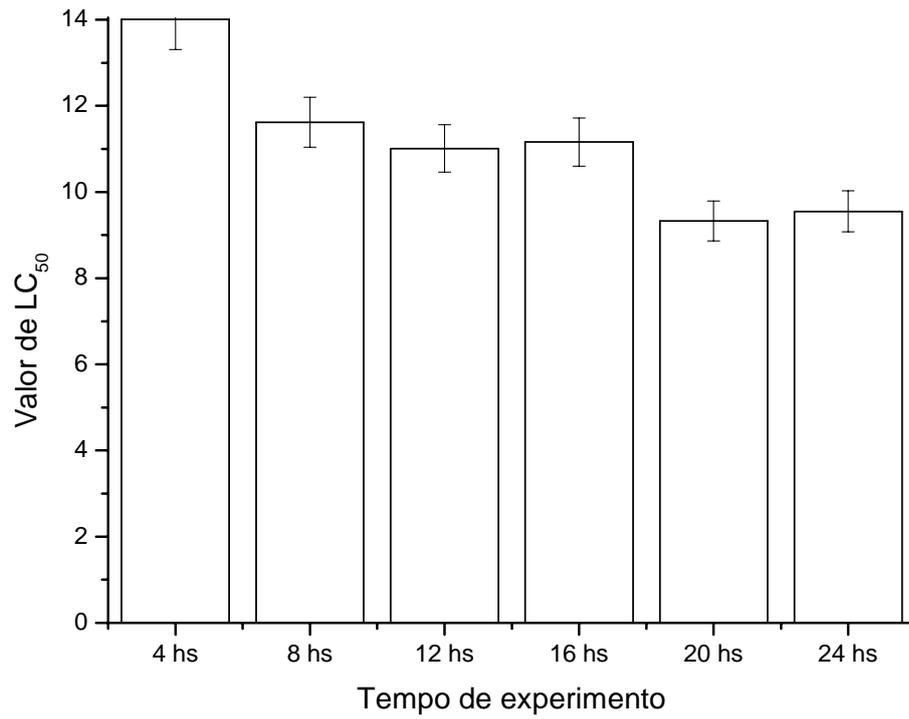


Figura 38: Valores médios de LC₅₀ calculados a cada 4 horas do experimento de 24 horas para a amostra não tóxica de *Microcystis* sp. cultivada em laboratório.

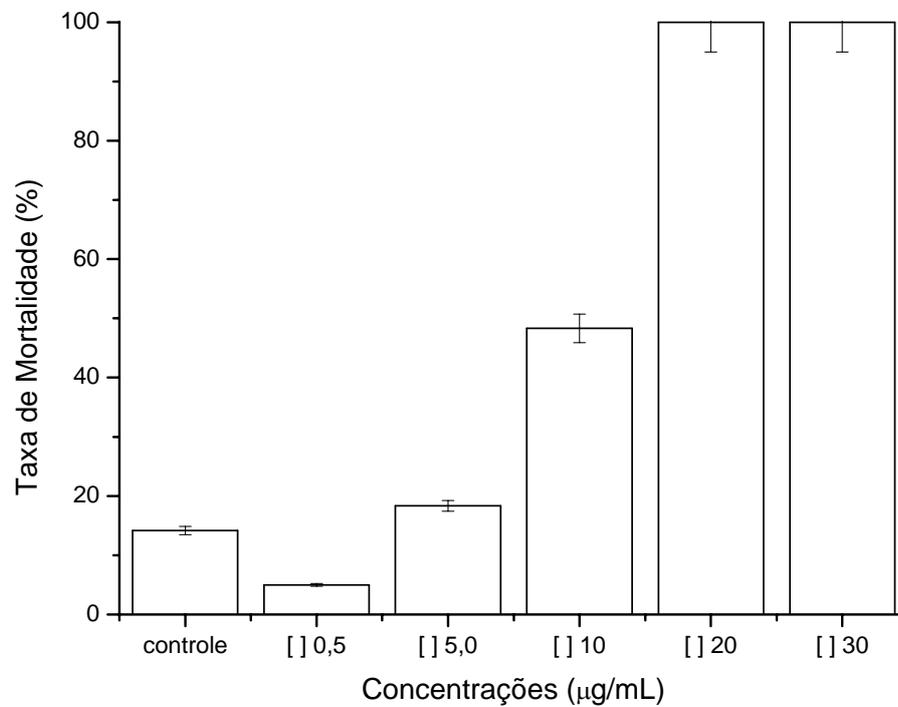


Figura 39: Taxa de mortalidade média (%) calculada após 24 horas de experimento com a amostra não tóxica de *Microcystis* spp. cultivada em laboratório.

6. DISCUSSÃO

6.1 Dados Abióticos

6.1.1 Variáveis Físicas e Químicas

O pH é uma das variáveis importantes para a dinâmica dos sistemas aquáticos, pois além de interferir no metabolismo das comunidades aquáticas e na solubilidade de nutrientes, sofre variações em função dos processos respiratórios, fotossintéticos e da decomposição (ESTEVES, 1988). No presente trabalho os resultados de pH não apresentaram um padrão temporal definido para os valores obtidos. Os resultados deste estudo demonstraram uma condição levemente alcalina nos meses de Novembro/07, Janeiro e Junho/08 e uma condição levemente acidificada nos meses de Julho/07 e Maio/08.

Os autores Pereira (2003), Lima (2004) e Minillo (2005), relacionaram os altos valores de pH com a presença de florações de cianobactérias, que poderia estar associada à elevada taxa fotossintética. Tal relação pode ser aplicada no presente estudo uma vez que os maiores valores de pH registrados coincidem com as maiores densidades da comunidade fitoplanctônica, bem como de cianobactérias.

A condutividade elétrica da água constitui uma das importantes variáveis limnológicas, visto que pode fornecer informações sobre o metabolismo do ecossistema aquático e dos fenômenos que ocorrem na bacia de drenagem (ESTEVES, 1988). Durante o período de estudo, os valores de condutividade apresentaram-se maiores nos meses chuvosos. Tal fato pode ser explicado pelo aumento de nutrientes (como verificado no presente estudo) e cargas de sedimento transportados pelos tributários do reservatório de Barra Bonita. Situações semelhantes foram relatadas por Minillo (2005) e Barbosa *et al.* (1999).

A temperatura da água é outro parâmetro importante na dinâmica dos ambientes aquáticos, pois influencia no metabolismo das comunidades e pode causar alterações na estrutura física da coluna d'água, promovendo a circulação ou estratificação da água e, conseqüentemente, alterando a disponibilidade dos nutrientes (MARGALEF, 1983; ESTEVES, 1988). A variação de temperatura da água no reservatório de Barra Bonita revelou um padrão sazonal, com as altas temperaturas na estação chuvosa, em decorrência da maior insolação. As menores temperaturas foram registradas no período seco, caracterizado pelo inverno seco, com baixa precipitação.

O oxigênio dissolvido na água é um dos fatores mais importantes na dinâmica e na caracterização dos ecossistemas aquáticos, pois tem influência na sobrevivência das comunidades aquáticas, além de participar de vários processos químicos (ESTEVES, 1988). A solubilidade de oxigênio na água depende da temperatura, assim, com o aumento

característico da temperatura nos meses de verão, há uma redução na solubilidade do oxigênio. As principais fontes de oxigênio para a água, segundo Esteves (1988), são a atmosfera e a fotossíntese, por outro lado, sua perda ocorre pelo consumo da matéria orgânica, perdas para a atmosfera, respiração de organismos aquáticos e oxidação de íons metálicos, como ferro e manganês.

A alta concentração de oxigênio dissolvido registrada em Junho/08 deve-se a baixa temperatura da água. Na coleta de Janeiro/08 foi registrada a maior temperatura da água e uma das mais baixas concentrações de oxigênio na água, talvez, a concentração de oxigênio dissolvido nesta coleta não foi a mais baixa devido à alta densidade fitoplanctônica, assim como a alta taxa de fotossíntese. Os baixos valores da concentração de oxigênio dissolvido registrado nas coletas de Julho/07 e Maio/08, apesar, das baixas temperaturas podem ter relação com baixos valores de pH e condutividade elétrica obtidos neste mês, além disso a elevada concentração de feofitina (8,54µg/L) registrado no mês de Maio/08, indica fim de bloom, logo o predomínio de decomposição.

6.1.2 Limite da Zona Eufótica

A transparência da água é um fator que está diretamente relacionado à quantidade de material em suspensão particulado e dissolvido presente em um determinado corpo hídrico. A atenuação e eventual extinção da luz que atravessa a água são influenciadas pela abundância e qualidade de elementos presentes em suspensão e capazes de absorvê-la (COLE, 1975 apud TALAMONI, 1995).

Durante o período de estudo foi observada uma variação temporal nos valores do limite da zona eufótica, com menor penetração da luz nos meses chuvosos e uma maior penetração nos meses de seca. Resultados compatíveis com o padrão esperado, uma vez que o aumento de chuvas na região favorece o maior aporte de nutrientes e sedimentos carregados para o reservatório que promovem uma maior turbidez da água, implicando em menor transparência (MINILLO, 2005).

Nogueira e Matsumura-Tundisi (1994) em um estudo realizado em um reservatório artificial localizado no município de São Carlos (Represa do Monjolinho) atribuíram os maiores valores de transparência da água, registrados no período de seca, aos baixos índices de pluviosidade e a redução dos sólidos suspensos.

Sandes (1998) e Minillo (2005), em estudos realizados no reservatório de Barra Bonita, constataram uma menor transparência da água e, conseqüentemente, uma menor zona

eufótica, decorrente do sombreamento causado pelo adensamento de florescimentos de cianobactéria na superfície. Zohary e Robarts (1989), analisando a dominância de cianobactérias em um reservatório hipereutrófico, verificaram a ampla capacidade, de espécies como *Microcystis aeruginosa* para a ocupação e domínio da camada superficial, de modo a assegurar o seu acesso à luz. Tais fatos também foram observados nas coletas realizadas nos meses de Novembro/07 e Janeiro/08, caracterizadas pela alta densidade fitoplanctônica, principalmente de cianobactérias, dentre as quais estava presente *M. aeruginosa*.

6.1.3 Concentração de Nutrientes

Os nutrientes são outros elementos essenciais ao desenvolvimento da biota aquática que podem, em excesso, provocar a mudança do estado trófico, promovendo a eutrofização dos ecossistemas aquáticos, ocasionando danos consideráveis para o meio ambiente. Quando presentes em baixas concentrações podem atuar como fatores limitantes da produtividade primária nos ecossistemas aquáticos, como lagos, rios e reservatórios (ESTEVES, 1988).

As atividades antrópicas diversas na bacia de drenagem, como o uso de fertilizantes em áreas agrícolas, estão relacionadas como um das principais vias de entrada dos nutrientes (nitrogênio e fósforo) nos ecossistemas aquáticos (TUNDISI, 1999).

6.1.3.1 Formas Nitrogenadas

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo de ecossistemas aquáticos, como a sua participação na formação de proteínas, um dos componentes básicos da biomassa. Dentre as formas nitrogenadas inorgânicas encontradas no presente estudo, as concentrações de nitrito foram as mais baixas para três coletas (Julho/07, Maio e Junho/08). As baixas concentrações de nitrito, estão relacionadas à uma combinação de fatores, como a decomposição de matéria orgânica e os processos de nitrificação, visto que o nitrito é encontrado em baixas concentrações notadamente em ambientes oxigenados. Em ambientes anaeróbicos, pode-se encontrar altas concentrações deste íon, como no hipolímnio de lagos eutróficos em período de estratificação (ESTEVES, 1988). Segundo McCarthy e Goldman (1979 *apud* Esteves, 1988), o fitoplâncton pode assimilar nitrito, em caso de escassez do íon amônio e nitrato, embora o gasto energético para sua assimilação seja alto.

As concentrações de nitrato encontradas no Reservatório de Barra Bonita foram mais elevadas, que as duas outras formas nitrogenadas inorgânicas quantificadas neste estudo. O nitrato e o íon amônio assumem grande importância nos ecossistemas aquáticos, visto que representam as principais fontes de nitrogênio para os produtores (MARGALEF, 1983). Em regiões tropicais a concentração e a distribuição do nitrato parecem estar diretamente relacionado com o grau de oxigenação da coluna d'água (BARBOSA, 1999). Os valores encontrados para este nutriente no presente estudo demonstraram uma relação direta com as concentrações de oxigênio dissolvido, exceto na coleta de Junho/08.

Os valores registrados para o íon amônio no reservatório de estudo, foram expressivamente menores do que aqueles encontrados para o nitrato, além de apresentar oscilação durante o período de estudo. As altas concentrações registradas do íon amônio são fortes indicativos da contaminação por dejetos de esgotos, bem como da decomposição desta matéria orgânica (MINILLO, 2005). Os valores encontrados para o íon amônio neste estudo foram inferiores, em média, quando comparados aos obtidos por Minillo (2005) e superiores quando comparados com Takenaka (2007) neste mesmo reservatório.

Os baixos valores do íon amônio, em relação aos valores de nitrato quantificados no corpo d'água, podem estar relacionado ao consumo deste nutriente pelos organismos produtores, visto ser uma das formas preferenciais de assimilação pelo fitoplâncton, devido à menor quantidade de energia requerida para sua absorção (ESTEVES, 1988). Segundo este mesmo autor, sua concentração nas camadas onde se encontra o fitoplâncton é, geralmente, muito baixa, porém houve uma exceção a esse padrão no mês de Junho/08. Este fato possivelmente está associado a uma fonte poluidora, a qual pode estar relacionada ao uso de fertilizantes nitrogenados em áreas agrícolas próximas as margens do reservatório, como o cultivo de cana-de-açúcar.

Os resultados para o nitrogênio total no reservatório de Barra Bonita apresentaram variações temporais em suas concentrações durante o período de estudo. Essas variações podem estar relacionadas à elevada liberação de compostos nitrogenados resultantes da decomposição de células fitoplanctônicas mortas, como também a atividade de degradação de detritos orgânicos por bactérias (MINILLO, 2005).

6.1.3.2 Formas Fosfatadas

Há muito é conhecida a importância do fósforo nos sistemas biológicos, isto se deve ao fato da participação deste elemento em processos fundamentais para o metabolismo dos

seres vivos, como o armazenamento de energia e estruturação da membrana celular. Além de ser o principal fator limitante da produtividade nos ambientes aquáticos, o fósforo é apontado como o principal responsável pela eutrofização artificial destes ecossistemas (ESTEVEES, 1988).

Os resultados obtidos para o fósforo total e suas frações (fosfato total dissolvido, fosfato inorgânico e fosfato orgânico) demonstraram padrão semelhante ao descrito para as formas nitrogenadas. As altas concentrações de fósforo total, encontradas no reservatório de estudo, coincidiram com os meses chuvosos da região, segundo Pereira (2003), o aumento nas concentrações de fósforo no reservatório de Barra Bonita foi condicionado ao elevado aporte de material transportado pelos rios Tietê e Piracicaba, durante os meses de chuva na região.

Devem ser também consideradas a contribuição das fontes naturais de fósforo como, as rochas da bacia de drenagem, que constituem a fonte básica de fosfato para os ecossistemas aquáticos continentais, o material particulado presente na atmosfera, o fosfato resultante da decomposição de organismos de origem alóctone, além das fontes artificiais como, esgotos domésticos e industriais, fertilizantes agrícolas e material particulado de origem industrial contido na atmosfera (ESTEVEES, 1988).

Da mesma forma que o fósforo total, as altas concentrações das formas fosfatadas (fosfato total dissolvido, fosfato inorgânico dissolvido e fosfato orgânico dissolvido) foram verificadas no período de chuva. As oscilações na concentração das formas fosfatadas dependem das condições físicas e químicas do meio e da taxa de decomposição da matéria orgânica, mas também da sua assimilação pela comunidade fitoplanctônica e macrófitas aquáticas (especialmente o ortofosfato), uma vez que são indispensáveis ao crescimento e aumento da biomassa nos ecossistemas aquáticos (ESTEVEES, 1988).

Em lagos tropicais, devido à alta temperatura, o metabolismo dos organismos é elevado, fazendo com que o ortofosfato seja rapidamente assimilado e incorporado a sua biomassa (ESTEVEES, 1988). Este é um dos principais motivos pelos quais, exceto em ambientes eutrofizados artificialmente, a concentração de ortofosfato detectada nos ambientes aquáticos é muito baixa (ESTEVEES, 1988).

Outra explicação para as baixas concentrações das formas fosfatadas registradas, pode estar associadas à presença de íons ferro, alumínio, sulfeto, compostos orgânicos e carbonatos, pH e condições de oxi-redução, os quais interferem na precipitação do íon fosfato no ambiente aquático (ESTEVEES, 1988). Segundo este mesmo autor, o íon ferro na sua forma oxidada demonstra ter capacidade de adsorver o fosfato, porém esta dinâmica de precipitação dos fosfatos depende também das concentrações de oxigênio dissolvido e do pH da água.

6.1.3.3 Silicatos

A sílica no meio aquático é um composto de fundamental importância, pois é utilizada pelas diatomáceas na elaboração de sua carapaça, podendo ser encontrada uma forte correlação entre o crescimento das populações de diatomáceas e a concentração de sílica no meio (ESTEVES, 1988). Além das diatomáceas, outros organismos, como os heliozoários também utilizam sílica para a construção de seus esqueletos (ESTEVES, 1988).

As concentrações de sílica encontradas no presente estudo não demonstraram grande variação, ao longo do período de coleta, apesar disso, os maiores valores foram registrados durante o período seco. Dellamano-Oliveira (2006), em trabalho realizado no mesmo reservatório de estudo, observou maior abundância de diatomáceas, principalmente *Aulacoseira granulata*, nos meses secos associada as maiores concentrações de sílica, fato este também observado no presente estudo.

6.1.3.4 Razão NT/PT

O uso da razão entre as formas nitrogenadas e formas fosfatadas, NT/PT, na determinação da qualidade de água, possibilita avaliar a importância da limitação de determinados nutrientes para o crescimento do fitoplâncton (MINILLO, 2005). Os resultados obtidos para a razão NT/PT demonstraram uma variação temporal durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

As variações da relação NT/PT podem estar relacionadas a manutenção dos valores de nitrogênio total e a concentração de fósforo. Os valores registrados no presente estudo para esta razão foram maiores, quando comparados aos encontrados por Minillo (2005), no mesmo reservatório durante coletas realizadas entre Novembro/02 e Outubro/03, o que possivelmente ocorreu devido aos altos valores registrados das formas nitrogenadas, uma vez que as concentrações de fósforo total foram próximas em ambos os estudos.

6.2 Clorofila-a e Feofitina

A clorofila-a é uma importante variável nos ecossistemas aquáticos, sendo o principal pigmento responsável pela fotossíntese, além disso, o conhecimento de sua concentração pode dar indicações da biomassa do fitoplâncton (ESTEVES, 1988). Nos últimos anos, é cada vez mais freqüente a utilização da concentração de clorofila-a e

feopigmentos para expressar a biomassa fitoplanctônica (ESTEVEZ, 1988), além de ser uma ferramenta importante para a avaliação do estado trófico dos corpos d'água.

Os resultados obtidos de clorofila-a, neste estudo, demonstraram um padrão temporal tendo suas maiores concentrações registradas no período chuvoso. Estes resultados são inversos aos encontrados por Takenaka (2007). Os altos valores de clorofila-a registrados no período de chuva demonstram uma relação direta com as concentrações de nutrientes registradas neste reservatório no mesmo período, o que pode ter favorecido o crescimento da comunidade fitoplanctônica, principalmente as cianobactérias.

A concentração de feofitina, produto da degradação da clorofila, foi menor do que a de clorofila-a nas coletas de Julho e Novembro/07 e Janeiro/08, já nas coletas realizadas em Maio e Junho/08 sua concentração foi maior, provavelmente devido a baixa densidade fitoplanctônica.

6.3 Índice de Estado Trófico

O estado trófico de um ambiente aquático pode ser determinado a partir de vários critérios como concentração de oxigênio, concentração de nutrientes, clorofila-a, transparência de água, presença de espécies aquáticas etc. (TOLEDO Jr., *et al.*, 1983). Esta avaliação, no entanto, não deve ser realizada envolvendo apenas uma ou duas variáveis, mas por meio de um estudo amplo, uma vez que o ambiente pode assumir estado eutrófico, quando avaliado segundo um critério, e oligotrófico, quando outro critério é levado em consideração (TALAMONI, 1995).

O uso de um determinado índice de estado trófico deve levar em consideração obter o maior número de informações possíveis do ambiente. Diante destes aspectos, optou-se por utilizar o índice de estado trófico de Carlson, modificado por Toledo Jr. *et al.* (1983), pela sua melhor representação dos ambientes aquáticos das regiões tropicais.

Os resultados obtidos durante o estudo, em geral, classificaram o estado trófico do ambiente como eutrófico, em todo o período de coleta, resultado semelhante ao encontrado por Takenaka (2007). Entretanto, ocorreram algumas exceções quando as variáveis selecionadas (clorofila-a, fosfato inorgânico, fósforo total e transparência da água) foram analisadas separadamente, o que, pode estar relacionado às limitações com que as medidas das variáveis foram obtidas.

Os valores encontrados para os índices de estado trófico, baseados na concentração de clorofila-a e na transparência da água, demonstraram discrepâncias quando comparadas

entre si para o reservatório de estudo. Foram constatadas variações nos valores encontrados para o índice de estado trófico, aplicado a transparência de água, durante os meses de inverno e verão, bem como a melhoria na qualidade da água durante o período de seca.

No caso do índice do estado trófico baseado na concentração da clorofila-a não foi possível estabelecer um padrão. Este resultado pode estar relacionado à variabilidade na composição e fisiologia das espécies fitoplanctônicas presentes no corpo d'água, assim como outras alterações limnológicas ocorridas nestas ocasiões.

Os resultados obtidos para o índice de estado trófico com base no fósforo e ortofosfato, também apresentaram diferenças quando comparados entre si. De uma maneira geral o índice de estado trófico para o fósforo total, manteve-se como eutrófico durante o período de estudo exceto no mês de Novembro/07, quando o ambiente foi classificado como hipereutrófico, isso se deve provavelmente a alta concentração deste nutriente verificada nesta coleta.

Com relação aos valores encontrados para o índice de estado trófico com base na concentração de ortofosfato, a classificação variou entre os períodos chuvosos e de seca, sendo o reservatório de Barra Bonita classificado como hipereutrófico nos meses de chuva, tendo a qualidade de água melhorada nos meses de seca quando o ambiente é classificado como eutrófico. Porém foi verificada uma exceção a este padrão em Julho/07, quando o estado de eutrofização do ambiente foi calculado como hipereutrófico, resultado este que pode ser explicado devido às chuvas ocorridas anteriormente a coleta.

6.4 Composição, Distribuição e Densidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita - com ênfase nas cianobactérias

Em reservatórios, qualquer análise sobre as distribuições espacial e temporal do fitoplâncton deve considerar as respostas da comunidade às diferentes escalas de tempo (TUNDISI, 1990). As respostas do fitoplâncton são representadas por características fisiológicas, atividade bioquímica, reprodução e multiplicação celular, o que possibilita identificar algumas estratégias de maximização da produtividade e biomassa (MARGALEF, 1983).

Em ecossistemas aquáticos tropicais, a temperatura por estar sempre acima dos valores limites ao crescimento, não tem efeitos significativos sobre a variação temporal do fitoplâncton, no entanto, outros fatores como disponibilidade de nutrientes, radiação solar,

alteração do fotoperíodo, precipitação, turbulência, herbivoria e parasitismo, podem controlar a variação temporal da comunidade fitoplanctônica (ESTEVES, 1988; MARGALEF, 1983).

A ação conjunta destes fatores influencia a variação periódica da abundância, dominância, composição e sucessão entre as diferentes classes do fitoplâncton no ecossistema (REYNOLDS, 1999). Os organismos fitoplanctônicos podem ser utilizados como indicadores biológicos, mudanças da presença de espécies ou sua composição, podem servir como ferramentas importantes aos estudos ecológicos.

Durante o período de estudo, a comunidade fitoplanctônica do reservatório de Barra Bonita foi composta por representantes de 4 classes taxonômicas, totalizando 34 táxons identificados. Minillo (2005), em estudo anterior realizado no mesmo reservatório registrou a ocorrência de 5 classes taxonômicas e 32 táxons catalogados. Apesar do número de espécies registradas no presente estudo ter sido maior do que o registrado por Minillo (2005), estes resultados foram menores aos encontrados por Dellamano-Oliveira (2006) e Takenaka (2007) no mesmo reservatório de estudo, quando as autoras registraram respectivamente 139 táxons pertencentes a 9 classes e 82 táxons pertencentes a 8 classes fitoplanctônicas. É importante considerar que apesar dos três estudos terem sido realizados em um ponto central à montante do reservatório, os dois últimos foram realizados em seis profundidades diferentes, por outro lado no estudo realizado por Dellamano-Oliveira (2006), o período de coleta fitoplanctônica teve duração de 21 meses.

Quantitativamente, a classe Chlorophyceae, representada principalmente pela ordem Chlorococcales, foi dominante sobre as demais classes, representando 42,42% do total de espécies identificadas neste estudo. A classe Cyanophyceae representou 27,27% do total de táxons identificados, seguida pela Bacillariophyceae, com 18,18% e pela Zygnemaphyceae com 12,12%. A maior riqueza encontrada para a classe Chlorophyceae é condizente com os relatos de estudos anteriores realizados no reservatório de Barra Bonita (MINILLO, 2005; DELLAMANO-OLIVEIRA, 2006).

A predominância das algas da ordem Chlorococcales em reservatórios artificiais, influenciados pela atividade humana, também foram observados em outros estudos, como os realizados por Xavier (1996) na Represa Billings, São Paulo – SP e por Silva (1999), no Lago Monte Alegre, Ribeirão Preto – SP.

A classe Bacillariophyceae, foi a terceira classe com maior número de *taxa* registrados durante o estudo, sendo representada em quase sua totalidade pela ordem Centrales, dado semelhante ao encontrado por Minillo (2005). Entre os representantes desta classe, o destaque maior foi para as espécies que mantiveram altos valores de densidade,

como *Aulacoseira granulata* e *Navicula* sp. Segundo Reynolds (1997 e 1998), o crescimento das diatomáceas está relacionado diretamente com as concentrações de sílica e fósforo e a disponibilidade luminosa, sendo as espécies do gênero *Aulacoseira* melhores adaptadas a ambientes eutrofizados. Um estudo de curta duração realizado por Jati (1998) neste mesmo reservatório destacou que os maiores valores de densidades da classe Bacillariophyceae estiveram associados ao período seco (inverno), ocasião na qual ocorreu uma maior turbulência e disponibilidade de luz na coluna d'água, o que não pode ser aplicado na coleta realizada no mês de Junho/08, quando a densidade de diatomáceas foi menor do que as registradas durante o verão.

Houve porém um dado atípico em relação a densidade de diatomáceas, que foi registrado em Janeiro/08 (período chuvoso e concentração mediana de sílica), no qual foi registrado altas densidades de *Navicula* sp., devido a ocorrência floração de cianobactérias, com destaque para as colônias de *Microcystis aeruginosa*, nas quais estas diatomáceas foram constantes encontradas aderidas a sua bainha de mucilagem durante análise da amostra.

A classe Zygnemaphyceae, apresentou o menor número de *taxa* registrado no atual estudo. Esta foi representada em sua totalidade pelas desmidiáceas, sendo representada pelos gêneros *Closterium* e *Staurastrum*.

Embora as clorofíceas tenham contribuído com o maior número de *taxa*, foram as cianobactérias que apresentaram maior densidade. Dados semelhantes aos registrados por Lima (2004), Minillo (2005), Dellamano-Oliveira (2006) e Takenaka (2007), no mesmo reservatório, o que segundo Minillo (2005), reforça a condição de eutrofização na qual esse ambiente se encontra. Além disso, a dominância deste grupo pode ser associada a sua ampla capacidade de ocupação de diferentes ambientes aquáticos, desde que este, apresente as condições mínimas requeridas por estas algas.

Estudos realizados em reservatórios brasileiros, demonstraram que ecossistemas aquáticos com grau de trofia elevado, concentrações de fósforo total entre 50 a 660 µg/L, pH entre 7 e 9, baixa profundidade (2,8 a 14 metros), temperatura da água acima de 20°C e razão N/PT entre 2 e 19, são ambientes propensos a proliferação de cianobactérias, devido suas necessidades por nutrientes serem maiores, quando comparadas com outros grupos (AZEVEDO *et al.*, 1994; SANT'ANNA e AZEVEDO, 2000). Condições estas encontradas no reservatório de Barra Bonita.

Em ambientes aquáticos eutróficos, é comum encontrarmos cianobactérias, uma vez que tendem a apresentar elevada biomassa em relação ao outros grupos fitoplanctônicos, no entanto trabalhos como o de Ferreira (1998), no reservatório de Jurumirim – SP, caracterizado

como oligotrófico e Vieira (2002a), no reservatório de Utinga-PA, ambiente caracterizado entre mesoligotrófico e oligotrófico, apresentaram florações de cianobactérias. Segundo Paerl (1995), são inúmeros e complexos os fatores físicos (tamanho e volume do sistema, vazão, estratificação e transparência da água) e químicos (disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura) que controlam a formação de florescimentos de cianobactérias planctônicas, além disso os fatores físicos, são de extrema importância, pois determinam os gêneros e espécies que irão se estabelecer e dominar o ecossistema (MINILLO, 2005).

Estudos realizados no Brasil vêm demonstrando a importância dos fatores meteorológicos como intensidade e direção dos ventos e variações nos níveis de precipitação das áreas sujeitas a ocorrência de florações de cianobactérias (SANDES, 1998; MINILLO *et al.*, 2000; COSTA, 2003). Estas condições são importantes, uma vez que atuam diretamente no grau de estagnação e circulação da coluna d'água, bem como no deslocamento das manchas superficiais de florações em um determinado ambiente.

Durante o estudo, florações mistas de cianobactérias foram encontradas em todas as amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita. A classe Cyanophyceae foi representada pelas ordens Chroococcales, Nostocales e Oscillatoriales, as quais contribuíram quantitativamente para a abundância deste grupo, com predominância das espécies dos gêneros *Microcystis* e *Pseudanabaena*, que representaram até 92,4 e 23,6 %, respectivamente, da densidade total entre os representantes deste grupo. Para este mesmo sistema, Minillo (2005), destacou a abundância das espécies do gênero *Microcystis*, *Pseudanabaena* e *Anabaena*, enquanto que Dellamano-Oliveira (2006) registrou as espécies *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis protocystis* e células livres de *Microcystis* spp. como abundante, já Takenaka (2007), relatou a maior densidade de células livres de *Microcystis* spp., *Pseudanabaena mucicola* e *Aphanothece* sp.

A dominância do gênero *Microcystis* em relação às outras cianobactérias pode estar relacionada a combinação de fatores físicos e químicos ocorridos neste ambiente, como nutrientes, temperatura e pH, em combinação com uma maior instabilidade na coluna d'água neste ambiente. Dentre as espécies do gênero *Microcystis*, a forma colonial *M. aeruginosa*, merece destaque não apenas pela sua maior densidade em relação às demais, mas também por ser umas das espécies cosmopolitas de maior sucesso entre as cianobactérias planctônicas, tendo seu ciclo anual e dinâmica populacional amplamente estudado em lagos eutróficos temperados (REYNOLDS *et al.*, 1980)

No Brasil, esta espécie apresenta ampla distribuição, sendo uma das responsáveis pelos diversos episódios de florações registrados por todo o território nacional nos últimos

anos (ZAGATTO e ARAGÃO, 1992; AZEVEDO *et al.*, 1994; MATTHIENSEN *et al.*, 1999; SANT'ANNA E AZEVEDO, 2000; VIEIRA, 2002a; COSTA 2003).

Branco e Senna (1994, 1996), ao estudarem a ocorrência de florações de *Microcystis aeruginosa* no reservatório Paranoá – DF apontaram as altas concentrações de compostos nitrogenados e a elevada alcalinidade registradas no final da estação seca, como responsáveis pela alta biomassa desta alga, o que não foi verificado no atual estudo.

6.5 Análise da Riqueza e Diversidade da Comunidade Fitoplanctônica no Reservatório de Barra Bonita

Os valores obtidos para os índices de riqueza e diversidade demonstraram que a comunidade fitoplanctônica apresentou baixa riqueza e diversidade durante o estudo. Os maiores valores de riqueza encontrados no estudo foram representados, principalmente, pela classe Cyanophyceae, visto a maior representatividade deste grupo pelo número de *taxa* registrado.

Os menores índices de diversidade foram registrados nas coletas nas quais houve as maiores densidades de cianobactérias, principalmente do gênero *Microcystis*. A presença de altas densidades de indivíduos de uma mesma espécie tende a reduzir a diversidade do ambiente em que se encontra. Sandes (1998), em um estudo realizado neste mesmo reservatório, relacionou os baixos valores do índice de diversidade à ocorrência de florescimentos de cianobactérias, principalmente da espécie *Microcystis aeruginosa*.

6.6 Detecção de Cianotoxinas no Reservatório de Barra Bonita

As cianobactérias produzem metabólitos secundários, substâncias que não são utilizados pelo organismo durante seu metabolismo como, por exemplo, toxinas. Estes compostos causam geralmente efeitos danosos a outros tecidos, células e organismos (CARMICHAEL, 1992).

As cianotoxinas, como são chamadas as toxinas produzidas pelas cianobactérias, podem ser produzidas e liberadas durante todo o seu ciclo de vida, ou armazenadas até a senescência das células ou sob a ação de algicidas. Quando liberadas no ambiente aquático, estas cianotoxinas podem persistir por várias semanas ou meses (FALCONER, 1993). Ainda existem dúvidas sobre a real necessidade das cianofíceas em produzirem as cianotoxinas, sugere-se que estas toxinas tenham papel importante na defesa do organismo, inibindo a ação

de predadores ou algas competidoras, comportamento semelhante ao dos anti-herbívoros produzidos por algumas plantas (CARMICHAEL, 1992).

Durante o estudo foram detectadas, a presença de cianotoxinas hepatotóxicas (microcistinas) em 100% das amostras coletadas no reservatório de Barra Bonita-SP, o que está relacionado com a elevada presença de algumas algas produtoras desta hepatotoxina, como as espécies do gênero *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. panniformis*, *M. protocystis* e células livres de *M. spp.*), encontradas nas amostras.

As concentrações de microcistina-LR total registradas no reservatório de Barra Bonita, estão em sua maioria abaixo dos registrados por outros países, como 1.800 µg/L de microcistina-LR, no Lago Centenário, Austrália (JONES e ORR, 1994) e por Park *et al.* (1998), no Lago Suwa, Japão, com concentrações oscilando entre 0,11 e 184 µg/L de microcistina-LR. Porém os valores registrados no presente estudo estão em média acima dos registrados por outros estudos, como o de Minillo (2005), com valores entre 7 e 45,9 µg/L de microcistinas no mesmo reservatório do atual estudo, o de Nobre (1997), em reservatórios de abastecimento público no Estado de São Paulo, com valores máximos variando entre 0,5 a 100 µg/L de microcistinas.

Contudo uma comparação direta entre os valores é difícil, devido às diferenças na instrumentação, amostragem e métodos de detecção (CHRISTOFFERSEN, 1996a), bem como a capacidade de uma mesma espécie de cianobactéria em produzir mais de um tipo de toxina (SIVONEN, 1996). Vale ressaltar que no presente estudo foi usada metodologia baseada no uso da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), como dito anteriormente na metodologia, para a detecção de apenas uma das variantes da microcistina – microcistina-LR. No Brasil, diversos estudos foram realizados baseados na utilização do teste imunoenzimático (ELISA), teste no qual mais de uma variante é detectada (microcistina-LR, microcistina-RR e microcistina-YR).

Estudos realizados em três reservatório do Estado de São Paulo, Salto Grande, Americana, Billings e Guarapiranga, São Paulo, por Coelho *et al.* (1998), utilizando o kit ELISA, detectaram valores de microcistina (MC) entre 0,6 e 16 µg/L nas amostras de água.

Marino *et al.* (2001), em estudo realizado na represa de Rio Grande, SP, relataram concentrações de até 28 µg/L de MC. Valores menores que estes foram reportados por Neto e Pinto (2001), nos rios Atibaia e Capivari, na região de Campinas-SP, durante o monitoramento ao longo de 21 meses, ao detectarem valores abaixo de 0,5 µg/L de MC. Valores maiores que estes foram relatados por Jardim (1999) em estudos realizados em um

reservatório de abastecimento na região de Alfenas-MG, no qual foram detectadas concentrações entre 0,5 e 1,11 µg/L de MC.

Costa (2003), em estudos realizados em um importante reservatório de abastecimento de água no Estado de Rio Grande do Norte, verificou o risco permanente da população local de exposição às cianotoxinas, tendo em vista os altos valores de microcistinas encontrados na água bruta de captação, os quais oscilaram de 3,60 a 8,8 µg/L.

De modo geral, os valores encontrados para microcistina-LR, no reservatório de Barra Bonita, durante o presente estudo, despertam uma maior atenção, visto que este reservatório é utilizado para fins de recreação, pesca e aquicultura, bem como pelas elevadas concentrações de cianotoxinas detectadas no presente estudo, principalmente quando comparadas com outros trabalhos realizados no Brasil, levando em consideração que no presente estudo detectou-se apenas a concentração de uma variante de cianotoxina presente na água.

6.7 Composição, Distribuição, Densidade e Tipos Alimentares da Comunidade Protozooplancônica no Reservatório de Barra Bonita

Dentre os quatro grupos de protozoários importantes para o reservatório de Barra Bonita, de todos ciliados (Oligotrichida, Peritrichia, Heterotrichida e Gymnostomatida), Oligotrichida é de fato o grupo de ciliados mais importante para os ambientes aquáticos segundo Laybourn-Parry (1992) e, com o aumento do grau de trofia dos sistemas costumam ser substituídos em importância pelos Scuticociliatida (Hymenostomata) (BEAVER e CRISMAN, 1989), porém tal fato não foi observado durante o período de estudo, apesar do reservatório de Barra Bonita ser um ambiente bastante eutrofizado. O predomínio de Oligotrichida e Peritrichia foi também relatado por Arantes *et al.* (2004) para o plâncton do reservatório hipereutrófico Salto Grande, SP.

Dentre as espécies pertencentes aos grupos Oligotrichida e Peritrichia, os protozoários que predominaram no reservatório de Barra Bonita, foram *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis*, respectivamente. De acordo com Foissner (1999) *Halteria grandinella* alimenta-se de bactérias e algas, sua presença indica ambientes em condições eutróficas ou hipereutróficas, especialmente quando ocorre em número considerável (e.g. 1000 ind/L). Entretanto, o gênero *Halteria* e, em especial, *Halteria grandinella*, é frequentemente identificada em grande parte dos ambientes de água doce tais como lagos e represas de vários graus de trofia (e.g. Simek *et al.* 2000), inclusive em ambientes brasileiros (BARBIERI e

GODINHO-ORLANDI, 1989a e b; BOUVY, 1998; GOMES e GODINHO, 2003; ARAÚJO e COSTA, 2007).

Comparando os dados da literatura com as densidades de protozoários encontrados do presente estudo, os valores foram extremamente reduzidos, especialmente para ambientes eutróficos. Carrias *et al.*, (1994) e James *et al.*, (1995), citados em Foissner,(1999), observaram em lagos temperados e subtropicais eutrofizados do Hemisfério Norte, densidade de protozoários entre 0 – 230.000 ind/L. Gomes e Godinho (2003), analisando o lago Monte Alegre, SP, considerado um ambiente eutrófico, encontraram densidades de protozoários entre 3.600 a 389.000 ind/L. Já o estudo da densidade de protozooplâncton de Barbieri e Godinho-Orlandi (1989), no sistema eutrófico do Reservatório de Rio Grande, SP, encontraram densidades variando de 1.000 a 16.920 ind/L. Arantes *et al.* (2004), analisando o ambiente hipereutrófico de Salto Grande, SP, verificou densidades de protozoários entre 3.100 a 19.600 ind/L. Regali-Seleghim (1992, 2001), registrou densidades que variaram entre 10.000 e 1.000.000 ind/L na represa do Monjolinho, deve-se aqui salientar o fato deste sistema ter sofrido a influência da ressuspensão do sedimento na coluna d'água, o que aumentou consideravelmente as populações de bactéria e protozooplâncton, fato este que não ocorreu nem no atual estudo, nem nos demais anteriormente citados.

A elevada densidade de algas nos ambientes normalmente está também associada a altas densidades de ciliados (BEAVER e CRISMAN, 1989). Entretanto, esse fato não foi observado no reservatório de Barra Bonita. Provavelmente a qualidade dos tipos algais dominantes podem ter afetado as densidades de ciliados, pois no presente estudo, os grupos dominantes foram cianobactérias coloniais e algas filamentosas (diatomáceas como *Aulacoseira*) de difícil captação pelos ciliados. Além disso, deve ser considerado o possível efeito da presença de cianotoxinas (microcistinas) nas amostras analisadas como um parâmetro que possa ter contribuído sobre a presença destes ciliados.

A densidade de protozoários pode ter sido afetada pela concentração de microcistina-LR total, bem como pela densidade de células de *Microcystis* spp. Isto pode ser explicado pelo aumento da densidade fitoplanctônica, já que neste período também houve um aumento na densidade de protozoários tipicamente bacterívoros e algívoros, com preferência por cianobactérias (*Pelagostrombidium fallax* e *Rimostrombidium* sp.), porém não foi observado nenhum efeito positivo.

Segundo Curds (1992), para protozoários, a quantidade de alimentos disponível determina o quanto de biomassa dos mesmos que pode ser suportada, enquanto que o tipo de alimento determina o grupo nutricional de protozoários que pode sobreviver. Dessa maneira,

segundo esse mesmo autor, flagelados e protozoários bacterívoros são mais frequentes em regiões poli a mesosapróbicas (com grande quantidade de matéria orgânica) enquanto que ciliados carnívoros são mais frequentes em zonas com baixa quantidade de matéria orgânica (oligosapróbias). Tais afirmações explicam o predomínio do tipo alimentar bacterívoro no reservatório de Barra Bonita e explica também o aumento da importância relativa dos carnívoros e predadores (Gymnostomatida e Heliozoidea) nas duas últimas coletas que foi um período de fim de blooms fitoplanctônicos.

Assim, o grupo nutricional de protozoários predominante na Represa de Barra Bonita foi o dos bacterívoros, e de fato, o ambiente se destaca pelas elevadas densidades de bactérias. Segundo Racy *et al.* (2005), como resultado de sua eutrofização, o ambiente é caracterizado por altas densidades bacterianas, dominadas pelos tipos cocos e bacilos, que somados, em determinadas épocas, podem atingir até 80% do total da população bacteriana. O tipo alimentar bacterívoro predominou nas três primeiras coletas, seguido pelo tipo alimentar algívoro/bacterívoro que, por sua vez, passou a dominar nas duas últimas coletas. Quando um protozoário possui esse tipo de alimentação mista fica difícil afirmar quando ele se alimenta de bactéria ou quando se alimenta de algas, mas, de qualquer maneira, podemos afirmar que bactérias fazem parte da dieta desses organismos e como a oferta de bactérias na represa é alta, certamente estas correspondem a uma boa parcela da dieta dos mesmos. Somando-se então os protozoários com dieta exclusiva de bactérias com aqueles que fazem alimentação mista entre bactérias e algas, podemos com certeza afirmar que as bactérias são um item alimentar bastante importante para a maioria dos ciliados que ocorreram no sistema durante o estudo. Por outro lado, as altas densidades bacterianas no ambiente não explicam as baixas densidades de protozoários obtidas para o sistema, pois as densidades variaram de 917,4 a 2664,17 ind/ L no período estudado.

A baixa densidade da comunidade protozooplânctônica no reservatório de Barra Bonita pode ser explicada pela elevada toxicidade do ambiente como um todo, não somente pela presença de cianotoxinas, como também de metais (RODGHER *et al.*, 2005), compostos organoclorados persistentes (CALHEIROS, 1993) e outras substâncias que podem interferir no desenvolvimento do protozooplâncton, os quais não foram analisados neste estudo.

6.8 Relação entre as Colônias de *Microcystis* sp e *Vorticella aquadulcis* no Reservatório de Barra Bonita

As correlações positivas encontradas entre *Vorticella aquadulcis* e clorofila-a e entre *V. aquadulcis* e colônias de *Microcystis* spp. são justificadas pelo fato da mesma utilizar as colônias de *Microcystis* como substrato de fixação, fato este verificado em todas as contagens. Segundo Pratt e Rosen (1983), os ciliados peritriquidas são freqüentemente encontrados fixados a uma variedade de substratos em habitats aquáticos, mas a ocorrência de um grande número de peritriquidas no plâncton é infreqüente. Entretanto, em ambientes com altas densidades de cianobactérias, peritriquidas são freqüentemente encontrados aderidos a esses organismos. Por exemplo, Kerr (1983) estudando um lago em Wisconsin observou a associação de *Vorticella* spp com cianobactérias, sendo a associação mais freqüente com *Nostoc* sp. Essa autora não encontrou preferência de fixação dos vorticelídeos por um dos táxons de cianobactérias, em vez disso, observou a preferência de todas as espécies de *Vorticella* por *Nostoc* sp. No Reservatório de Barra Bonita, no presente estudo, não foi possível estabelecer uma preferência de *Vorticella aquadulcis* por alguma das espécies de *Microcystis*, pois ela foi encontrada fixada nas colônias das três espécies identificadas (*Microcystis aeruginosa*, *M. panniformes* e *M. protocystis*). Durante um florescimento de *Aphanizomenon flos-aquae* no Lago Erie – EUA/Canadá, foi observada a associação desta cianobactéria com *Vorticella campanula*, a qual foi relativamente constante durante todo o período de floração (HEDENDORF e MONACO,1983). Ainda segundo esses autores, devido a necessidade de *Vorticella* em requerer um substrato, eles suspeitaram que a fixação inicial pode ter ocorrido próximo ao fundo do lago, mas como persistem na colônia de algas flutuam juntas na coluna d'água.

As cianobactérias, por possuírem mecanismos que controlam sua flutuação na coluna d'água, diferentemente da maioria dos outros organismos fitoplanctônicos, parecem ser um interessante substrato de fixação para os peritriquidas permitindo que estes usufruam das condições de locais que apresentam condições físico-químicas e alimento adequados. Embora existam várias espécies e gêneros de protozoários que possuem pedúnculos e/ou se fixam a substratos, os únicos que são relatados com freqüência aderidos a cianobactérias são os do grupo dos peritriquídas, indicando que essa relação traz benefícios pelo menos para o protozoário. Benefícios mútuos nessa associação foram sugeridos por Hedendorf e Monaco (1983) ao afirmar que o comportamento de alimentação pulsante da *Vorticella* produz um distinto movimento de deslizamento da colônia algal.

6.9 Análise da Riqueza e Diversidade da Comunidade Protozooplantônica no Reservatório de Barra Bonita

Durante o período de estudo, a comunidade protozooplantônica do reservatório de Barra Bonita foi composta por representantes de 7 grupos, totalizando 25 táxons identificados. Destes grupos identificados houve predomínio dos ciliados em relação aos sarcodinas.

Regali-Selegim (2001), no reservatório eutrófico do Monjolinho, identificou 142 táxons, destes 121 pertencentes aos ciliados e 27 aos sarcodinas. Esta mesma autora em um estudo anterior realizado no mesmo local registrou 59 espécies (REGALI-SELEGHIM, 1992). Os dados encontrados em Barra Bonita são inferiores ao relatados por Arantes *et al.* (2004), no reservatório de Salto Grande, SP no qual foram encontrados 13 grupos e 30 táxons. As baixas riquezas registradas nas coletas realizadas em Barra Bonita em relação a outros ambientes brasileiros com mesmo grau de trofia pode ser explicado pela elevada toxicidade ambiental do sistema como um todo, assim como concluiu Arantes *et al.* (2004) em seu estudo no reservatório de Salto Grande-SP.

6.10 Bioensaios de Toxicidade

As soluções estoque de cada amostra utilizada nos bioensaios estas foram semi-purificadas e determinadas apenas a concentração de microcistina-LR, o que dificulta a comparação dos resultados deste trabalho com outros, devido as diferenças metodológicas. Além disso, outro fator a ser levado em consideração e que está diretamente relacionado a fatores genéticos é a sensibilidade dos organismos, os quais apresentam uma elevada variabilidade (MINILLO, 2005), inclusive em organismos provenientes do mesmo clone.

As concentrações de microcistina-LR (MC-LR) usadas nos testes com a amostra de cultivo de *Microcystis aeruginosa* tenham sido maiores do que as utilizadas nos testes com amostras ambientais. O mesmo não correspondeu para o efeito tóxico observado nos ensaios toxicológicos. Pode-se observar que as amostras ambientais testadas configuraram uma maior toxicidade. Este resultado pode ser devido ao fato de que no ambiente há outros contaminantes, os quais não puderam ser detectados como metais, os quais podem ser complexados pelas algas produtoras de polissacarídeos, entre elas *Microcystis* spp., uma das espécies abundantes do sistema (LOMBARDI e VIEIRA, 1998; VIEIRA, 2002b), bem como a presença de outras cianotoxinas não detectadas, uma vez que, foram detectadas outras espécies de cianobactérias capazes de produzir mais de um tipo de toxina (SIVONEN, 1996).

Os testes realizados com o cultivo de *Microcystis* sp. não produtora de toxina e que demonstraram-se tóxicos, pode ser explicado por erro no manuseio do extrato liofilizado. Apesar da amostra a princípio não produzir cianotoxina, o extrato liofilizado foi submetido ao mesmo método, ou seja, ressuspensão em metanol 75%, o qual pode não ter sido retirado por completo na etapa de evaporação. Outra possível explicação pode estar na informação incorreta de que a cepa não produza nenhum tipo de cianotoxina. Serão necessários estudos posteriores que testem essas duas hipóteses.

Ao compararmos os valores de LC₅₀-24h (9,84 µg/mL-média) obtidos nos testes realizados com a amostra de cultivo da linhagem tóxica de *Microcystis aeruginosa*, com outros trabalhos percebemos que os valores registrados neste estudo foram inferiores aqueles obtidos por Ward e Codd (1999), para o protozoário *Tetrahymena pyriformis*, ao registrarem uma LC₅₀-24h de 252 µg/mL para MC-LR. Os mesmos autores anteriormente citados registraram valores de LC₅₀-24h de 179 µg/mL para MC-LY, LC₅₀-24h de 87 µg/mL para a MC-LW e um LC₅₀-24h de 83 µg/mL para a MC-LF.

Os baixos valores de LC₅₀-24h encontrados para as amostras de cultivo de *M. aeruginosa* no presente estudo para o *Paramecium caudatum* em relação aos encontrados pelos autores Ward e Codd (1999), podem ser devido a maior sensibilidade do protozoário de estudo em relação a *T. pyriformis*.

Assim, determinadas concentrações de microcistinas nos ambientes podem estar afetando algumas espécies de protozoários e outras não. Tal efeito pode alterar a composição protozooplânctônica em locais sujeitos à toxicidade dessas substâncias como foi verificado no presente estudo. Tais alterações na base da cadeia podem ter implicações em outros níveis tróficos e devem ser investigadas em estudos posteriores. Sugere-se também, a partir dos dados obtidos no presente estudo, a avaliação da tolerância das espécies frequentemente encontradas no ambiente a essas toxinas em comparação com outras não encontradas.

Durante o presente estudo foram observadas pequenas variações temporais na toxicidade das amostras ambientais testadas sobre os protozoários. Estas variações podem estar diretamente relacionadas às variações nas concentrações de outras substâncias tóxicas, bem como de outras cianotoxinas, bem como alterações na proporção de cepas tóxicas e não tóxicas na população fitoplanctônica coletada no reservatório de Barra Bonita.

7. CONCLUSÕES

O reservatório de Barra Bonita recebe um grande aporte e nutrientes dos rios Piracicaba e Tietê, seus tributários, além de outras substâncias como pesticidas do seu entorno. As elevadas concentrações de nutrientes contribuí para que o reservatório de Barra Bonita seja classificado como um ambiente eutrófico.

A densidade da comunidade fitoplanctônica foi maior no período chuvoso, com destaque para as cianobactérias, que apresentaram densidades superiores que as demais classes, com destaque para o gênero *Microcystis*.

As concentrações de microcistina-LR presentes na água do reservatório de Barra Bonita foram as mais altas registradas até o momento para o ambiente. Estes resultados reforça a necessidade de mais estudos envolvendo a influências das cianotoxinas e florações de cianobactérias na comunidade protozooplanctônica, bem como ao homem.

Não foi possível verificar uma correlação direta entre as concentrações de microcistina intracelular e a densidade de células de cianobactéria, porém houve uma correlação positiva entre a concentração de microcistina extracelular e a densidade de células de *Microcystis* spp.

O número de *taxa* e as densidades de protozoários encontradas no presente reservatório investigado foram inferiores a relatadas em outros ambientes com semelhante grau de trofia.

Dentre as espécies protozooplanctônicas identificadas *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* foram as espécies com maiores densidades verificadas durante os eventos de florações de cianobactérias no reservatório de Barra Bonita.

O protozoário *Vorticella aquadulcis* e as colônias de *Microcystis* demonstraram ter uma correlação positiva, indicando uma relação benéfica aos organismos.

Os protozoários de alimentação algívora e/ou bacterívora estiveram em maior porcentagem no ambiente.

As densidades de protozoários variaram de acordo com a presença de florações na represa. As elevadas densidades das algas em especial da cianobactérias pode ter afetado a diversidade de protozoários. Além disso as altas concentrações de microcistina-LR podem atuar como possíveis parâmetros que afetam as densidades e riquezas de protozoários nos corpos d'água.

Os extratos semi-purificados das cepas NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e de *Microcystis* sp. cultivadas em laboratório e as amostras ambientais de florações de

cianobactérias oriundas do reservatório de Barra Bonita causaram toxicidade aguda aos *Paramecium caudatum*.

Os efeitos letais causados aos *P. caudatum* pelas concentrações de cianotoxinas dos extratos das amostras ambientais indicam um possível efeito das florações de cianobactérias na estrutura da comunidade protozooplânctônica presente neste ambiente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANTES JR. J. D., et al. Estudo das populações de protozoários (Ciliophora e Rhizopoda) no reservatório de Salto Grande – Americana – SP. In: ESPÍNDOLA E. L. G.; LEOTE M. A.; DORNFELD C. B. (Ed.). **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP): Caracterização, impactos e propostas de manejo**. São Carlos: Rima, 2004. p. 155-177.
- ARAÚJO, M. F. F.; COSTA, I. A. S. Comunidades microbianas (bacterioplâncton e protozooplâncton em reservatórios do semi-árido brasileiro. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 422-432, 2007.
- AYRES M., et al. **BioEstat 5.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPQ, 2007.364 p.
- AZEVEDO, S. M. F. O. Toxinas de cianobactérias: causas e conseqüências para a saúde pública. **Medicina on line**, v. 1, n. 3, p. 1-24, 1998. Disponível em <<http://www.medonline.com.br/microcis.htm>> Acesso em: 19 dez/2005.
- AZEVEDO, S. M. F. O., et al. First report of microcystins from brasilian isolate of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 6, n. 3, p. 261-265, 1994.
- BARBIERI, S. M.; GODINHO-ORLANDI, M. J. L. Ecological studies on the planktonic protozoa of a eutrophic reservoir (Rio Grande Reservoir-Brazil). **Hydrobiologia**, v. 183, p. 1-10, 1989a.
- BARBIERI, S. M.; GODINHO-ORLANDI, M. J. L. Planktonic protozoa in a tropical reservoir: temporal variations in abundance and composition. **Revue D' Hydrobiologie Tropicale**, v. 22, p. 275-285, 1989b.
- BARBOSA, F.A.R., et al. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tietê -basin, São Paulo State, Brazil. In: TUNDISI, J.G.; STRASKRABA, M. (Ed.). **Theoretical Reservoir Ecology and its Applications**. São Carlos, Rio de Janeiro: IIE, Brazilian Academy of Sciences e Backhuys Publishers, 1999. p. 425-437.
- BEAVER J. R.; CRISMAN T. L. The role of ciliated protozoa in pelagic freshwater ecosystems. **Microbial Ecology**, v. 17, p. 111-136, 1989.
- BOUVY, M.; BARROS-FRANCA, L. M.; CARMOUZE, J. P. Compartimento microbiano no meio pelágico de sete açudes do estado de Pernambuco. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 10, n. 1, p. 93-101, 1998.

- BOX, J. D. Enumeration of cell concentration in suspensions of colonial freshwater microalgae, with particular reference to *Microcystis aeruginosa*. **British Phycological Journal**, London, v. 16, n. 2, p. 153-164, 1981.
- BRANCO, C. W. C.; SENNA, P. A. C. Factors influencing the development of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* in Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil. **Algological Studies**, v. 75, p. 85-96, 1994.
- BRANCO, C. W. C.; SENNA, P. A. C. Relations among heterotrophic bacteria, chlorophyll-a, total phytoplankton, total zooplankton and physical and chemical features in the Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 337, n. 1, p. 171-181, 1996.
- CALHEIRO, D. F. **Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um ecossistema eutrófico**: represa de Barra Bonita (Médio Tietê-SP). 1993. 198 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.
- CARMICHAEL, W. W. et al. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspective**, v. 109, p. 663-668, 2001.
- CARMICHAEL, W.W. Cyanobacteria secondary metabolites - the cyanotoxins. **Journal Applied Bacteriology**. v. 72, p. 445-459, 1992.
- CARON, D. A. et al. Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by a protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. **Marine Ecology Progress Series**, v. 76, n. 3, p. 205–217, 1991.
- CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water**: a guide to their public health consequences, monitoring and management. New York: E & FN Spon, 1999. 416p.
- CHORUS, I. Introduction: cyanotoxins - research for environment safety and human health. In: _____. **Cyanotoxins**: occurrence, cause and consequences. Berlin: Springer, 2001. p. 1-4.
- CHRISTOFFERSEN, K. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. **Phycologia**. v. 35, p. 42–50, 1996a.
- CHRISTOFFERSEN, K. Effect of microcystin on growth of single species and on mixed natural populations of heterotrophic nanoflagellates. **Natural Toxins**, v. 4, p. 215–220, 1996b.
- CHRISTOFFERSEN, K.; LYCK, S.; WINDING, A. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 27, p. 125-136, 2002.
- CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 16, p. 51-60, 2000.
- COELHO, M. C. L. S., et al. Detecção de microcistinas em águas superficiais através de ensaio imunoenzimático (ELISA): resultados preliminares. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 5., 1998, Itajaí. **Resumos...** Itajaí: UNNALI/CTTMar, 1998. p.63.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. **Norma técnica L5.025**. Água-teste para avaliação de toxicidade aguda de cianobactérias (algas azuis). São Paulo, CETESB, 1993.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório das águas interiores do Estado de São Paulo**: 1998 – 2000. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente/CETESB, 2001. (Série Relatórios).

- COSTA, I. **Ecotoxicologia de cianobactérias em um reservatório eutrofizado semi-árido nordestino brasileiro**. 2003. 179 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.
- COSTA, J.B. **Avaliação da adequabilidade de *Kalliapseudes schubartii* Mane-Garzon, 1922 (Crustácea-Tanaidacea) como organismo-teste para utilização em ensaios de toxicidade de sedimentos estuários**. Rio Grande: Fundação Universidade de Rio Grande, 1997. 60p. Monografia.
- COSTA, S. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Implantação de um Banco de Culturas de Cianofíceas Tóxicas. **Iheringia**, v. 45, p. 69-74, 1994. (Série Botânica).
- CURDS, C. R. **Protozoa and the water industry**. New York: Cambridge University Press, 1992. 128 p.
- DE MAAGD, P. G. J., et al. pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR. **Water Research**, New York, v. 33, p. 677–680, 1999.
- DEFLANDRE, G. Le gene Arcella Ehrenberg. **Achiv Protistenkunde**, v. 64, p. 152-287, 1928.
- DELLAMANO-OLIVEIRA, M. J. **Comunidade fitoplanctônica do reservatório de Barra Bonita e sua relação com a composição e quantidade de polissacarídeos extracelulares e agregados gelatinosos**. 2006. 115 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- DOKULIL, M. T. ; TEUBNER, K. Cyanobacterial dominance in lakes. **Hydrobiologia**, v. 438, p. 1-12, 2000.
- ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. (Org.). **Limnologia fluvial**. São Carlos: Rima, 2003. p. 129-148.
- ESTEVES, F. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 1988. 576 p.
- FALCONER, I. R. Mechanism of toxicity of cyclic peptide toxins from blue-green algae. In: _____. **Algal toxins in seafood and drinking water**. London: Academic Press, 1993. p. 117-186.
- FALCONER, I. R. An overview of problems caused by toxic blue-green algae (Cyanobacteria) in drinking and recreation water. **Environmental Toxicology**, v. 14, n. 1, p. 5-12, 1999.
- FALCONER, I. R. et al. Toxicity of the blue-green algae (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 9, p. 131-139, 1994.
- FERREIRA, R. A. R. **Flutuações de curto prazo da comunidade fitoplanctônica na represa de Jurumim (rio Paranapanema, São Paulo), em duas estações do ano (seca e chuvosa)**. 1998. 227 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
- FOISSNER, W. Evaluating water quality using protozoa and saprobity indexes. In: LEE, J. J.; SOLDÓ, A. T. **Protocols in Protozoology**. Kansas: Society of Protozoologists, 1992. v. II,

p. B-11.1 – B-11.20.

FOISSNER, W. 1999 **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates**. Munich: Informationsberichte, 1999. 793 p. (Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft).

FOISSNER, W.; BERGER, H. A user friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 35, p. 375-482, 1996.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters**. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1978. 213 p. (I. B. P. Handbook, 8).

GOMES, E. A.T.; GODINHO, M. J. L. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. **Acta Oecologica**, v. 24, p. 153-161, 2003.

GORHAM, P. R., et al. Isolation and culture of toxic strain of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb) de Bréb. **Verh. Internat. Verein. Limnology**. v. 15, p. 796-804, 1964.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 12, n. 4, p. 471, 1978.

HAVENS, K. E. Size structure and energetics in a plankton food web. **Oikos**, v. 81, p. 346-358, 1998.

HEDENDORF, C. E.; MONACO, M. E. 1983. Association of *Vorticella campanula* and *Anabaena flos-aquae* during a blue-green algal bloom in western Lake Erie. **Ohio Journal Science**, v. 83, n. 5, p. 270-271, 1983.

HUSZAR, V. L. M.; SILVA, L. H. S. **Estrutura da comunidade fitoplanctônica no Brasil: cinco décadas de estudos**. Rio de Janeiro: Limnotemas v. 2, 1999. 22 p.

HUSZAR, V. L. M. et al. Cyanoprokaryota assemblages in the eighth productive tropical Brazilian waters. **Hydrobiologia**, v. 424, n. 1, p. 67-77, 2000.

IBELINGS, B. W. et al. Distribution of microcystins in a Lake Foodweb: no evidence for biomagnification. **Microbial Ecology**, v. 49, p. 487-500, 2005.

JARDIM, F. A. **Implementação e realização de cianotoxinas com avaliação do potencial tóxico em estações de tratamento da COPASA-MG, Minas Gerais**. 1999. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

JATI, S. **Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplânctonica no reservatório de Barra Bonita (SP): uma análise em diferentes escalas de tempo**. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

JOCHIMSEN, E. M., et al. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 338, n. 13, p. 873-878, 1998.

JONES, G. J.; ORR, P. T. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreation lake, as determined by HPCL and protein phosphatase inhibition assay. **Water Research**, New York, v. 28, n. 4, p. 871-876, 1994.

KERR, S. J. Colonization of blue-green algae by *Vorticella* (Ciliata: Peritrichida). **Trans. Am. Microsc. Soc.**, v. 102, n. 1, p. 38-47, 1983.

- KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). **Methods of seawater analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, 1976. p. 117-181.
- KUDO, R. R. **Protozoology**. 5. ed. Illinois: Charles C. Thomas, 1977. 1174 p.
- LAYBOURN-PARRY J. **Protozoan Plankton Ecology**. London: Chapman and Hall, 1992. 231 p.
- LIMA, D. **Análise da composição, abundância e distribuição da comunidade fitoplânctônica nos reservatórios do sistema em cascata do médio e baixo rio Tietê/SP**. 2004. 312 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- LOMBARDI, A. T.; VIEIRA, A. A. H. Copper and lead complexation by high molecular weight compounds produced by *Synura* sp. (Crysoophyceae). **Phycologia**, v. 37, p. 34-39, 1998.
- LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. **Limnology Oceanography**, v. 12, p. 343-346, 1967.
- MACKERETH, F. G. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water analysis some revised methods for limnologist**. United Kingdom: Kendal Titus Wilson & Sons, 1987. 117 p. (Freshwater Biological Association Scientific Publication, 36).
- MAGALHÃES, V. F., et al. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brazil-RJ). **Toxicon**, Oxford, v. 42, p. 289-295, 2003.
- MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Omega, 1983, 1010 p.
- MARGALEF, R. Counting In: SOURNIA, A., (Ed.). **Phytoplankton Manual**. Paris: Scientific and Cultural Organization, 1969. 92p. (United Nation Educational).
- MARINO, L., et al. Ocorrência de *Microcystis* sp e microcistinas na represa Rio Grande, São Paulo, Brasil. In: SEMINÁRIO LATINO AMERICANO-SOBRE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS-QUALIDADE DE ÁGUA E SAÚDE PÚBLICA, 2001, Rio de Janeiro. **Resumos...** Brasília: FUNASA/MS, 2001. p. 16.
- MARKER, A. F. H., et al. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. **Archiv für Hydrobiologie**, Stuttgart, v. 14, p. 91-106, 1980.
- MATTHIENSEN, A.; YUNES, J. S.; COOD, G. A. Ocorrência, distribuição e toxicidade de cianobactérias no Estuário da Lagoa dos Patos, RS. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 1-15, 1999.
- MERILUOTO, J.; SPOOF, L. Solid phase extraction of microcystins in water samples. Finland: Abo Akademi University, 2005, 80 p.
- MINILLO, A. **Análise da distribuição, densidade e toxidade de florações de cianobactérias e suas toxinas nos reservatórios do médio e baixo Rio Tietê (SP) e relação com as características limnológicas do sistema**. 2005. 400 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- MINILLO, A.; FERREIRA, A. H. F.; YUNES, J.S. Detecção de microcistinas em florações de *Microcystis aeruginosa* na Lagoa dos Patos, entre 1997 e 1998. **Atlântica**, Rio Grande do Sul, v. 22, p. 81-93, 2000.

- NALECZ-JAWECKI, G. Spirotox- *Spirostomum ambiguum* acute toxicity test- 10 years of experience. **Environmental Toxicology**, v. 19, p. 359-364, 2004.
- NERAD, T. A.; DAGGETT, P-M. Cultivation of *Paramecium*. In: LEE, J. J.; SOLDI, A. T. **Protocols in Protozoology**. Kansas: Society of Protozoologists, 1992. v. I, p. A-46.1 – A-46.4.
- NETO, R.; PINTO, A. C. Monitoramento de cianobactérias nos rios: Atibaia e Capivari, Campinas, Brasil. In: SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO SOBRE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS-QUALIDADE DE ÁGUA E SAÚDE PÚBLICA, 2001, Rio de Janeiro. **Resumos...** Brasília: FUNASA/MS, 2001. p. 8.
- NOBRE, M. Z. **Deteção de toxinas (microcistinas) produzidas por cianobactérias (algas azuis) em represas para abastecimento público, pelo método de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA) e identificação química**. 1997. 154 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.
- NOGUEIRA, M. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Limnologia de um sistema artificial raso (represa do Monjolinho-São Carlos-SP): dinâmica das variáveis físicas e químicas. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 1, p. 147-159, 1994.
- PACE, M. L.; ORCUTT, J. D. The relative importance of protozoans, rotifers and crustaceans in a freshwater zooplankton community. **Limnology Oceanography**, v. 26, p. 822-830, 1981.
- PAERL, H. W. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 26, n. 2, p. 109-131, 1995.
- PARK, H-D. et al. Temporal variabilities of the concentrations of intra – and extracellular microcystin and toxic microcystis species in a hypertrophic lake, Lake Suwa, Japan (1991-1994). **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 13, n. 1, p. 61-72, 1998.
- PATTERSON, D. J. **Free-living freshwater protozoa: a colour guide**. London: Manson Publishing, 1996. 223 p.
- PEREIRA, R. H. G. **Análise da distribuição, densidade e diversidade de Copepoda Calanoida e Cyclopidia nos reservatórios e tributários do Médio e Baixo rio Tietê e sua relação com as características limnológicas do sistema**. 2003. 289 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- PORTER, K. G. et al. Protozoan in planktonic food webs. **J. Protozool**, v. 32, p. 408-415, 1985.
- POURIA, S. et al. Fatal microcystin intoxication in hemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **The Lancet**, v. 352, p. 21-25, 1998.
- PRATT, J. R.; ROSEN, B. H. Association of *Vorticella* (Peritrichida) and planktonic algae. **Trans. Am. Microsc. Soc.**, v. 102, n. 1, p. 48-54, 1983.
- RACY, F. et al. Assessment of the applicability of morphological and size diversity indices to bacterial populations of reservoirs in different trophic states. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 17, n. 4, p. 395-408, 2005.
- RANSOM, R. E.; NERAD, T. A.; MEIER, P. G. Acute toxicity of some bluegreen algae to the protozoan *Paramecium caudatum*. **Journal of Phycology**, v. 14, n. 1, p. 114–116, 1978.

- REGALI-SELEGHIM, M. H. **Flutuações nas comunidades planctônicas e bentônicas de um ecossistema artificial raso (Represa do Monjolinho, São Carlos, SP), com ênfase das populações de protozoários e bactérias.** 1992. 162 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1992.
- REGALI-SELEGHIM M. H. Rede trófica microbiana em um sistema eutrófico raso (Reservatório do Monjolinho, São Carlos, SP) estrutura e função. 2001. 92 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2001.
- REYNOLDS, C. S., et al. On the annual cycle of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* (Kütz. Emend. Elenkin). **Biological Sciences**, London, v. 293, p. 419-477, 1980. (Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B).
- REYNOLDS, C. S. Phytoplankton assemblages in reservoirs. In: TUNDISI, J. G.; STRABASKABA, M. (Ed.). **Theoretical reservoir ecology and its applications.** São Carlos, Rio de Janeiro: IIE, Brazilian Academy of Sciences e Backhuys Publishers, 1999. p. 439-456.
- REYNOLDS, C. S. Plants in motion: physical-biological interactions in the plankton. In: IMBERGER, J. (Ed.). **Physical limnology - coastal and estuarine studies.** Washington: American Geophysical Union. 1998.
- REYNOLDS, C. S. Vegetation process in the pelagic: a model for ecosystem theory. In: KINNE, O. (Ed.). **Excellence in ecology**, 9. Oldendorf Luke Germany: Ecology Institute. 1997. 371 p.
- REYNOLDS, C. S.; JAWORSKI, G. H. M. Enumeration of natural *Microcystis* populations. **British Phycological Journal**, London, v. 13, p. 269-277, 1978.
- RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 503 p.
- RODGHER, S., et al. Limnological and ecotoxicological studies in the cascade of reservoirs in the Tietê River (São Paulo, Brazil). **Brazilian Journal Biology**, v. 65, n. 4, p. 697-710, 2005.
- ROS, J. **Práctica de Ecología.** Barcelona: Omega, 1979. 181p.
- SAITO, T., et al. Biodegradation of *Microcystis* and microcystins by indigenous nanoflagellates on biofilm in a practical treatment facility. **Environmental Technology**, v. 24, p. 143-151, 2003.
- SANDES, M. A. L. **Estudos ecológicos em florescimento de *Microcystis* (cyanobacteria-cyanophyceae) e interações com a flora bacteriana na represa de Barra Bonita - médio Tietê/SP.** 1998. 242 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
- SANT'ANA, C. L.; AZEVEDO, M. T. de P. Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacteria from Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 71, n. 3, p. 359-385, 2000.
- SHERR, E. B; SHERR, B. F. Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flows in aquatic ecosystems. In: KLUG, M. J.; REDDY, C. A. (Ed.). **Current perspectives in microbial ecology.** Washington: American Society for Microbiology, 1984. p. 412-423.
- SILVA, L. H. S. Fitoplâncton de um reservatório eutrófico (Lago Monte Alegre), Ribeirão Preto, São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 281-303, 1999.

- SIMEK, K., et al. Ecological role and bacterial grazing of *Halteria* spp.: small freshwater oligotrichs as dominant pelagic ciliate bacterivores. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 22, p. 43-56, 2000.
- SIVONEN, K. Cyanobacterial Toxins and Toxin Production. **Phycologia**, v. 35, n. 6, p. 12-24, 1996.
- SIVONEN, K., et al. Isolation and characterization of a variety of microcystins from seven strains of the cyanobacterial genus *Anabaena*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, p. 2495-2500, 1992.
- SLÁDECEK, V. The indicator value of some free-moving ciliates. **Arch. Protistenk**, v. 111, p. 276-278, 1969.
- SOTERO-SANTOS, R. B., et al. Toxicity of a cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (Middle Tietê River, São Paulo, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 163-170, 2006.
- STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T.R. A manual of seawater analysis. **Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada**, Ottawa, v. 125, p. 1-18, 1960.
- TAKENAKA, R. A. **Avaliação da toxicidade de *Microcystis aeruginosa* e de florações naturais de cianobactérias de reservatórios do rio Tietê, SP.** 2007. 362 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- TALAMONI, J. L. B. **Estudo comparativo das comunidades plantônicas de lagos diferentes graus de trofia e uma análise do efeito de *Microcystis aeruginosa* (cyanophyceae) sobre algumas espécies de microcrustáceos.** 1995. 305 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- TOLEDO Jr, A. P., et al. Aplicação de modelos simplificado para a avaliação do processo da eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 12., 1983. Camburiú. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1983. p.1-34.
- TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Eutrophication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives. In: CORDEIRO-MARINO, M., et al. (Ed.). **Algae and environment: a general approach.** São Paulo: Brazilian Phycological Society, 1992. p. 1-33.
- TUNDISI, J. G. Distribuição espacial, sequência temporal e ciclo sazonal do fitoplâncton em represas: fatores limitantes e controladores. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 4, p. 937-955, 1990.
- TUNDISI, J. G. Limnologia no século XXI: perspectivas e desafios. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA, 7., 1999, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1999. p. 24.
- UTHERMÖHL, H. Zur vervalkammung des quantitativen phytoplankton - methodik. **Mitteilung**, Hamburg, v. 9, p. 1-38, 1958. (Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie).
- VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorous in natural water. **Marine Chemistry**, v. 10, p. 109-122, 1981.

VIEIRA, J. M. S. **Toxicidade de cianobactérias e concentração de microcistinas em uma represa de abastecimento público da região amazônica do Brasil.** 2002a. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002a.

VIEIRA, A. A. H. Produção e destino dos polissacarídeos extracelulares de origem algal em um reservatório eutrofizado do rio Tietê: estudos de processos. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 9., 2002b, Aracruz. **Resumos...** Aracruz: Sociedade Brasileira de Ficologia, 2002. p.35.

WARD, C. J.; CODD, G. A. Comparative toxicity of four microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, p. 874–882, 1999.

XAVIER, M.B. Fitoplâncton do Rio Grande, represa Billings, São Paulo, Brasil: estudo taxonômico (1985-1986). **Iheringia**, v. 47, p. 103-122, 1996. (Série Botânica).

ZAGATTO, P. A.; ARAGÃO, M.A. Toxicidade de cianofíceas (algas azuis) do reservatório do Guarapiranga, SP. In: ENCONTRO DE ECOTOXICOLOGIA, 2., 1992. Rio Grande. **Resumos...** Rio Grande: Fundação Universidade do Rio Grande, 1992. p. 55.

ZOHARY, T.; ROBERTS, R.D. Diurnal mixed layers and long term dominance of *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Research**, Oxford, v. 11, n. 1, p. 25-48, 1989.

ZURAWELL, R. W., et al. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. **Journal of Toxicology and Environmental Health - part B – critical reviews**, Philadelphia, v. 8, p. 1-37, 2005.

ANEXOS

Tabela 2: Valores de pH, condutividade elétrica (mS/cm), oxigênio dissolvido (mg/L) e temperatura da água(°C) registrada durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Dados	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
pH	5,60	7,47	8,02	5,80	8,15
Temperatura	19,60	23,77	27,00	22,10	20,87
Oxigênio dissolvido	5,31	-	5,45	5,25	6,43
Condutividade	0,20	0,27	0,25	0,17	0,21

Tabela 3: Valores da transparência da água (m) e limite da zona eufótica (m) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Dados	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Secchi	2,30	1,40	1,43	2,90	3,10
Zona eufótica	6,21	3,78	3,86	7,83	8,37

Tabela 4: Valores das concentrações de nitrito ($\mu\text{g/L}$), nitrato ($\mu\text{g/L}$), íon amônio ($\mu\text{g/L}$), nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g/L}$), fosfato inorgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato orgânico ($\mu\text{g/L}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g/L}$), fósforo total ($\mu\text{g/L}$), silicato (mg/L) e relação NT:PT registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Nutrientes	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Íon amônio	8,49	9,26	2,66	7,71	48,52
Nitrito	7,74	168,14	138,06	0,58	34,92
Nitrato	1681,52	3310,70	1936,53	1289,58	1029,85
Nitrogênio orgânico total	1717,18	1280,14	2793,48	2069,43	1945,49
Fosfato Inorgânico	62,21	127,59	73,94	27,03	45,79
Fosfato Total Dissolvido	74,52	155,19	138,38	48,24	49,16
Fosfato Orgânico	12,30	27,60	64,44	21,21	3,36
Fósforo Total	111,33	222,58	199,74	83,28	84,25
Silicato	6,02	3,55	4,00	4,79	5,35
Relação NT:PT	15,42	5,75	13,99	24,85	23,09

Tabela 5: Valores de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) e feofitina ($\mu\text{g/L}$) registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Dados	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Clorofila-a	10,16	18,00	48,14	3,77	4,44
Feofitina	1,88	3,98	13,98	8,54	6,21

Tabela 6: Valores do índice de estado trófico para Secchi, clorofila-a, fosfato inorgânico, fósforo total e índice de estado trófico médio registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Parâmetros	jul/07		nov/07		jan/08		mai/08		jun/08	
	IET	ET								
IET(S)	39	Oligo	46	Meso	46	Meso	35	Oligo	34	Oligo
IET(Cla)	63	Eu	69	Eu	78	Hiper	53	Meso	55	Eu
IET (PO4)	75	Hiper	86	Hiper	78	Hiper	63	Eu	71	Eu
IET(PT)	65	Eu	75	Hiper	73	Eu	61	Eu	61	Eu
IET médio	63	Eu	72	Eu	72	Eu	56	Eu	58	Eu

Eu=eutrófico, Hiper=hipereutrófico, Meso=mesotrófico e Oligo=oligotrófico

Tabela 7: Densidade dos organismos (org/L) e densidade relativa (%) das classes fitoplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Classes	Densidade de Organismos Fitoplanctônicos									
	jul/07		nov/07		jan/08		mai/08		jun/08	
	org/L	%	org/L	%	org/L	%	org/L	%	org/L	%
Cyanophyceae	2461,6	85,7	2903,8	79,1	15346,2	97,4	1863,3	73,5	2883,2	88,0
Chlorophyceae	5,1	0,2	359,0	9,8	19,2	0,1	108,3	4,3	11,4	0,3
Bacillariophyceae	405,1	14,1	391,0	10,6	371,8	2,4	535,6	21,1	370,4	11,3
Zygnemaphyceae	-	-	19,2	0,5	12,8	0,1	28,5	1,1	11,4	0,3
Densidade Total	2871,8		3673,1		15750,0		2535,6		3276,4	

Tabela 8: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Julho/07 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Família	Densidade (org/L)	%
Cyanophyceae			
células livres de <i>Microcystis</i> spp.	Microcystaceae	1835,9	63,93
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystaceae	128,21	4,46
<i>Microcystis panniformes</i>	Microcystaceae	10,26	0,36
<i>Microcystis protocystis</i>	Microcystaceae	15,38	0,54
<i>Planktothrix</i> sp.	Phormidiaceae	10,26	0,36
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Pseudanabaenaceae	461,54	16,07
Chlorophyceae			
<i>Micractinium</i> sp1	Micractinaceae	5,13	0,18
Bacillariophyceae			
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	107,69	3,75
<i>Aulacoseira ambigua</i>	Coscinodiscophyceae	30,77	1,07
<i>Aulacoseira granulata</i>	Coscinodiscophyceae	205,13	7,14
<i>Cyclotella</i> sp.	Coscinodiscophyceae	61,54	2,14
Total		2871,8	

Tabela 9: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Família	Densidade (org/L)	%
Cyanophyceae			
células livres de <i>Microcystis</i> spp.	Microcystaceae	1826,92	49,74
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystaceae	102,56	2,79
<i>Microcystis panniformes</i>	Microcystaceae	19,23	0,52
<i>Microcystis protocystis</i>	Microcystaceae	12,82	0,35
<i>Anabaena circinalis</i>	Nostocaceae	19,23	0,52
<i>Cylindrospermopsis</i>	Nostocaceae	19,23	0,52
<i>Phormidium</i>	Phormidiaceae	57,69	1,57
<i>Planktothrix</i> sp.	Phormidiaceae	166,67	4,54
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Pseudanabaenaceae	679,49	18,50
Chlorophyceae			
<i>Tetraëdron</i> sp.	Chlorococcaceae	12,82	0,35
<i>Botriococcus braunii</i>	Dictyosphaeriaceae	6,41	0,17
<i>Pediastrum duplex</i>	Hydrodictyaceae	25,64	0,70
<i>Pediastrum simplex</i>	Hydrodictyaceae	25,64	0,70
<i>Pediastrum tetras</i>	Hydrodictyaceae	19,23	0,52
<i>Micractinium</i> sp2	Micractinaceae	6,41	0,17
<i>Oocystis</i> sp.	Oocystaceae	76,92	2,09
<i>Eutetramorus</i> sp.	Radiococcaceae	32,05	0,87
<i>Actinastrum</i> sp.	Scenedesmaceae	44,87	1,22
<i>Coelastrum microporum</i>	Scenedesmaceae	76,92	2,09
<i>Coelastrum reticulatum</i>	Scenedesmaceae	12,82	0,35
<i>Scenedesmus</i> sp.	Scenedesmaceae	12,82	0,35
<i>Treubaria</i> sp.	Treubariaceae	6,41	0,17
Zygnemaphyceae			
<i>Closterium</i> sp.	Desmidiaceae	6,41	0,17
<i>Staurastrum</i> sp1	Desmidiaceae	12,82	0,35
Bacillariophyceae			
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	108,97	2,97
<i>Aulacoseira ambigua</i>	Coscinodiscophyceae	57,69	1,57
<i>Aulacoseira granulata</i>	Coscinodiscophyceae	32,05	0,87
<i>Cyclotella</i> sp.	Coscinodiscophyceae	192,31	5,24
Total		3673,1	

Tabela 10: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Família	Densidade (org/L)	%
Cyanophyceae			
células livres de <i>Microcystis</i> spp.	Microcystaceae	13621,79	86,49
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystaceae	487,18	3,09
<i>Microcystis panniformes</i>	Microcystaceae	70,51	0,45
<i>Anabaena circinalis</i>	Nostocaceae	12,82	0,08
<i>Phormidium</i> sp.	Phormidiaceae	6,41	0,04
<i>Planktothrix</i> sp.	Phormidiaceae	6,41	0,04
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Pseudanabaenaceae	1141,03	7,24
Chlorophyceae			
<i>Oocystis</i> sp.	Oocystaceae	19,23	0,12
Zygnemaphyceae			
<i>Staurastrum</i> sp2	Desmidiaceae	12,82	0,08
Bacillariophyceae			
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	352,56	2,24
<i>Cyclotella</i> sp.	Coscinodiscophyceae	19,23	0,12
Total		15750,0	

Tabela 11: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplanctônicos registrados em Maio/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Família	Densidade (org/L)	%
Cyanophyceae			
células livres de <i>Microcystis</i> spp.	Microcystaceae	1236,47	48,76
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystaceae	34,19	1,35
<i>Microcystis panniformes</i>	Microcystaceae	51,28	2,02
<i>Microcystis protocystis</i>	Microcystaceae	5,7	0,22
<i>Cylindrospermopsis</i>	Nostocaceae	17,09	0,67
<i>Phormidium</i>	Phormidiaceae	22,79	0,90
<i>Planktothrix</i> sp.	Phormidiaceae	51,28	2,02
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Pseudanabaenaceae	438,75	17,30
<i>Sphaerocavum</i> sp.	Merismopediaceae	5,7	0,22
Chlorophyceae			
<i>Oocystis</i> sp.	Oocystaceae	11,4	0,45
<i>Eutetramorus</i> sp.	Radiococcaceae	11,4	0,45
<i>Actinastrum</i> sp.	Scenedesmaceae	62,68	2,47
<i>Coelastrum microporum</i>	Scenedesmaceae	22,79	0,90
Zygnemaphyceae			
<i>Closterium</i> sp	Desmidiaceae	17,09	0,67
<i>Staurastrum</i> sp2	Desmidiaceae	5,7	0,22
<i>Staurastrum</i> sp3	Desmidiaceae	5,7	0,22

Continua.....

Continuação.....

Bacillariophyceae			
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	96,87	3,82
<i>Acanthoceras</i> sp.	Coscinodiscophyceae	5,7	0,22
<i>Aulacoseira ambigua</i>	Coscinodiscophyceae	39,89	1,57
<i>Aulacoseira granulata</i>	Coscinodiscophyceae	358,97	14,16
<i>Cyclotella</i> sp.	Coscinodiscophyceae	34,19	1,35
Total		2535,6	

Tabela 12: Densidade (org/L) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons fitoplancônicos registrados em Junho/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Família	Densidade (org/L)	%
Cyanophyceae			
células livres de <i>Microcystis</i> spp.	Microcystaceae	2210,83	67,48
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystaceae	56,98	1,74
<i>Microcystis panniformes</i>	Microcystaceae	28,49	0,87
<i>Microcystis protocystis</i>	Microcystaceae	28,49	0,87
<i>Anabaena circinalis</i>	Nostocaceae	5,7	0,17
<i>Cylindrospermopsis</i>	Nostocaceae	17,09	0,52
<i>Phormidium</i> sp.	Phormidiaceae	34,19	1,04
<i>Planktothrix</i> sp.	Phormidiaceae	68,38	2,09
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Pseudanabaenaceae	433,05	13,22
Chlorophyceae			
<i>Micractinium</i> sp1	Micractinaceae	5,7	0,17
<i>Actinastrum</i> sp.	Scenedesmaceae	5,7	0,17
Zygnemaphyceae			
<i>Closterium</i> sp	Desmidiaceae	5,7	0,17
<i>Staurastrum</i> sp1	Desmidiaceae	5,7	0,17
Bacillariophyceae			
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	68,38	2,09
<i>Aulacoseira ambigua</i>	Coscinodiscophyceae	45,58	1,39
<i>Aulacoseira granulata</i>	Coscinodiscophyceae	199,43	6,09
<i>Cyclotella</i> sp.	Coscinodiscophyceae	45,58	1,39
<i>Urosolenia</i> sp.	Coscinodiscophyceae	11,4	0,35
Total		3276,4	

Tabela 13: Riqueza e diversidade das espécies fitoplanctônicas registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Riqueza e Diversidade Fitoplânctonica					
	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Riqueza Cyanophyceae	6	9	7	9	9
Riqueza Chlorophyceae	1	13	1	4	2
Riqueza Zygnemaphyceae	0	2	1	3	2
Riqueza Bacillariophyceae	4	4	2	5	5
Riqueza Total	11	28	11	21	18
Diversidade (H')	0,54	0,83	0,25	0,76	0,56

Tabela 14: Densidade de cianobactérias (cél/mL) e concentrações de microcistina intracelular, extracelular e total ($\mu\text{g/L}$) e densidade de protozoários (org/L) registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Parâmetros	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Densidade células Cianobactérias	140.000	16.250	182.083	9.583	15.000
Microcistina Intracelular	48,36	91,98	113,56	98,9	39,74
Microcistina Extracelular	255,8	55,28	116	25,26	25,44
Microcistinas totais	304,16	147,26	229,56	124,16	65,18
Densidade de Protozoários	917,4	1471,0	2664,2	1064,8	1503,3

Tabela 15: Densidade dos organismos (org/L) e densidade relativa (%) dos grupos protozooplanctônicos registrados durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

Densidade dos Grupos Protozooplanctônicos										
GRUPOS	jul/07		nov/07		jan/08		mai/08		jun/08	
	org/L	%								
Gymnostomatida	10,5	1					300,8	28	296,1	20
Heliozoida							8,8	1		
Hymenostomata	26,5	3								
Oligotrichida	162,1	18	736,0	50	978,9	37	610,4	60	1008,3	67
Peritrichia	682,0	74	573,7	39	1685,3	63	108,6	10	198,9	13
Prostomatida	20,7	2	161,3	11			12,2	1		
Testacealobosea	15,5	2								
Densidade Total	917,4		1471,0		2664,2		1064,8		1503,3	

Tabela 16: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em julho/07 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Ordem/Grupo	Densidade	Saprobidade	Alimentação	%
Ciliophora					
<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	Hymenostomata	26,5	b-p	-	2,9
<i>Enchelys gasterosteus</i>	Gymnostomatida	5,5	b-a	-	0,6
<i>Epystylis</i> sp.	Peritrichia	66,0	b-a	B	7,2
<i>Halteria bifurcada</i>	Oligotrichida	5,7	b-o	B, M	0,6
<i>Halteria grandinella</i>	Oligotrichida	150,8	b-a	A, B	16,4
<i>Mesodinium pulex</i>	Gymnostomatida	5,0	b	O	0,6
<i>Pelagostrombidium fallax</i>	Oligotrichida	5,7	-	A, B, M	0,6
<i>Trichodina pediculus</i>	Peritrichia	5,0	b	B	0,6
<i>Urotricha</i> sp.	Prostomatida	20,7	a	O	2,3
<i>Vorticella aquadulcis</i>	Peritrichia	600,0	b-a	B	65,4
<i>Vorticella campanula</i>	Peritrichia	11,0	b-a	-	1,2
Sarcodina					
<i>Arcella vulgaris</i>	Testacida	15,5	b		1,7
Total		917,4			

a = alfa-mesosaprobidade, b = beta-mesosaprobidade, o = oligosaprobidade

Tabela 17: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em novembro/07 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Ordem/Grupo	Densidade	Saprobidade	Alimentação	%
Ciliophora					
<i>Coleps elongatus</i>	Prostomatida	62,4	-	O	4,2
<i>Coleps hirtus hirtus</i>	Prostomatida	94,5	b-a	O	6,4
<i>Epistylis coronata</i>	Peritrichia	13,1	a	B	0,9
<i>Halteria grandinella</i>	Oligotrichida	456,6	b-a	A, B	31,0
<i>Pelagostrombidium mirabile</i>	Oligotrichida	27,7	-	A, M	1,9
<i>Rimostrombidium</i> sp.	Oligotrichida	60,1	-	A, B	4,1
<i>Strobilidium caudatum</i>	Oligotrichida	185,8	o-b	-	12,6
<i>Strobilidium humile</i>	Oligotrichida	5,8	b	-	0,4
<i>Urotricha</i> sp.	Prostomatida	4,4	a	O	0,3
<i>Vorticella aquadulcis</i>	Peritrichia	560,6	b-a	B	38,1
Total		1471,0			

a = alfa-mesosaprobidade, b = beta-mesosaprobidade, o = oligosaprobidade

Tabela 18: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em janeiro/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Ordem/Grupo	Densidade	Saprobidade	Alimentação	%
Ciliophora					
<i>Halteria bifurcada</i>	Oligotrichida	103,2	-	B, M	3,9
<i>Halteria grandinella</i>	Oligotrichida	864,4	b-a	A, B	32,4
<i>Rimostrombidium</i> sp.	Oligotrichida	11,3	-	A, B	0,4
<i>Vorticella aquadulcis</i>	Peritrichia	1685,3	b-a	B, M	63,3
Total		2664,2			

a = alfa-mesosaprobidade, b = beta-mesosaprobidade, o = oligosaprobidade

Tabela 19: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em maio/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Ordem/Grupo	Densidade	Saprobidade	Alimentação	%
Ciliophora					
<i>Coleps elongatus</i>	Prostomatida	4,4	-	O	0,4
<i>Coleps hirtus hirtus</i>	Prostomatida	7,8	b-a	O	0,7
<i>Halteria bifurcada</i>	Oligotrichida	18,6	-	B, M	1,8
<i>Halteria grandinella</i>	Oligotrichida	427,9	b-a	A, B	40,2
<i>Limnostrombidium pelagicum</i>	Oligotrichida	6,8	-	A	0,6
<i>Limnostrombidium viride</i>	Oligotrichida	6,8	-	A, B, M	0,6
<i>Mesodinium pulex</i>	Gymnostomatida	300,8	b	O	28,3
<i>Pelagostrombidium mirabile</i>	Oligotrichida	14,4	-	A, M	1,4
<i>Strobilidium caudatum</i>	Oligotrichida	131,4	o-b	-	12,3
<i>Strobilidium humile</i>	Oligotrichida	4,4	b	-	0,4
<i>Urotricha</i> sp.	Prostomatida	19,8	a	O	1,9
<i>Urotricha platystoma</i>	Prostomatida	4,4	a	PR	0,4
<i>Vorticella aquadulcis</i>	Peritrichia	108,6	b-a	B	10,2
Sarcodina					
<i>Raphidocystis</i> sp.	Heliozoidea	8,8	o		0,8
Total		1064,8			

a = alfa-mesosaprobidade, b = beta-mesosaprobidade, o = oligosaprobidade

Tabela 20: Densidade (org/L), saprobidade (Foissner, 1992), tipo de alimentação (Foissner 1996) e porcentagem de ocorrência (%) dos táxons protozooplanctônicos registrados em junho/08 no reservatório de Barra Bonita.

Táxon	Ordem/Grupo	Densidade	Saprobidade	Alimentação	%
Ciliophora					
<i>Askenasia chlorelligera</i>	Gymnostomatida	45,2	-	M	3,0
<i>Askenasia volvox</i>	Gymnostomatida	18,3	b	A	1,2
<i>Halteria bifurcada</i>	Oligotrichida	5,6	-	B, M	0,4
<i>Halteria grandinella</i>	Oligotrichida	596,7	b-a	A, B	39,7
<i>Limnostrombidium pelagicum</i>	Oligotrichida	18,3	-	A	1,2
<i>Limnostrombidium viride</i>	Oligotrichida	25,6	-	A, B, M	1,7
<i>Mesodinium pulex</i>	Gymnostomatida	232,6	b	O	15,5
<i>Pelagostrombidium fallax</i>	Oligotrichida	43,2	-	A, B, M	2,9
<i>Pelagostrombidium mirabile</i>	Oligotrichida	37,1	-	A, M	2,5
<i>Strobilidium caudatum</i>	Oligotrichida	281,8	o-b	-	18,7
<i>Vorticella aquadulcis</i>	Peritrichia	198,9	b-a	B	13,2
Total		1503,3			

a = alfa-mesosaprobidade, b = beta-mesosaprobidade, o = oligosaprobidade

Tabela 21: Riqueza e diversidade das espécies protozooplanctônicas registradas durante o período de estudo no reservatório de Barra Bonita.

	Riqueza e Diversidade Protozooplanctônica				
	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
Riqueza Gymnostomatida	2	0	0	1	3
Riqueza Heliozoidea	0	0	0	1	0
Riqueza Hymenostomata	1	0	0	0	0
Riqueza Oligotrichida	3	5	3	7	7
Riqueza Peritrichia	4	2	1	1	1
Riqueza Prostomatida	1	3	0	4	0
Riqueza Testacealobosea	1	0	0	0	0
Riqueza total	12	10	4	14	11
Diversidade (H')	0,53	0,69	0,35	0,71	0,75

Tabela 22: Densidade de protozoários (org/L e %) presentes no reservatório de Barra Bonita no período de coleta de acordo com sua cadeia trófica em: algívoros (A), bacterívoros (B); algívoros e bacterívoros (A, B); algívoros, bacterívoros e mixotróficos (A, B, M); algívoros e mixotróficos (A, M); bacterívoros e mixotróficos (B, M); onívoros (O); mixotróficos (M) e predadores (PR).

GRUPOS	Densidade dos Tipos Alimentares dos Grupos Protozooplânctônicos									
	jul/07		nov/07		jan/08		mai/08		jun/08	
	org/L	%	org/L	%	org/L	%	org/L	%	org/L	%
A							6,8	0,7	43,9	3,6
A, B	150,8	17,6	513,3	40,2	875,7	32,9	427,9	46,5	596,7	48,9
A, B, M	5,7	0,7					6,8	0,7	61,6	5
A, M			27,7	2,2			14,4	1,6	37,1	3
B	671,0	78,1	573,1	44,9	1685,3	63,3	108,6	11,8	198,3	16,2
B, M	5,7	0,7			103,2	3,9	18,6	2	5,6	0,5
M									45,2	3,7
O	25,7	3	161,3	12,6			332,7	36,1	232,6	19
PR							4,4	0,5		

Tabela 23: Índice de saprobidade de Pantle e Buck (ISPB), índice de estado trófico (IET) e a classificação d'água de Barra Bonita de acordo com estes índices.

Coletas	IS	Classificação	IET Toledo
jul/07	2,19	Leve a moderadamente poluído	Eutrófico
nov/07	2,10	Leve a moderadamente poluído	Eutrófico
jan/08	2,12	Leve a moderadamente poluído	Eutrófico
mai/08	2,04	Leve a moderadamente poluído	Eutrófico
jun/08	2,01	Leve a moderadamente poluído	Eutrófico

Tabela 24: Densidade de *Vorticella aquadulcis* (org/L), formas coloniais de *Microcystis* spp (org/L) e clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) determinadas no período de coleta no reservatório de Barra Bonita.

Parâmetros	jul/07	nov/07	jan/08	mai/08	jun/08
<i>Vorticella aquadulcis</i>	600,00	560,58	1685,29	108,63	198,33
Clorofila-a	10,16	18,00	48,14	3,77	4,44
colônias de <i>Microcystis</i> spp.	153,85	134,61	557,69	91,17	113,96

Tabela 25: Coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis densidade de protozoários, densidade de cianobactérias, densidade de células de cianobactérias, clorofila-a, colônias de *Microcystis* spp., densidade de *Vorticella aquadulcis* e concentrações de microcistina-LR intracelular, extracelular e total determinadas no período de coleta no reservatório de Barra Bonita.

	Densidade de protozoários	Microcistina-LR intracelular	Microcistina-LR extracelular	Microcistina-LR total	<i>Vorticella aquadulcis</i>
Densidade de fitoplâncton	r = 0,8 p = 0,104	- -	- -	- -	- -
Densidade de cianobactérias	r = 0,8 p = 0,104	- -	- -	- -	- -
Densidade de células de cianobactérias	r = 0,3 p = 0,624	r = 0,3 p = 0,624	r = 0,9 p = 0,037	r = 0,8 p = 0,104	- -
Densidade de protozoários	- -	r = 0,3 p = 0,624	r = - 0,1 p = 0,873	r = - 0,3 p = 0,624	- -
Clorofila - a	r = 0,5 p = 0,391	- -	- -	- -	r = 0,9 p = 0,037
colônias de <i>Microcystis</i> spp.	- -	- -	- -	- -	r = 1,0 p = < 0,0001

Tabela 26: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 1° teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo tóxico de *Microcystis* spp.

Tempo (h)	Teste Preliminar 1					
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 5,0
0	40	40	40	40	40	40
4	35	27	24	34	30	30
8	35	24	24	35	29	29
12	34	21	25	26	22	31
16	40	20	27	28	23	25
20	44	21	30	30	32	27
24	44	23	32	34	33	29

Tabela 27: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 1° teste preliminar realizado com concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo tóxico de *Microcystis* spp.

Tempo (h)	Teste Preliminar 2					
	controle	[] 0,5	[] 10	[] 30	[] 50	[] 70
0	40	40	40	40	40	40
2	40	36	28	22	0	0
4	39	26	31	14	0	0
6	40	33	31	7	0	0

Tabela 28: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR do cultivo tóxico de *Microcystis* spp., intervalos de confiança (IC - 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com *Paramecium caudatum*.

TESTE 1								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2,5	10	7,5	5	20	25	0	0
8	0	12,5	5	2,5	32,5	77,5	23,12	19,01 - 28,11
12	0	15	32,5	22,5	17,5	92,5	15,04	10,06 - 22,47
16	0	10	37,5	40	47,5	100	8,55	5,96 - 12,26
20	0	10	52,5	45	52,5	100	5,98	4,13 - 8,64
24	0	15	27,5	32,5	65	100	10,39	6,97 - 15,48
TESTE 2								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2,5	12,5	7,5	5	10	60	27,77	25,19 - 30,62
8	7,5	17,5	17,5	12,5	25	90	23,2	21,06 - 25,56
12	10	15	10	30	47,5	92,5	17,64	15,27 - 20,39
16	0	10	15	60	62,5	95	9,98	7,36 - 13,52
20	0	10	17,5	62,5	62,5	100	9,25	6,77 - 12,63
24	0	12,5	32,5	77,5	77,5	100	5,51	3,82 - 7,97
TESTE 3								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	12,5	2,5	17,5	5	70	27,01	25,28 - 28,85
8	7,5	17,5	5	20	20	97,5	23,36	21,24 - 25,69
12	2,5	17,5	10	42,5	57,5	97,5	13,75	11,35 - 16,66
16	2,5	15	15	35	60	100	14,05	11,71 - 16,85
20	2,5	15	17,5	35	62,5	100	13,13	9,47 - 18,21
24	0	15	2,5	40	60	100	13,62	11,32 - 16,40
Média	0	14,17	20,83	50	67,5	100		
Média da $LC_{50-24h} = 9,84 \mu\text{g/mL}$								
Desvio padrão = 2,67								

Tabela 29: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 1º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Julho/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 1					
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30
0	40	40	40	40	40	40
2	38	38	0	0	0	0

Tabela 30: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 2º teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Julho/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 2					
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0
0	40	40	40	40	40	40
2	39	36	39	33	0	0

Tabela 31: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Julho/07, intervalos de confiança (IC - 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com *Paramecium caudatum*.

TESTE 1								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 1,5	[] 1,8		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2,5	5	20	17,5	27,5	45	0	0
8	5	5	17,5	15	47,5	85	1,47	1,37 - 1,58
12	2,5	5	30	22,5	57,5	95	0,97	0,79 - 1,19
16	0	2,5	37,5	40	67,5	100	0,71	0,57 - 0,88
20	0	2,5	30	37,5	77,5	100	0,76	0,62 - 0,93
24	0	0	25	27,5	75	100	0,85	0,71 - 1,02
TESTE 2								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 1,5	[] 1,8		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	2,5	20	7,5	17,5	45	0	0
8	2,5	2,5	27,5	20	17,5	75	1,67	1,62 - 1,72
12	2,5	2,5	30	25	25	87,5	1,25	1,01 - 1,56
16	0	2,5	30	25	35	100	0,93	0,76 - 1,14
20	5	2,5	22,5	30	47,5	100	0,95	0,79 - 1,16
24	0	0	17,5	40	50	100	0,93	0,79 - 1,10
TESTE 3								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 1,5	[] 1,8		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	7,5	12,5	7,5	15	57,5	1,76	1,67 - 1,87
8	5	7,5	25	17,5	22,5	82,5	1,64	1,60 - 1,68
12	5	7,5	30	22,5	27,5	95	1,1	0,90 - 1,35
16	0	2,5	25	22,5	27,5	100	1,03	0,85 - 1,25
20	0	2,5	12,5	15	27,5	100	1,25	1,07 - 1,46
24	0	2,5	7,5	20	35	100	1,26	1,10 - 1,45
Média	0	0,83	16,67	29,17	53,33	100		
Média $\text{LC}_{50-24h} = 1,01 \mu\text{g/mL}$								
Desvio padrão = 0,22								

Tabela 32: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 1° teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 1					
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0
0	40	40	40	40	40	40
2	37	33	33	30	30	33
4	38	33	34	29	31	32
8	38	33	31	27	31	32
12	38	33	31	27	31	32

Tabela 33: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 2° teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 2					
	controle	[] 0,5	[] 2,5	[] 5,0	[] 10	[] 20
0	40	40	40	40	40	40
2	38	34	35	35	0	0

Tabela 34: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 3° teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 3					
	controle	[] 0,5	[] 2,5	[] 4,0	[] 6,0	[] 8,0
0	40	40	40	40	40	40
2	38	37	33	30	16	0

Tabela 35: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Novembro/07, intervalos de confiança (IC – 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com *Paramecium caudatum*.

TESTE 1								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0	[] 6,0		
0	0	0	0	0	0	0	0	-
4	7,5	12,5	15	22,5	25	85	4,75	4,32 - 5,21
8	2,5	5	12,5	20	47,5	92,5	3,66	3,16 - 4,24
12	2,5	5	22,5	20	52,5	95	3,11	2,64 - 3,68
16	0	2,5	27,5	25	62,5	95	2,62	2,18 - 3,14
20	0	2,5	30	30	62,5	95	2,46	2,04 - 2,97
24	0	0	32,5	30	60	100	2,36	1,99 - 2,79
TESTE 2								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0	[] 6,0		
0	10	10	10	10	10	10	0	-
4	7,5	17,5	40	40	40	42,5	0	-
8	5	17,5	35	35	37,5	52,5	6	-
12	2,5	15	32,5	32,5	40	67,5	4,65	3,72 - 5,83
16	0	0	35	35	47,5	70	3,48	2,37 - 5,11
20	0	0	35	35	47,5	77,5	3	2,24 - 4,04
24	0	0	42,5	37,5	45	92,5	2,33	1,89 - 2,87
TESTE 3								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0	[] 6,0		
0	10	10	10	10	10	10	0	-
4	5	10	30	37,5	25	47,5	0	-
8	5	7,5	25	27,5	20	47,5	0	-
12	2,5	2,5	22,5	30	22,5	62,5	5,33	4,78 - 5,94
16	0	0	20	35	32,5	75	4,12	3,22 - 5,26
20	0	0	17,5	37,5	35	90	3,18	2,63 - 3,84
24	0	0	17,5	47,5	37,5	95	2,73	2,29 - 3,26
Média	0	0	30,83	38,33	47,50	95,83	2,47	
Média LC_{50}-24h = 2,47 $\mu\text{g/mL}$								
Desvio padrão = 0,22								

Tabela 36: Número de *Paramecium caudatum* vivos no 1° teste preliminar realizado com as concentrações de microcistina-LR ($\mu\text{g/mL}$) da amostra ambiental de Novembro/07.

Tempo (h)	Teste Preliminar 1					
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 1,8	[] 2,5
0	40	40	40	40	40	40
4	37	35	29	32	33	28
8	38	35	29	34	28	23
12	38	35	30	28	29	24
16	38	37	33	28	29	25
20	42	37	36	31	28	26
24	43	38	44	35	23	28

Tabela 37: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) de microcistina-LR da amostra ambiental de Janeiro/08, intervalos de confiança (IC - 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com *Paramecium caudatum*.

TESTE 1								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC 95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2,5	15	25	17,5	12,5	82,5	3,24	3,08 - 3,41
8	2,5	12,5	35	27,5	22,5	100	1,76	1,31 - 2,35
12	2,5	0	37,5	30	27,5	100	1,42	1,13 - 1,79
16	2,5	7,5	35	30	35	100	1,39	1,11 - 1,75
20	2,5	15	37,5	35	40	100	1,25	0,99 - 1,59
24	0	15	27,5	40	37,5	100	1,29	1,02 - 1,62
TESTE 2								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC 95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	7,5	15	15	15	42,5	82,5	2,73	2,23 - 3,35
8	7,5	15	20	25	45	100	1,98	1,56 - 2,51
12	2,5	10	22,5	27,5	40	100	1,74	1,34 - 2,26
16	2,5	2,5	25	27,5	35	100	1,53	1,21 - 1,93
20	0	0	25	32,5	35	100	1,43	1,15 - 1,79
24	0	0	30	35	27,5	100	1,4	1,11 - 1,75
TESTE 3								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC 95%
	controle	[] 0,1	[] 0,5	[] 1,0	[] 2,5	[] 4,0		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	7,5	20	10	25	77,5	3,19	2,96 - 3,44
8	5	7,5	22,5	10	27,5	92,5	2,83	2,52 - 3,18
12	2,5	5	20	22,5	25	95	2,1	1,69 - 2,61
16	2,5	2,5	10	32,5	27,5	97,5	1,87	1,52 - 2,29
20	0	0	5	32,5	32,5	97,5	1,93	1,61 - 2,31
24	0	0	0	15	40	97,5	2,18	1,88 - 2,53
Média	0	5	19,17	30	35	99,17		
Média LC_{50}-24h = 1,62 $\mu\text{g/mL}$								
Desvio padrão = 0,49								

Tabela 38: Valores das concentrações letais a cada 4 horas (LC_{50} - $\mu\text{g/mL}$) da amostra do cultivo não tóxico de *Microcystis* sp., intervalos de confiança (IC - 95%) e porcentagem média de mortalidade após 24 hs (%) de cada teste de toxicidade com *Paramecium caudatum*.

TESTE 1								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2,5	12,5	10	10	100	100	13,75	0
8	5	25	25	30	100	100	11,93	10,03 - 14,18
12	5	25	30	27,5	100	100	10,46	6,65 - 16,44
16	5	30	40	27,5	100	100	12,79	0
20	5	15	32,5	45	100	100	7,08	5,08 - 9,87
24	12,5	2,5	27,5	45	100	100	8,39	6,81 - 10,34
TESTE 2								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	10	20	10	7,5	100	100	14,14	0
8	20	15	20	30	100	100	12,97	12,06 - 13,94
12	20	12,5	15	30	100	100	12,97	12,06 - 13,94
16	22,5	10	10	37,5	100	100	12,31	11,28 - 13,44
20	17,5	2,5	15	37,5	100	100	11,89	10,82 - 13,08
24	17,5	5	0	37,5	100	100	12,97	12,06 - 13,94
TESTE 3								
Tempo (h)	Taxa de Mortalidade (%)						LC_{50}	IC95%
	controle	[] 0,5	[] 5,0	[] 10	[] 20	[] 30		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	12,5	12,5	15	10	100	100	14,14	0
8	7,5	15	25	25	100	100	9,97	7,61 - 13,06
12	10	12,5	22,5	35	100	100	9,59	7,74 - 11,88
16	10	12,5	27,5	42,5	100	100	8,39	6,63 - 10,62
20	15	2,5	27,5	42,5	100	100	9,02	7,40 - 10,99
24	12,5	7,5	27,5	62,5	100	100	7,3	5,92 - 9,01
Média	14,17	5	18,33	48,33	100	100		
Média $LC_{50-24h} = 9,55 \mu\text{g/mL}$								
Desvio padrão = 3,01								