

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

DINÂMICA DE POPULAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS EM UM  
RESERVATÓRIO EUTROFIZADO NO  
SEMI-ÁRIDO NORDESTINO BRASILEIRO

IVANEIDE ALVES SOARES DA COSTA

TESE DE DOUTORADO

BARRAGEM ENG.<sup>o</sup> ARMANDO RIBEIRO CONCALVES ASSIS - RN, BRASIL

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

**DINÂMICA DE POPULAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS**  
**EM UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO**  
**SEMI-ÁRIDO NORDESTINO BRASILEIRO**

**IVANEIDE ALVES SOARES DA COSTA**

**SÃO CARLOS – SP**

**2003**

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

**DINÂMICA DE POPULAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS**  
**EM UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO**  
**SEMI-ÁRIDO NORDESTINO BRASILEIRO**

**IVANEIDE ALVES SOARES DA COSTA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciências Biológicas). Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

**SÃO CARLOS – SP**

**2003**

iii

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

C837dp

Costa, Ivaneide Alves Soares da.

Dinâmica de populações de cianobactérias em reservatório eutrofizado no semi-árido nordestino brasileiro / Ivaneide Alves Soares da Costa. -- São Carlos : UFSCar, 2003.

232 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2003.

1. Limnologia. 2. Eutrofização. 3. Reservatórios. 4. Semi-árido. 5. Cianobactérias. 6. Cianotoxinas. I. Título.

CDD: 574.52632 (20<sup>a</sup>)

**Orientador**

---

**Prof. Dr. Naithirithi T. Chellappa**

**Co-Orientador**

---

**Prof. Dr. Pedro Américo Cabral Senna**

**SÃO CARLOS - SP  
2003**

*Dedico esta tese*

*Ao meu marido Carlos, e filhos Isabel e Felipe, pelo amor  
incomensurável, companheirismo, dedicação, paciência,  
carinho e por terem sido a verdadeira inspiração e força para  
prosseguir nesta longa e difícil caminhada.*

*E a todas as pessoas que me prestaram solidariedade,  
fazendo-me continuar a acreditar que acima de todos os  
conhecimentos acumulados, o amor ao próximo, o respeito e o  
perdão constituem-se o maior mérito do homem.*

*O Senhor é meu pastor, nada me faltará.  
Ele me faz repousar em pastos verdejantes e guia-me mansamente a águas tranqüilas. Refrigera a minha alma, guia-me pelas veredas da justiça por amor do seu nome. Ainda que andasse pelo vale da sombra da morte, não temerei mal nenhum, porque tu estás comigo, a tua vara e o teu cajado me consolam. Preparas-me uma mesa na presença de meus adversários, unges-me a cabeça com óleo, o meu cálice transborda. Certamente que a bondade e misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida, e habitarei na casa do Senhor para todo o sempre. (Salmo 23)*

## AGRADECIMENTOS

Expresso meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas que contribuíram para minha formação acadêmica:

Ao professor Dr. Naithirithi T. Chellappa, do Departamento de Oceanografia e Limnologia da UFRN, por sua orientação, apoio, oportunidades e por depositar em mim total confiança nas experiências acadêmico-científicas vivenciadas durante estes últimos sete anos.

Ao professor Dr. Pedro Américo Cabral Senna<sup>†</sup> (*in memoriam*), por sua co-orientação, ensinamentos taxonômicos, apoio e incentivo para o direcionamento e desenvolvimento desta pesquisa, amizade, atenção, exemplo de profissionalismo e ética, força, perseverança e bom humor.

Ao professor Dr. José Eduardo dos Santos, Coordenador do Programa de Pós graduação em Ecologia e Recursos Naturais da UFSCar/SP, por sua constante atenção e compreensão e por oportunizar a realização deste trabalho.

À professora Odete Rocha, do Departamento de Ecologia e Biologia evolutiva da UFSCar/SP, por quem tenho grande admiração pelo profissionalismo, conduta científica e principalmente solidariedade e respeito às questões humanas. Muito obrigada pela atenção e por seus valiosos conselhos e incentivos durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À professora Dra. Sandra M. F. O. Azevedo, do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias do Departamento de Biofísica/ UFRJ, por sua imprescindível orientação e ensinamentos sobre Toxicologia de cianobactérias, solidariedade e incentivo. Também por acreditar e confiar no meu trabalho, apoio técnico-científico além de inúmeras facilidades oferecidas para o desenvolvimento da pesquisa, pela amizade, carinho e alegrias concedidas.

À Professora Dra. Célia Leite Sant'Ana por sua grande e imprescindível colaboração no prosseguimento das identificações taxonômicas das cianobactérias após a ausência do professor Pedro Senna. Pelo suporte oferecido durante a minha estadia no Instituto Botânico, confiança e acesso aos recursos laboratoriais e bibliográficos daquela instituição, atenção e respeito.



À professora Satiabama Chellappa, do Programa de Pós Graduação em Bioecologia Aquática da UFRN, por seu constante apoio, interesse, dedicação e empenho para o êxito deste e de outros trabalhos que me foram confiados nos últimos sete anos, dando importante contribuição à minha carreira profissional.

Ao professor Dr. José Verani, pelo apoio financeiro concedido durante a ausência da bolsa de estudos.

À professora Mirna Januária Godinho, do Departamento de Ecologia e Biologia evolutiva da UFSCar/SP, pelos ensinamentos de microbiologia, valiosos conselhos, apoio moral e espiritual nos momentos difíceis, exemplo de fé e de prática na palavra de Deus, e também pela companhia aos cultos evangélicos.

Aos professores do Instituto Botânico em São Paulo: o Dr. Carlos E. Bicudo pelos ensinamentos quantitativos de fitoplâncton e à Dra. Maria Tereza de Paiva Azevedo pelas dicas taxonômicas e microfotográficas.

À professora Vera Huszar do Museu Nacional do Rio de Janeiro pelas valiosas contribuições na utilização dos conceitos de associação das espécies, dicas para análise dos dados, bibliografias concedidas e revisão do manuscrito sobre fitoplâncton.

Ao professor Dr. Jorge Eduardo Lins, do Departamento de Oceanografia e Limnologia/Laboratório de Biologia Pesqueira da UFRN, por seu total apoio e confiança em disponibilizar equipamentos para coleta e para algumas análises.

Ao professor Dr. Carlos Augusto Ramos e Silva do Departamento de Oceanografia e Limnologia/Laboratório de Biogeoquímica de Manguezais da UFRN por disponibilizar seu laboratório e equipamentos para a realização de algumas análises.

À professora Magnólia Araújo do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFRN, pela revisão ortográfica da tese e acima de tudo pela grande e velha amizade, oportunidades em novos empreendimentos profissionais, carinho, apoio moral e profissional nas horas mais difíceis, e por ser um exemplo de solidariedade e otimismo. Ainda por confiar e acreditar no meu trabalho, facilitando e ajudando em todas as circunstâncias.

À Dra. Cristine Louise pelo apoio moral nos momentos mais difíceis, ajuda nas coletas e análises químicas, pela paciência, carinho e amizade.

À professora Dra. Renata Panosso, do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFRN, por nossa nova amizade pessoal e empreendimentos profissionais, apoio financeiro, pelo exemplo de profissionalismo, trocas de experiências e pelas sugestões e traduções dos manuscritos.

Ao professor Dr. José Luiz Attayde do Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia da UFRN, pela nossa nova amizade e empreendimentos profissionais, críticas, sugestões e auxílio nos testes estatísticos.

Aos demais professores do Departamento de Oceanografia e Limnologia/UFRN: MSc. Francisco Seixas das Neves, Dr. Dr. Marcos Rogério Câmara, Dra. Heliane Marinho Soreano, MSc. Eliane Cavalcante, Alexandre Magno, Dr. Aldemir Gomes Freire, Dr. Graco Aurélio e a Bióloga Cleide Joventino pela consideração, apoio, carinho e amizade.

Especialmente aos amigos Simone Maciel Costa e Robson Roney Bernardo do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias/UFRJ, pelos ensinamentos da técnica de HPLC e ajuda em todas as etapas da análise de saxitoxinas.

Aos amigos do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias/UFRJ, à Dra. Valéria Magalhães pelos ensinamentos da técnica de ELISA; ao Dr. Marcelo Manzi Marinho pela ajuda nas análises de cilindropermopsinas; ao João Carlos pela ajuda e ensinamentos de extração de toxinas e bioensaio, à Andréia e Elisângela pelas dicas no Banco de Culturas, e a Ana Cláudia Peres, Raquel Soares, Tatiani e Levi pela agradável convivência, colaboração, conversas, cafês e risadas.

Aos amigos do Instituto Botânico/SP, especialmente à Bárbara pelo suporte bibliográfico discussões científicas, sugestões e amizade; à Clóvis, Lousiane, Andréia Tucci, José Maria, Ricardo Honda, Skinkariol, pela colaboração e agradável convivência.

Especialmente à Naiza de Castro Nogueira, pela companhia, solidariedade, apoio incondicional durante estes quatro anos em São Paulo, suporte residencial e acima de tudo pela amizade.

À Dra. Adriana Güntzel por todo o seu apoio durante a minha estadia em São Carlos e acima de tudo pela amizade, companhia, conversas, e caminhadas.

Aos amigos do Laboratório de Fitoplâncton da UFSCar, Maria José Dellano (Zeza), Ana Cláudia Peres, Glória Massae Taniguchi, Graça Machado, Alessandra Delazari (Alê), pelas dicas taxonômicas, atenção, carinho amizade.

Às meninas da pousada, Evinha e Rosana, pela estadia, empréstimo do computador, companhia, conversas e amizade.

Às amigas Patrícia Domingos e Andréia, da UFSCar, pela assistência prestada ao chegar em São Carlos.

Aos amigos do DOL/UFRN, Maiza, Mércia, Sérgio, Juliana, Ivaneide Marinho, Aliete, Carla Soila, Paula, Elizabete pela constante ajuda e amizade e horas de descontração.

Especialmente à Sandra Rejane e Alândia, muito obrigada pela grande ajuda nas coletas e amizade.

As colegas, Silvana, Nara, Renata, Sheila, Jeane, Karina, Keline, Raquel e Carla do Laboratório de Ecologia e toxicologia de microrganismos aquáticos/CB/UFRN, obrigada pelas conversas descontraídas e grande ajuda na organização final da tese.

Aos funcionários do DOL/UFRN, Srs. Antônio, Geraldo, Carlos, Marcelo e Canindé pelo apoio, carinho e amizade.

Especialmente aos meus grandes amigos Cida e Paulo, por tanta consideração e receptividade, carinho, amizade e apoio incondicional durante várias estadias em sua casa na Ilha do Governador/RJ.

À Carlos e Iraní, pela concessão de passagens aéreas e acima de tudo pela grande amizade e respeito.

À minha irmã Ivane, Josiel (cunhado), Naiara e Naiana (sobrinhas), por tanto carinho e total assistência em todos os aspectos durante a minha estadia no Rio de Janeiro.

À minha irmã Adeilse, Gilmar (cunhado), pelo carinho, respeito e total ajuda na impressão final da tese.

Aos meus irmãos, Isaac e Iran pelo carinho e apoio em todos os momentos.

Aos meus pais, especialmente a minha mãe por seu exemplo de força, coragem, luta e capacidade de realização e especialmente por suas orações.

Ao Sr. Nazareno (sogro), Sra. Marzinha (sogra) e cunhadas por tanta dedicação, carinho e ajuda em todos os momentos que precisei.

Ao meu marido Carlos, pela incansável ajuda nas coletas, transporte, análises, viagens, cuidado com nossos filhos e casa na minha ausência, e principalmente, por seu exemplo de amor, companheirismo, zelo e respeito pelo meu trabalho. Também por seu total apoio, e confiança em todas as etapas da minha vida.

À minha filha Isabel, por compreender a minha ausência, me apoiar e me ajudar em várias etapas (coletas, laboratório), também pelas correções ortográficas e traduções dos trabalhos e acima de tudo pelo amor e carinho nas horas mais difíceis e alegria que me concede.

Ao meu filho Felipe por todo seu amor, carinho e alegrias concedidas.

Ao Sr. Francisco da Chagas (pescador Assu/RN) por todo empenho e dedicação prestada durante estes sete anos de coletas.

Ao DNOCS (Departamento Nacional de Obras contra as Secas) pelas informações concedidas.

À EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio grande do Norte), pelos dados meteorológicos concedidos.

À CAERN (Companhia de águas e Esgotos do Rio Grande do Norte), na pessoa do Sr. Marcos Calazans, pelas informações concedidas, permissão para a coleta de água tratada, parceria científica e profissional.

Ao CNPq pelo apoio financeiro concedido durante o curso.

**Especialmente à *Deus* que me deu saúde, força, coragem e sabedoria para alcançar esta conquista.**

## RESUMO

A Barragem Armando Ribeiro Gonçalves (06°08' S ; 37° 07' W) situada no semi-árido do Estado do Rio Grande do Norte representa 68% do total de água de superfície acumulada no Estado. Com capacidade volumétrica máxima de  $2,4 \times 10^9 \text{ m}^3$ , é responsável pelo abastecimento doméstico de 400 mil habitantes, é também destinada à irrigação, aquicultura, pesca, lazer e apresenta contínuas florações de cianobactérias potencialmente tóxicas. Os objetivos deste trabalho foram identificar as cianobactérias planctônicas, reconhecer os padrões temporais de distribuição das populações compreendendo os fatores ambientais que regulam a sua dominância e identificar e quantificar as cianotoxinas presentes no séston da água bruta do reservatório e tratada nas saídas de distribuição da estação de tratamento (ETA). Em função das características climáticas da região as investigações foram realizadas no período de 2000 a 2002. As amostras para identificação das cianobactérias (n=36) foram coletadas com rede de plâncton (20 $\mu$ m) entre 2000 e 2002 e foram preservadas com formol a 4%. Para detectar variações temporais do fitoplâncton, amostras (22) foram coletadas (300 mL) e preservadas com lugol acético, em curtos intervalos de tempo (4 dias) no ciclo anual de 2000, na época de chuvas (abril e maio/n=8), intermediária (maio e julho/n=4) e na estiagem (novembro e dezembro/n=10) em 7 profundidades (superfície, a 10% e 1% de penetração de luz, a 5m, 10m e fundo = 21m) a 300 metros do talude principal da barragem. Concomitantemente, também foram coletadas amostras de água para análise dos nutrientes e das cianotoxinas. As amostras para análise das cianotoxinas foram coletadas no reservatório (n=9), no “Canal de Pataxó” (n=4 - canal aberto para transportar água do reservatório para ETA) e na saída de distribuição da ETA local (n=4). Foram analisados fatores climáticos (ventos, chuvas, temperatura), hidrológicos (tempo de residência, volume), físicos ( $Z_{eu}$ , temperatura da água) e químicos (condutividade elétrica, material em suspensão orgânico e inorgânico, alcalinidade,  $\text{CO}_2$  livre e total,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , NTD, NT, PSR, PTD, PT e N:P), além de atributos da comunidade do fitoplâncton (diversidade, equitabilidade, abundância e biomassa expressa em biovolume  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) e determinação de cianotoxinas (microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas) por técnica de HPLC e ELISA. Identificamos 28 táxons do fitoplâncton, 20 de cianobactérias (71%), 5 clorofíceas (18%) e 4 diatomáceas (14%) e foram distribuídas em 12 gêneros representados por 12 espécies. Quatro dos táxons não são típicos de suas respectivas espécies (cf.) e quatro foram identificados em nível de gênero. Nostocales e Chroococcales foram as ordens melhor representadas, com 10 e oito táxons respectivamente, seguida da ordem Oscillatoriales com 3 táxons. Os táxons estão distribuídos nas seguintes famílias: Nostocaceae (5gêneros/10espécies), *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A.circinalis*, *A. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterranea*; Merismopediaceae (3gêneros-3espécies), *Coelomoron tropicalis*, *Snowella* cf. *lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*; Microcistaceae (1gênero-4espécies), *Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*; Pseudanabaenaceae (1gênero/1espécie), *Geitlerinema unigranulatum*; *Oscillatoriaceae* (1gênero/1espécie), *Lyngbya* sp; Phormidiaceae (1gênero/1espécie), *Planktothrix agardhii*. Dentre as cianobactérias 50% são potencialmente tóxicas. As espécies de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis panniformis*, *M. protocystis*, *Aphanizomenon gracile* e *Aphanizomenon* cf. *manguinii* tiveram maior ocorrência e abundância relativa (90-97%) e formaram florações mistas,

tóxicas, intensas e alternadas durante o ciclo anual de 2000. O sistema apresentou circulação polimítica, com estratificações no período de chuvas e isotermia no período de estiagem. O curto intervalo de tempo das investigações possibilitou identificar a existência e a intensidade de distúrbios no sistema, permitindo uma melhor avaliação e entendimento das forças direcionadoras da estrutura e padrões sucessionais da comunidade fitoplanctônica. Na estiagem o vento proporcionou a circulação da camada fótica ( $Z_{eu}=3m$ ) no sistema, influenciando na disponibilidade de nutrientes e no padrão de distribuição do fitoplâncton, conferindo maior equilíbrio na comunidade. Condições climáticas e processos físicos inerentes ao reservatório foram determinantes para a circulação térmica total do sistema e a mistura das camadas profundas. As variáveis ambientais de maior influência na distribuição das cianobactérias foram o PSR, PT, NTD,  $CO_2$ ,  $Z_{eu}$ , chuvas e vento. A variação desses fatores promoveu o estabelecimento de períodos ecologicamente distintos que foram descritos utilizando a abordagem de grupos funcionais proposta por Reynolds *et al.* (2000). Assim, identificamos que *Cylindrospermopsis* (**Sn**) dominou na ocorrência de chuvas, estratificação, ventos fracos, baixa  $Z_{eu}$ , baixos valores de  $NO_3^-$ ,  $CO_2$  e PSR e altos de  $NH_4^+$  e N:P. *Microcystis* spp (**M**) dominou no início da estiagem e de desestratificação do sistema, com maior  $Z_{eu}$ , baixo níveis de  $NO_3^-$  e PSR e alto de  $NH_4^+$  e N:P. Ambas mostraram-se mais eficientes na exploração dos recursos. Na estiagem, período de mescla total da coluna d'água, baixa  $Z_{eu}$ , altos níveis de  $NO_3^-$ , PSR e baixo de  $NH_4^+$  e N:P, espécies de associações **H** (*Aphanizomenon* sp, *Anabaena* spp), **S<sub>1</sub>** (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*), clorofíceas (**F**) e diatomáceas (**P**), adaptadas a viverem em ambientes com deficiência de luz, coexistiram mantendo maior uniformidade na distribuição da biomassa. A presença de *C. raciborskii* em diferentes condições ambientais no sistema confirma a grande amplitude de nicho dessa espécie e sugere que suas especificidades fisiológicas adaptativas são mais eficientes do que as de *Microcystis* e *Aphanizomenon*, uma vez que ela co-existiu mantendo biomassa significativa em todo o ciclo anual. A ocorrência de microcistinas ( $8,8 \mu g l^{-1}/\text{água bruta}$  e  $0,26 \mu g/L^{-1}/\text{tratada}$ ) e de saxitoxinas ( $3,14 \mu g l^{-1}/\text{água bruta}$ ) aponta um risco permanente dessas toxinas em águas de abastecimento doméstico. A ingestão em pequenas doses de microcistinas, a longo prazo, pelas populações locais através da sua acumulação em musculatura de peixes, também deve ser considerada, devido à sua potencial capacidade de promover tumores hepáticos cancerígenos. A alta prevalência de saxitoxina na água bruta (60 %) alerta para o fato de que estas toxinas podem ser mais largamente distribuídas na água doce do que se tem conhecimento, especialmente no semi-árido brasileiro. A presença de cianobactérias na água tratada ( $8,2 \times 10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$ ) muito acima do limite máximo aceitável para água bruta ( $2 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ ) revela ineficiência na remoção de células nas ETAs e indica a necessidade urgente de monitoramento regular, implementação de medidas de controle das florações e o cumprimento da portaria 1469/2000 recomendada pelo Ministério da Saúde, visando a melhoria da qualidade da água e, conseqüentemente, da saúde pública.

Palavras chave: reservatório, eutrofização, semi-árido, cianobactérias, cianotoxinas

## ABSTRACT

The Armando Ribeiro Gonçalves reservoir, located in the semi-arid of the Rio Grande do Norte (06°08' S ; 37° 07' W), in Northeast Brazil, represents 68% of the total surface water accumulated in the state. The reservoir, with maximum volumetric capacity of  $2.4 \times 10^9$ , provides 400 thousands habitants and also is destined to irrigation, leisure and fishing. It has permanent and continuous blooms of potentially toxic cyanobacteria. The aim of this paper were to identify the planktonic cyanobacteria, to recognize the temporal patterns of population distribution, understanding the environmental factors regulating dominance, and to distinguish and quantify the cyanotoxins present in the reservoir's crude water seston and in the treated water at the treatment station outlet (ETA). According to the region's climatic characteristics, the investigations were carried out from 2000 to 2002. The samples for cyanobacteria identification (n=36) were collected with plankton net and preserved with formol 4%. In order to detect phitoplankton temporal variations, 22 samples were collected (300mL) and preserved with lugol solution. This was done in short period of time (4 days) in the 2000 annual cycle, in the rainy season (April and May/n=8), intermediate (May and July) and dry (november and December/ n=10) seasons, in 7 depths (surface, 10% and 1% of light penetration, in 5m, 10 and bottom =21), and in 300 meters from the reservoir major slope. At the same time, water samples for nutrient ad toxins analysis were collected. The samples for cianotoxins analysis were collected in the reservoir (n=9), in the Pataxó Channel (n=4 – open channel for water transport to ETA) and in the local ETA distribution exit (n=4). Climatic factors were analyzed (wind, rain, temperature), as well as hydrological (residence period, volume), physical ( $Z_{eu}$ , water temperature) and chemical (electric conductivity, suspension matter, both organic and inorganic, alkalinity, free and total  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$ , NTD, NT, PSR,PTD, PT e N:P). The phytoplankton community attributes (diversity, equitability, abundance and biomass expressed in biovolume  $mm^3.L^{-1}$ ) and the cyanotoxin determination (microcistins, saxitoxins e cylindrospermopsin) by HPLC technique and ELISA were also analysed. We have identified 28 phitoplankton taxa, 20 cyanobacteria taxa (71%), 5 cloroficeae (18%) and 4 diatomacea (14%). Among the cyanobacteria, 50% are potentially toxic, distributed in 12 genera represented by 12 species. Four of these genera are not typical of their representative species (cf.) and four were identified in the genera level. Nostocales e Chroococcales were the orders better represented, with 10 and 8 taxa respectively, followed by Oscillatoriales with 3 taxa. The taxa are distributed in the following families: Nostocaceae (5genera/10species), *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A.circinalis*, *A. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterranea*; Merismopediaceae (3genera-3species), *Coelomoron tropicalis*, *Snowella* cf. *lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*; Microcistaceae (1genus-4species), *Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*; Pseudanabaenaceae (1genus/1specie), *Geitlerinema unigranulatum*; *Oscillatoriaceae* (1genus/1specie), *Lyngbya* sp; Phormidiaceae (1genus/1specie), *Planktothrix agardhii*. The species of *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis panniformis*, *M. protocystis*, *Aphanizomenon gracile* and *Aphanizomenon* cf. *manguinii* had larger relative abundance (90-97%) and formed mixed, toxic, intense and alternated blooms during the 2000 annual cycle. The system presented polimittic circulation, with stratification during the rainy season and homiothermal conditions in the dry season. The short time period between the

investigations made possible to verify the existence and intensity of disturbance in the system, allowing better evaluation and understanding of the forces controlling structure and succession patterns in the phytoplankton community. In the dry season the wind enabled the photic layer circulation in the system ( $Z_{eu}=3m$ ), influencing the nutrient availability and phytoplankton distribution pattern, providing the community with more stability. Climatic conditions and physical processes inherent to the reservoir were determinant to the thermal circulation in the system and mixing of deep layers. The environmental variables of larger influence in the cyanobacteria distribution were PSR, PT, NTD,  $CO_2$ ,  $Z_{eu}$ , rains, and wind. The variation of these factors promoted the establishment of ecologically distinct periods, described using the functional groups approach by Reynolds *et al.* (2000). Therefore, we have identified the *Cylindrospermopsis* (**Sn**) dominance during rains, both thermally and quimic stratificated, slow winds, low  $Z_{eu}$ , low  $CO_3^-$  and  $CO_2$  and high  $NH_4^+$  and N:P values. *Microcystis* spp (**M**) dominated from the beginning of drought and system destratification, with higher  $Z_{eu}$ , low  $NO_3^-$  and PSR and high  $NH_4^+$  and N:P levels. During drought, period of mixing column water, low  $Z_{eu}$ , high  $NO_3^-$ , PSR and low  $NH_4^+$  and N:P levels, associations of **H** (*Aphanizomenon* spp, *Anabaena* spp), **S<sub>1</sub>** (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*), Chlorophyceae (**F**) and Bacillariophyceae (**P**), all associations adapted to poor light environments, coexisted maintaining larger uniformity in the biomass distribution. The presence of *C. raciborskii* in different environmental conditions confirms this species great niche amplitude and suggests less efficiency of their adaptive physiological specificity when comparing to *Microcystis* and *Aphanizomenon*, since it coexisted maintaining significant biomass during all annual cycle. The microcistinas ( $8.8 \mu g l^{-1}$ /crude water and  $0,26 \mu g/L^{-1}$ /treated water) and saxitoxinas presence ( $3,14 \mu g l^{-1}$ /gross water) points a permanent risk for domestic supply waters. The ingestion of small doses of microcistins, in the long term, by local population trough its accumulation in fish musculature has also to be considered, due to its potential capacity to promote carcinogens hepatic tumors. The prevalence of saxitoxin in the crude water (60%) alerts to the probability of larger distribution of this toxin in fresh water, more than what its knowm of today, specially in the semi-arid Brazil. The presence of cyanobacteria in treated water ( $8,2 \times 10^5$  cel.mL<sup>-1</sup>) revels inefficiency in the cells removal in the ETAs and indicates the urgent need for regular monitoring, bloom control measures implementation, and inspection recommended by Brazil's Health Ministry, aiming the water quality and public health improvement.

Palavras chave: reservoir, eutrophication, semi-arid, cyanobacteria, cyanotoxins



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.IMPORTÂNCIA DO ESTUDO.....	2
2. FITOPLÂNCTON.....	5
3. CIANOBACTÉRIAS.....	8
4. CIANOTOXINAS.....	11
5.FLORACÕES TÓXICAS.....	15
6.INTOXICAÇÕES POR CIANOTOXINAS.....	18
7.DEGRADAÇÃO E REMOÇÃO DAS TOXINAS.....	22
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	23
<b>III. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
1.ÁREADE ESTUDO.....	26
2.ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM.....	33
3.VARIÁVEIS CLIMÁTICAS.....	33
4.VARIÁVEIS HIDROLÓGICAS.....	34
4.1 Dados Morfométricos e Tempo de Residência da gua.....	34
5. VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS.....	34
5.1 Transparência, Penetração de luz e Zona eufótica( $Z_{eu}$ ).....	34
5.2 pH e Condutividade Elétrica .....	34
5.3 Alcalinidade e Formas de Carbono ( $CO_2$ livre e total, $CO_3^-$ , $HCO_3^-$ ).....	35
5.4 Temperatura da água.....	35
5.5 Oxigênio Dissolvido e Porcentagem de Saturação.....	35
5.6 Material em Suspensão orgânico e inorgânico.....	35
5.7 Nutrientes.....	36

6. ÍNDICE DO ESTADO TRÓFICO (IET).....	36
7. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS.....	38
7.1 Identificação e Quantificação de Cianobactérias.....	38
7.2 Índices biológicos e Associações das comunidades.....	39
7.3 Determinação da Clorofila <i>-a</i> e feofitina.....	41
8. DETECÇÃO DE CIANOTOXINAS NO SÉSTON.....	41
8.1 Procedimento de amostragem.....	41
8.2 Extração e quantificação de microcistinas.....	42
8.3 Extração e quantificação de Saxitoxinas.....	43
8.4 Extração e quantificação de cilindrospermopsina.....	45
9. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	45
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>ARTIGO I: CIANOBACTÉRIAS PLANCTÔNICAS DE UM RESERVATÓRIO</b> <b>EUTROFIZADO NO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO.....</b>	<b>48</b>
RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	50
INTRODUÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
RESULTADOS.....	53
DISCUSSÃO.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
<b>ARTIGO II: THE OCCURRENCE OF TOXIN-PRODUCING</b> <b>CYANOBACTERIAL BLOOMS IN A BRAZILIAN SEMI-ARID</b> <b>RESERVOIR.....</b>	<b>94</b>
ABSTRACT.....	96
RESUMO.....	97
INTRODUÇÃO.....	98
MATERIAL E MÉTODOS.....	100
RESULTADOS.....	103
DISCUSSÃO.....	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108

<b>ARTIGO III: DINÂMICA DE POPULAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS EM CURTOS INTERVALOS DE TEMPO EM UM RESERVATÓRIO EUTROFIZADO DO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO.....</b>	<b>119</b>
RESUMO.....	120
ABSTRACT.....	122
INTRODUÇÃO.....	123
MATERIAL E MÉTODOS.....	126
RESULTADOS.....	131
DISCUSSÃO.....	149
REFERÊNCIAS CITADAS.....	162
<b>V. DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>174</b>
<b>VI. CONCLUSÕES.....</b>	<b>181</b>
Perspectivas e Recomendações.....	189
<b>VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>191</b>

# **CAPÍTULO I**

# **INTRODUÇÃO**

# **I . INTRODUÇÃO**

## **1. IMPORTÂNCIA DO ESTUDO**

A preocupação em escala mundial com relação à escassez, deterioração e uso ineficiente da água doce torna-se cada vez mais iminente nas discussões sobre água e meio ambiente em conferências internacionais. Atualmente os recursos hídricos disponíveis para o abastecimento humano, além de escassos, estão cada vez mais pobres em qualidade. Diante disso, o gerenciamento e a conservação da qualidade e quantidade de água destinada ao abastecimento público apresenta-se como o principal desafio do homem neste novo século.

No Brasil, os reservatórios artificiais desempenham importantes papéis ecológicos, econômicos e sociais. Entretanto a maioria deles apresenta crescente eutrofização por receberem freqüentemente descargas de despejos domésticos e rejeitos industriais, especialmente aqueles situados próximos aos grandes centros urbanos. Nas regiões mais afastadas dos grandes centros, eles são afetados pelo carreamento do solo, provocado pelo desmatamento, e por subprodutos originados de atividades agropecuárias. Este fenômeno reduz as possibilidades dos usos múltiplos nos reservatórios e causa um considerável aumento no custo do tratamento de água para fins de abastecimento público (Tundisi & Matsumura-Tundisi 1992).

Já existe extenso conhecimento acerca das conseqüências ecológicas em comunidades aquáticas, decorrentes da construção de reservatórios para fins energéticos no país. Entretanto, há necessidade de se conhecer ainda mais os mecanismos de funcionamento desses ambientes, principalmente em regiões de escassez de água, como a região nordeste brasileira.

No Rio Grande do Norte, os reservatórios artificiais regionalmente chamados de açudes e barragens, representam a principal fonte de suprimento de água para a população. As barragens são alimentadas através de rios intermitentes em época de chuvas, a maioria delas é rasa e freqüentemente recebe cargas de fertilizantes provenientes das atividades de fruticulturas, piscicultura e carcinocultura, contribuindo significativamente para a eutrofização destes ambientes. Tais condições, associadas às características climáticas locais como as elevadas temperaturas com baixa amplitude de variação, alta intensidade de luz, e o maior tempo de insolação diária e anual, mais as condições hidrológicas como elevados pH e tempo de residência da água, são extremamente favoráveis ao desenvolvimento de cianobactérias nestes ambientes. Baixas precipitações anuais associadas a altas taxas de evaporação também contribuem para concentrar sais minerais e nutrientes inorgânicos na água (Naselli-Flores 1999).

Chellappa (1990) e Chellappa *et al.* (1996, 1998, 2000) têm estudado intensamente a ecologia do fitoplâncton em diferentes ambientes no Estado e constataram que as populações de cianobactérias têm ampla distribuição e dominância considerável. Tais estudos evidenciaram que os sistemas limnéticos dessa região são caracterizados basicamente por ambientes oligo-mesotróficos na região litorânea e eutróficos na região agreste e do sertão. Na região litorânea concentram-se as lagoas naturais, enquanto que nas outras duas, que são mais secas e quentes, concentra-se a maioria dos açudes.

Estudos sobre a ecologia do fitoplâncton realizados na barragem Armando Ribeiro Gonçalves em diferentes escalas temporais constataram estado de eutrofização e uma freqüente, contínua e crescente dominância de cianobactérias potencialmente tóxicas (Costa 1996,1999; Costa *et al.* 1998, 2001a e b).

As florações de cianobactérias são geralmente conseqüências da eutrofização dos ambientes aquáticos. Nestas condições as cianobactérias representam o principal problema sanitário devido ao seu potencial de produção de metabólitos secundários tais como geosmina, que afeta o sabor e diminui a qualidade do pescado (p. ex. em aqüicultura) e toxinas (cianotoxinas). Também causam outros inconvenientes sanitários como alteração no cheiro, na cor e no sabor das águas, além de causar toxidez às mesmas. Tais toxinas, quando ingeridas através da água ou do consumo do pescado, afetam a saúde humana e são responsáveis pelo envenenamento de animais aquáticos, domésticos e selvagens (Carmichael, 2001).

O presente trabalho desenvolveu-se com base em tais evidências e aborda diversos aspectos ecotoxicológicos desses organismos. Apesar de sua importância nos ecossistemas aquáticos brasileiros, poucos estudos enfocam a dinâmica de populações das cianobactérias e os processos que envolvem o aparecimento de florações, especialmente no semi-árido nordestino. Nessa região, as cianobactérias encontram freqüentemente temperatura ótima para o seu crescimento e parecem muito bem adaptadas às condições locais. Considerando a escassez de recursos hídricos no semi-árido potiguar, juntamente com a crescente perda de qualidade de água disponível, a dominância de cianobactérias representa uma ameaça constante para a saúde pública, tornando este estudo de grande relevância social e científica.

## 2. FITOPLÂNCTON

O fitoplâncton de águas continentais, embora muito rico em espécies, exhibe freqüentemente espécies seletivas (Stoermer 1978). As cianobactérias formam um grupo importante dentro do fitoplâncton de água doce, compreendendo vários gêneros que são amplamente distribuídos em todo o mundo (Gibson & Smith 1982). Mudanças ou flutuações nas condições ambientais dos sistemas aquáticos podem ocorrer naturalmente, por exemplo, sob a influência do vento e precipitação, ou induzidas pelo homem. O conhecimento adequado das características das flutuações (duração, origem, magnitude) e seus efeitos podem prognosticar as respostas qualitativas e quantitativas das comunidades nos ecossistemas aquáticos (Tundisi *et al.* 1999).

A resposta de cada organismo frente às modificações ambientais, manifesta-se em forma de flutuações ou oscilações populacionais. Inicialmente, Odum (1969) definiu como sucessão esse processo de organização da comunidade que, quando não interrompido, é unidirecional e previsível. O processo sucessional é resultado das diferentes preferências das espécies e à medida que estes requerimentos vão sendo satisfeitos, observam-se mudanças na comunidade fitoplanctônica. A partir da introdução do termo “sucessão sazonal do fitoplâncton” por Hutchinson (1967), o processo sucessional tem sido confundido com “periodicidade sazonal”, contrariando o conceito original de Odum (1969). A maioria dos estudos sobre a sucessão da comunidade fitoplanctônica foi realizada em regiões temperadas (Margalef 1978; Lewis 1978; Reynolds 1980; Sommer 1991; Padisak *et al.* 1993).

O conceito de sucessão de acordo com Reynolds (1976, 1980) estabelece que as mudanças na composição de espécies do fitoplâncton podem ocorrer como resultado



direto de influências externas (alogênicas), como por exemplo a circulação da coluna da água, ou como resultado de influências bióticas (autogênicas), como o consumo de nutrientes, resultando em variabilidade nas mudanças sazonais progressivas do ambiente. Baseado em novas observações, Reynolds (1986) considerou a sucessão somente como “autogênica”, excluiu o termo “alogênico” e, definiu as mudanças ocasionadas na comunidade por fatores externos como distúrbios intermediários. A mistura vertical regula a distribuição de íons químicos e partículas em suspensão na água e representa um controle dominante sobre a estrutura e sucessão da comunidade algal (Reynolds 1988). O conceito atual para a sucessão da comunidade fitoplanctônica é de que o estado sucessional da comunidade e sua composição de espécies estão relacionados com o grau e a frequência dos distúrbios em cada ecossistema (Harris 1986; Pádisak *et al.* 1993).

A combinação de diferentes fatores, isolados ou cumulativos, representa uma das principais dificuldades na delimitação do padrão de distribuição dos diferentes grupos do fitoplâncton. Assim, para se avaliar a influência da variabilidade ambiental em estudos sobre comunidades, é importante adequar a escala de observação ao tempo de geração destes organismos (Margalef 1983). Por isso observações em curtos períodos de tempo (3-7 dias) são mais adequadas para identificar os fatores relacionados com a estrutura, e as respostas dos organismos da comunidade do fitoplâncton (Calijuri 1999; Harris 1986). Segundo Huszar & Silva (1999) apesar de inúmeros trabalhos sobre a comunidade de fitoplâncton já realizados no Brasil, estes ainda são insuficientes para se entender o padrão de distribuição destas comunidades.

O mecanismo para otimizar a utilização de energia pelas espécies foi estabelecido como “estratégia de sobrevivência” e as espécies foram diferenciadas em r e K estrategistas por (Pianka 1970). Reynolds (1988) propôs outra divisão para as

estratégias de sobrevivência do fitoplâncton, na qual as espécies são caracterizadas como C-estrategistas (competidoras), R-estrategistas (“ruderais”) e S-estrategistas (“Stress-tolerantes”). Segundo o mesmo, mudanças na comunidade podem ser vistas como reflexos das estratégias de sobrevivência das populações. Assim, tem ocorrido crescente interesse dos ecologistas em utilizar características biológicas para incluir espécies em grupos coerentes não taxonômicos. Reynolds (1980,1997) e Reynolds *et al.* 2002) incluiu algas com características comuns em 31 associações, das quais 11 são de cianobactérias, as quais descrevem diferentes condições ambientais. São elas: a associação **H**, **H<sub>1</sub>**, **H<sub>2</sub>**-heterocitadas; **K**, **Lm**, **Lo**—pequenas células coloniais chroococcales; **S**, **S<sub>1</sub>**, **S<sub>2</sub>** e **R**-filamentosas oscillatorias e **Z**- picoplâncton. A nova associação **Sn** foi criada para a fixadora de nitrogênio *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska), anteriormente incluída na associação **H** por Padisák & Reynolds (1998). Tais associações são usualmente definidas por limitação de recursos, mudanças comuns de estado trófico, processos de mistura, latitude, pH (Reynolds *et al.*2002). Nos sistemas aquáticos brasileiros já existem diversos estudos sobre este aspecto da comunidade fitoplanctônica (Huszar & Caraco 1998; Huszar *et al.* 2000; Huszar & Silva 1999; Huszar & Marinho (no prelo)).

A caracterização das condições ambientais através da avaliação de índices de estado trófico (IET), conjuntamente com outros parâmetros físicos, químicos e biológicos, tem mostrado grande sensibilidade a alterações nos ecossistemas aquáticos. Segundo Tundisi e Matsumura–Tundisi (1992), a tipologia de ambientes lênticos é resultante das interações entre estes parâmetros, destes com a bacia de drenagem e com os fatores climatológicos regionais. Entretanto, Esteves (1988); Barbosa (1994); Salas & Martino (1990) e mais recentemente Huszar *et al.* (2000), chamam a atenção para o uso inadequado dos critérios (modelos de lagos temperados) aplicados nos lagos brasileiros.

Segundo esses autores, a temperatura, diferenças na estabilidade térmica e nutrientes têm sido provavelmente os fatores responsáveis pela resposta do fitoplâncton em relação à composição da comunidade e o estado trófico em águas brasileiras. A diferença na ocorrência dessas condições resulta em sazonalidade marcante em regiões temperadas, o que não ocorre em regiões tropicais, as quais não apresentam grandes variações.

### 3. CIANOBACTÉRIAS

As algas azuis, também chamadas cianofíceas, Mixofíceas, Cyanophyceae, cianobactérias ou cianoprocaríotos, são microrganismos morfológicamente simples, mas fisiologicamente complexos. Possuem características celulares e bioquímicas de procariontes (bactérias), porém com um sistema fotossintetizante semelhante ao das algas (vegetais). Tais semelhanças têm gerado controvérsias entre botânicos e bacteriologistas para definição de um grupo sistemático adequado para estes organismos. Independente da denominação, são procaríotos e portanto pertencem ao reino Procariota. Estão classificados na divisão Cyanophyta (Desikachary 1959, Bourrelly 1970) ou segundo alguns autores Cianobactérias (Stanier *et al.* 1971; Rippka *et al.* 1979). Esta divisão compreende uma única classe e engloba 150 gêneros e 2000 espécies (Hoek *et al.* 1995).

Os primeiros sistemas de classificação baseavam-se apenas em características morfológicas e pouco em ecologia, mas atualmente são mais vinculados aos aspectos filogenéticos (história evolutiva das espécies). Entre as publicações mais importantes desse grupo destacam-se Geitler (1932, 1960), Desikachary (1959, 1972), Bourrelly (1970), Drouet (1942).

O mais recente, completo e utilizado sistema de classificação para as cianobactérias é o de Anagnostidis & Komárek (Anagnostidis & Komárek 1985, 1988, 1990; Komárek & Anagnostidis, 1986, 1989, 1995,1998). Seu critério de classificação baseia-se na utilização de características morfométricas, fisiológicas e bioquímicas nunca dantes utilizadas. Seus estudos são consistentemente baseados em amostras naturais e de cultivos em laboratório, para acompanhar e diferenciar diferentes fases reprodutivas. Essa nova abordagem do sistema é a única conhecida para um determinado grupo de organismos a contar com um acelerado e intenso processo de aprimoramento, tornando-o extremamente atualizado frente às descobertas da Ciência, nos seus vários campos de conhecimento. Como consequência deste sistema, as cianobactérias podem vir a ser melhor tratadas taxonomicamente, resultando em subsídios mais confiáveis aos trabalhos de limnologia, ecologia, fisiologia e outros (Senna & Magrin, 1999). É válido ressaltar a importância da taxonomia para o uso de uma linguagem similar entre os cientistas.

As cianobactérias são seres bastante primitivos e sua origem é datada de cerca de 3.500 bilhões de anos. Isso foi comprovado através de Nanofósseis sedimentados em *stromatolitos* descobertos na Austrália (Hoek *et al.*1995). Estudos paleontológicos do período pré-cambriano documentaram o papel dominante das cianobactérias nos primeiros ecossistemas terrestres, exibindo extremas mudanças evolutivas chamadas *Hypobradytelic* (evolução morfológica lenta mas eficaz). Por isso, são freqüentemente consideradas como os organismos responsáveis pela primeira acumulação de oxigênio na atmosfera primitiva, pela realização de fotossíntese aeróbica, a qual libera oxigênio como co-produto da fotossíntese (Schopf 1996).

Como todas as algas, as cianobactérias possuem talos que podem ser unicelulares (*Chroococcus*, *Synechocystis*) e coloniais, com a mais diversas formas:

planas, semelhantes a uma cartela de comprimidos (*Merismopedia*), esféricas ocas (*Coelosphaerium*), esféricas sólidas (*Gleocapsa*), cúbicas (*Eucapsis*) e sem forma definida (*Microcystis*). Existem colônias de filamentos, como a *Rivularia* e *Nostoc*. Também são inúmeras as formas de filamentos simples, sem ramificações (*Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc*) e com ramificações (*Hapalosiphon*, *Westiella*, *Stigonema*). Algumas espécies da ordem Stigonematales podem formar talos pseudoparenquimatosos alcançando tamanhos muito grandes, da ordem de centímetros (Gibson & Smith 1982).

As cianobactérias possuem ampla distribuição geográfica e são consideradas espécies amplamente adaptadas e muito tolerantes a ambientes extremos (Brock, 1972). Podem ser encontradas nos oceanos, tanto nas regiões neríticas como pelágicas, em águas salobras, como mangues e estuários. Em ambientes continentais poluídos ou não, podem ser encontradas em rios, lagos, reservatórios e tanques, inclusive em fontes termais, suportando temperaturas acima de 50°C, ou no alto das montanhas e em regiões polares com temperaturas extremamente baixas. Mais recentemente também foram encontradas em crateras vulcânicas (Whitton, 1999).

Entretanto, ambientes de água doce são os mais propícios para o seu crescimento, visto que a maioria das espécies apresenta melhor crescimento em águas neutro alcalinas (pH 7-9), com temperatura entre 15 e 30°C e alta concentração de nitrogênio e fósforo. Podem empregar vários mecanismos de adaptação para sobrevivência, que lhes conferem vantagens competitivas, tornando-as dominantes e persistentes em corpos d'água de diferentes estados tróficos. Tais adaptações consistem na habilidade de armazenar fósforo (corpos polifosfatos), tornando-as capazes de se reproduzir por quatro gerações quando o fósforo torna-se limitante; capacidade para armazenar nitrogênio (cianoficinas); fixação de nitrogênio atmosférico, através de

heterocitos, quando as concentrações de nitrato e amônia se tornam baixas; possuem capacidade de manterem-se por longos períodos no escuro, sob condições anaeróbicas, e ainda assim mantendo sua capacidade fotossintética; produção de esporos de resistência (acinetos) que permitem sua sobrevivência em condições adversas; formação de aerótopos (pseudo-vacúolos ou vesículas de gás) que possibilitam sua flutuação na coluna da água, otimizando as condições de luz e nutrientes necessários para o seu crescimento (Wolk 1965;1973). Possuem diferentes habilidades de utilização de compostos orgânicos como por exemplo a heterotrofia e mixotrofia (Stewart 1974). Também possuem um complexo de pigmentos acessórios tais como as ficobilinas (ficocianina, ficoeritrina e alloficocianina) sendo necessários portanto para absorção mais eficiente de luz em qualquer hábitat e para determinar sua cor verde-azulada característica. As ficobilinas compõem um sistema de antena que auxilia na captação de luz para a fotossíntese e protege a clorofila-*a* da fotoxidação (Lund 1965).

#### **4. CIANOTOXINAS**

As toxinas de cianobactérias (cianotoxinas) são produtos naturais tóxicos produzidos por várias espécies formadoras de florações. Cerca de 40 espécies de cianobactérias são potencialmente tóxicas e produzem diversas toxinas, incluindo as neurotoxinas, (anatoxinas e saxitoxinas), hepatotoxinas, (microcistinas e nodularinas), cilindropermopsina e lipopolissacarídeos (Carmichael & Falconer 1993; Carmichael 1997). As Neurotoxinas são alcalóides ou organofosforados caracterizadas por sua rápida ação farmacológica, causando morte por parada respiratória após poucos minutos de exposição. Hepatotoxinas são identificadas como peptídeos cíclicos, têm ação

farmacológica mais lenta, causando a morte entre poucas horas e poucos dias (Carmichael 1992, 1996; Fawell et al. 1993; Sivonen, 1996). Os lipopolissacarídeos (LPS) são toxinas irritantes e alergênicas. São constituintes da parede celular de cianobactérias e também de bactérias gram-negativas, e causam gastroenterites em populações humanas (Codd et al. 1989).

As neurotoxinas são produzidas por espécies dos gêneros *Anabaena*, *Lyngbya*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix/Oscillatoria*, *Trichodesmium* e *Cylindrospermopsis* (Carmichael 2001). As anatoxinas (anatoxina-a e anatoxina-a(s)) são alcalóides neurotóxicos e potentes bloqueadores neuromusculares. Os sinais de envenenamento por estas toxinas, em animais selvagens e domésticos, incluem: desequilíbrio, fasciculação muscular, respiração ofegante e convulsões. A DL50 intraperitoneal em camundongos, para a anatoxina-a purificada, é de 200mg/kg de peso corpóreo, com um tempo de sobrevivência de 1 a 20 minutos. Doses orais produzem letalidade aguda. A Anatoxina-s a DL50 em camundongos é de 20mg/Kg de peso corpóreo e, portanto, dez vezes mais potente que a anatoxina-a (Carmichael 1994; Sivonen 1996).

As saxitoxinas, também conhecidas por PSPs (Paralytic Shellfish Poisons) são caracterizadas como carbamatos, foram inicialmente isoladas de dinoflagelados marinhos e são responsáveis pela ocorrência de marés vermelhas. As saxitoxinas são relativamente complexas e apresentam diferentes toxicidades. Elas são divididas em três grupos com base na carga molecular e compreendem as saxitoxinas (saxitoxinas: STX, neosaxitoxin:neoSTX) que são altamente tóxicas e não sulfatadas, as Goniautoxinas (GTX), que são mais tóxicas e possuem um grupo fosfato e as C-toxinas, que possuem dois grupos sulfatos e são menos tóxicas. Estas neurotoxinas inibem a

condução nervosa por bloqueamento dos canais de sódio, afetando a permeabilidade ao potássio ou a resistência das membranas. A DL50 em camundongos é de 10mg/Kg de peso corpóreo (Carmichael, 1994; Jones & Negri 1997; Negri et al. 1995; Lawrence et al. 1991).

As hepatotoxinas até agora caracterizadas são heptapeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas, e os pentapeptídeos designados como nodularinas. A estrutura geral das microcistinas é D-AlaX-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha, onde X e Z são dois L aminoácidos variáveis, d-MeAsp é D-erito ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina. Adda, é o ácido 3-amino-9metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico, que está também presente nas nodularinas e foi determinado como um dos responsáveis pela atividade biológica dessas hepatotoxinas. Das 65 diferentes variantes estruturais de microcistinas conhecidas, a microcistina-LR é a de maior ocorrência nos estudos já realizados (Carmichael *et al.* 1988; Chorus and Bartram 1999).

Hepatotoxicoses representam o tipo mais comum de intoxicação por cianobactérias e os sinais observados após a sua ingestão são prostração, anorexia, vômitos, dor abdominal e diarreia. Sua ação no organismo se constitui basicamente na inibição de proteínas fosfatases 1 e 2A nas células hepáticas. Esta inibição permite a atuação desordenada das proteínas quinases provocando o desarranjo do citoesqueleto provocando hemorragia intra-hepática e conseqüente morte por choque hipovolêmico. As espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas estão incluídas nos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Planktothrix/Oscillatoria*, *Nostoc* e *Anabaenopsis* e *Hapalosiphon* (Sivonen & Jones 1999).

A toxicidade das microcistinas varia bastante e apresenta em média LD50 entre 60 e 70mg/Kg de peso corpóreo e sintomas similares de envenenamento. As



nodularinas foram primeiramente identificadas na espécie *Nodularia spumigena*. A DL50 em camundongos varia entre 50 a 200 mg/Kg de peso corpóreo. Estas toxinas são agora reconhecidas como potentes promotoras de tumores e, portanto, a ocorrência de espécies potencialmente produtoras dessas substâncias nos ambientes aquáticos precisa ser melhor investigada e monitorada (Carmichael 1994)

Cilindropermopsina é um alcalóide citotóxico que foi recentemente isolado de *Cylindropermopsis raciborskii*, *Umezakia natans* e também em *Aphanizomenon ovalisporium* (Ohatani *et al.* 1992; Harada *et al.* 1994; Shaw *et al.* 1999; Hawkins *et al.* 1997). Seu mecanismo de ação se dá por inibição da síntese protéica e já têm sido observados danos severos também em células renais dos animais testados. Sua DL<sub>50</sub> é mais alta variando de 0,2 a 2,1 mg/Kg<sup>-1</sup> (Falconer *et al.* 1999).

A toxicidade das cianobactérias é proveniente da produção de endotoxinas. Essas endotoxinas geralmente são liberadas quando ocorre a lise da célula e contaminam as águas, especialmente durante a senescência (Watanabe & Oishi, 1980). Uma espécie de cianobactérias pode produzir mais de um tipo de toxina e dentro da mesma espécie podem existir cepas produtoras ou não. Entretanto, até o momento não foram encontradas diferenças morfológicas entre cepas tóxicas e não tóxicas. Por isso, métodos de biologia molecular são usados atualmente para caracterizar espécies tóxicas e não tóxicas e subsidiar a classificação taxonômica destes organismos (Sivonen & Jones 1999; Neilan 1995).

Embora a produção de toxinas seja definida geneticamente, alterações da toxicidade não estão ainda completamente elucidadas. Carmichael (1992) questiona a respeito da variabilidade das toxinas, colocando-a como uma possível decorrência da influência de fatores ambientais ou da existência de cepas geneticamente distintas. De

acordo com Azevedo (1998), a toxicidade das florações de cianobactérias pode apresentar variação temporal, desde intervalos curtos de tempo até diferenças sazonais e anuais e também espacial, provavelmente decorrente de alterações na proporção de cepas tóxicas e não tóxicas na população.

#### **4. FLORAÇÕES TÓXICAS**

A eutrofização acelerada dos corpos d' água continentais e costeiros tem se manifestado como um fenômeno mundial. Os ambientes aquáticos têm recebido crescentes aportes de nutrientes provenientes de esgotos domésticos e industriais ou ainda, fertilizantes oriundos das atividades agrícolas e aquicultura e como conseqüência, suas características tróficas são alteradas. Uma importante conseqüência desse fenômeno nos sistemas aquáticos é o aumento na incidência e expansão de florações de cianobactérias, resultando em sérios problemas ambientais, econômicos e sociais. Tais florações afetam a qualidade da água, causando sabor, odor, aparência desagradável e desoxigenação, com conseqüente morte de animais aquáticos (Chorus & Bartram 1999; Levings *et al.* 1995).

As cianobactérias passaram a chamar a atenção da comunidade científica internacional, das empresas de abastecimento de água potável e dos setores de saúde, por apresentarem florações (“blooms”) com a produção de toxinas e conseqüente aumento na incidência de intoxicações em animais e humanos (Carmichael 1992). As florações de cianobactérias são o resultado do crescimento exagerado destes organismos em quantidades acima de  $1 \times 10^3$  células por mL, causando impacto negativo na qualidade da água, além de tornar os ambientes impróprios também para pesca e recreação (Carmichael & Falconer 1993). Segundo Azevedo (1998) e Azevedo *et al.* (1994) ocorrências de

florações de cianobactérias têm sido mais comuns principalmente próximo aos centros urbanos, constatando-se a relação “causa e efeito” da eutrofização.

As cianobactérias têm no N-amônio, N-nitrato e P-ortofosfatos três elementos limitantes para o seu crescimento. Coincidentemente estas formas são constituintes de fertilizantes utilizados na agricultura próximos aos mananciais. Micronutrientes como Ferro e Magnésio também são limitantes para cianobactérias, e quando são lixiviados para dentro do sistema, favorecem a ocorrência de florações tóxicas. A dominância de cianobactérias sobre outros organismos produtores do fitoplâncton, está muito ligada às características fisiológicas pelas quais as cianobactérias assimilam os nutrientes (N e P) no meio aquático, visto que em condições normais as cianobactérias “perdem” na competição pela assimilação de nutrientes para outras algas e outros microrganismos mais eficientes, que crescem mais e melhor (Round 1973).

O estado trófico afeta a composição das espécies, porém os mecanismos que favorecem sua dominância não estão ainda muito bem esclarecidos. A matéria orgânica tem papel indireto e decisivo nas florações porque as descargas facilitam o crescimento de bactérias que transformam a matéria orgânica em inorgânica, disponibilizando-a para utilização das cianobactérias. Massas de água horizontal e vertical diferenciadas ressuspendem nutrientes do fundo e tampona o pH para valores ideais. Nas barragens, as massas de água vertidas promovem a migração de cistos do fundo para a coluna fótica (Yunes 2000).

Pearl (1988) considera que os requerimentos e a tolerância ambiental exibida pelas cianobactérias para sobrevivência sob larga variação de condições ambientais é um “paradoxo”, devido a sua sensibilidade à repentinas mudanças ambientais. Apesar de apresentar dominância nos mais diversos ambientes, algumas espécies de cianobactérias

parecem apresentar marcada especialização, a exemplo da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, que apresenta tolerância à pouca luz, alta afinidade por fósforo, absorção de amônia e resistência à predação pelo zooplâncton.

Segundo Reynolds & Walby (1975), a dominância de cianobactérias depende basicamente da pré-existência de uma população de proporção significativa de organismos com flutuabilidade positiva e da estabilidade da coluna da água. A dominância de cianobactérias tem sido associada com diferentes fatores ambientais como: baixa turbulência (Reynolds, 1987, Ganf 1974), baixa intensidade de luz (Smith 1986), altas temperaturas, baixo CO<sub>2</sub> e alto pH (Shapiro 1990; Caraco & Miller 1998), alto P-total, baixo nitrogênio total e baixas razões N/P (Smith 1983), baixo nitrogênio inorgânico dissolvido (Blomqvist et al. 1994), estratégia de estocagem de fósforo (Peterson et al. 1993), habilidade para minimizar a herbivoria (Haney 1987) e capacidade para flutuação (Reynolds 1987). Tais condições ambientais têm favorecido o florescimento destas algas compostas basicamente por espécies de ocorrência mais freqüente como *Anabaena circinalis*, *A. spiroides*, *Microcystis lameliformes* e *Cylindrospermopsis raciborskii* (Torgan 1989).

O manejo das florações de cianobactérias envolve medidas de caráter preventivo e corretivo. Vários métodos de prevenção vêm sendo utilizados por ser uma abordagem mais racional. De acordo com Chorus & Bartran (1999) os métodos de prevenção incluem técnicas de manejo da bacia hidrográfica para minimizar aportes de nitrogênio e fósforo, tratamento da água através de processos físicos e químicos e controle biológico. Para aplicação de uma determinada técnica de prevenção é fundamental considerar as informações sobre os usos da bacia hidrográfica e das variáveis físicas, químicas e biológicas do sistema. Isto porque estas variáveis atuam sinergicamente e

antagonicamente ao metabolismo fisiológico, crescimento e potencial reprodutivo das cianobactérias (Pearl *et al.*, 2001).

## 6. INTOXICAÇÕES POR CIANOTOXINAS

Manifestações tóxicas em animais causadas por blooms de cianobactérias de água doce são reportadas na literatura desde o século XIX. A revisão pioneira de Schwimmer & Schwimmer (1968) refere-se aos trabalhos iniciais de Francis (1879) e mais 65 outros casos episódicos de toxicidade de microalgas de água doce. Tais relatos constam de diversas ocorrências de blooms com incidentes tóxicos em diferentes áreas: na Austrália com *Nodularia*, nos U.S.A. com *Gloeotrichia*, *Aphanizomenon* e *Microcystis*, e na Finlândia com *Anabaena*. Mais recentemente, a ocorrência de florescimentos com envenenamento de animais são relatados por Sivonen (1996) e Carmichael (1992).

Está se tornando cada vez mais freqüente a ocorrência de florações tóxicas que apresentam os grupos comuns de cianotoxinas. Pesquisas têm mostrado que 25% a 70% dos florescimentos de cianobactérias são tóxicos em todo o mundo (Carmichael *et al.* 1988; Sivonen 1996; Baker & Humpage 1994). Segundo Azevedo (1998) e Costa & Azevedo (1994) aproximadamente 75% das cepas isoladas aqui no Brasil mostram-se tóxicas quando testadas em bioensaios de toxicidade.

Intoxicações de populações humanas pelo consumo oral de água contaminada por cepas tóxicas de cianobactérias já foram descritas em países como a Austrália, Inglaterra, China e África do Sul (Falconer, 1994, 2001). Também já foram associados vários casos de morte de animais domésticos e selvagens, peixes e problemas

de saúde e morte humana, após o contato com florações (Carmichael e Falconer 1993; Carmichael, 1992,1994; Carmichael *et al.*, 2001; Azevedo, 1996,1998).

No Brasil, florações tóxicas de cianobactérias têm sido evidenciadas por Yunes (1996) em estuários e lagoas costeiras na região sul, na região sudeste (Azevedo 1994, Magalhães *et al.* 2001, Lagos *et al.* 1999). Em açudes da região nordeste destacam-se os trabalhos realizados por Porfirio *et al.* (1999), em Alagoas e Bouvy *et al.* (1999) em Pernambuco. Teixeira *et al.* (1993) descreve uma forte evidência de correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias no reservatório de Itaparica (Bahia) e a morte de 88 pessoas, entre as 200 intoxicadas, pelo consumo de água do reservatório, entre março e abril de 1988. A expressão máxima deste fato conhecida como “A síndrome de Caruaru”, e que teve repercussão mundial, ocorreu na cidade de Caruaru/Pernambuco em 1996. Um total de 123 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise, foram contaminados por microcistinas e passaram a apresentar um quadro clínico compatível com uma grave hepatotoxicose. Destes, 54 faleceram em até 5 meses após o início dos sintomas e, de acordo com informações fornecidas pela Secretaria de Saúde de Estado do Pernambuco, a referida clínica recebia água sem tratamento completo e usualmente era feita uma cloração no próprio caminhão tanque utilizado para transportar água (Jochimsen *et al.* 1998; Carmichael *et al.* 1998, 2001; Azevedo *et al.* 1996, 1998).

No Rio Grande do Norte, merecem destaque os trabalhos realizados por Chellappa *et al.* (2000) que também associaram intensa mortandade de peixes e camarões à florações de *Microcystis aeruginosa* e *Pseudanabaena* sp, em recente estudo realizado no reservatório Marechal Dutra, localizado no semi-árido do Estado. Os autores

atribuíram o fato ao excesso de matéria orgânica liberada do cultivo de peixes em rede tanques nas partes rasas do reservatório.

## **6. DEGRADAÇÃO E REMOÇÃO DAS TOXINAS**

As cianotoxinas, especialmente as microcistinas, são suscetíveis à degradação por bactérias heterotróficas que vivem naturalmente em rios e reservatórios. O processo de degradação das hepatotoxinas leva de semanas a meses, enquanto que outras cianotoxinas (anatoxinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas) são de difícil degradação e existem ainda poucos estudos sobre a sua degradação por microorganismos (Chorus & Bartran 1999). A degradação de microcistinas na água depende da sua concentração inicial, dos microrganismos presentes, da temperatura da água, do pH e da disponibilidade de outras fontes de carbono orgânico (Jones & Orr. 1994).

Um problema recente concernente a esse tema consiste nas limitações de métodos e técnicas devidamente testadas e seguras no tratamento e remoção de células de cianobactérias bem como suas toxinas. O processo de tratamento convencional de água utilizado por empresas de tratamento e distribuição de água para consumo humano não remove adequadamente as cianotoxinas, oferecendo riscos à saúde da população. Neste sentido, vários esforços já estão sendo encaminhados na tentativa de solucionar este problema. Diversas pesquisas vêm sendo realizadas e investigações em escala piloto têm demonstrado que microcistinas dissolvidas podem ser removidas de forma eficiente a menos de  $1\text{mg.L}^{-1}$ , sob condições normais utilizadas por tratamento de água por carvão granulado (GAC) biologicamente ativo, ozônio, cloro e permanganato de potássio (Hrudey

*et al.*1999). Todavia, em relação a experimentos em escala real poucas informações têm sido divulgadas pelas estações de tratamento de água.

A remoção das toxinas está ligada à natureza da água e quantidade e qualidade de carvão ativado (Bernazeu & Eaux-Dume 1994). Experimentos recentes têm evidenciado que a filtração lenta é uma ferramenta potencialmente eficiente na remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e de microcistinas, porém ainda são necessários estudos para otimizar o processo e identificar suas limitações (Sá et al. 2001).

Recentemente em nosso país, o Ministério da Saúde incluiu as cianotoxinas na Portaria 1469, de 29 de dezembro de 2000, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Dentre os parâmetros inseridos no padrão de potabilidade, destacam-se as cianotoxinas e o número de células de cianobactérias potencialmente tóxicas. A microcistina é parâmetro obrigatório de monitoramento em águas tratadas, e cilindrospermopsina e saxitoxinas são parâmetros recomendáveis. Baseado em estudos de toxicidade oral em níveis sub-crônicos (Fawell *et al.* 1994; Falconer *et al.* 1994), foi estabelecido o limite máximo aceitável de microcistinas em água para consumo humano, adotado pela OMS e incorporado no adendo das Normas para Qualidade da Água Tratada publicadas em 1998 (“Guideline for Drinking Water Quality”, WHO – 1998). A portaria brasileira 1469/MS estabeleceu como limite máximo aceitável 1  $\mu\text{L}^{-1}$  microcistinas, 3 $\mu\text{L}^{-1}$  e 15 $\mu\text{L}^{-1}$  como recomendáveis de saxitoxinas e cilindrospermopsinas, respectivamente.

Isso representou um grande passo na direção da melhoria da qualidade das águas superficiais e no monitoramento dos mananciais de abastecimento público. Espera-se que os serviços públicos e privados do país utilizem práticas gerenciais cabíveis e



adequadas para garantir a sustentabilidade dos recursos hídricos, particularmente a água destinada ao abastecimento humano, tendo em vista sua estreita relação com a saúde e qualidade de vida das populações.

## **CAPÍTULO II**

# **OBJETIVOS**

## II. OBJETIVOS

Considerando a dominância de cianobactérias na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, o presente trabalho tem como objetivo principal prestar contribuição ao conhecimento destes organismos e fornecer subsídios para o manejo de florações tóxicas em ambientes aquáticos eutrofizados do semi-árido nordestino. Para isso investigações foram realizadas nos períodos de chuva e estiagem no reservatório para atender os seguintes objetivos específicos:

1. Identificar taxonomicamente as principais cianobactérias planctônicas presentes no reservatório. **(Artigo I)**
2. Fazer o levantamento da ocorrência de florações tóxicas de cianobactérias, detectar e quantificar as cianotoxinas presentes no séston da água bruta e tratada. **(Artigo II)**
3. Determinar a abundância relativa das espécies de cianobactérias e dos grupos do fitoplâncton. **(Artigo III)**
4. Fazer a caracterização limnológica do reservatório e reconhecer os fatores que regulam a dominância e estabelecem os padrões temporais de populações de cianobactérias. **(Artigo III)**

## **CAPÍTULO III**

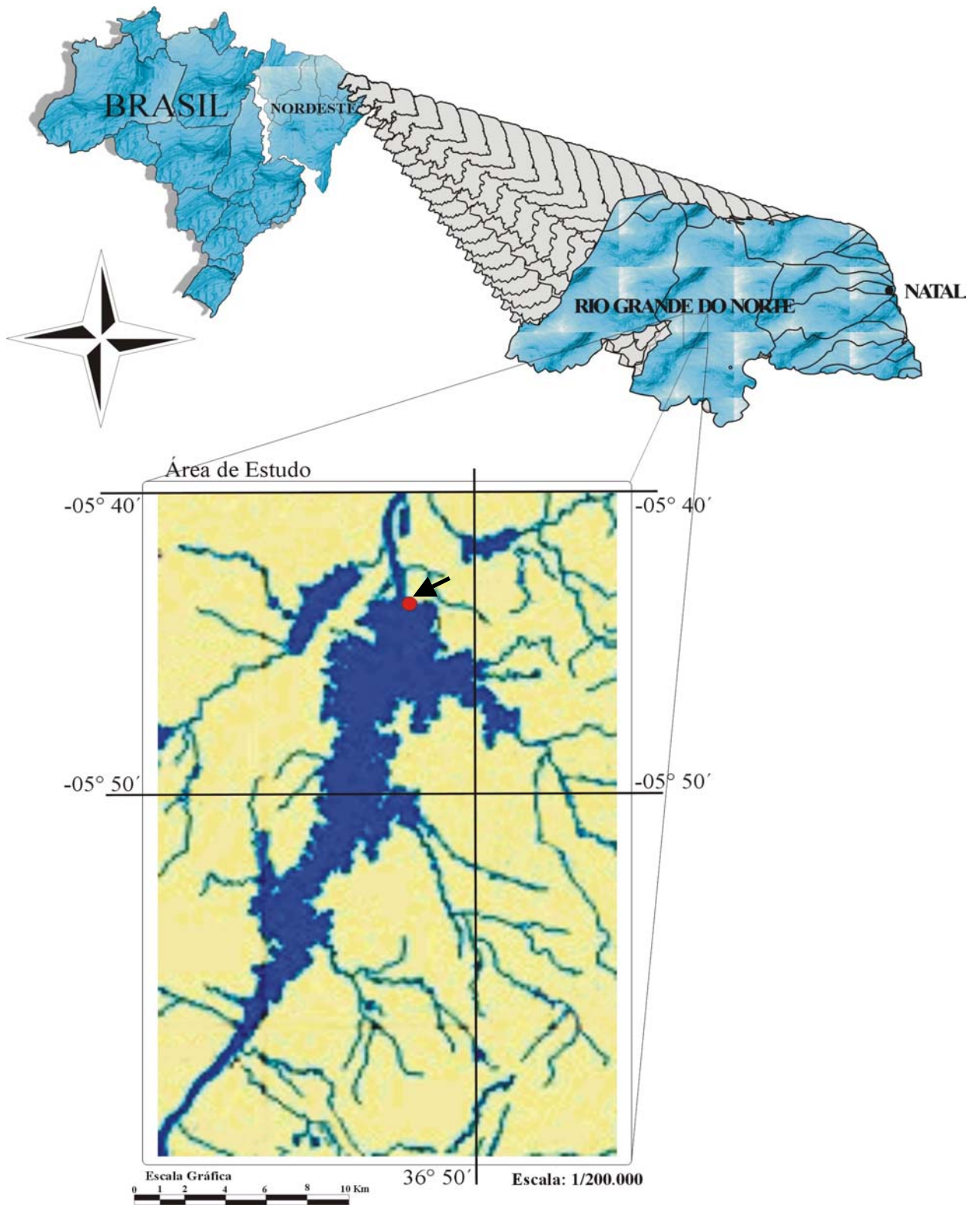
# **MATERIAL E MÉTODOS**

### **III. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **1. ÁREA DE ESTUDO**

A Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves situada entre as coordenadas (06°08' S ; 37° 07' W), está localizada na micro-região do vale do Assu, inserida no polígono da seca, na zona do Sertão, no Estado do Rio Grande do Norte, região Nordeste do Brasil (Figura 01). Ela é formada pelo represamento do Rio Piranhas-Assu, importante e mais extenso rio do Estado. A bacia do Piranhas-Assu cobre uma área de 44.600 km<sup>2</sup>, abrangendo a parte ocidental do Estado da Paraíba e o centro-norte do Rio Grande do Norte. Compreende significativa dimensão de áreas intensamente submetidas a déficits hídricos no semi-árido nordestino. No Estado da Paraíba o rio possui alguns trechos represados e apresenta grandes áreas alagadas, atravessa todo o estado do Rio Grande do Norte e vai desembocar no oceano Atlântico, na cidade de Macau, sofrendo inclusive influência das marés (DNOCS/IEPRO/UECE, 2001;Viana, 1988).

A Barragem Armando Ribeiro Gonçalves é considerada o maior reservatório destinado à irrigação da América latina. No nordeste brasileiro é o maior construído em rio intermitente e o segundo maior para múltiplas utilizações. Com capacidade volumétrica máxima de  $2.4 \times 10^9$  m<sup>3</sup>, representa 82% do total acumulado na bacia e 68% do total de água de superfície no Estado. Portanto, é de fundamental importância para o desenvolvimento econômico e abastecimento de água do RN. O reservatório é responsável pelo abastecimento de água para 20 municípios e mais de noventa comunidades rurais, totalizando pouco mais de 400 mil habitantes. Destina-se também à pesca, lazer, aquicultura e irrigação de fruticulturas, que representam importantes atividades econômicas da região.

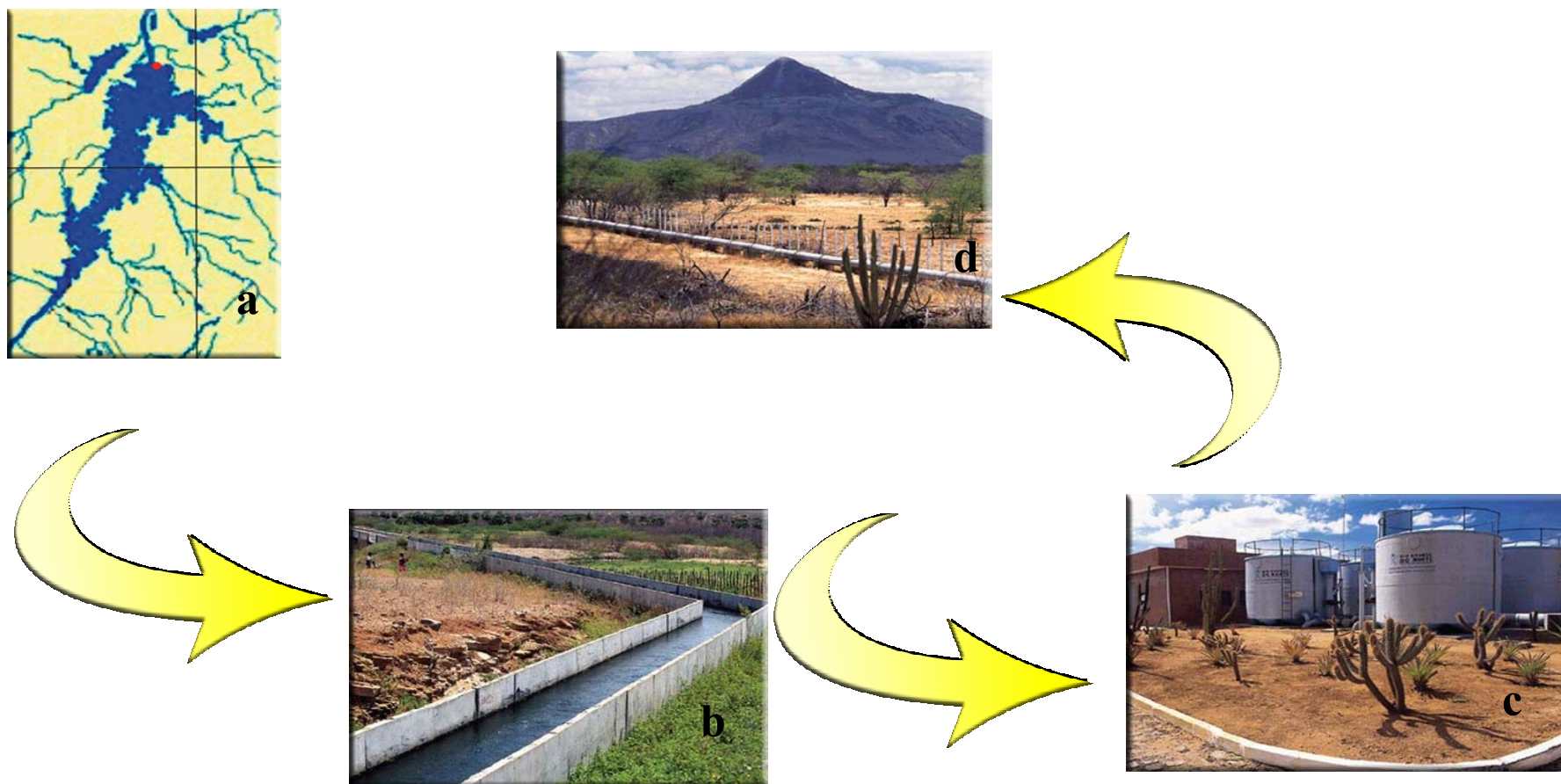


**Figura 1.** Estação de coleta e localização geográfica da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, ASSU-RN.

Do reservatório, a água é transportada à população por rede de tubulações dos grandes sistemas de adutoras. A secretaria de Recursos Hídricos do Rio grande do Norte implementou estes sistemas para garantir a oferta de água para qualquer uso, em todo o território Potiguar e um deles foi investigado neste estudo. Neste sistema, a água da Barragem Armando Ribeiro é transportada para estação de tratamento através do canal do Pataxó. O canal é aberto e possui 9.000m de extensão, vazão de  $2,2\text{m}^3/\text{s}$  e tem a principal finalidade de transportar a água da Barragem para o rio Pataxó, possibilitando a irrigação de 2500 ha. Após receber tratamento, por uma estação gerenciada pela Companhia de Águas e Esgotos do Rio Grande do Norte (CAERN), a água é transportada pela Adutora Sertão Central Cabugi. Esta adutora possui 204 km de extensão, vazão de  $1951/\text{s}$  e atende a uma população de 39 mil habitantes, beneficiando 8 municípios e 16 povoados (Figura 2).

Nos últimos anos vem ocorrendo redução progressiva no volume total de água acumulado no reservatório. Entre os anos de 1998 e 1999 esteve com aproximadamente 50% da sua capacidade total (SERHID/RN, 2000). Tal fato deve-se aos extremos déficits hídricos regionais, provavelmente impulsionados por fenômenos do “EL NINO”, ocorridos entre 1997 e 1998. A ativação dos sistemas de adutoras a partir de 1999 e conseqüente aumento na demanda do fornecimento de água, aliado à falta de chuvas e altas taxas de evaporação, muito provavelmente vem contribuindo para redução do seu volume, apesar de mantida a baixa vazão ( $8$  e  $13\text{ m}^3/\text{s}$ ).

O clima regional é classificado como Tropical Semi-Árido, com grande déficit hídrico, temperaturas elevadas, altas taxas de evaporação, apresentando dois períodos distintos: um chuvoso (de janeiro a junho) e outro de estiagem (julho a dezembro). As chuvas são concentradas de fevereiro a maio com distribuição muito irregular. A precipitação anual gira em torno de 350-650 mm (Chagas, 1997).



**Figura 2-** Sistema de transporte de água pela Adutora Sertão Central Cabugi e esquema dos pontos de coletas utilizados neste estudo: a água bruta da Barragem Armando Ribeiro Gonçalves (a) é transportada pelo Canal do Pataxó (b) para a estação de tratamento(c). Após tratamento a água é distribuída à população por tubulações (d).



As características hidrológicas e morfométricas do reservatório são apresentadas na Tabela 01. A barragem é do tipo zoneada, com a altura máxima de 40m de extensão pelo coroamento de 2.553m e largura no coroamento de 8m. A tomada da água está localizada na ombreira direita na cota de 31,60 m e atravessa a barragem por um túnel, com diâmetro de 2,80 metros e 165 metros de extensão. A vazão diária varia entre 8 e 13 m<sup>3</sup>/s. À jusante existem válvulas dispersoras, para liberação de água, sendo a descarga máxima de 30m<sup>3</sup>/s. Diariamente ocorre variação entre 2 e 2,5cm no nível da água, decorrente da vazão e da evaporação.

**Tabela 01.** Características Hidrológicas e Morfométricas da Barragem Engenheiro

Armando Ribeiro Gonçalves

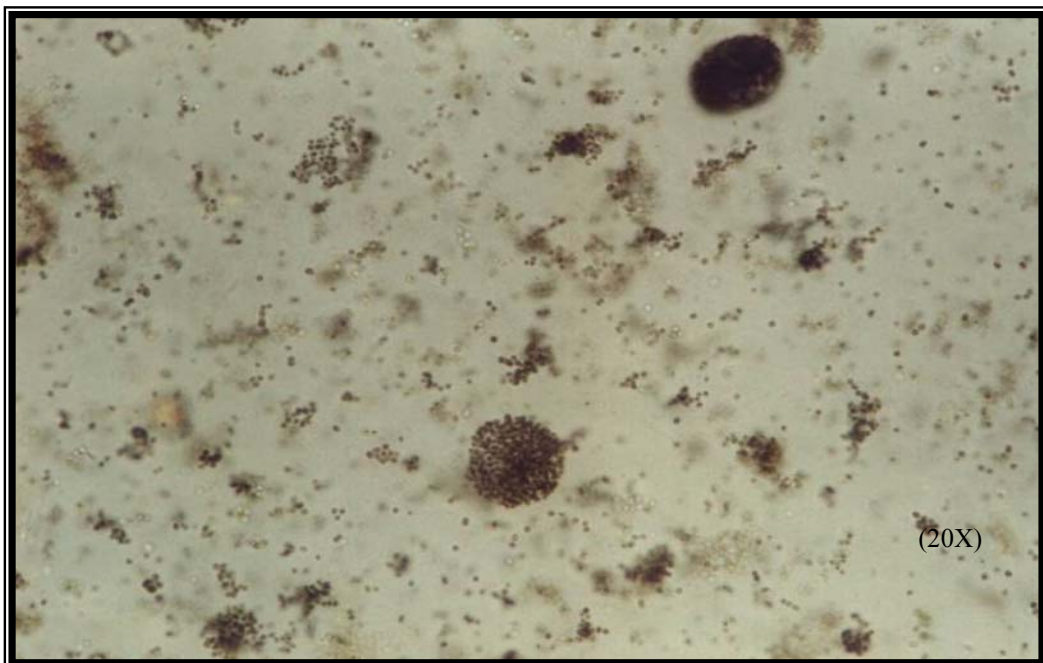
Volume máximo	2.4 x 10 <sup>9</sup> m <sup>3</sup>
Volume médio no estudo	1.3 x 10 <sup>9</sup> m <sup>3</sup>
Profundidade média	12,3 (m)
Profundidade máxima	33 (m)
Cota	18 (m)
Bacia de drenagem	36.770 (km <sup>2</sup> )
Tempo de residência	1.314 (dias)
Vazão	12 (m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> )
Anos de operação	17
Precipitação histórica média regional	517 (mm)
Precipitação média anual no período estudado	350 (mm)
Usos	Abastecimento, pesca, irrigação e lazer

FONTE: DNOCS/RN (DEPARTAMENTO NACIONAL DE OBRAS CONTRA AS SECAS)

Embora não haja registros sobre as fontes de poluição da bacia hidrográfica do reservatório, suspeita-se da existência de diversas fontes difusas de contaminação. Ultimamente ocorreram denúncias de lançamento de esgotos industriais e hospitalares *in natura* no sistema além da suspeita de contaminação por agrotóxicos provenientes das empresas de fruticultura existentes no local. Os agrotóxicos jogados nas plantações de frutas são carregados diretamente para o rio e através dos canais de irrigação, quando os aviões pulverizam o produto químico. Diferentes trechos do rio Piranhas-Assu recebem descargas pontuais de matéria orgânica proveniente das lagoas de estabilização das cidades situadas no entorno da bacia (Jucurutu, Florânia, Jardim de Piranhas e São Rafael). Durante este estudo, observamos que a água utilizada na lavagem dos filtros de uma estação de tratamento é despejada em um trecho do rio próximo ao reservatório. Esta água apresentava aspecto de florações intensas de cianobactérias e aparência de um tapete verde e, que infelizmente, não era muito diferente da água bruta do reservatório (Figuras 3 e 4).



**Figura 3.** Aspecto de uma floração mista de cianobactérias (*Microcystis* sp, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon*) na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves em abril de 2000.



**Figura 4.** Imagem microscópica de uma floração de Cianobactérias (*Microcystis* spp) na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, durante o período de estudo (amostra diluída 1:20 mL).

## **2. ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM**

Para detectar variações temporais do fitoplâncton em curtos intervalos de tempo, em função das características climáticas da região, foram realizadas oito coletas de água no período de chuvas (abril e maio/2000), quatro em período intermediário (maio a julho/2000) e dez no período de estiagem (novembro e dezembro/2000), a 300 metros do talude principal da barragem. As amostras de água para análises físicas, químicas e biológicas foram coletadas a cada 4 dias na superfície, a 10% e 1% de penetração de luz, a 5m e 10m, e no fundo (21m), com auxílio de uma garrafa de “Van Dorn” de 5 litros. Todas as coletas foram realizadas no período da manhã.

Amostras de água para análise das cianotoxinas e cianobactérias foram coletadas em três pontos no mesmo período, com exceção de julho/2000, mas com periodicidades diferentes. No reservatório (ponto 1) a água bruta foi coletada quinzenalmente (n=9). A água bruta no canal de Pataxó (ponto 2/n=4) e a água tratada foram coletadas mensalmente. A água tratada foi coletada na saída da ETA (estação de tratamento de água) do sistema Adutor Sertão Central do Cabugi (ponto 3/n=4). Todas as amostras foram coletadas coincidindo com as coletas do fitoplâncton.

## **3. VARIÁVEIS CLIMÁTICAS**

Os dados climatológicos (temperatura máxima, mínima e média do ar, precipitação pluviométrica, insolação e velocidade dos ventos) foram obtidos na Estação Agrometeorológica da Base Física da EMPARN (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO RIO GRANDE DO NORTE ) de Ipanguaçu, localizada a 20 Km da cidade de Assu (05° 25' S;36° 52' W) a 18 metros de altitude.

## **4. VARIÁVEIS HIDROLÓGICAS**

### **4.1 Dados Morfométricos e Tempo de Residência da Água**

Os dados morfométricos e do comportamento volumétrico do reservatório no período interamostral foram obtidos pelo DNOCS/RN (DEPARTAMENTO NACIONAL DE OBRAS CONTRA AS SECAS). O tempo de residência da água foi calculado pela fórmula apresentada por Calijuri (1988).

## **5. VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS**

### **5.1 Transparência, Penetração de luz, Zona eufótica ( $Z_{eu}$ )**

A transparência da água foi medida com o disco de Secchi e através desta medida, foi calculado o coeficiente de atenuação vertical, segundo Kirk (1986).

As profundidades correspondentes às porcentagens de absorção vertical de luz (10% e 1% ) foram estimadas de acordo com Poole & Atkins (1929). A razão entre a profundidade máxima e zona eufótica ( $Z_{max}/Z_{eu}$ ) foi utilizada como índice de disponibilidade de luz na coluna da água (Jensen *et al.* 1994).

### **5.2 pH e Condutividade Elétrica**

O pH e a condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) foram determinados através de potenciômetro e condutivímetro DIGIMED.

### **5.3 Alcalinidade e Formas de Carbono**

A alcalinidade foi medida por titulação com ácido forte (0,01N), técnica descrita por Golterman *et al.*, (1978) e as formas de carbono ( CO<sub>2</sub> livre e total, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>-</sup> ) foram calculados segundo Mackereth *et al.* (1978).

### **5.4 Temperatura da Água**

A temperatura da água foi determinada através de um termômetro de mercúrio de marca INCOTERM 2309, com precisão de  $\pm 0,1$  °C.

### **5.5 Oxigênio Dissolvido e Porcentagem de Saturação**

A concentração de oxigênio dissolvido na água foi determinada pela técnica de Winkler modificada por Pomeroy & Kirshman (Golterman *et al.*, 1978). A porcentagem de saturação do oxigênio foi calculada segundo Golterman *et al.*, (1978), utilizando-se os valores de solubilidade do oxigênio dissolvido de acordo com cada temperatura, corrigidos para a pressão atmosférica local.

### **5.6 Material em Suspensão, Orgânico e Inorgânico**

O material em suspensão total orgânico e inorgânico foi determinado segundo a técnica descrita em Strickland & Parsons (1965) e Teixeira (1965). A estimativa do material em suspensão em mg.L<sup>-1</sup> foi obtida através da diferença de peso dos filtros totalmente secos, antes e após a filtração. O material inorgânico foi determinado

pelas cinzas obtidas pela ignição em mufla a 480 °C, por 1 hora. E o material orgânico pela diferença entre material em suspensão e inorgânico.

## 5.7 Nutrientes

Para a análise dos nutrientes inorgânicos foram empregadas as seguintes metodologias: Nitrato ( $\mu\text{gN-NO}_3\text{.L}^{-1}$ ), Mackereth *et al.*, (1978); Nitrito ( $\mu\text{gN-NO}_2\text{.L}^{-1}$ ), Golterman *et al.*, (1978); Amônio ( $\mu\text{gN-NH}_4\text{.L}^{-1}$ ), Koroleff (1976); Fósforo solúvel reativo-PSR ( $\mu\text{gPSR.L}^{-1}$ ). O fosfato total dissolvido ( $\mu\text{gPTD.L}^{-1}$ ), Golterman *et al.* (1978); Nitrogênio Total ( $\mu\text{gNT.L}^{-1}$ ) e fósforo total ( $\mu\text{PT.L}^{-1}$ ), Valderrama (1981). Os cálculos da razão atômica NT/PT foram feitos a partir dos resultados de nitrogênio e fósforo inorgânicos.

Para determinação dos nutrientes dissolvidos as amostras de água foram filtradas em pré-filtros AP-20 da Milipore com auxílio de bomba de vácuo. Amostras não filtradas foram utilizadas para determinar as concentrações totais de nitrogênio e fósforo. A análise foi realizada por espectrofotometria.

## 6. ÍNDICE DO ESTADO TRÓFICO (IET)

O IET foi calculado utilizando-se o índice de Carlson (1977) e a modificação deste índice, que inclui uma expressão para o fósforo solúvel reativo, conforme ilustrado a seguir:

$$\text{IET(S)} = 10 \frac{(6 - 0,64 + \ln S)}{\ln 2} \longrightarrow \text{S} = \text{valor do disco Secchi}$$

$$\text{IET(P)} = 10 \frac{[6 - \ln(80,32/P)]}{\ln 2} \longrightarrow \text{P} = \text{concentração fósforo total}$$

$$\text{IET(PO}_4\text{)} = 10 \frac{[6 - \ln(21,67/\text{PO}_4)]}{\ln 2} \longrightarrow \text{PO}_4 = \text{concentração de ortofosfato}$$

$$\text{IET(CHL)} = 10 \frac{(6 - 2,04 - 0,695 \ln \text{CHL})}{\ln 2} \longrightarrow \text{CHL} = \text{valor de clorofila-}a$$

O cálculo do IET médio foi feito através da média ponderada dos valores obtidos como proposto por Toledo Jr. *et al.* (1983), que atribui maior peso para o fósforo total e menor peso à transparência, pela seguinte fórmula:

$$\overline{\text{IET}} = \frac{\text{IET (DS)} + 2\{(\text{IET(PT)} + \text{IET(PSR)} + \text{IET(CHL)})\}}{7}$$

Os critérios de aplicação destas fórmulas são:

Oligotrófico	<b>IET &lt; 44</b>
Mesotrófico	<b>44 &lt; IET &gt; 54</b>
Eutrófico	<b>IET &gt; 54</b>



## 7. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

### 7.1 Identificação e Quantificação de Cianobactérias

Para a identificação das espécies foram examinadas várias lâminas do material vivo, coletado em amostras integradas ao longo da coluna da água, com rede de plâncton com abertura de malha de 20  $\mu\text{m}$ . Parte do material coletado foi fixada com formol a 4% para analisar a distribuição da ocorrência das espécies durante o período estudado. As populações foram identificadas, sempre que possível em nível infragenérico, utilizando técnicas apropriadas para análise das características morfológicas e morfométricas, com o auxílio de um microscópio ZEISS (Germany), tipo Axioskop, equipado com contraste de fase e câmara-clara, filtros e equipamento fotográfico. As medidas convencionais foram tomadas com uma régua micrométrica acoplada ao sistema óptico deste microscópio, que tem aumento de 2560 X. Os sistemas de classificação adotado para as cianobactérias foi o de Komárek & Anagnostidis (1986,1995, 1998) para a Chroococcales, Anagnostidis & Komárek (1988) para as Oscillatoriales e Komárek & Anagnostidis (1989) para as Nostocales. Também foram consultadas as obras de Desikachary (1959), Compère (1974; 1986) e Geitler (1932). Para as demais classes do fitoplâncton foram utilizadas: Round (1971) para as clorofíceas, Simonsen (1979) para as diatomáceas e Bourrelly (1901, 1985) para outros grupos.

A quantificação seguiu o método descrito por ÜTERMOL (1958), utilizando-se um microscópio invertido Zeiss Axiovert 10 com aumento de 400 X. Amostras de água (300 mL) foram fixadas com lugol acético. Os indivíduos (células, colônias e filamentos) foram enumerados em campos aleatórios como proposto por Uhelinger (1964) até atingir 100 espécimes da espécie predominante, seguidas de 100 da

co-dominante, sendo o erro menor que 20%, a um coeficiente de confiança de 95% (Lund et al., 1958). Para as amostras mais escassas o número de campos contados foi estabelecido através de uma curva de estabilização de espécies. O volume sedimentado variou de 2 a 10 mL, dependendo da densidade dos indivíduos. O tempo de sedimentação foi de pelo menos 3 horas para cada centímetro de altura da câmara (Margalef 1983). A contagem de cianobactérias expressa em indivíduos/mL foi transformada em células mL de acordo com os critérios de Chorus & Bartran (1999).

Espécies componentes de outros grupos do fitoplâncton também foram contabilizadas para se estabelecer a proporção de dominância das cianobactérias em relação à comunidade fitoplanctônica.

O biovolume ( $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) das espécies foi estimado como proposto por Edler (1979) e Hillebrand et al. (1999). O volume de cada célula foi calculado a partir de modelos geométricos aproximados à forma do indivíduo, considerando as dimensões médias de 25 indivíduos, multiplicando-se pela densidade de cada espécie.

## **7.2 Índices biológicos e Associações de comunidades**

A abundância relativa seguiu o critério de Lobo & Leighton (1986). De acordo com esse critério, considera-se:

- Espécies dominantes: ocorrência em densidades ou biovolumes superiores a 50% da densidade ou biovolume total da amostra.
- Espécies abundantes: ocorrência em densidade ou biovolume superiores à densidade ou biovolumes médios de cada amostra
- Espécies raras: ocorrência em única amostra de cada período estudado.

A riqueza específica (N° de taxa por amostra) foi avaliada pela quantidade de taxa presente em cada amostra.

Para estimar a diversidade específica (H') foi utilizado o índice de Shannon & Weaver (1963), a partir dos dados de biomassa expressa em bits mg<sup>-1</sup> utilizando-se log<sub>2</sub>, de acordo com a expressão.

$$H' = \sum p_i \log_2 p_i$$

Onde:

$$p_i = N_i/N$$

N<sub>i</sub> = n° total de indivíduos ou biovolume total de cada espécie

N = n° total de indivíduos ou biovolume total na amostra

A equitabilidade (J<sub>s</sub>) em percentual foi avaliada segundo a equação de PIELOU (1969):

$$J_s = 100 (H'/\ln N)$$

Onde:

H' = índice de diversidade de uma amostra

N = n° total de indivíduos ou biovolume total na amostra.

**Associações** da comunidade fitoplanctônica seguiram as recomendações de Reynolds *et al.* (2001).

### **7.3 Determinação da Clorofila-*a* e Feofitina**

Seguindo as recomendações propostas por Marker *et al.* (1980), os pigmentos foram determinados por espectrofotometria. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em frascos escuros e transportadas sob refrigeração. No laboratório, as amostras foram filtradas à vácuo em filtros tipo Whatman GF/C. Após a filtragem, os filtros foram acondicionados em envelopes de papel, colocados em frascos escuro contendo sílica gel e conservados em baixa temperatura (-20°C). A extração dos pigmentos foi feita com 10 mL de etanol a 90% à quente (80°C) e sob baixa iluminação. As concentrações da clorofila-*a* e feofitina foram determinadas de acordo com Lorenzen (1967).

## **8. DETECÇÃO DE CIANOTOXINAS NO SÉSTON**

### **8.1 Procedimento de amostragem**

Para análise das cianotoxinas, amostras de água bruta foram coletadas no reservatório e no canal do Pataxó e a água tratada na saída de distribuição da estação de tratamento. As amostras foram filtradas em filtros Whatmam GF/C previamente pesados, anotando-se o volume total da amostra, e congeladas para posterior análise no laboratório. Os filtros foram secados em estufa a uma temperatura de 50°C até estabilização do peso. As toxinas presentes no séston foram detectadas por técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), sistema Shimadzu/Class VP, devidamente adaptada para cada toxina. Todas as análises foram padronizadas de modo a expressar dados quantitativos.

## 8.2. Extração e Quantificação de Microcistinas (MYCT)

A extração de microcistinas no séston foi realizada segundo Krishnamurthy *et al.*, (1986), usando-se como solvente uma solução de metanol:butanol:água (20:5:75 v/v) com agitação durante 1 hora, a temperatura ambiente. O extrato obtido foi centrifugado (3.3500g por 15 minutos), recolhendo-se o sobrenadante e repetindo-se o procedimento com o precipitado 3 vezes sucessivamente. O sobrenadante foi evaporado até 30% do volume inicial e o extrato obtido foi passado em cartucho de C-18 (Bond Elut C-18 Varian). Os cartuchos foram eluídos com 20 mL de água ultra pura, metanol 20% e metanol 100%, seguidamente. A fração de metanol 100% foi evaporada, ressolubilizada em 1 mL de metanol 50% e filtrada em filtro de nylon 0,45  $\mu\text{m}$  (13 mmx 45 da Milipore).

A identificação e quantificação de microcistinas foi realizada em sistema de HPLC com detector de U.V./Vis. SPD-10 A, bombas LC-10AS e integrador CR6A. As Análises foram realizadas em condições isocráticas e fase reversa, sendo utilizada uma coluna semi-preparativa (Supercosil LVC-18, 5, 25cm x 10 mm), com fase móvel de acetonitrila e acetato de amônio 20 mM, pH 5,0 (28:72 v/v), com fluxo de 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e loop de 100  $\mu\text{L}$ .

O espectro de absorção de cada pico foi analisado, entre faixa de 195 a 300 nm, através de um detector de iodo (detector SPD-M10A-Diodo array (PDA) e bombas LC-10AD), comparando-se com o espectro de absorção do padrão de microcistina- LR.

A análise de microcistinas na água tratada foi realizada por técnica de Imunoensaio, devido a maior sensibilidade desse método. Foi realizada através do método ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) descrita para detecção de microcistinas

por Chu *et al.*, (1989), utilizando o KIT da Engirologix INC que tem limite de detecção de 0,16 ppb.

### 8.3. Extração e Quantificação de Saxitoxinas (STXs)

A extração das saxitoxinas intracelulares foi obtida com ácido acético a 0,05M em placa agitadora por 1 hora conforme citado em Chorus & Bartram (1999). O sobrenadante foi evaporado e ressuspensão em 1 mL de ácido acético a 5% e o extrato centrifugado por 10 minutos a 11000 g.

A reação com peróxido foi feita com 100µL do extrato acrescentando 250µL de NaOH 1M seguido de 25µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 10%. A solução foi agitada e posta para reagir por 10 minutos à temperatura ambiente. Após esse tempo foram adicionados 20µL de ácido acético e uma alíquota de 20 µL foi analisada em HPLC.

A reação com o periodato foi feita com uma solução preparada com ácido periódico 0,03M, formiato de amônia 0,3 M e na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,3 M (1:1:1 v /v) e ajustando o pH para 8,2 com NaOH 0,2 M. Foram adicionados 20 µL dessa solução à 100µL do extrato, agitado e posto para reagir por 10 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente foi adicionado 10 µL de ácido acético, agitou-se e uma alíquota de 20µL foi analisada em HPLC.

As toxinas do tipo PSP (saxitoxinas, goniatoxinas e toxinas-C) foram analisadas em sistema HPLC, através da técnica de pré-oxidação, segundo Lawrence *et al.*, (1991,1995 e 1996) e Lawrence & Ménard (1991) adaptadas para extração de células de cianobactérias. A maneira usual para detecção dessas toxinas é a combinação de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com uma metodologia de pós derivatização, utilizando-se um detector de fluorescência. Mas, por ser um método caro e

complexo, não é prático. Entretanto, neste trabalho, utilizamos uma maneira alternativa para análise dessas toxinas, envolvendo uma pré-oxidação das toxinas, seguida de um gradiente de eluição na fase reversa usando um detector de fluorescência. Na reação de oxidação, podemos obter os produtos de oxidação das saxitoxinas, que são altamente fluorescentes, e desta maneira podem ser separadas por HPLC.

Assim, esta pode ser considerada uma técnica simples e eficiente para estimativas rápidas de saxitoxinas. Nesta reação, a oxidação pode ser feita com peróxido de hidrogênio e ácido periódico. Utilizamos a reação com peróxido para evidenciar melhor as toxinas não N-hidroxiladas e a reação com periodato para as N-hidroxiladas. O padrão utilizado foi da National Research Council-NRC/Institute For Marine Biosciences/Canada. As condições analíticas do sistema utilizado contêm uma bomba (LC 10AT vP), um controlador (SCL-10<sup>A</sup> VP) e um injetor com Loop de 20 µL. O detector de fluorescência (RT-10 A XL) com 330 nm de excitação e 400nm de emissão foi utilizado para monitorar o efluente. Foi utilizada uma coluna LC-18 (15cm x 4,6mm, 5µm com fase estacionária). A fase móvel continha um gradiente de acetonitrila:formiato de amônia 0,1M (v/v), ajustado para pH 6.0, variando de 0-1% nos primeiros 15 minutos e de 1-4% nos últimos sete minutos. O fluxo foi de 1mL Min<sup>-1</sup>.

#### **8.4 Extração e Quantificação de Cilindrospermopsinas (CYL)**

A análise de cilindrospermopsina seguiu as recomendações de Harada *et al.*, (1994 ) e Hawkins *et al.*, (1997). A extração foi obtida com ácido acético a 5% em placa agitadora por 1 hora, seguida por análises de cromatografia usando uma coluna Zorbax e um detector a 262 nm. O tempo de retenção e o espectro UV (200-300nm) dos picos encontrados foram comparados com o padrão de cilindrospermopsina gentilmente doado pelo Prof. Assaf Sukenike do Institute Haifa em Israel. Foi usado um gradiente linear de 0 para 5% de metanol e água deionizada por 10 minutos, seguido por condições isocráticas de 5% metano por mais 10 minutos . As amostras que apresentaram picos semelhantes foram co-eluídas com o padrão e re-analizadas para confirmação da presença dessa toxina.

#### **9. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS**

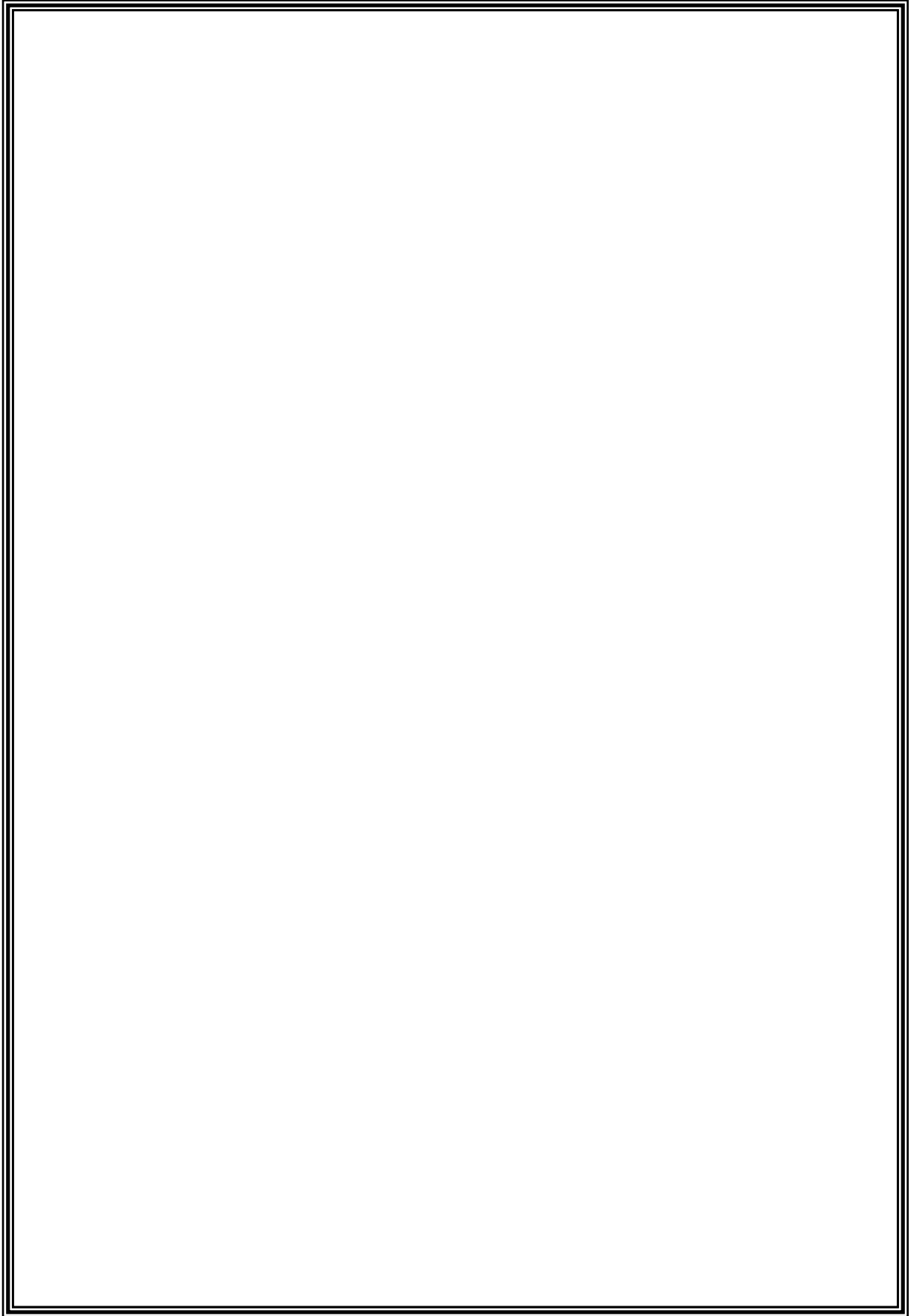
Análise de correspondência canônica (CCA) foi utilizada para determinar o padrão de distribuição das cianobactérias em relação aos fatores ambientais no período estudado. A CCA é uma análise multivariada de gradiente direto, que ordena os eixos por combinações lineares com as variáveis ambientais. A matriz das variáveis ambientais foi composta pH, Zeu, CO<sub>2</sub> livre, N:P, NTD E PTD). Para a matriz das espécies utilizamos os dados de biomassa (log) de *Aphanizomenon*, *Microcystis* spp, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Snowella lacustris*, outras cianobactérias, diatomáceas e clorofíceas. A significância das variáveis foi determinada por seleção forward através do teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações, p<0,05). O teste foi realizado pelo programa CANOCO (versão 3.1).



Relações entre grupos e/ou espécies de fitoplâncton com variáveis ambientais foram avaliadas usando o teste de correlação de Spearman sendo consideradas significativas apenas as correlações ( $p < 0,05$ ), através do programa STATISTIC (versão 5.1). Uma análise multivariada também foi utilizada para identificar o grau de significância de cada variável selecionada.

## **CAPÍTULO IV**

# **RESULTADOS E DISCUSSÃO**



## **Cianobactérias planctônicas de um reservatório eutrofizado no semi-árido brasileiro**

Ivaneide alves Soares da Costa<sup>1</sup>, Pedro Américo C. Senna<sup>2</sup>, Célia L. Sant'Anna<sup>3</sup>,  
Naithirithi T. Chellappa<sup>4</sup>

(artigo a ser submetido para publicação na Revista Brasileira de Botânica)

1

**Título resumido:** Cianobactérias do semi-árido brasileiro

---

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário/CB, Depto. Microbiologia e Parasitologia, Lagoa Nova, Natal/RN. CEP 59072-970.

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>3</sup> Instituto de Botânica, Seção de Ficologia, São Paulo, SP

<sup>4</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte

<sup>5</sup> Autor para correspondência : [iasoares@uol.com.br](mailto:iasoares@uol.com.br) , [iasoares@cb.ufrn.br](mailto:iasoares@cb.ufrn.br)

**RESUMO** – (Cianobactérias planctônicas de um reservatório eutrofizado no semi-árido brasileiro, (ASSU- RN). Com a finalidade de ampliar o conhecimento sobre a distribuição das cianobactérias em ambientes eutrofizados no semi-árido brasileiro, amostras integradas verticalmente (36) foram coletadas com rede de plâncton (20µm) no período de chuvas e estiagens entre 2000 e 2002, na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves (06°08' S; 37° 07'W). As amostras foram fixadas com formol 4% e lugol-acético. Identificamos 20 táxons, distribuídos em 12 gêneros e representados por 12 espécies. Quatro deles não são típicos de suas respectivas espécies (cf.) e quatro foram identificados em nível de gênero. Nostocales e Chroococcales foram as ordens melhor representadas, com 10 e oito táxons respectivamente, seguida da ordem Oscillatoriales com 3 táxons. Os táxons estão distribuídos nas seguintes famílias: Nostocaceae (5gêneros/10espécies), *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A.circinalis*, *A. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterrânea*; Merismopediaceae (3gêneros-3espécies), *Coelomoron tropicalis*, *Snowella* cf. *lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*; Microcistaceae (1gênero-4espécies), *Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*; Pseudanabaenaceae (1gêneros/1espécie), *Geitlerinema unigranulatum*; *Oscillatoriaceae* (1gêneros/1espécie), *Lyngbya* sp; Phormidiaceae (1gênero/1espécie), *Plankthothrix agardhii*. As espécies de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis panniformis*, *M. protocystis*, e *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii* tiveram maior ocorrência e formaram florações mistas durante o estudo. Sete espécies identificadas são potencialmente tóxicas e isto aponta um risco permanente da ocorrência de cianotoxinas em águas de abastecimento e a necessidade urgente de monitoramento regular visando a melhoria da qualidade da água e, conseqüentemente, da saúde pública.

Palavras chave: cianobactérias, fitoplâncton, semi-árido, reservatório

**ABSTRACT** – (**Planktonic cyanobacteria in a eutrophic reservoir at the Brazilian semi-arid region**). This report aims to contribute to the knowledge of cyanobacteria diversity in eutrophic environments located at the Brazilian semi-arid region. Samples from the Armando Ribeiro Gonçalves reservoir (06°08'S; 37° 07'W) were collected during the rainy and dry seasons between years 2000 and 2002 by vertical towing with a 20 µm mesh size net. Different vertical profiles were pooled, giving a total of 36 samples. Samples for qualitative and quantitative analyses were fixed in 4% formaldehyde and Lugol's solution, respectively. We identified 20 taxa, distributed in 12 genera and 12 species. Four identified taxa are not typical for their respective and Chroococcales were the most abundant orders, with 10 and 8 taxa, respectively, followed by Oscillatoriales with 3 taxa. The taxa were distributed in 3 families. Family Nostocaceae, with 5 genera and 10 species: *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A .circinalis*, *A. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterranea*. Family Merismopediaceae, with 3 genera and 3 species: *Coelomoron tropicalis*, *Snowella* cf. *lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*. Family Microcistaceae, with 1 genus and 4 species: *Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*. Family Pseudanabaenaceae, with 1 genus and 1 species: *Geitlerinema unigranulatum*. Family *Oscillatoriaceae*, with 1 genus and 1 species: *Lyngbya* sp. Family Phormidiaceae, with 1 genus and 1 species: *Plankthothrix agardhii*. The species *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis panniformis*, *M. protocystis*, *Aphanizomenon gracile* and *Aphanizomenon* cf. *manguinii* were the most frequent cyanobacteria and were shown to form mixed blooms during the surveys. Out of 7 identified species are potentially toxic, which implies in a permanent risk for the occurrence of cyanotoxins in water supply for general public use. A regular monitoring programme aiming to protect human health is recommended.

Key words: cyanobacteria, phytoplankton, semi-arid, reservoir

## Introdução

As cianobactérias representam o maior grupo do fitoplâncton de água doce capaz de produzir florações. O aumento na incidência de florações acontece como decorrência da eutrofização e de mudanças climáticas. Florações tóxicas de cianobactérias em água doce é um grave problema ambiental, econômico e social, principalmente em regiões com déficit hídrico, como é o caso da região nordeste. As cianotoxinas são responsáveis por causa letal, aguda e crônica de envenenamento em animais selvagens, domésticos, aquáticos e em humanos. Os trabalhos recentes redobram a atenção sobre o impacto que estes organismos causam nas águas recreacionais e potáveis (Carmichael 2001; Falconer 2001; Chorus & Bartran 1999). Cerca de 40 espécies de cianobactérias são potencialmente tóxicas, sendo distribuídas entre os gêneros *Anabaena*, *Oscillatoria/Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Raphidiopsis*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis* (Carmichael 2001).

No Brasil, a maioria dos trabalhos sobre cianobactérias abordam aspectos ecotoxicológicos, e muito pouco sobre a taxonomia e a distribuição geográfica tem sido feito, embora já existam numerosas investigações sobre a diversidade do grupo em países tropicais. Muitos trabalhos citam apenas a lista dos gêneros e, às vezes espécies, incluídas numa listagem geral de algas. Grande parte dos trabalhos que versam sobre a taxonomia de cianobactérias no país foram feitos na região sudeste, sul e centro-oeste e nas demais regiões a flora é praticamente desconhecida. Merecem destaque os trabalhos desenvolvidos por Bicudo (1965), que foi o marco inicial, Senna (1992a 1992b 1994, 1996, 1998), Senna & Komárek (1998), Senna *et al.* (1998), Sant' Anna & Azevedo (2000), Azevedo & Sant'Anna (1993, 1994a, b, 1999) Domingos *et al.* (1994); Komárek & Azevedo (2000); Azevedo *et al.* (1999); Torgan *et al.* (1981) e Werner & Sant' Ana (1998, 2000). Destacam-

se ainda os trabalhos de Magrin *et al.* (1997) e Branco & Necchi (1999) realizados na região norte do país e o trabalho de Nogueira & Ferreira-Correia (2001) referindo-se às cianofíceas do Maranhão na região nordeste.

No Rio Grande do Norte, estudos realizados sobre cianobactérias há mais de uma década deram importante contribuição, mas abordam somente aspectos ecológicos e listagem de espécies (Chellappa 1990; Chellappa *et al.* 1996, 1998, 2000). Portanto, o presente trabalho constitui o primeiro levantamento de natureza florística de cianobactérias em nível específico realizado no Estado. Estas investigações são importantes para subsidiar estudos de interesse social, econômico e de saúde pública.

A finalidade deste trabalho é fazer o levantamento taxonômico das cianobactérias na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, contribuir e ampliar o conhecimento sobre a distribuição destes organismos em ambientes eutrofizados, especificamente no nordeste brasileiro.

## **Material e Métodos**

A Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves (06°08'S ; 37° 07' W) está situada no Estado do Rio Grande do Norte, na região nordeste do Brasil. É o maior reservatório do nordeste construído em rio intermitente, representando 68% do total de água de superfície no Estado e possui 2.400 (10<sup>6</sup> m<sup>3</sup>). Destina-se ao abastecimento de 400 mil habitantes, pesca, piscicultura, lazer e irrigação de fruticulturas, a qual representa importante atividade econômica da região. Todavia, o carreamento de agrofertilizantes, associado a longos períodos de estiagem e elevado tempo de residência da água (3 anos) tornou o ambiente vulnerável à eutrofização e conseqüente dominância de cianobactérias (Costa 1996, 1999 Costa *et al.* 1998). O clima regional é classificado como Tropical Semi-

Árido, com intensas estiagens, grande déficit hídrico (617 mm/ano), temperaturas elevadas (> 28°C) e altas taxas de evaporação. As chuvas são concentradas de fevereiro a maio com distribuição muito irregular.

As cianobactérias foram coletadas em amostras integradas ao longo da coluna da água com rede de plâncton (20µm de abertura de malha) e preservadas com formol (4 %) e lugol acético. Material vivo também foi examinado. Um total de 36 amostras foram coletadas em épocas de chuvas e de estiagem durante 2000 e 2002. No primeiro ano, 24 amostras foram coletadas a cada 4 dias, entre abril-maio e novembro-dezembro, para acompanhar o desenvolvimento de florações. No segundo ano, 8 amostras foram coletadas mensalmente, e no último, 4 amostras foram coletadas entre março e setembro. As populações foram identificadas, sempre que possível em nível infragenérico, investigando caracteres morfológicos e métricos em maior número possível de indivíduos na população. A presença de mucilagem foi investigada usando tinta nanquim. O sistema de classificação adotado foi o de Komárek & Anagnostidis (1986,1995, 1998) para a Chroococcales, Anagnostidis & Komárek (1988) para as Oscillatoriales e Komárek & Anagnostidis (1989) para as Nostocales. A identificação dos espécimes baseou-se na literatura especializada para a taxonomia de cianobactérias e, sempre que possível, foram comparadas com suas descrições originais. Trabalhos recentes de Komárek (2000), Komárek *et al.* (2001, 2002), Anagnostidis (2001), Komárek & L'ubomír (1989), Hindák (2000), Komárek & Azevedo (2000), Sant'Anna & Azevedo (2000), (Komárek & Komárkova (2002a 2002b), também foram utilizados nas comparações.



## Resultados

### Ordem Chroococcales

#### Família Merismopediaceae

#### Subfamília Gomphosphaeroideae

##### *Coelomoron tropicalis* Senna, Peres e Komárek 1998 (Figuras 1-3)

Colônias esféricas alongadas, irregulares, pequenas, células arranjadas radialmente com direção a periferia, (7,6) 9,2-12,2 (13,7)  $\mu\text{m}$  de diâmetro; mucilagem difluente, sem presença de talo ligando as células na colônia; células largamente ovaladas, arredondadas, medindo (1,5) 1,8-2,6 (3,5)  $\mu\text{m}$  de diâmetro; conteúdo celular verde-azulado, sem aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de reservatórios

##### *Snowella cf. lacustris* (Chodat) Komárek & Hindák 1988 [=Gomphosphaeria lacustris Chodat] (Figuras 4-6)

Colônias arredondadas, (15) 21-32 (55) x 17-21(43)  $\mu\text{m}$  de diâmetro, média de 30 células na colônia; células distantes umas das outras, (2) 2,5 - 3,6 (3,9)  $\mu\text{m}$  de comprimento, 2-2,5  $\mu\text{m}$  de largura, dispostas radialmente para a periferia da colônia; conteúdo celular azul esverdeado, com um aerótopo.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Lagos, tanques, reservatórios, lagoas de estabilização.

***Sphaerocavum brasiliense*** Azevedo & Sant'Anna 2003 (Figura 7-12)

Colônias ocas, esféricas, irregulares, 35-67 µm de diâmetro; mucilagem fina, estreita, indistinta; células arredondadas, dispostas na periferia da colônia; 3-4 µm de diâmetro; conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de tanques eutróficos, reservatórios e lagos.

**Familia Microcystaceae**

***Microcystis panniformis*** Komárek 2002 (Figuras 13-16)

Colônias micro ou macroscópicas, arredondadas, irregulares, alongadas, não clatradas, 51- 443 µm de comprimento, 31-292 µm de largura; mucilagem hialina, inconspícua; células esféricas, densamente arranjadas na colônia, contorno firme ao redor da colônia, (2,7) 3 - 4 (4,6) µm de diâmetro; conteúdo celular verde-amarronzado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de tanques eutróficos, lagos, reservatórios.

***Microcystis novacekii*** (Komárek.) Compère 1974. (Figuras 17-18)

Colônias microscópicas, arredondadas, alongadas, não clatradas; mucilagem larga, hialina; células densamente agrupadas no centro e espalhadas na periferia da colônia, indo 3,4 – 4,5 (6) µm de diâmetro; conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de tanques, lagos, reservatórios.

***Microcystis protocystis*** Crow, 1923 (Figuras 19-23)

Colônias microscópicas, irregulares, (62)107 - 266 µm de diâmetro, com células espaçadas irregularmente na mucilagem, não clatradas; mucilagem difluente, hialina; células esféricas, com envelope de mucilagem individual, (2,5) 3 - 6 (7,6) µm de diâmetro; conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de tanques eutróficos, lagos, reservatórios

***Microcystis sp*** (Figuras 24-26)

Colônias formadas por grupos irregulares de células, aspecto filamentosos ramificado; células esféricas dispostas em fileiras, 4-5 µm de diâmetro; mucilagem ampla; conteúdo celular verde-amarronzado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios

**Ordem Oscillatoriales**

**Família Pseudanabaenaceae**

**Subfamília Pseudanabaenoideae**

***Geitlerinema unigranulatum*** (Komárek & Azevedo (2000) (figuras 27-29)

Tricomas solitários, retos ou flexuosos, não constrictos, 50 - 70 (200) µm de comprimento, 1,6-2 µm de diâmetro; células 2-5 vezes mais longas que largas, (3) 4-7 (10) µm de comprimento; conteúdo celular verde-azulado; septos indistintos, granulosos (1 grânulo); células apicais cilíndrico-arredondadas.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos, tanques e reservatórios.

## **Família Oscillatoriaceae**

### **Subfamília Oscillatoroideae**

#### ***Lyngbya* sp (Figuras 30-31)**

Filamentos solitários, retos, 45 µm de diâmetro; tricomas não constrictos, 34 µm de diâmetro; células 4,2-6,8 mais largas que longas, 5-8 µm de comprimento; conteúdo celular verde-azulado.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Ambientes de água doce e salobra, lagos, reservatórios e rios.

## **Família Phormidiaceae**

### **Subfamília Phormidioideae**

#### ***Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek & 1988**

[= *Oscillatoria agardhii* Gomont] (Figuras 32-35)

Tricomas solitários, estreitos, não constrictos; células isodiamétricas ou mais curtas que largas, 2-3 µm de comprimento, 4-5 µm de largura; célula apical capitada ou não; parede celular não granulada; conteúdo celular verde-azulado; com numerosos aerótopos; motilidade presente.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos, reservatórios e rios.

## Ordem Nostocales

### Família Nostocaceae

#### Subfamília Anabaenoideae

*Anabaena circinalis* Rabenhorst ex Bornet et Flahault 1888 (Figuras 36-37)

Tricomas solitários ou emaranhados, espiralados, sem envelope mucilaginoso ou muito estreito; espiras regulares ou não, 50-70 µm de diâmetro, 20-30µm de distância umas das outras, relação diâmetro/distância das espiras 2-2,5:1; células em forma de barril até esféricas, 6,6-8,2 (9,9) µm de diâmetro; células apicais arredondadas; heterocitos esféricos, 9-10 µm de diâmetros; acinetos arredondados, 9-10 µm de diâmetro, 14-16 µm de comprimento; conteúdo celular verde-azulado granuloso, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos, tanques, reservatórios e rios.

*Anabaena cf. viguieri* Denis & Frémy 1923 (Figuras 38-39)

Tricomas retos, solitários, não atenuados, sem envelope mucilaginoso; células esférico-arredondadas ou em forma de barril, 4,6 - 5,7 (6,1) µm de diâmetro, 4,4 - 4,9 (7,6) µm de comprimento; células apicais arredondadas; heterocitos esféricos-arredondados, 6,1-7 µm de diâmetro; acinetos não observados; conteúdo celular verde-azulado, granuloso, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

***Anabaena sp*** (Figuras 40-41)

Tricomas muito longos, espiralados, emaranhados; envelope mucilaginoso, 10-37 µm de largura; células arredondadas, 1,5-2 µm de diâmetro; heterocitos esférico-arredondados, numerosos, metaméricos, distantes uns dos outros, 3-4 µm de diâmetro; células apicais arredondadas; acinetos não observados; conteúdo celular verde-azulado, granuloso, sem aerótopos;.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

***Anabaena sp<sub>1</sub>*** (Figuras 42-44)

Tricomas retos, solitários; isopolares; células arredondadas ou forma de barril, (2) 2,5-3 (4) µm de diâmetro, 3-4 (5) µm de comprimento; heterocitos esférico-arredondados, metaméricos, 6-7,5 µm de largura, 5-6 µm de comprimento; células apicais cônico-cilíndricas, 2 µm de comprimento, 1,5 µm de diâmetro de largura; acinetos não observados; conteúdo celular verde-azulado, granuloso, sem aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

***Aphanizomenon cf. manguinii*** (Bourr) Bourrelly & Manguin 1952 (Figuras 45-46)

Tricomas retos, solitários, ligeiramente constrictos, extremidades, 3,5-5 µm de diâmetro; células cilíndricas ou em forma de barril, (4) 5-6 µm de comprimento; célula apical cilíndrica ou arredondada; heterocitos solitários, intercalares, 1-2 por filamento, 5-7 µm de comprimento, 3-4 µm de diâmetro; não foram observados acinetos; conteúdo celular verde-azulado, granuloso, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

*Aphanizomenon gracile* Lemmermann 1907 (Figuras 48-50)

Tricomas retos, solitários, constrictos, gradualmente atenuado nas extremidades, 2-3  $\mu\text{m}$  de diâmetro; células cilíndricas-arredondadas, (4) 5-6  $\mu\text{m}$  de comprimento; células apicais levemente capitadas, 1-2  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 5-6  $\mu\text{m}$  de comprimento; heterocitos solitários, intercalares, forma de barril-elíptico, 6-7  $\mu\text{m}$  de comprimento, 4-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro; acinetos cilíndricos, solitários ou aos pares, contíguos ou distantes dos heterocitos, 4-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 10  $\mu\text{m}$  de comprimento; conteúdo celular verde-azulado, granuloso.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

*Aphanizomenon cf. issatschenkoi* (Ussaczew) Proschkina-Lavrenko (Figura 47)

Tricomas retos, solitários, constrictos, bruscamente atenuados nas extremidades, 3  $\mu\text{m}$  de diâmetro; células cilíndricas 5-6 (7)  $\mu\text{m}$  de comprimento; células apicais pontiagudas, não pigmentadas, hialinas, 1-2  $\mu\text{m}$  de diâmetros, 15-30  $\mu\text{m}$  de comprimento; 1-2  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 5-6  $\mu\text{m}$  de comprimento; heterocitos cilíndrico-elípticos, 3,5-4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 5-6  $\mu\text{m}$  de comprimento; acinetos cilíndrico-elípticos, aos pares, separados dos heterocitos por 2 células, 5-6  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 10  $\mu\text{m}$  de comprimento; conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos e reservatórios.

***Cylindrospermum* sp** (Figuras 51-52)

Tricomas flexuosos, levemente curvos ou torcidos, constrictos, solitários ou emaranhados, 3-3,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro; células quadráticas, cilíndricas, 4-6 (7)  $\mu\text{m}$  de comprimento; conteúdo celular verde-azulado; granuloso, sem aerótopos; heterocitos oblongos, 4-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 10 $\mu\text{m}$  de comprimento; acineto contíguo ao heterocito, 6 $\mu\text{m}$  de diâmetro, 12,5-17,7  $\mu\text{m}$  de comprimento, conteúdo celular verde-acastanhado.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Lagos, reservatórios e rios.

***Cylindrospermopsis raciborskii*** (Woloszynsk) Seenayya et Subba Raju

1972 (Figuras 53-57).

Tricomas retos ou ligeiramente curvados, solitários, estreitos, não ou levemente constrictos, (90) 100-160  $\mu\text{m}$  de comprimento, sem envelope mucilaginoso, (1,2) 1,9-3,1 (3,3)  $\mu\text{m}$  de diâmetro; células 1-2,3 vezes mais longas que largas, (3,7) 4,3-7(10)  $\mu\text{m}$  de comprimento; células apicais cônicas-arredondadas, cilíndricas-arredondadas, pontiagudas; conteúdo celular verde-azulado, numerosos aerótopos; heterocitos terminais, solitários, cônico-alongados, arredondados nas extremidades, 7-9  $\mu\text{m}$  de comprimento, 2,5-3  $\mu\text{m}$  de largura; acinetos cilíndricos, arredondados nas extremidades, intercalares, distantes 2-3 células das extremidades, 4-4,3  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 10-11  $\mu\text{m}$  de comprimento.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos, reservatórios e rios.



***Raphidiopsis mediterranea*** Skuja 1937 (Figura 58)

Tricomas retos ou curvos, solitários, não constrictos, atenuados, ápices acuminados, 2,5-3,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, 1  $\mu\text{m}$  diâmetro nos ápices; células cilíndricas, (6)7-11(12)  $\mu\text{m}$  de comprimento; célula apical pontiaguda, reta, não pigmentada e hialina, 11-15  $\mu\text{m}$  de comprimento, 1,2-2  $\mu\text{m}$  de largura; sem heterocito; não apresentou acineto; conteúdo celular verde-azulado, com numerosos aerótopos.

OCORRÊNCIA NO BRASIL: Plâncton de lagos, tanques, reservatórios e rios.

## Discussão

Baseados nas amostras planctônicas coletadas na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, identificamos 20 táxons de cianobactérias, distribuídos em 12 gêneros e representados por 12 espécies. Quatro táxons não apresentaram as características típicas de suas respectivas espécies e por esse fato foram denominadas cf. da espécie. Outros quatro, foram identificados em nível de gênero.

Nostocales e Chroococcales foram as ordens melhor representadas, com 10 e oito táxons respectivamente, seguida da ordem Oscillatoriales com 3. Da ordem Nostocales, identificamos cinco gêneros da família Nostocaceae representados pelas seguintes espécies: *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A.circinalis*, *A.cf. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon cf. manguini*, *Aphanizomenon cf. issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterranea*. Para a ordem Chroococcales, registramos três gêneros e três espécies da família Merismopediaceae (*Coelomoron tropicalis*, *Snowella cf. lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*), um gênero e quatro espécies da família Microcistaceae (*Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*). Da ordem Oscillatoriales registramos as famílias Pseudanabaenaceae, Oscillatoriaceae e Phormidiaceae representadas apenas por uma espécie de cada, *Geitlerinema unigranulatum*, *Lyngbya* sp e *Planktothrix agardhii* respectivamente.

Dentre as 12 espécies identificadas, 7 são consideradas como potencialmente tóxicas: *Microcystis panniformis*, *Snowella lacustris*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Raphidiopsis mediterranea*, *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon gracile* e *Planktothrix agardhii* (Sant'Anna & Azevedo 2000). Apesar de não existir ainda a

confirmação da toxicidade das outras espécies de cianobactérias identificadas neste estudo, sua ocorrência associadas às espécies potencialmente tóxicas por prolongados períodos, três anos deste estudo, deve ser considerada.

As espécies de maior ocorrência encontradas neste estudo foram *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon gracile*, *Planktothrix agardhii*, *Microcystis panniformis* e *Sphaerocavun brasiliense*. Florações tóxicas e mistas foram evidenciadas durante o ciclo anual de 2000, compostas predominantemente pelas espécies *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* sp, *M. panniformis*, *M. protocystis*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, associadas às outras espécies de cianobactérias e poucas espécies de Diatomáceas (*Aulacoseira granulata*, *Nitzschia* sp). Nos anos seguintes (2001-2002), associações dessas espécies em elevadas densidades continuaram ocorrendo, além da ocorrência de uma floração de *Anabaena circinalis* em setembro de 2002.

Na recente revisão de Sant' Anna & Azevedo (2000), sobre cianobactérias potencialmente tóxicas em diferentes regiões do Brasil, foram descritas 20 espécies, seguidas de 14 gêneros. *Microcystis aeruginosa* foi a espécie mais largamente distribuída, *Anabaena* foi o gênero com maior número de espécies tóxicas e *Cylindrospermopsis* foi a espécie mais invasiva e comum em florescimentos nas regiões tropicais e subtropicais do país. Pesquisas recentes mostram que 25% a 70% dos florescimentos de cianobactérias são tóxicos em todo o mundo (Carmichael 2001). No Brasil, aproximadamente 75% das cepas isoladas apresentam toxicidade em camundongos (Costa & Azevedo 1994). *Microcystis* é responsável por mais de 65 % dos relatos de intoxicação por cianobactérias (Zagatto *et al.* 1997).

Neste estudo, todas as espécies foram encontradas em condições eutróficas e as condições hidrológicas do reservatório foram: pH alcalino (8-9), baixa transparência (0,8-1,5m), temperatura entre 27°C e 29°C, nitrato ( $64,4\mu\text{g L}^{-1}$ ), amônia ( $185,4\mu\text{g L}^{-1}$ ), nitrogênio total ( $1150,9\mu\text{g L}^{-1}$ ), fósforo total dissolvido ( $23,508\mu\text{g L}^{-1}$ ), fósforo total ( $41,5\mu\text{g L}^{-1}$ ) fósforo solúvel reativo ( $15,123\mu\text{g L}^{-1}$ ). As cianobactérias representaram 90-100 % da biomassa total do fitoplâncton. Também foi detectada a presença de microcistinas e saxitoxinas em florações de cianobactérias, analisadas em amostras de séston por técnica de HPLC (Costa *et al.*/dados não publicados).

*Coelomorom* é um gênero documentado principalmente no metafiton de regiões temperadas e tropicais (Komárek 1989). Dentre as seis espécies conhecidas *Coelomorom tropicalis* (Senna, Peres e Komárek 1998) foi descrita a partir de material tropical brasileiro. Segundo Senna *et al.* (1998), o gênero *Coelomorom* é muito diversificado nas regiões tropicais e sub-tropicais. De acordo com Célia Leite Sant`Anna (comunicação pessoal/dados não publicados), no Estado de São Paulo o gênero tem sido encontrado em diversas localidades. Formas planctônicas com colônias maiores do que as *Coelomorom tropicalis* são freqüentemente encontradas em amostras planctônicas e sobre plantas submersas em tanques rasos.

O gênero *Snowella* abrange sete espécies e possui características muito semelhantes ao gênero *Gomphosphaeria*, diferenciando-se pelas hastes de mucilagem presentes no interior de suas colônias. Em *Snowella*, as hastes são tênues, enquanto que em *Gomphosphaeria* são usualmente mais espessas, principalmente nas extremidades, envolvendo cada célula. Por sua vez, ambas diferem de *Coelomorom* e *Coelosphaerium* pela ausência de fios de mucilagem (Komárek & Hindák (1988). A população de *Snowella* encontrada neste estudo foi muito similar a *Snowella lacustris* e *Snowella fennica*

propostas por Komárek & Hindák (1988). Nosso material apresentou colônias com formas similares a *S. fennica*, porém com medidas bem inferiores, além da não ocorrência dessa espécie em regiões tropicais. As medidas do nosso material foram compatíveis com *S. lacustris*, apesar de não ter sido nitidamente visualizado o sistema de hastes mucilaginosa característico. Por este motivo os organismos foram denominados *Snowella cf. lacustris*.

*Sphaerocavum* é um gênero tropical e tem ocorrido em águas eutróficas associadas com florescimentos de *Microcystis*. *Sphaerocavum brasilienses* foi proposto por Azevedo & Sant`Anna (2003) e é uma espécie bastante parecida com espécies de *Microcystis* mas diferem quanto ao plano de divisão. *Sphaerocavum* possui 2 planos de divisão, formam colônias ocas e está inserida na família Merismopediaceae. Enquanto que *Microcystis*, possui 3 planos de divisão, forma colônias achatadas e está inserida na família Microcistaceae (Azevedo & Sant`Anna 2003). Neste estudo registramos grande variação de tamanho das colônias e diferentes aspectos de apresentação e constante associação aos florescimentos de *Microcystis*. Algumas colônias apresentavam-se intactas e outras totalmente desintegradas dificultando bastante a identificação. Colônias intactas de *Sphaerocavum* são confundidas com *Coelosphaerium*, diferindo por possuir aerótopos. Quando desintegradas, eram confundidas com fases senescentes de colônias de *Microcystis* spp.

A identificação das espécies do gênero *Microcystis* foi muito dificultada devido ao aspecto das colônias que se apresentavam fragmentadas por ocasião de florescimentos, confundindo assim as diferenças diacríticas das espécies. No entanto, foi realizada uma minuciosa análise seguindo-se as recomendações de Komárek & Anagnostides (1998), Komárek & Komárkova (2002) e Komárek *et al.* (2002) Komárek

*et al.* (2001). Tais autores relatam que a taxonomia do gênero *Microcystis* é realmente muito problemática devido a existência de grande variabilidade morfológica e para isso os ciclos de vida das espécies devem ser investigados. Devido as espécies do gênero formarem densas florações tóxicas é importante fazer uma boa identificação da sua diversidade.

A população de *M. panniformis* apresentou vários estágios de desenvolvimento, compatíveis com aqueles referenciados por Komárek *et al.* (2002). Colônias velhas geralmente são registradas como *M. aeruginosa* e colônias jovens como *M. flos-aquae* ou *M. lamelliformis*. Por sua vez *M. protocystis* difere de *M. panniformis* pela presença de envelope individual ao redor de cada célula e pela forma de distribuição das células na colônia. Em *M. protocystis* as células são esparsamente distribuídas em ampla mucilagem, em quanto que *M. paniformis* as células são densamente organizadas na mucilagem, que vai somente até a margem das células. Possivelmente devido as dificuldades taxonômicas, *M. paniformis* e *M. protocystis* não são largamente referidas na literatura. Apesar desse fato, já existem vários registros nos reservatórios brasileiros Komárek *et al.* (2002). Associada aos florescimentos de *M. paniformis*, registramos a ocorrência de *Microcystis* sp, que difere das demais pelo arranjo muito irregular e ramificado da colônia, formando grupos irregulares de células sempre maiores que 4 µm de diâmetro.

A identificação das espécies de *Anabaena* e *Aphanizomenon* foi dificultada devido à escassa literatura de revisão desses gêneros impossibilitando as comparações entre simetria. De acordo com Komárek & Kovácik (1989) e Komárek & Anagnostidis (1989) a simetria dos tricomas parece constituir-se do melhor critério de classificação intergenérico. Assim, definimos o gênero *Anabaena* por apresentar tricomas metaméricos e o gênero *Aphanizomenon* subsimétricos. Além disso, os espécimes estudados não

desenvolveram acinetos e por essa razão duas espécies de *Anabaena* foram identificadas até gênero. A grande disponibilidade de fósforo e nitrogênio em ambientes eutróficos, como é o caso da B. Armando Ribeiro Gonçalves, podem inibir a formação de acinetos e heterocitos (Kormárkova 1998). Apesar de não ter sido visualizado acineto entre alguns dos espécimes estudados, a identificação de *Anabaena viguieri*, foi feita concordando com as demais características citadas por Denis & Frémy (1923). Por esse fato a espécie foi citada como *Anabaena cf. viguieri*.

As espécies do gênero *Aphanizomenon* encontradas neste estudo apresentaram tricomas retos e solitários, diferentemente de outras espécies que crescem formando feixes em regiões temperadas (Komárek et. al. 2001). As características morfológicas e métricas dos espécimes estudados de *Aphanizomenon issatschenkoi* foram semelhantes ao de *A. tropicale*. Segundo Komárek & Kovácik (1989) a presença de acineto cilíndrico distante ou próximo do heterocito é característica de várias espécies de *Aphanizomenon*, dentre elas *A. Issatschenkoi* e *A. tropicale*. Nossos espécimes foram identificados como *Aphanizomenon cf. issatschenkoi* por apresentarem acinetos cilíndricos distantes (3-5 células) do heterocito, diferentemente de *A. tropicale* que desenvolvem heterocitos entre dois acinetos cilíndricos, concordando com as características apresentadas por Komárek (2000) e Komárek & Kovácik (1989). Também não foram observados acinetos em *Aphanizomenon manguinii* e por esta razão foi descrita como *Aphanizomenon cf. manguinii*. Os espécimes estudados apresentaram células terminais, cônico-obtusas com conteúdo celular semelhante às demais células vegetativas comparando com as características apresentadas por Komárek et al. (2001) nos espécimes encontrados em florescimentos no reservatório Tabocas, situado no semi-árido de Pernambuco.

A população de *Cylindrospermopsis raciborskii* apresentou variações morfológicas semelhantes às registradas no reservatório Paranoá por Branco & Senna (1991). Encontramos morfotipos muitas vezes parecidos com filamentos de *Aphanizomenon* e *Raphidiopsis*. Tricomas sem heterocitos ou acinetos apresentavam as extremidades atenuadas, pontiagudas e cilíndricas, sendo facilmente confundidos com estas espécies. Menos que 10% da população desenvolveu heterocito por poucos períodos e a formação de acineto foi registrada apenas numa ocasião em menos de 3 % da população. *Cylindrospermopsis raciborskii* apresentou constante associação com *Planktothrix agardhii*.

A grande diversidade e ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas registrada neste estudo alerta para o risco de cianotoxinas em águas de abastecimento do Estado do Rio Grande do Norte e a necessidade urgente de monitoramento regular no sentido de orientar as medidas de prevenção e controle das causas da eutrofização.

Nossos resultados forneceram subsídios para o desenvolvimento de outras pesquisas relacionadas com ecotoxicologia de cianobactérias na Universidade Federal do Rio Grande do Norte e para implementação de programas de monitoramento nos sistemas de abastecimento público de água do Estado, contribuindo sobremaneira para a melhoria da qualidade da água e, conseqüentemente, da saúde pública.



## Agradecimentos

Agradecemos imensamente a Dra. Tereza Azevedo do Instituto de Botânica/SP e ao Dr. Jiri Komárek of Biological Sciences, University of South Bohemia Czeck Republic, por suas contribuições para identificação das cianobactérias. Também aos colegas da CAERN-RN pela coleta de algumas amostras e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Dedicamos este trabalho ao Prof. Dr. Pedro Américo Cabral de Senna<sup>†</sup> (*in memoriam*) por seu comprometimento profissional e empenho prestado a este trabalho.

## Referências Bibliográficas

ANAGNOSTIDIS, k; KOMÁREK, J. 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes 3 – Oscillatoriales. Arch. Hydrobiol./suppl. 80: 1-4, **Algol. Studies**, 50-53: 327-472. Stuttgart.

AZEVEDO, M. T. P. ; SANT'ANNA, C. L. 1993. New taxa of Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, **Brazil. Crypt. Bot.**, 3: 207-212. Stuttgart.

AZEVEDO, M. T. P. ; SANT'ANNA, C. L. 1994a. Cyanostylon gelatinosus, a new species ( Chroococcaceae, Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. **Algol. Studies**, 75: 75-78. Stuttgart.

AZEVEDO, M. T. P. ; SANT'ANNA, C. L. 1994b. Hormothece geitleriana: A new edaphic chroococcal Cyanophyceae from São Paulo State, Brazil. **Algol. Studies**, 75: 79-83. Stuttgart.

AZEVEDO, M. T. P. ; SANT'ANNA, C. L. 1999. *Coelosphaerium evidenter-marginatum*, a new planktonic species of Cyanophyceae/Cyanobacteria from São Paulo State. **Algol. Studies**, 94: 35-43. Stuttgart.

AZEVEDO, M. T. P. ; SANT'ANNA, C. L. 2003. *Sphaerocavum brasiliensis*, a new planktic genus and species of cyanobacteria from reservoirs of São paulo State, Brazil. **Algol. Studies**: (no prelo)

AZEVEDO, M. T. P. ; SOUZA, C. A. ; MENEZES, 1999. M. Synechococcaceae (Cyanophyceae/Cyanobacteria) from a tropical brackish water lagoon, Brazil. **Algol. Studies**, 94: 45-61. Stuttgart.

AZEVEDO, S. M. F. O. 1998. Toxinas de cianobactérias: Causas e conseqüências para a saúde pública. **Medicina on line**, (1):3:1-19.

BICUDO, C. E. M. 1965. The genus *borzia* Cohn ex Gom. In S. Paulo, Brazil. **Rickia**, 2: 147-152. São Paulo.

BORNET, E.; FLAHAULT, C. 1886-1888. Révision des Nostocacées hétérocystées, contenues dans les principaux herbiers de France. **Ann. Sci. nat. Bot.**, 1(3): 323-381; (4): 343-373; (5): 51-129; (7): 177-262. Paris.

BRANCO, C. W. C.; SENNA, P. A. C. 1991. The taxonomic elucidation of Paranoá Lake (Brasilia, Brazil) problem: *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Bull. Jard. Bot. Natl.** 61: 85-96. Belgique, Bruxelles.

BRANCO, L. H. Z. & NECCHI, O. Jr. 1999. New occurrence of the rare genus *Doliocatella* (Stigonematales, Cyanophyceae). **Nova Hedwigia**, 68 (3-4): 393-397. Stuttgart.

CARMICHAEL, W. W. 2001. Health effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: “The CyanoHABs”. **Human and Ecological Risk Assessment**, 7(5): 1393-1407.

CHELLAPPA, N. T. Phytoplankton species composition, chlorophyll biomass, and primary productivity of Jundiaí reservoir, northeast Brazil before and after eutrophication. **Acta Hydrobiologia**. 32, 75-91, 1990.

CHELLAPPA, N. T. et al. 1996. Studies on the microalgae of Rio grande de Norte: A comparison of the phytoplankton assemblages of an oligotrophic and eutrophic lakes, Brazil. **Beih. Nova Hedwigia** (Stuttgart) 65, 513-524.

CHELLAPPA, N. T et al. 1998. Physiological Ecology of Cyanophycean Population from impounded Freshwater aquatic ecosystems (Barragem Gargalheiras) of Rio Grande do Norte state. In: **IV Simpósio de Ecossistemas brasileiros, 2-7 de Abril de 1998; Anais...** Águas de Lindóia, SP, Brasil, (2): 372-380.

CHELLAPPA, N.T.; COSTA, M.A.M. and MARINHO, I.R. 2000. Harmful cyanobacterial blooms from semiarid freshwater ecosystems of North-East Brazil. **Australia. Aust. Soc. Limnol.** (Newsletter). 38: 2, 45-49.

CHORUS, I. & BARTRAN, J. (eds.) 1999. **Toxic Cyanobacteria: A guide to public Health Consequences, Monitoring and Management**. E & FN Spon, London, 416 p.

COSTA, S. M. & AZEVEDO, S.M.F.O.1994. Implantação de um banco de culturas de cianofíceas tóxicas. **Iheringia**, (45):69:64-74.

COSTA, I. A. S. **Estudos das microalgas em relação a diversidade, dominância, biomassa de clorofila e produtividade primária na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. 62p. Monografia. (Especialização em bioecologia aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 1996.

COSTA, I. A. S. **Ecologia Dinâmica da Comunidade Fitoplamctônica da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. 158p. Dissertação ( Mestrado em Ecologia Aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 1999.

COSTA I.A. S.; CHELLAPPA, N. T.; ARAÚJO M. F. F. Estudo do Fitoplâncton da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN. **Acta Limnologica Brasiliensis**, 10(1): 67-80. 1998.

DENIS, M. & FRÉMY, P. 1923. Une nouvelle Cyanophyceae heterocystée: *Anabaena viguieri*. **Bull. Soc. Linn.** Normandie, 7 (7).

FALCONER, I. 2001. Toxic Cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. **Phycology**, 40:228-233.

DOMINGOS, P. et al. 1999. First report of microcystin producing by picoplanktonic isolated from a Northeast Brazilian drinking water supply. – **Environ. Toxicol.** 14:31-35.

KOMÁREK, J. & AZEVEDO, M. T. de P. 2000. *Geitlerinema unigranulatum*, a common tropical cyanoprokaryote from fresh water reservoirs in Brasil. **Algol. Studies**, 99: 39-52. Stuttgart.

KOMÁREK, J. 1989. Studies on the cyanophytes of Cuba 4-6. Folia Geobot. **Phytotax.**, 24:57-97. Prague.

KOMÁREK, J. 2000. Problems in cyanobacterial taxonomy; implication for most common toxin producing species. Rapporti ISTISAN, 2-9. **Lê fioriture di alhe tossiche nelle acque dolci: emergenza sanitária e misure di controllo. Istituto Superiore di Sanità.** Roma, 17 ottobre 2000. (Workshop).

KOMÁREK, J. & HINDÁK, F. 1988. Taxonomic review of natural populations of cyanophytes from *Gomphosphaeria*-complex. **Arch. Hydrobiol/Suppl.**, 80 (1-4), **Algol. Studies**, 50-53: 203-225. Stuttgart.

KOMÁREK, J. & KOVÁCIK, L. 1989. Trichomes structure of four *Aphanizomenon* taxa (Cyanophyceae) from Czechoslovakia, with notes on the taxonomy and delimitation of the genus. **Pl. Syst. Evol.**, 164: 47-64.

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4 – Nostocales. **Archiv für Hydrobiologie** 56:247-345, 1989. (**Algological Studies**, 56).

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1995. Nomenclatural novelties in chroococcalean cyanoprokaryotes. **Preslia**, 67: 15-23. Praha.

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1998. **Cyanoprokariota**. I. Teil Chroococcales. – In: Ettl, H., et al. (Ed). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: J. Fischer, 19 (1): 1-548.

KOMÁREK, J. & KORMAKOVA, J. 2002a. Review of the European *Microcystis*-morphospecies (Cyanoprokariotes) from nature. **Czech Phycology**, 2: 1-24.

KOMÁREK, J. & KORMARKOVÁ, J. 2002 b. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from central Mexico. **Preslia**, Praha. 207-233.

KOMÁREK, J.; AZEVEDO, S. M.F.O.; DOMINGOS, P.; KOMÁRKOVA, J.; TICHY, M. 2001. Background of the Caruaru tragedy; a case taxonomic study of toxic cyanobacteria. **Algological Studies**.10-29.

KOMÁREK, J.; KOMARKOVA-LEGNOROVA, J.; SANTANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; SENNA, P.A.C. 2002. Two common *Microcystis* species (Chroococcales, Cyanobacteria) from tropical America, including *M. panniformis* sp. nov. **Cryptogamie, Algal.**, 23 (2): 159-177.

KOMÁRKOVÁ, J. 1998. The tropical genus *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophytes, Cyanobacteria) In: CONGRESSO LATINO –AMERICANO DE FICOLOGIA 4., 1996, Caxambu. Anais...São Paulo: Sociedade Ficológica da América Latina e Caribe, p.327-340.

LEMMERMANN, E. 1907. Algen I. **Kryptogamenflora**, 3: 1-256. Leipzig.

MAGRIN, A. G. E.; SENNA, P. A. C.; KOMÁREK, J. 1997. *Arthrospira skujae*, a new planktic tropical cyanoprokaryote. **Arch. Protistenk.**, 148: 479-489. Jena.

MELCHIORRE, S; VIAGGIU, E; BRUNO, M. 2000. Le fioriture di alghe tossiche nelle acque dolci: emergenza sanitaria e misure di controllo. Istituto Superiore di Sanità. 6-42.

MAGRIN, A. G. E.; SENNA, P. A.; KOMÁREK, J. 1997. *Arthrospira skuje*, a new planktic tropical cyanoprokaryote. **Arch. Protistenk.**, Jena, 148:479-489.

NOGUEIRA, N. M.C. & FERREIRA-CORREIA, M. M. 2001. Cyanophyceae/Cyanobacteria in red mangrove forest at Mosquito and Coqueiros estuaries, São Luís, State of Maranhão, Brazil. Brazil. **J. Biol.**, 61 (3): 347-356. São Carlos.

SANT'ANNA, C. L. & AZEVEDO, M.T.P. 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. **Nova hedwigea**, 71:359:385.

SANTANNA, C. L.; AZEVEDO, M.T.P.; SENNA, P. A. C.; KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVA, J. Planktic Cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococales. *Revista Brasileira de Botânica* (no prelo).

SENAYYA, G. & SUBBA RAJU, N. 1972. On the ecology and systematic position of the alga know as *Anabaenopsis raciborskii* (Woloz) Elenkin and a critical evaluation of the forms described under the genus *Anabaenopsis*. In: DESIKACHARY, T. V. (Ed), **Taxonomy and biology of blue-green algae**, p. 52-57. Madras, 1972.p.52-57.

SENNA, P. A. C.; PERES, A.C.; KOMÁREK, J. 1998. *Coelomoron tropicalis*, a new cyanoprocaryotic species from São Paulo State, Brazil. **Nova Hedwigia, Stuttgart**, 67:93-100.

SENNA, P.A. C. & KOMÁERK, J. 1998. *Dasygloea brasiliensis* n. com. (syn: *Lyngbya brasiliensis*) Cyanoprocaryites, from the central part (“cerrados”) of Brazil. **Algol. Studies**, Stuttgart, 88:1-16.

SENNA, P.A. C. 1992. Estudo das Nostocophyceae(Cyanophyceae) do Distrito Federal: lagoas Joaquim Medeiros e dos Carás. **Rev. Brasil. Biol.** Rio de Janeiro, (52):2: 461-479.

SENNA, P.A. C. 1994. Cyanophyceae de La Región est du District Federal, Brésil, 1. **Bull. Jard. Bot. Natl. Belgique**, Bruxelles, 63:81-100.

SKUJA, H. 1937. Süßwasseralgen aus Griechenland und Kleinasien. **Hedwigia**, 77: 15-70. Dresden.



TORGAN, L. C.; BUSELATO, T.C.; FERAZ, G.C. 1981. Floração de *Aphanizomenon flos-aque* (L.) ralfs ex Born. Et Flah. (Cyanophyceae na represa de Itaúba , Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, sér. Bot., Porto Alegre, 26:45-64.

WERNER, V. R. & SANT'ANNA, C. L. 1998. Morphological variability in *Gloeotrichia natans* Rabenhorst ex Bornet et Flahault (Cyanophyceae, Nostocales) from southern Brazil. **Revista bras. Bio.**, 58 (1): 79-84. Rio de Janeiro.

WERNER, V. R. & SANT'ANNA, C. L. 2000. A new species of *Aphanothece* (Cyanophyceae, Chroococcales) from shallow coastal lagoon, south Brazil. **Nova Hedwigia**, 70 (1-2): 113-125. Stuttgart.

ZAGATTO, P.A. et al. **Manual de orientação em casos de florações de algas tóxicas: um problema ambiental e de saúde pública.** São Paulo, CETESB 20p. (ser. Manuais).

## Listagem das Figuras

**FIGURAS 1-6:** 1,2,3. *Coelomoron tropicalis*: variação de colônias; 4,5,6. *Snowella* cf. *lacustris*: variação de colônias. (pág. 80 ).

**FIGURAS 7-12.** *Sphaerocavum brasiliense*: variação de colônias. 7,9,10,12. diferentes formas e tamanhos; 8,11. colônias fragmentadas. (pág. 81).

**FIGURAS 13-18:** 13 -16. *Microcystis panniformis*: variação de colônias;17,18. *Microcystis novacekii*: variação de colônias. (pág. 82 ).

**FIGURAS 19-23:** *Microcystis protocystis*: variação de colônias. (pág. 83).

**FIGURAS 24-26.** *Microcystis* sp:variação de colônias. (pág. 84 ).

**FIGURAS 27-31:**27,28,29.*Geitlerinema unigranulatum*: variação de tricomas; 30,31. *Lyngya* sp. (pág. 85).

**FIGURAS 32-35.***Planktothrix Agardhii*: variação de extremidades dos tricomas.(pág.86 ).

**FIGURAS 36-39:** 36,37. *Anabaena circinalis*; 38,39. *Anabaena* cf. *Vigueri*. (pág. 87 ).

**FIGURAS 40-41.** *Anabaena* sp: filamentos longos, metaméricos e espiralados. (pág.88).

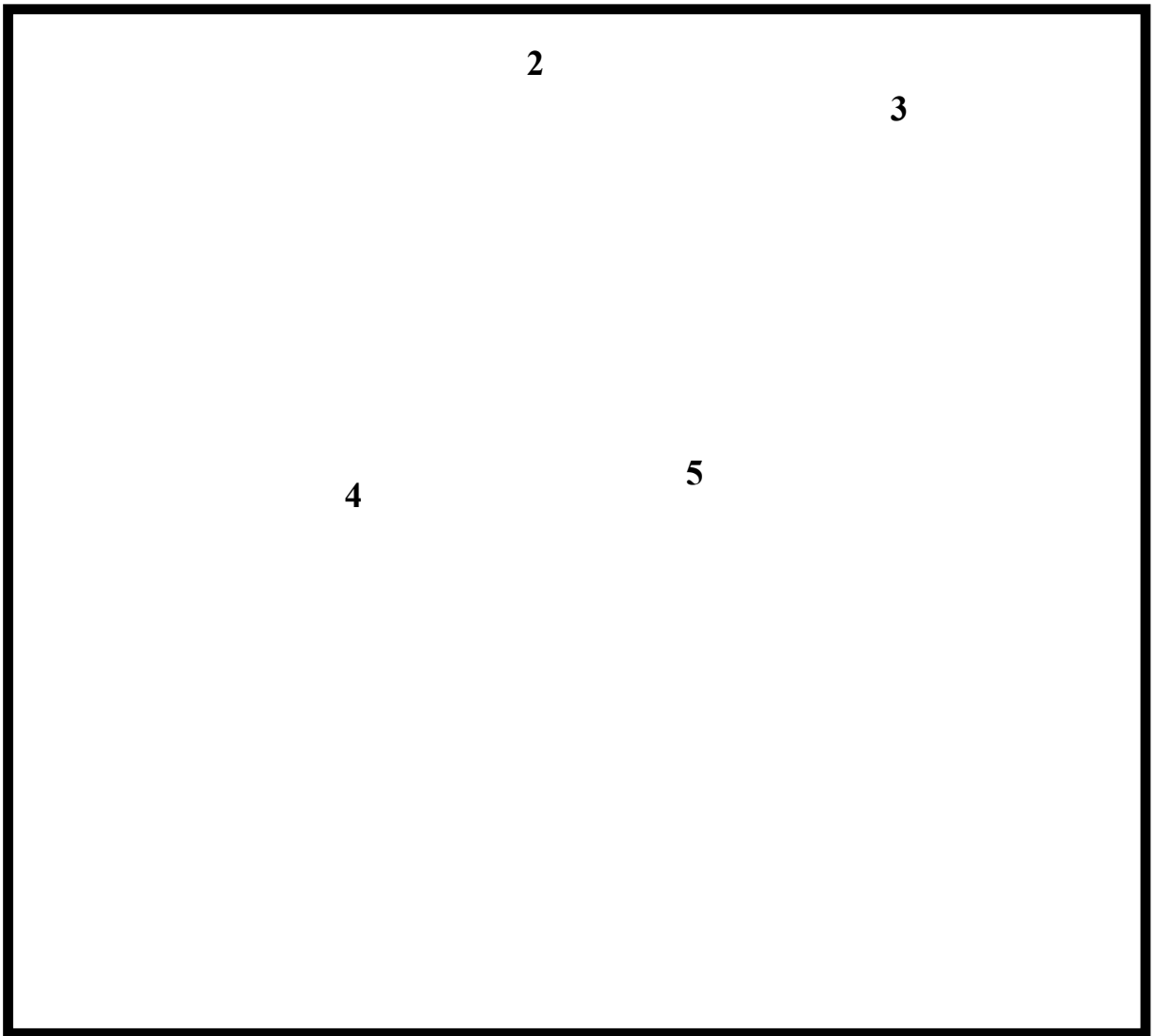
**FIGURAS 42-44:** *Anabaena* sp<sub>1</sub>. Filamentos retos ou ligeiramente curvados. (pág. 89).

**FIGURAS 45-47:** 45,46. *Aphanizomenon* cf. *manguinii*;47. *Aphanizomenon* cf.*issatschenkoi*. (pág. 90 ).

**FIGURAS 48-50.** *Aphanizomenon gracile*. (pág.91).

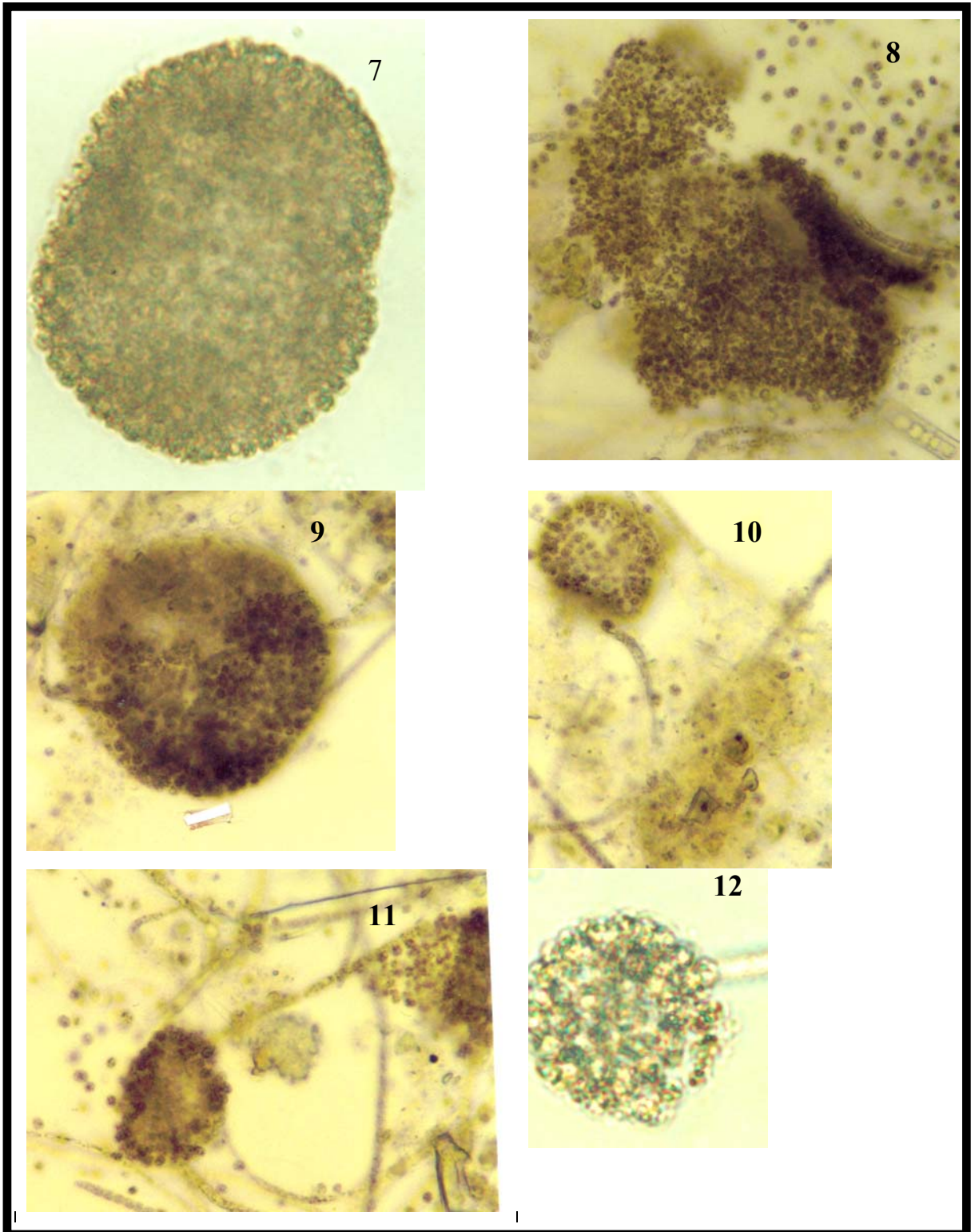
**FIGURAS 51-52:** *Cylindrospermun* sp. (pág.92 ).

**FIGURAS 53 - 58:** 53,54,55,56,57. *Cylindrospermopsis raciborski*: variação de tricomas, células apicais, número de heterocitos e acinetos; 38. *Raphidiopsis mediterrânea*.(pág.93).



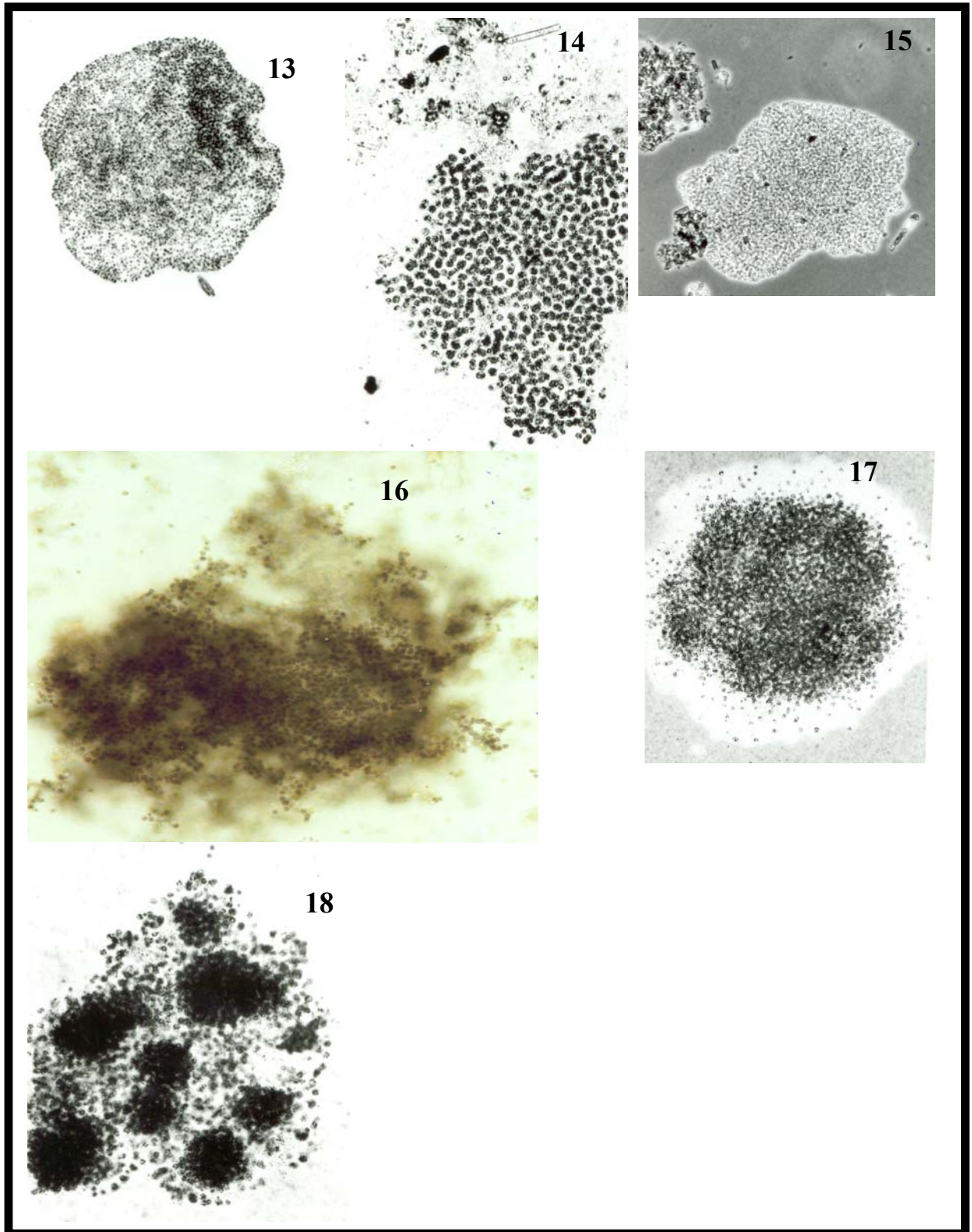
Esclas: (10  $\mu\text{m}$   ); (20 $\mu$   )

**FIGURAS 1- 6:** 1,2,3. *Coelomorom tropicalis*: variação de colônias; 4. *Snowella* cf. *lacustris*: colônia madura; 5,6. *S.* cf. *lacustris*: colônias jovens (escalas: figs. 1,5. 10  $\mu\text{m}$ ;. 2,3,4,6 20 $\mu\text{m}$ )..



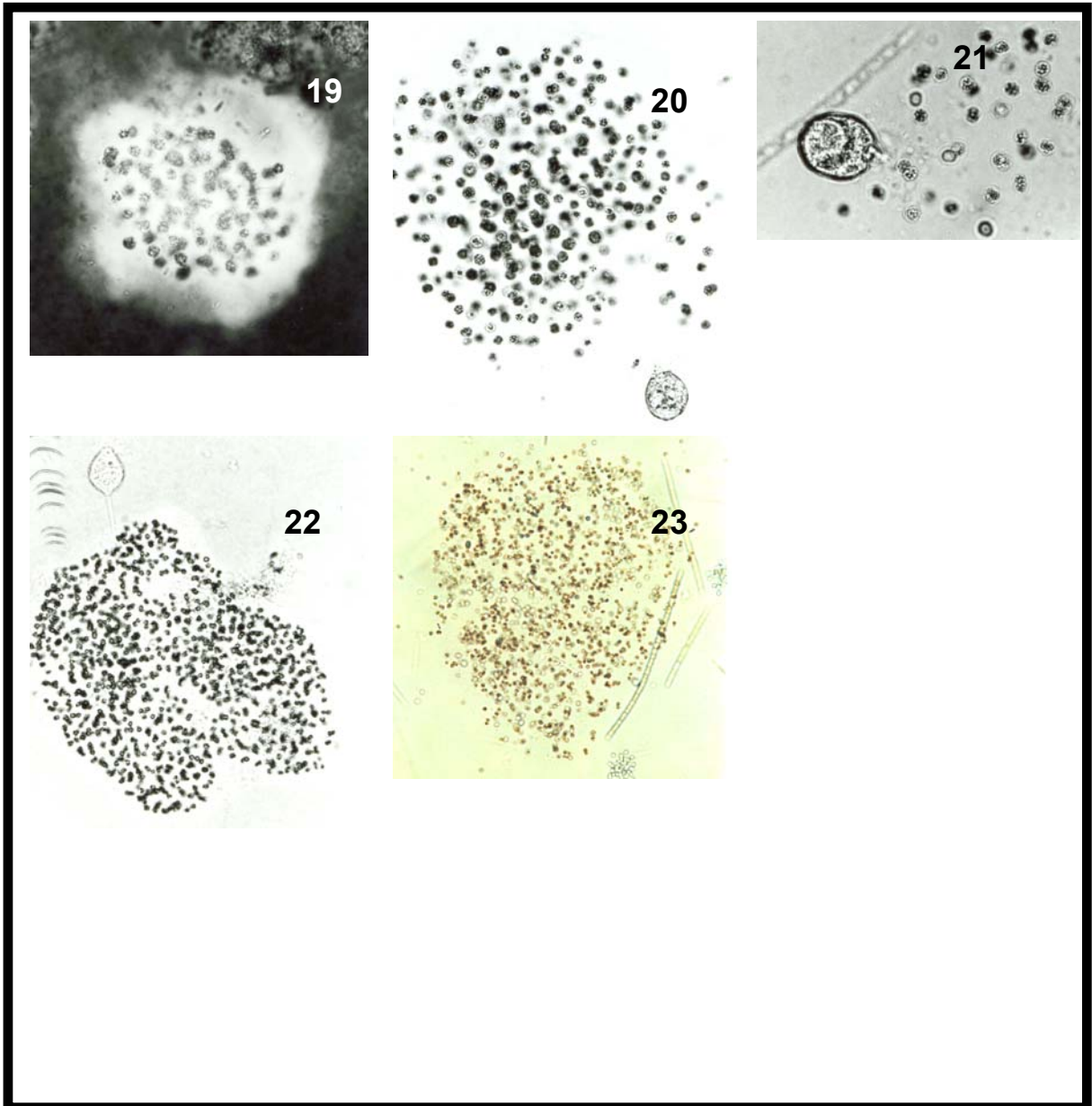
Esclas: ( 10µm ——— ) ; ( 20 µm——— )

**FIGURAS 7-12.** *Sphaerocavum brasiliense*: variação de colônias. 7,9,10,12. diferentes formas e tamanhos; 8,11. colônias fragmentadas (escalas: figs. 7,2. 10 µm; 8,9,10,11. 20 µm)



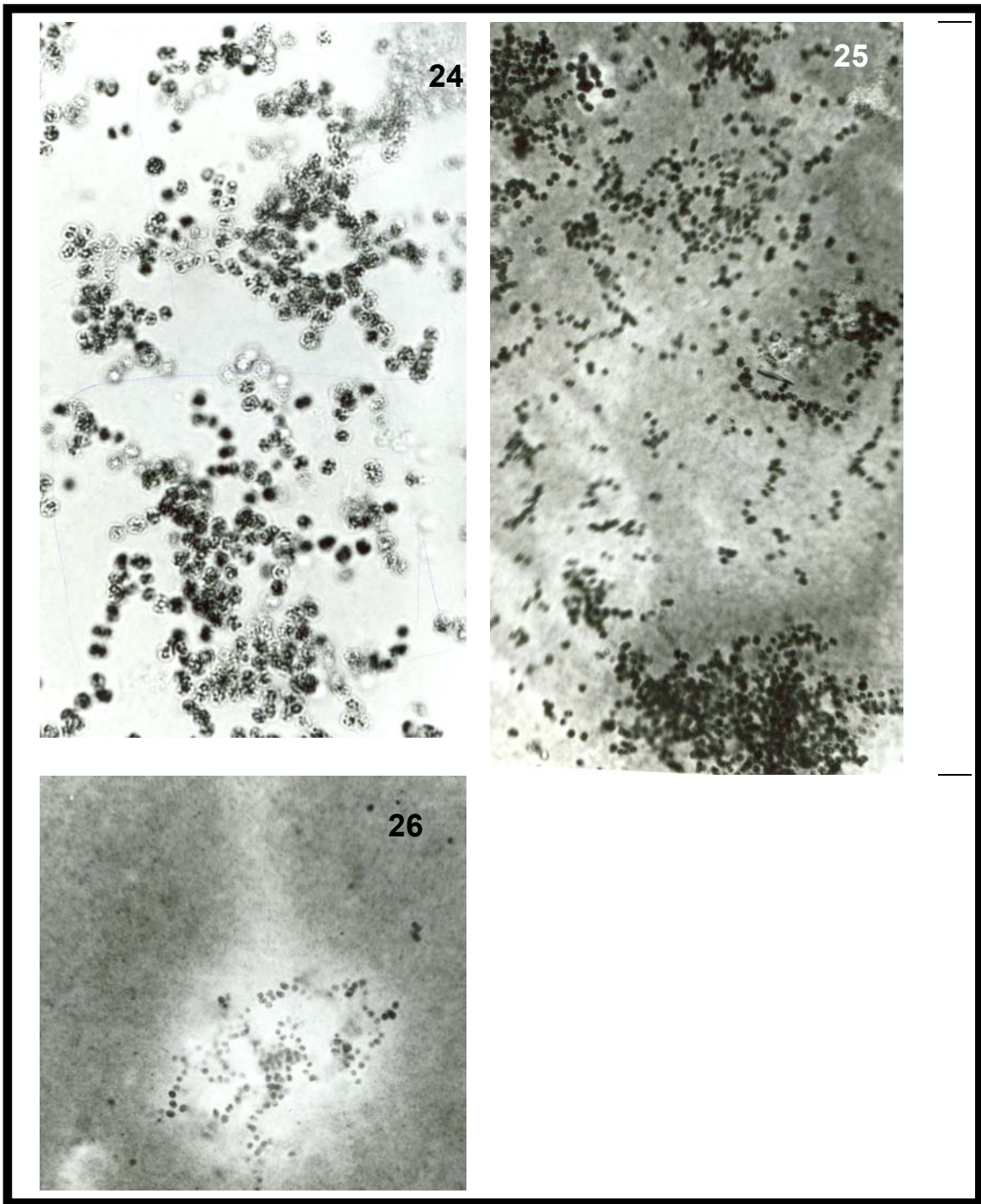
Escalas:(100  $\mu$  m ———); (50  $\mu$  m ——— )

**Figuras 13-18:** 13,14,15,16. *Microcystis panniformis*: variação de colônias; 17,18. *Microcystis novacekii*: variação de colônias (escalas: figs. 13. 100 $\mu$ m; 14-18. 50 $\mu$ m).



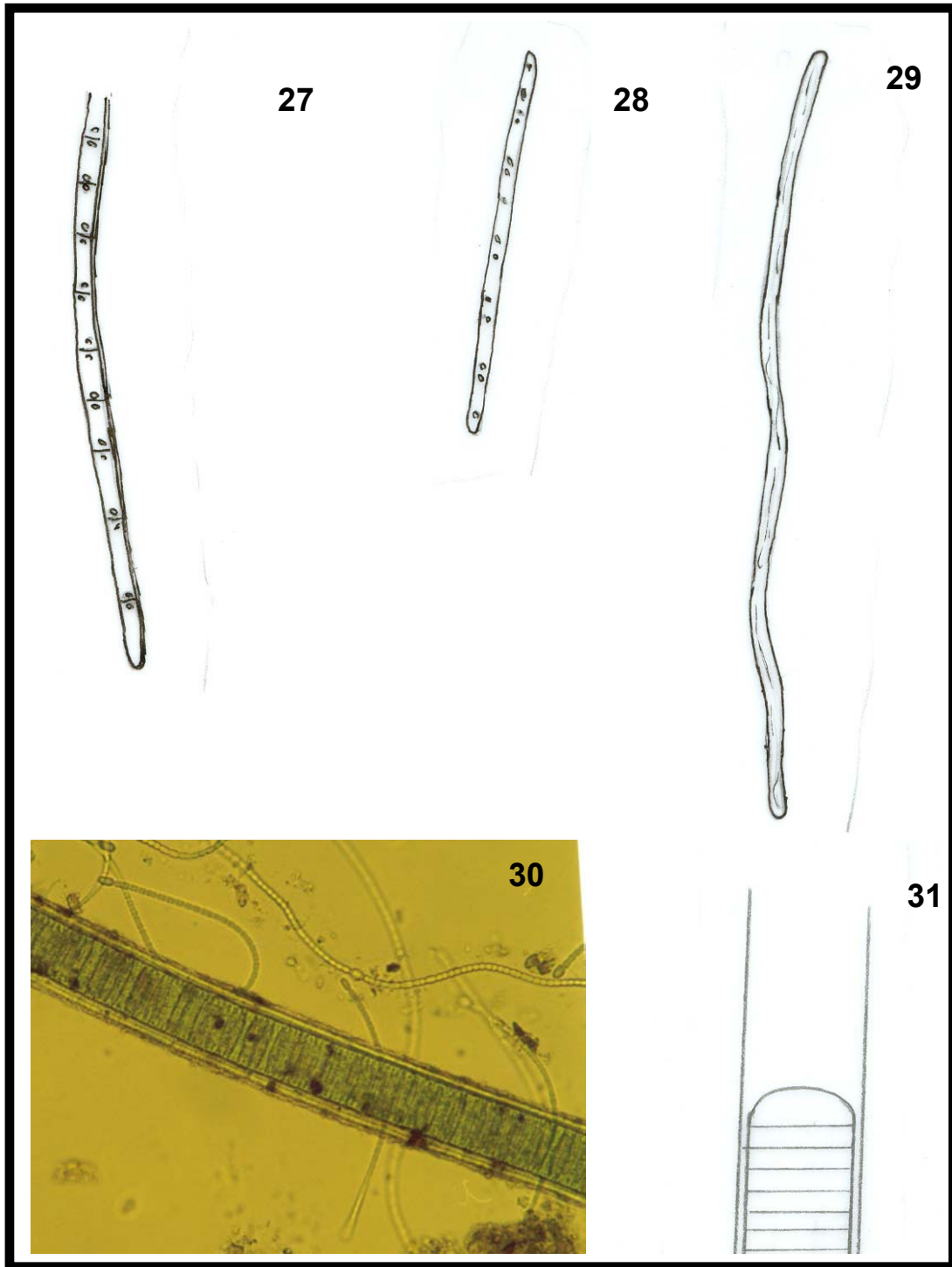
Escalas: ( 10  $\mu\text{m}$  \_\_\_\_\_ ); ( 50  $\mu\text{m}$  \_\_\_\_\_ ); ( 20  $\mu\text{m}$  \_\_\_\_\_ )

**FIGURAS 19-23:** *Microcystis protocystis*: variação de colônias (escalas:figs. 1, 22,23. 10  $\mu\text{m}$ ; 20. 50 $\mu\text{m}$ ; 21. 20  $\mu\text{m}$ ).



Escalas: (100  $\mu\text{m}$  \_\_\_\_\_ ); (20  $\mu\text{m}$  \_\_\_\_\_ )

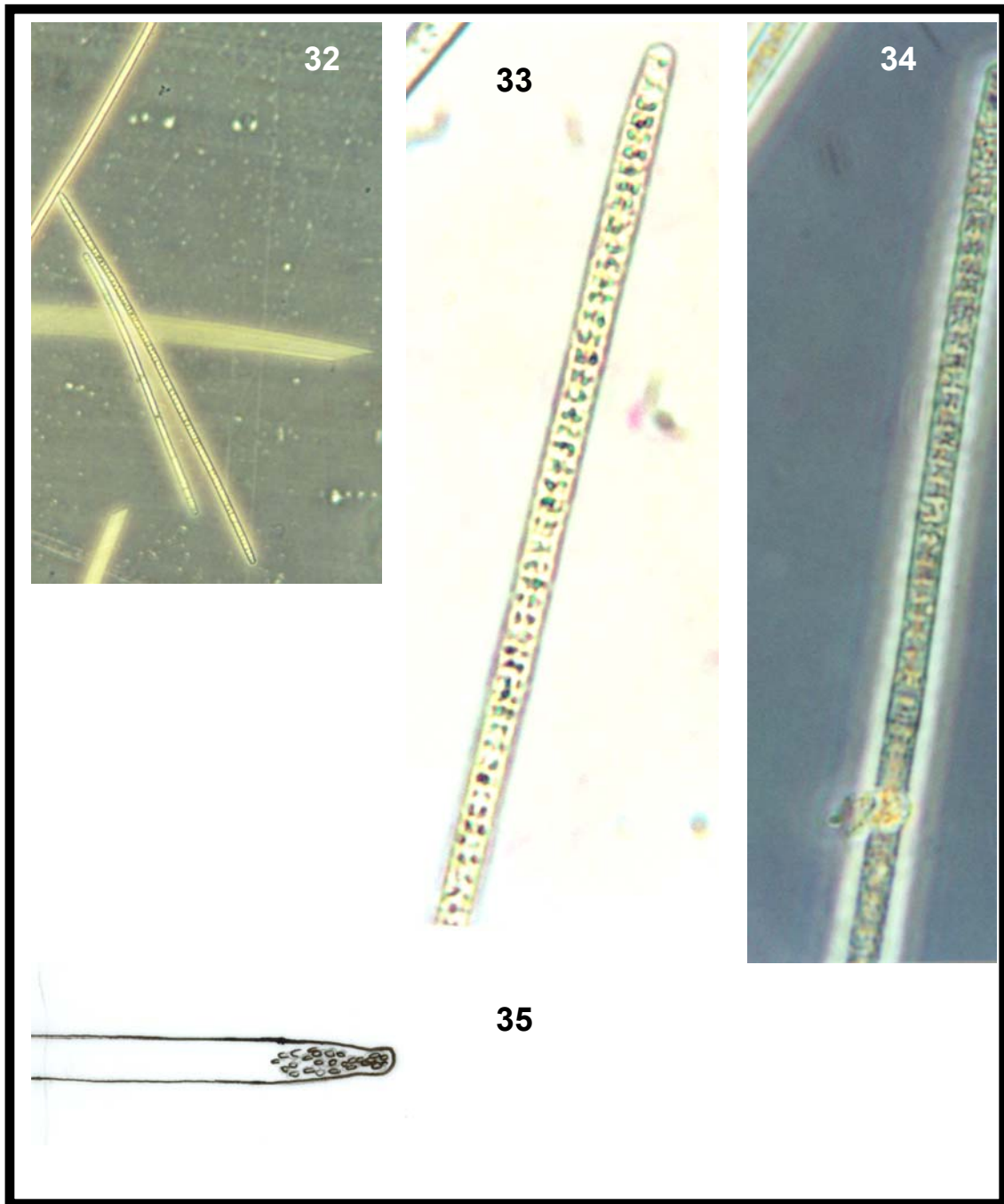
FIGURAS 24-26. *Microcystis sp.*: variação de colônias (escalas:figs.24. 20 $\mu\text{m}$ ; .25,26.100  $\mu\text{m}$ )



Escalas: (10  $\mu\text{m}$  ——— ); (50  $\mu\text{m}$  ——— ) (20  $\mu\text{m}$  ——— )

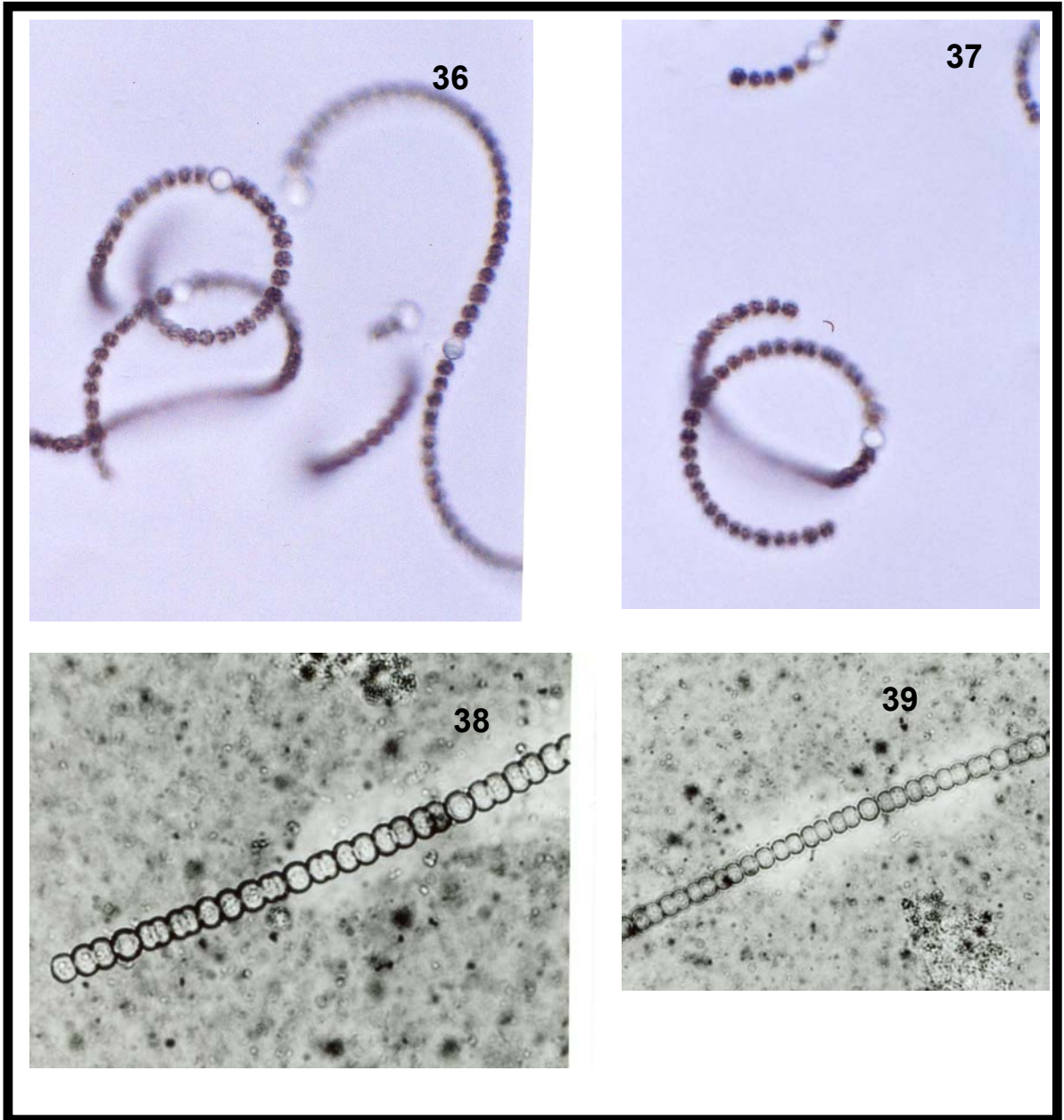
**FIGURAS 27-31:** 27,28,29. *Geitlerinema unigranulatum*: variação de tricomas; 30,31. *Lyngya* sp (escalas; figs.27,28,31. 10  $\mu\text{m}$ ; fig.30.50  $\mu\text{m}$ ;29. 20  $\mu\text{m}$ )





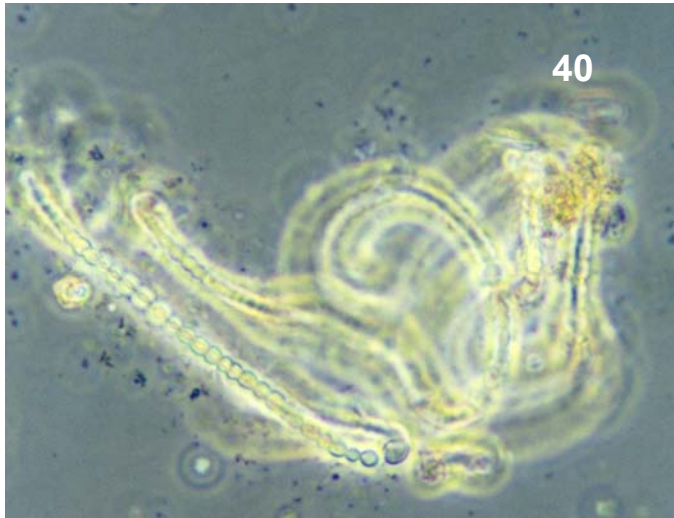
Escalas: (10 $\mu$ m ——— )

FIGURAS 32-35. *Planktothrix Agardhii*: variação dos tricomas (escalas: figs.32-35. 10 $\mu$ m)



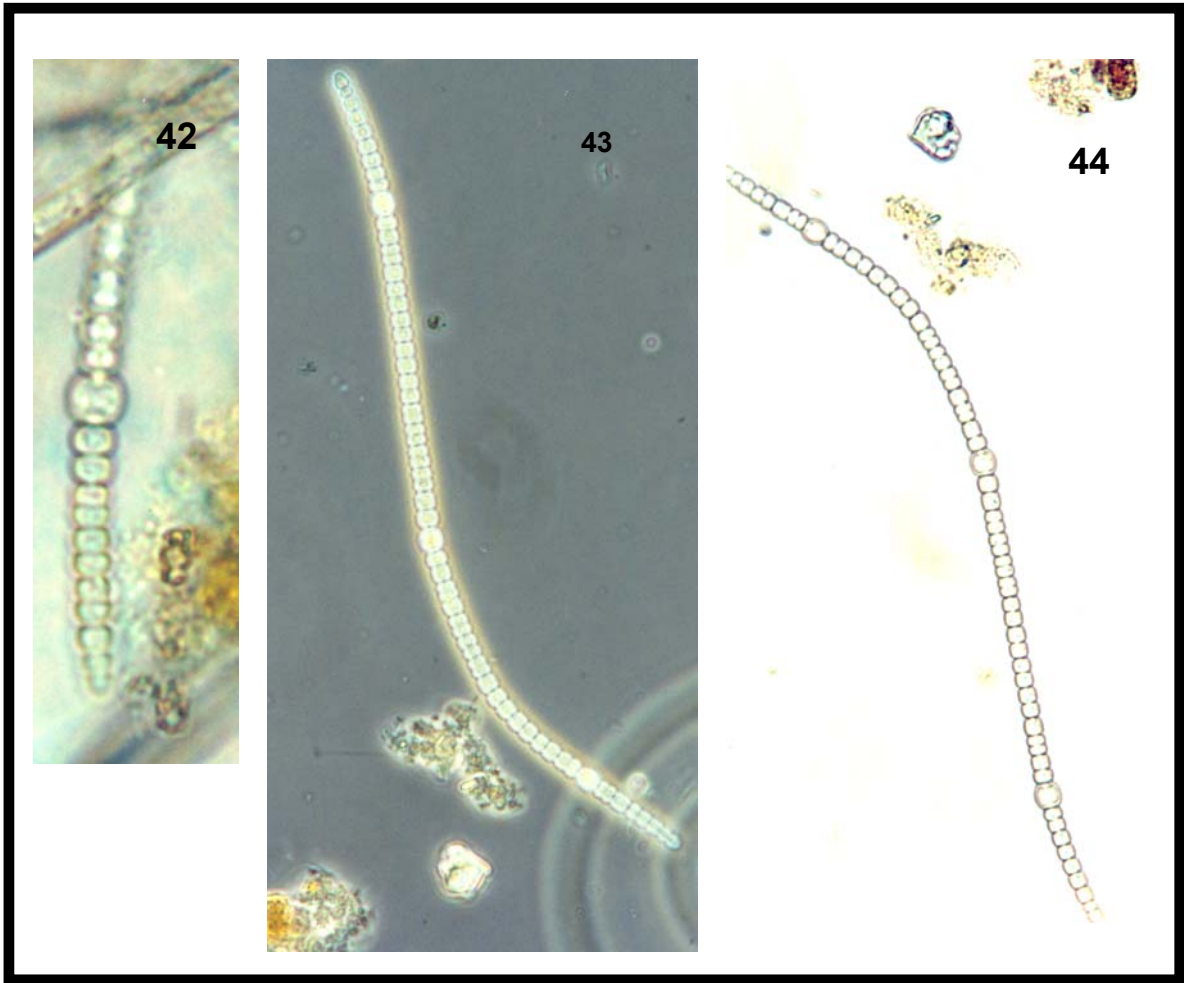
Escala: (20  $\mu\text{m}$  —)

FIGURAS 36-39: 36,37. *Anabaena circinalis*; 38,39. *Anabaena viguieri* (escala: 20  $\mu\text{m}$ ).



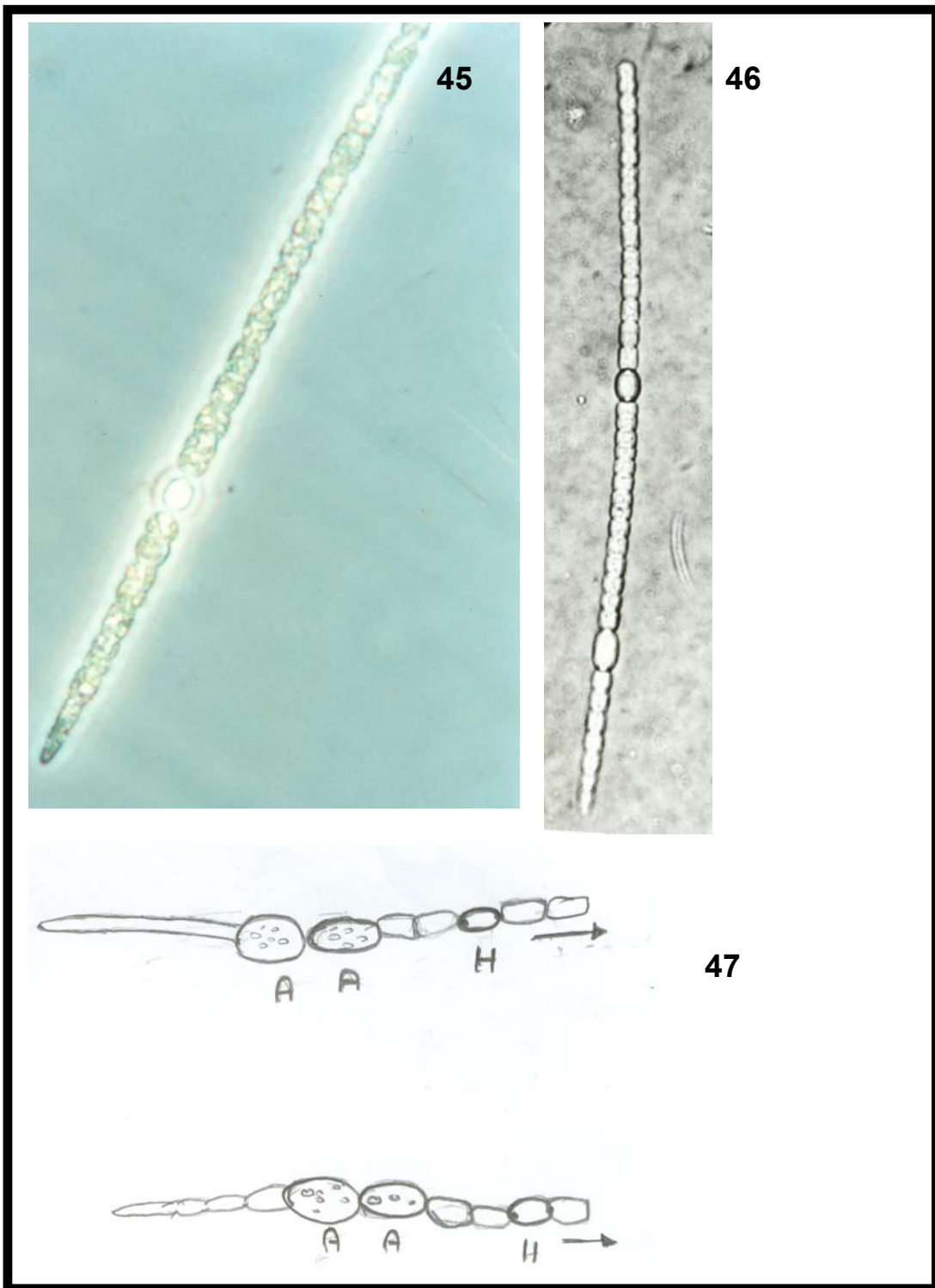
Escalas: (10 $\mu$ m — ) (50 $\mu$ m — )

FIGURAS 40-41. *Anabaena* sp: filamentos longos, metaméricos e espiralados (escalas:figs.40. 10 $\mu$ m; 41. 50 $\mu$ m)



Escalas: (10µm ——— ); (20µm — )




**FIGURAS 42-44:** *Anabaena* sp<sub>1</sub>. Filamentos retos ou ligeiramente curvados (escalas: figs.42.10 10µm; 43,44.20µm).



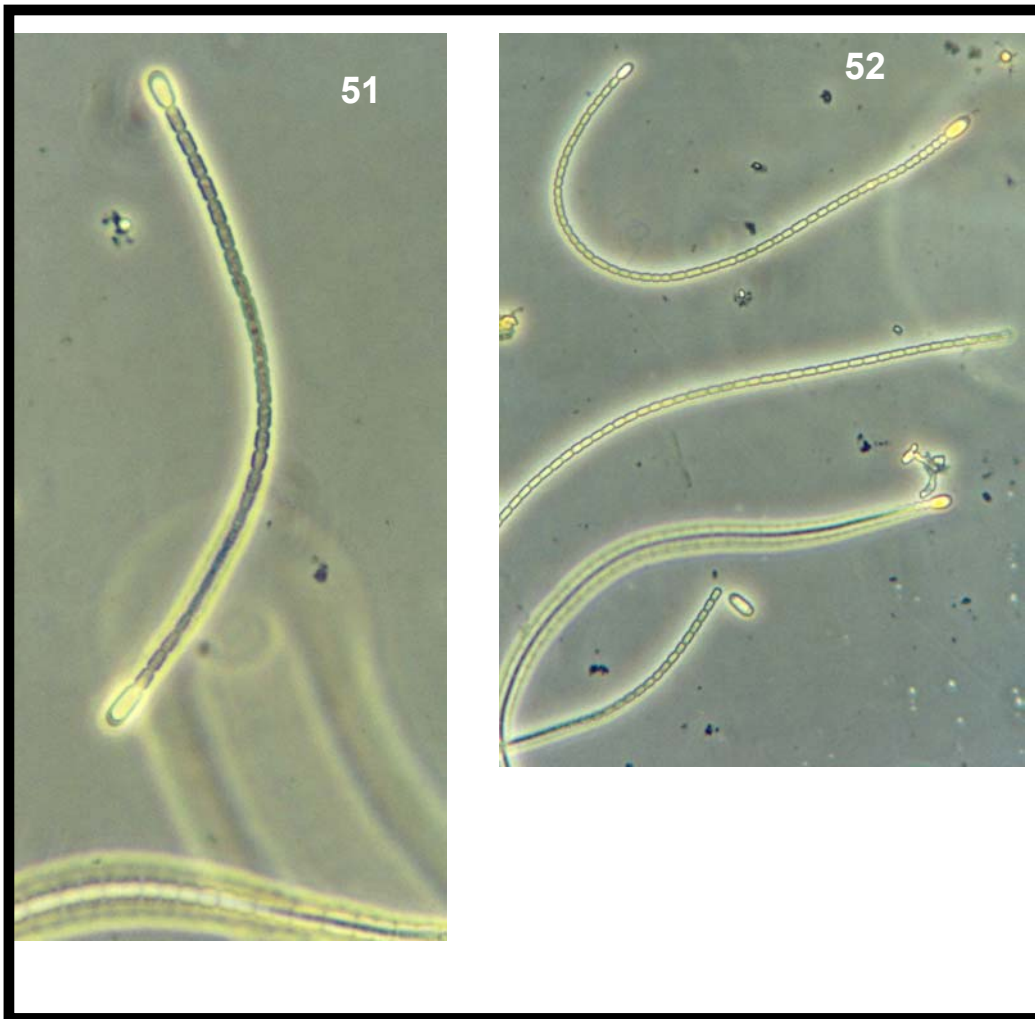
Escalas: (10  $\mu\text{m}$  ———); (20 $\mu\text{m}$  — )

**FIGURAS 45-47:** 45,46. *Aphanizomenon* cf. *manguinii*; 47. *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*: A=acinetos, H=heterocitos, a seta indica continuidade de células vegetativas ( $\cong 50$ ), (escalas: figs. 45,47. 10  $\mu\text{m}$ ; 46. 20 $\mu\text{m}$ ).



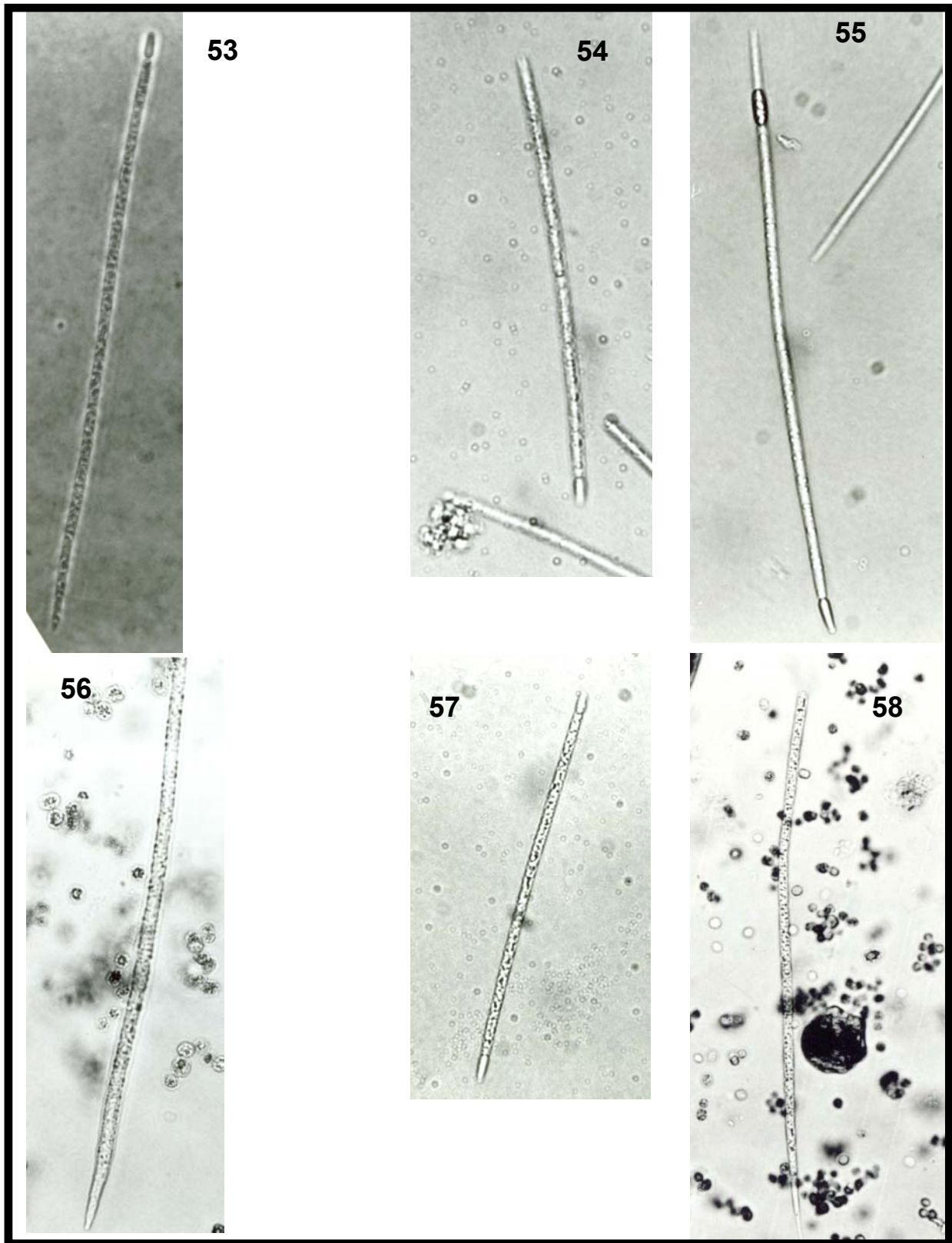
Escalas: (50 µm , fig 48) ; ( 10 µm , fig.49) ; (10 µm , fig. 50 )

FIGURAS 48-50: *Aphanizomenon gracile*



Ecalas: 10 $\mu$ m ——— ); (50 $\mu$ m ——— )

FIGURAS 51-52: *Cylandrospermum* sp (escalas: figs. 51.10  $\mu$ m ; 52. 50  $\mu$ m)



Escalas: ( 20  $\mu\text{m}$  — )

**FIGURAS 53 - 58:** 53,54. *Cylindrospermopsis raciborskii*: tricomas com um heterocito, 55. *C. raciborskii*: tricoma com um heterocito e um acineto;56. *C. raciborskii*: tricoma com célula apical cônico-arredondada; 57. *C. raciborskii*: tricomas com dois heterocitos terminais; 58. *Raphidiopsis mediterranea*: tricoma com célula apical não pigmentada (escalas: figs. 53 – 58. 20  $\mu\text{m}$ ).





**THE OCCURRENCE OF TOXIN-PRODUCING CYANOBACTERIAL BLOOMS  
IN A BRAZILIAN SEMI-ARID RESERVOIR**

Ivaneide Alves Soares Costa<sup>1\*</sup>; Sandra Azevedo<sup>2</sup>;  
Pedro A. C. Senna<sup>1</sup>; Robson Roney Bernardo<sup>2</sup>; Simone Maciel Costa<sup>2</sup>  
and Naithirithi. T. Chellappa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos/Depto. De Ecologia e Biologia evolutiva, Av.  
Washington Luiz, Km 235, São Carlos SP- Brasil;

<sup>2</sup>; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho,  
Centro de Ciências da Saúde, Bloco G, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte, C/B, Depto. de Oceanografia e  
Limnologia, Praia de Mãe Luíza, S/N – CEP: 59014-100, Via Costeira- Natal/RN

\*For correspondence: Ivaneide A. S. Costa - Universidade Federal do Rio Grande do  
Norte, Depto. de Microbiologia e Parasitologia/CB, Laboratório de Ecologia e Toxicologia  
de Microrganismos Aquáticos, Campus Universitário, Lagoa Nova, Natal/RN. CEP 59072-  
970 e-mail: [iasoares@uol.com.br](mailto:iasoares@uol.com.br)

(with 1 table and 2 figures )

## ABSTRACT

We report the occurrence of cyanobacterial blooms and the presence of cyanotoxins in the water samples from Armando Ribeiro Gonçalves reservoir (06°08' S and 37°07' W), located at Rio Grande do Norte State, in the semi-arid Northeast Brazil. The cyanobacterial species were identified and quantified for rainy and dry seasons during the year 2000. Cyanotoxins, such as microcystins, saxitoxins and cylindrospermopsins were analysed and quantified using HPLC and ELISA methods. The toxic mixed blooms of *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp (*M. panniformis*, *M. protocystis*, *M. novacekii*) and *Aphanizomenon* spp (*Aphanizomenon gracile*, *A. cf. manguinii*, *A. cf. issastschenkoi*), were persistent and represented 90-100 % of the total phytoplankton species. Toxic cyanobacterial blooms of Armando Ribeiro Gonçalves reservoir were analysed and found to have three phases in relation to the annual cycle. During the rainy season, an intense toxic bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii* was recorded along with saxitoxins (3,14  $\mu\text{gL}^{-1}$ ). During the transition period, between rainy and dry periods, different species of *Microcystis* occurred and the presence of a toxin, microcystin as high as 8,8 $\mu\text{gL}^{-1}$  was recorded. In the dry season, the co-dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp and *Aphanizomenon* spp occurred and the concentrations of saxitoxin remained very low. Our results indicate the presence of microcystins (8,8  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) and saxitoxins (3.14  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) in crude water with increasing concentrations from the second fortnight of April until the end of May 2000. The occurrence of toxic blooms in the studied reservoir shows a permanent risk of cyanotoxins in supply waters, and indicates the need for the implementation of bloom controlling measures, aiming the improvement of water quality. The local population exposure to cyanotoxins through its potential accumulation in the fish muscle has also to be considered.

Key words: reservoir, semi-arid, cyanobacteria, microcystin, saxitoxin

## RESUMO

### Ocorrência de florações tóxicas de cianobactérias em um reservatório do semi-árido brasileiro

Nós relatamos a ocorrência de florescimentos de cianobactérias e a presença de cianotoxinas em amostras de água do reservatório Armando Ribeiro Gonçalves (06°08' S; 37°07' W) situado no estado do Rio Grande do Norte, na região semi-árida do Brasil. Espécies de cianobactérias foram identificadas e quantificadas nos períodos seco e chuvoso do ano 2000. Cianotoxinas tais como, microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas foram quantificadas por HPLC e ELISA. Florescimentos tóxicos mistos de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp (*M. panniformis*, *M. protocystis*, *M. novacekii*) and *Aphanizomenon* ssp (*Aphanizomenon gracile*, *A. cf. manguinii*, *A. cf. issastschenkoi*), foram persistentes e representaram 90-100 % da comunidade fitoplanctônica. No período de chuvas, florescimentos tóxicos de *Cylindrospermopsis raciborskii* coincidiram com maiores valores de saxitoxinas (3,14  $\mu\text{gL}^{-1}$ ). Entre o período de chuva e estiagem ocorreram florescimentos tóxicos de *Microcystis* spp, excedendo o valor mínimo aceitável para consumo humano (8,8  $\mu\text{gL}^{-1}$ ). Na estiagem baixas concentrações de saxitoxinas foram detectadas em florescimentos menos intensos com co-dominância de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp e *Aphanizomenon* spp. Nossos resultados revelaram a presença de microcistinas (8,8  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) e saxitoxinas (3,14  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) na água bruta, a partir da segunda quinzena de abril até o final de maio de 2000. A ocorrência de blooms tóxicos de cianobactérias no reservatório em estudo aponta um risco permanente de cianotoxinas em águas de abastecimento e indica a necessidade da implementação de medidas de controle das florações, visando a melhoria da qualidade da água. A exposição das populações locais às cianotoxinas, através da sua potencial acumulação em musculatura de peixes, também deve ser considerada.

Palavras chave: reservatório, semi-árido, cianobactéria, microcistinas, saxitoxinas

## INTRODUCTION

Eutrophication is originated as a consequence of an unchecked human population growth, the discharge of urban, industrial and agriculture effluents in the aquatic ecosystems of several countries, including Brazil (Tundisi & Matsumura-Tundisi 1992). This represents a great problem for water management all over the world, especially in the dry regions, since one of the major consequences of eutrophication is the appearance of cyanobacterial blooms (Carmichael 2001; Falconer 2001; Azevedo *et al.* 2002).

The occurrence of cyanobacterial blooms in freshwater is usually accompanied by both toxin and non-toxin producing species (Baker and Humpage 1994). The main toxin producing cyanobacteria genera include *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Lyngbya* and *Cylindrospermopsis* (Chorus and Bartran 1999). Cyanotoxins (hepatotoxins and neurotoxins) are responsible for intoxication of wild and domestic animals, contaminate the drinking water, induce fish mortality and eliminate other aquatic biota (Carmichael 2001; Falconer 2001; Sinoven & Jones 1999).

In Brazil, toxic blooms of cyanobacterial has been reported from an estuary (Yunes *et al.* 1996), coastal lagoons (Porfirio *et al.* 1999; Azevedo 1994, 1998; Azevedo *et al.* 1994; Azevedo 1997; Magalhães *et al.* 2001; Lagos *et al.* 1999) and reservoirs (Teixeira *et al.* 1993; Molica *et al.* 2002; Bouvy *et al.* 1999; Chellappa *et al.* 2000; Costa *et al.* 2001a,b). Human deaths were shown through “The Caruaru Syndrome” and received attention worldwide, when 52 patients died from cyanobacterial hepatotoxins after receiving renal dialysis treatment (Jochimsen *et al.* 1998). Teixeira *et al.* (1993) showed a strong correlation between cyanobacterial bloom in Itaparica reservoir (Bahia)

and the death of 88 people, among 200 intoxicated, owing to the consumption of the reservoir's water, between March and April 1988.

At Rio Grande do Norte State (Northeast Brazil), the cyanobacterial dominance at eutrophic freshwater systems have been extensively studied during 1990 decade (Chellappa 1990; Chellappa *et al.* 1996; Costa *et al.* 1998, Costa *et al.* 2001) and the need for cyanotoxin analysis emanated from the findings of fish mortality associated with the toxic blooms of *Microcystis aeruginosa* (Chellappa *et al.* 2000) .

The present study was undertaken at Armando Ribeiro Gonçalves reservoir, which is the second largest reservoir in the Northeast Brazil region, with  $2.4 \times 10^9 \text{ m}^3$  volume, and provides water for 400 thousands inhabitants. In the hydrographic basin of this man-made reservoir, there is an intense use of farming fertilizers as well as shrimp and fish farming activities, resulting in high concentrations of phosphorus and nitrogen loading and consequent water eutrophication. Low annual precipitation, characteristic of the regions with high evaporation rates, also contributes to concentrate mineral salts and inorganic nutrients in the water (Naselli-Flores1999). Several other factors such as extended solar radiation with low amplitude of annual and daily variation, high evaporation rates and high water residence period, promotes increasing growth of cyanobacterial species (Costa 1999). The reservoir shows continuous and growing dominance of potentially toxic cyanobacteria, as *Microcystis* spp, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon* spp, *Raphidiopsis* and *Oscillatoria* (Costa 1999).

The purpose of this work is to report the occurrence of cyanobacteria blooms and their toxins in the annual cycle Potential health risks to humans that consumes the reservoir's water is also discussed.

## MATERIAL AND METHODS

### Sample collection and phytoplankton analysis

Samples were collected at Armando Ribeiro Gonçalves reservoir (n=9) and at Pataxó Channel (PC) (n=4) which transports water from the reservoir to the water treatment station (n=4). The samples from these two sampling points are referred as “crude water samples”. A third sampling point was set at the treatment station outlet, which are referred as “treated water”. During year 2000 fortnightly samples were taken in the rainy season (April-May), during transitional period from wet to dry period (July) and in the dry period (November- December). For qualitative analyses of the phytoplankton, samples were collected by vertical towing with a 20 µm mesh size net and preserved with 4% formaldehyde. For phytoplankton counting, water samples were collected with a Van Dorn bottle in vertical profiles which were further pooled and preserved with Lugol’s solution. Phytoplankton analyses were performed by inverted microscopy (Lund *et al.* 1958).

The cyanotoxins analysis (microcystin, saxitoxin and cylindrospermopsin) were held in the seston samples that were filtered through Whatman’s GF/C glass fiber filters and frozen at -20°C. Cyanotoxins in these samples were analysed by High Efficiency Liquid Chromatography technique (HPLC- Shimadzu SPD-M10A). For the treated water samples, microcystin was also analysed in by immunoassay using ELISA Microcystin Plate Kit (ENVIROLOGIX INC.).

## **Extraction and Quantification of Microcystin (MYCT)**

Microcystin extraction from the seston samples was performed using a slightly modified method of Krishnamurthy *et al.* (1986). The cells were extracted three times with butanol: water (5:20:75 v/v) and cell debris was removed by centrifugation. The supernatant was evaporated to 30% of its initial volume and the remaining extract was passed through a C-18 cartridge (Bond Elut C-18 Varian). The samples were eluted from the cartridge with 20 ml of a solution of deionized water, methanol 20% and methanol 100%, respectively. The 100% methanol fraction was evaporated to dryness, resolubilized in 1 ml methanol 50% and filtered through a nylon filter (0.45  $\mu\text{m}$ ) and the toxins separated by HPLC. The HPLC system was set with a C-18 reversed phase column (250 mm x 10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). The analysis was carried out under isocratic conditions with a mobile phase of 20 mM ammonium acetate, pH 5, and acetonitrile (7:3) for 90 min, followed by a gradient of 30-50% acetonitrile in water for 50 min. The volume injected was 100  $\mu\text{L}$  with UV detection at 238 nm and a flow rate of 4.0  $\text{ml min}^{-1}$ . The peaks obtained in the chromatograms were analysed and compared to the absorption spectrum with the Microcystin-LR standard.

## **Extraction and Quantification of Saxitoxin**

The saxitoxins (saxitoxin-STX, Gonyautoxins-GTX and C-toxins) were analyzed by HPLC with the pre-oxidation technique following Lawrence *et al.* (1991, 1995, 1996) and Lawrence & Ménard (1991), adapted to cyanobacterial cells extraction. The toxins extraction in the seston was performed with acetic acid in 0.5M in a shaker for



1 hour. The supernatant was evaporated and re-suspended in 1ml 5% acetic acid. The reaction with peroxide was done in 100 $\mu$ L of the extract by adding 250 $\mu$ l NaOH 1M followed by 25 $\mu$ L 5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The solution was stirred and allowed to react for 10 minutes room temperature. Then, 20 $\mu$ L of acetic acid was added to the solution and submitted to analysis by HPLC. The reaction with periodate was run with a solution prepared with periodic acid 0.03M, ammonium phormiate 0.3M and Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3M (1:1:1 v/v) and adjusted the pH to 8.2 with NaOH 0.2M. 500 $\mu$ L of this solution was added to 100 $\mu$ L of the extract, then stirred and allowed to react for 10 minutes in room temperature. Finally, 10 $\mu$ L of acetic acid was added and the samples were analyzed by HPLC.

The analytical conditions included a pump (LC 10AT vP), a controller (SCL-10<sup>A</sup> VP) and a injector with 20  $\mu$ L Loop. A fluorescence detector (RT-10 A XL) with 330 nm excitation and 400nm emission wave lengths was used to monitor the effluent. A LC-18 column (15cmx4.6mm, 5 $\mu$ m) was used with partition level. The mobile phase had an acetonitrile gradient: ammonium phormiate 0.1M (v/v), adjusted to pH 6.0, varying from 0-1% in the first 15 minutes and 1-4% in the last seven minutes. The flow rate was 1mL.min<sup>-1</sup>.

### **Extraction and Quantification of Cyindrospermopsins (CYL)**

Cyindrospermopsin analysis was conducted according to Harada *et al.* (1994) and Hawkins *et al.* (1997). The extraction was obtained with addition of 5% acetic acid to the samples while stirred for 1 hour, followed by centrifuged for 10 min at 4000g, followed by chromatografic analysis using a Allsphere ODS-2  $\mu$ m, 250 x 4,6 mm internal diameter column (Altech) and detection at 262 nm. The retention times and UV

spectrum (200-300nm) of the major peaks were compared with cylindrospermopsin standard kindly provided by Dr. Assaf Sukenik (Kinneret Institute, Haifa, Israel). A linear gradient was used from 0 to 5% methanol in deionized water for 10 minutes, followed by isocratic conditions of 5% methanol for further 10 minutes. The samples that showed similar peaks were co-eluted with the standard and re-analyzed to confirm the presence of the toxin.

## RESULTS

The phytoplankton community of Armando Ribeiro Gonçalves reservoir presented a cyanobacterial dominance of 90-100% of the total phytoplankton density in the crude water during the year 2000. Mixed blooms of cyanobacteria were composed almost exclusively by variety of *Microcystis* spp (*Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* and *M. novacekii*), *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon* spp (*Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issastschenkoi*) alternating their dominance during the studied period (table I).

The total cyanobacterial density in the crude water collected at the Armando Ribeiro Gonçalves reservoir, varied between 3 and 6 log.cel/mL, corresponding to  $9,08 \times 10^4$  and  $8,2 \times 10^5$  cells/mL, during the studied period (Fig. 1).

Our results revealed the presence of microcystins and saxitoxin. However, it was not possible to confirm the occurrence of cylindrospermopsin in any of the analyzed samples. Maximum values of  $3.14 \mu\text{g L}^{-1}$  of saxitoxin and  $8,8 \mu\text{g L}^{-1}$  of microcistin were found in the seston samples of the crude water at Armando Ribeiro Gonçalves reservoir (fig. 1). The saxitoxins type C1 and C2 were the most predominate constituting 30-50%

of all the saxitoxins found in our analyses, followed by GTX, B1 and STX (data not shown).

The highest concentrations of saxitoxins were found when *Cylindrospermopsis raciborskii* occurred in highest densities, during the rainy season (April/May) (Fig.1). Blooms of *Microcystis* spp and microcystins were also detected in this period, lasting until July (Fig.1).

Density of total cyanobacteria averaged 4 log.cel/mL (between  $2.2 \times 10^4$  and  $6.2 \times 10^4$  cells/mL) in both the Pataxo Channel crude water and in the treated water. However, the microcystins and saxitoxins concentrations were below recommended levels for drinking water (fig. 2).

## DISCUSSION

Eutrophication in freshwater environments frequently stimulates the blooms of both toxic and non-toxic cyanobacteria. The toxic effect of *Microcystis*, *Cylindrospermopsis* and *Anabaena* was already studied both in natural and unialgal cultures (Falconer 2001; Sivonen & Jones 1999). The present work reports the presence of high density of potentially toxic cyanobacterial cells, and the presence of microcystins and saxitoxins in crude water's seston samples from Armando Ribeiro Gonçalves reservoir, Pataxo Channel, and treated water distributed through this system.

During this study a constant development of toxic cyanobacteria blooms occurred, but with varying species composition. *Cylindrospermopsis raciborskii* dominated in the rain period, while *Microcystis* spp dominated in the end of the rainy season and in the intermediary period, and *Aphanizomenon* spp in the dry period mixed with similar density another cyanobacteria.

The abundance and persistent species cyanobacterial dominance is closely linked to the high levels of eutrophication in the studied reservoir (Costa 1996, 1999). Other reservoirs located at Brazilian semi-arid have also shown to present frequent blooms of cyanobacteria, such as *Microcystis*, *Aphanizomenon* and *Anabaena* mixed with *Cylindrospermopsis raciborski*, which form high biomass (with 90-100% dominance) from November to April in most of these environments (Bouvy *et al.*, 1999, Bouvy *et al.* 2000, Huszar *et al.* 2000).

The cyanobacterial density during the studied period exceeded the recommended levels for drinking water (<  $2 \times 10^3$  cells/ml) according to OMS (Chorus & Bartram 1999), and also the limit set by the Brazilian Health Ministry ( $20 \times 10^3$  cell/ml). The presence of a great number of *C. raciborskii* and *Microcystis* spp cells in the treated water indicates great inefficiency in the filtering system of the water treatment station.

The present study reveals that highest concentrations of saxitoxin and microcystins coincided with the blooms of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis* spp, suggesting undoubtedly the dominance of potentially toxin producing species in the studied reservoir. The production of saxitoxin, microcystin and cylindrospermopsin has been demonstrated both from natural populations and cultured cyanobacteria in many regions of the world including Brazil (Falconer 2001; Jochimsen *et al.* 1998; Azevedo *et al.* 1994).

In this study we observed three distinct periods of species dominance of cyanobacteria and their toxin types and varied levels of toxin concentration. The rainy season was marked by the overwhelming dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* with higher levels of saxitoxin, followed by *Microcystis* spp in the transition period between rain and dry, and finally the co-existence of different cyanobacterial species in the

dry season. In the second half of May 2000, when *Microcystis* spp dominated over 90% of phytoplankton density, the maximum microcystin concentration ( $8.8\mu\text{g L}^{-1}$ ) was detected and the concomitant reduction of saxitoxins was observed. In July 2000, which represent the transition period, a less intense bloom of *Microcystis* species occurred and also decreasing levels of microcystin was found. In November (dry season) the phytoplankton was dominated by three co-existent dominating species of cyanobacteria, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp and *Aphanizomenon* spp then the concentrations of both microcystins and saxitoxins were very low.

The *C. raciborskii* blooms associated to the presence of high saxitoxins concentrations observed in this study, suggest the production of saxitoxins by this species, as has already been demonstrated in others freshwater environments in Brazil (Lagos *et al.* 1999 and Molica *et al.* 2002). However, in future researches, it will be necessary to confirm the origin of this toxin by means of saxitoxin analysis on monospecific cultures isolated from the studied sites.

The toxicologic studies by Fitzgerald *et al.* (1999) suggested  $3\mu\text{g.L}^{-1}$  as a limit of saxitoxins for human consumption based on 60/kg weight of an individual and 2 L daily water consumption. This limit has already been adopted as recommended in the new resolution of the Brazilian Health Ministry (1469 29/12/2000) in relation to water quality for human consumption. It was also established that the maximum acceptable for microcystin is  $1\mu\text{g/L}$  in drinking water in Brazil.

Our results revealed  $8.8\mu\text{g l}^{-1}$  e  $0,16\mu\text{g/L}$  as peaks of microcystins in crude and treated water, respectively. This demonstrates that the local water treatment has been quite efficient in removing the toxin from the water. However, the occurrence of  $8.8\mu\text{g L}^{-1}$  in raw water exposes at least part of the local population, which used untreated water

directly from the Pataxó Channel, to high doses of these toxins. This situation should be considered as a serious threat to public health, once the prolonged exposure to microcystins can determine higher incidence of hepatic cancer (Chorus & Bartran 1999, Azevedo 1998). The exposure of local population through accumulation of microtoxins in the fish musculature has also to be considered (Magalhães *et al.* 2001).

The presence of saxitoxins in the reservoir water during this study, as in other reservoirs in Rio Grande do Norte State (Costa *et al.* 2003a,b) and in Pernambuco State (Molica *et al.* 2002), serve as an alert to the fact that saxitotoxins may be more widely distributed in freshwater than we had knowledge of, specially in the Northeast Brazil.

From our results it was not possible to establish a correlation between cyanobacteria densities and cyanotoxin concentration, condition that would allow us to indicate the better/worse season regarding toxin exposure for human populations. Nevertheless, we evidence smaller number of cyanobacteria cells in the Pataxo Channel waters, as well as the occurrence of less toxic and intense blooms, associated to the period of larger higher water column rainy season which favored the emerge of other phytoplakton species.

These evidences suggests the possibility of use of mitigation measures to solve the problem of cyanobacteria blooms at Armando Ribeiro Gonçalves reservoir. The choice of a management technique by physical mix processes in the collect points of water in the treatment stations could reduce significantly the number of cyanobacteria cells in the reservoir.

The occurrence of toxic cyanobacteria blooms registered in this and other studies (Costa *et al.* 2003a,b) points out the permanent risk of cyanotoxins in supply

waters, not only in the Armando Ribeiro Gonçalves reservoir but also in others reservoirs at Rio Grande do Norte State. Therefore, there is a eminent urge to regularly monitor these systems in order to guide the population, prevent, and control toxic cyanobacterial blooms. Besides, the need for further investigations on the density of cyanobacteria and cyanotoxins in other the rivers and reservoirs at Rio Grande do Norte State are recommended.

### **Acknowledgements**

The Brazilian Government through CNPq (Nacional Research Council) awarded I.A.S.C. with a PhD grant. We are also indebted to Dr. Renata Panosso for improving the English text.

### **REFERENCES**

AZEVEDO, S.M.F.O. 1996. Current studies on toxic cyanobacteria in Brazil.XII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu,pMG, p.40.

AZEVEDO, S. M. F. O. 1998. Toxinas de cianobactérias: Causas e conseqüências para a saúde pública. *Medicina on line*, (1):3:1-19.

AZEVEDO, S. M. F. O.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; NAMIKOSHI, M. 1994. First Report of Microcystis from a Brazilian isolate of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Appl. Phycol.*, 6: 261-265. Belgium

AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. 2002. Humam intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru – Brazil. *Toxicology*, 1-7. (IN PRESS).

BAKER, P. D. & HUMPAGE, A. R. 1994. Toxicity associated with commonly occurring cyanobacteria in surface waters of Murray-Darling Basin, Australia. *Aust.Jour.Marine and Freshwat.Res.*, 45: 773-786.

BOUVY, M.; MOLICA, R.; OLIVEIRA, S.; MARINHO, M.; BEKER, B. 1999. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of Northeast Brazil. *Aquatic. Microbi Ecol.*, 20: 285-297.

BOUVY, M.; FALCÃO, D.; MARINHO, M.; PAGANO, M.; MOURA, A. 2000. Ocurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. *Aquat. Microb. Ecol.*, 23: 13-27.

CARMICHAEL, W. W. 2001. Health effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and Ecological Risk Assessment*, 7(5): 1393-1407.

CHELLAPPA, N. T. 1990. Phytoplankton species composition, chlorophyll biomass, and primary productivity of Jundiaí reservoir, northeast Brazil before and after eutrophication. *Acta Hydrobiologia*, 32: 75-91.



CHELLAPPA, N. T.; AMORIM, J. .M. .F.; BEZERRA, T. A., CID, V.; COSTA, I. A. 1996. Studies on the microalgae of Rio grande de Norte: A comparison of the phytoplankton assemblages of an oligotrophic and eutrophic lakes, Brazil. *Beih. Nova Hedwigia* 65: 513-524. Stuttgart.

CHELLAPPA, N. T.; COSTA, M. A. M.; MARINHO, I. R. 2000. Harmful cyanobacterial blooms from semiarid freshwater ecosystems of North-East Brazil. Australia. *Aust. Soc. Limnol.*, 38:2, 45-49. Newsletter.

CHORUS, I. & BARTRAM, J. 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water*. E &FN Spon, Londres, 416p.

COSTA. I. A. S. Estudos das microalgas em relação a diversidade, dominância, biomassa de clorofila e produtividade primária na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN. Natal, RN 1996. 62p. Monografia. (Especialização em bioecologia aquática). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 1996.

COSTA. I. A. S. *Ecologia Dinâmica da Comunidade Fitoplanctônica da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN*, 158p. Dissertação de Mestrado (Bioecologia Aquática)-Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1999.

COSTA I. A. S.; CHELLAPPA, N. T.; ARAÚJO, M. F. F. 1998. Estudo do Fitoplâncton da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN. *Acta Limnologica Brasiliensis*, 10(1): 67-80.

COSTA, I. A. S.; ARAÚJO, M. F. F.; CHELLAPPA N. T. 2001a. Algas como bioindicadoras do nível trófico da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN. *VII CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA* 02-06 de Setembro 2001- João Pessoa, PB. RESUMO. p 22.

COSTA, I. A. S.; AZEVEDO, S. M. F. O; SENNA, P. A.; CHELLAPPA, N. T. 2001b. Ocorrência de Cianotoxinas em Florações de Cianobactérias na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves (Rio Grande do Norte, Brasil). *VII CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA* 02-06 de Setembro 2001-João Pessoa, PB. RESUMO. p.106.

COSTA, I. A. S.; ARAÚJO, M. F. F.; CHELLAPPA, N. T. 2001b. Contribution to our knowledge of Cyanobacteria from Brasil. Toxin producing species from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State. *ABSTRACT BOOK, PLANKTON SIMPOSIUM* - 20-22 de setembro de 2001 - Espinho-Portugal. p.1999.

COSTA, I. A. S.; CALAZANS, M. A. D.; MEDEIROS, F. B. B.; FREIRE, V. M.; BEZERRA, R. M. 2003a. Prevalência de cianobactérias em mananciais de abastecimento público no Estado do Rio Grande do Norte. IX Congresso Brasileiro de Limnologia. Resumo.

COSTA, I. A. S.; PANOSSO, R. SOUZA; S. R.MORALES C.; AZEVEDO, S. M. F.O. 2003b. Ocorrência de cianobactérias potencialmente e cianotoxinas em ambientes Aquáticos do Estado do Rio Grande do Norte. IX Congresso Brasileiro de Limnologia. Resumo.

FALCONER, I. R. 2001. Toxic Cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. *Phycology* , 40: 228-233.

FITZGERALD, D. J.; CUNLIFFE, D. A.; BURCH, M. D. 1999. Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia. *Environmental Toxicology*, 14(1): 203-207.

HARADA, K. I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANAB, M.; TERÃO, K. 1994. Isolation of Cylindrospermopsin from a cyanobacterium, *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicon*, 32 (1): 73-84.

HAWKINS, P. R.; CHANDRACENA, N. R.; JONES, G. J.; HUMPAGE, A. R.; FALCONER, I. R. 1997. Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon*, 35: 341-346.

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

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; NA, J.; CARDO, D. .M.; COOKSON S. T.; HOLMES, C. M. D.; ANTUNES, M. B. D.; DE MELO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO S. M. F. O.; JARVIS, W. R. 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialyses center in Brazil. *New England Journal of Medicine*, 338: 873-878.

KRISHNAMURTHY, T.; CARMICHAEL, W. W. & SARVER, E. W. 1986. Toxic peptides from freshwater cyanobacteria (blue-green algae). I. Isolation, Purification and charactererization of peptides from *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon*, 24: 865-873.

LAGOS, N.; ONODERA, H.; ZAGATTO, P. A.; ANDRINOLO, D.; AZEVEDO, S. M. F. O.; OSHIMA, Y. 1999. The first evidence of pralaytic shellfish toxins in the freswater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brasil. *Toxicon*, 37:1359-1373.

LAWRENCE, J. F.; MÉNARD, C.; CLEROUX, C. 1995. Evaluation of prechromatographic oxidation for liquid chromatographic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish. *Journal of AOAC International*, 78(2): 514-520.

LAWRENCE, J. F. & MENARD, C. 1991. Liquid chromatographic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish after prechromatographic oxidation. *Journal AOAC International*, 74(6): 1006-10012.

LAWRENCE, J. F.; MÉNARD, C.; CHARBONNEAU, C. F.; HALL, S. 1991. A study of ten toxins associated with paralytic shellfish poison using prechromatographic oxidation and liquid chromatographic with detection fluorescence. *Journal of AOAC International*, 74(2): 404-409.

LAWRENCE, J. F.; WONG, B.; MÉNARD, C. 1996. Determination of carbomoyl saxitoxin and its analogues in shellfish by prechromatographic oxidation and liquid chromatographic with fluorescence detection. *Journal of AOAC International*, 79(5): 1111-1115.

LUND, J. W. G.; KIPLING; LECREN, E. D. 1958. The inverted microscope method of estimating algae number and the statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia*, 11: 143-170.

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

MOLICA, R.; ONODERA, H.; GARCIA, C.; RIVAS, M.; ANDRINOLO, D.; NASCIMENTO, S.; MEGURO, H., OSHIMA, Y.; AZEVEDO, S.; LAGOS, N. 2002. Toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) isolated from Tabocas reservoir in Caruaru, Brazil, including demonstration of a new saxitoxin analogue. *Phycologia*, 41(6): 606-611.

NASELLI-FLORES, 1999. Limnological aspects of sicilian reservoirs: A comparative, Ecosystemic Approach In: Theoretical Reservoir Ecology and its Applications (Eds) J.G. Tundisi and M. Straskabra) international Inst. Of Ecology Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers pp. 238-311.

PORFIRIO, Z.; RIBEIRO, P. M.; ESTEVAN, C. S.; RICARDO, L. .S.; SANTANA, A. E. G. 1999. Hepatosplenomegaly caused by na extract of Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* bloom collected in the Manguaba Lagoon, Alagoas- Brazil. *Revista de Microbiologia*, 30: 278-285.

SIVONEN, K. & G. JONES, 1999. Cyanobacterial toxins. In: Chorus, I. & J. Bartram (ed.) – Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management. World Health Organization, London and New York, p. 41-111.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E. 1993. Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia. *Bol. Sanit. Panam.* 114(6): 502-511.

TUNDISI, J. G. & MATSUMARA-TUNDISI, T. 1992. Eutrophication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives: *In: Cordeiro-Marino (Ed.) Algae and Environment: A general Approach. Brazilian Phycological Society*, 1-33.

YUNES, J. S.; SALOMON, P. S.; MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K. A.; RAGGETT, S. L.; CODD, G. A. 1996. Blooms of cyanobacteria in the Patos Lagoon estuary, In Southern Brazil. *J. Aquatic Ecosystem Health*, 5: 223-229.

Tab. I. Dominant and subdominant cyanobacteria in the plankton samples at the Armando Ribeiro Gonçalves reservoir. Dominance was assigned arbitrarily to one or more species that were estimated to constitute > 50% of the total phytoplankton density.

(1-15/april/2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Microcystis spp</i>	□
(16/30/april/2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Microcystis spp</i>	□
(1-15/mayo/2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Microcystis spp</i>	□
(16/30/may/2000)	<i>Microcystis spp</i>	■
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	□
(july/2000)	<i>Microcystis spp</i>	■
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	□
(1-15/november/2000)	<i>Aphanizomenon spp</i>	■
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	□
(16/30/november/2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Aphanizomenon spp</i>	□
(1-15december//2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Aphanizomenon spp</i>	□
(16/30/december/2000)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	■
	<i>Aphanizomenon spp</i>	□

■dominant    □subdominant



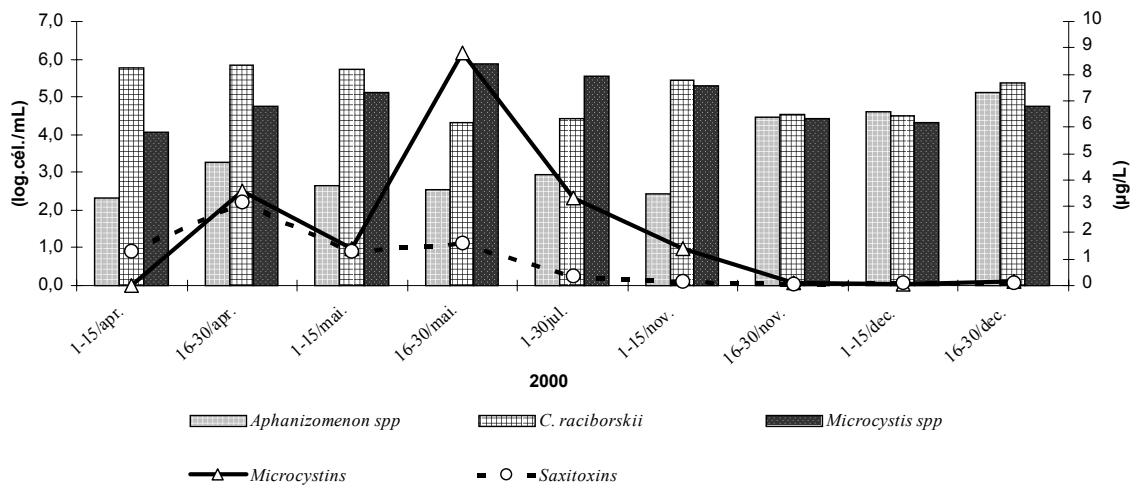


Figure 1. Cyanobacterial density (log cells.mL<sup>-1</sup>), microcystins and saxitoxins concentration (µ.L<sup>-1</sup>) in the reservoir in the studied period.

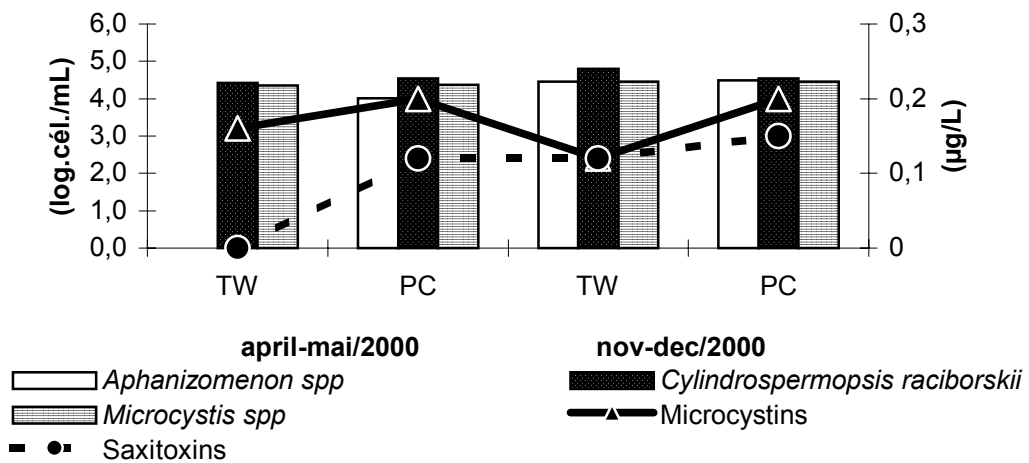
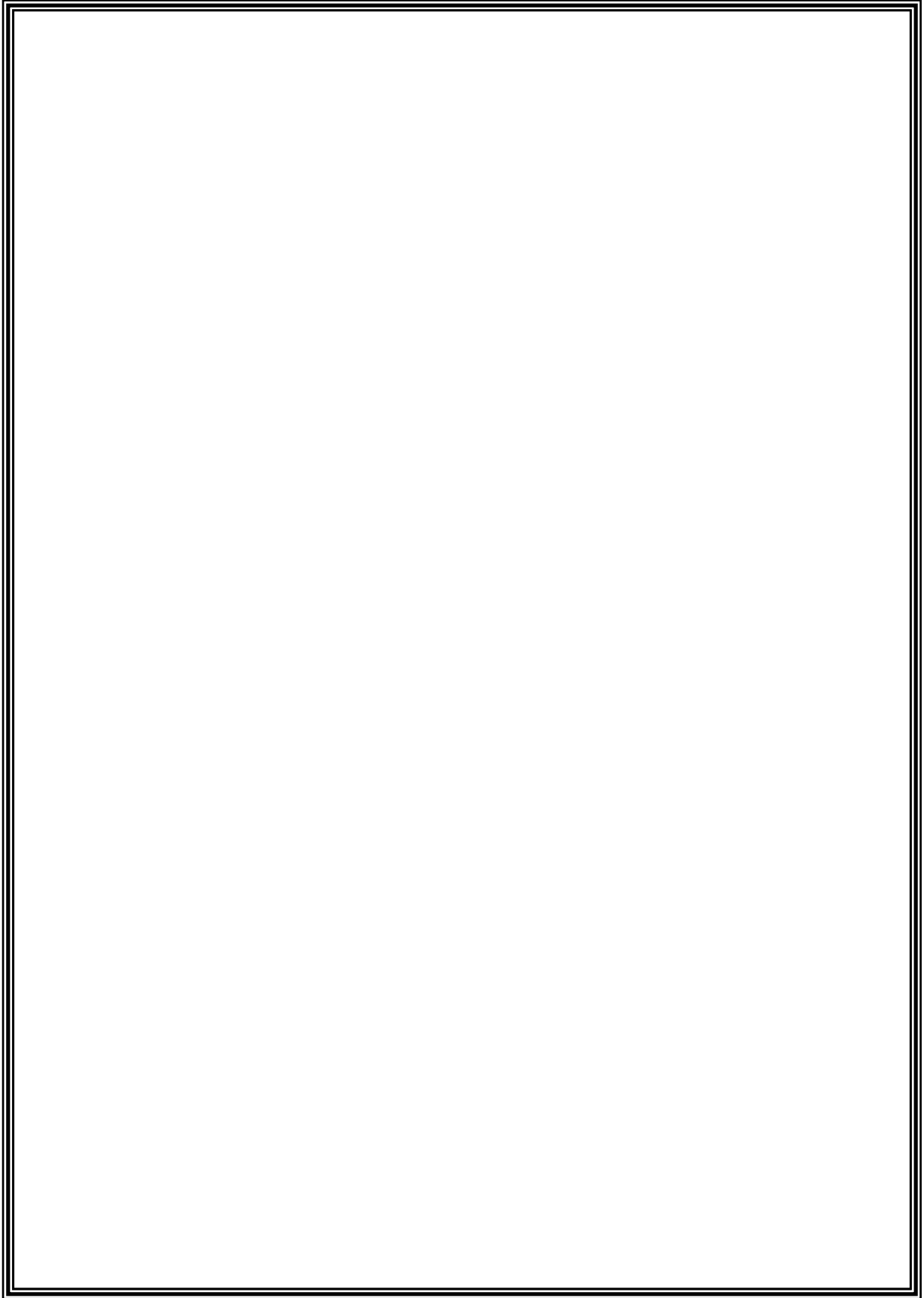


Figure. 2. Cyanobacterial density (log.cells.mL<sup>-1</sup>), microcystins and saxitoxins concentration (µ.L<sup>-1</sup>) in the treated water (TW) and Pataxo Channel (PC) in the studied period.



## ARTIGO III

### **Dinâmica de populações de cianobactérias em curtos intervalos de tempo em um reservatório eutrofizado do semi-árido brasileiro**

---

COSTA, I.A.S\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Centro de Biociências – Campus Universitário, Lagoa Nova e-mail: [iasoares@uol.com.br](mailto:iasoares@uol.com.br).

## RESUMO

O presente trabalho reporta aspectos ecológicos do fitoplâncton e em particular a dominância de cianobactérias no reservatório Armando Ribeiro Gonçalves (06°08' S ; 37° 07' W) localizado no semi-árido brasileiro. Tem capacidade volumétrica de  $2,4 \times 10^9 \text{ m}^3$  e representa 68% do total de água de superfície acumulada no estado, abastecendo 400 mil habitantes. Fatores climáticos, hidrológicos, físicos e químicos, que regulam o padrão temporal de populações de cianobactérias, foram investigados em um ciclo anual de 2000. As amostras foram coletadas a cada quatro dias em época de chuvas e de estiagem. O biovolume celular foi usado como expressão de biomassa fitoplanctônica e também foram estimadas a diversidade, equitabilidade e abundância dos organismos. O reservatório apresentou circulação polimítica, com estratificações no período de chuvas e isoterminia na estiagem. As variáveis ambientais de maior influência na distribuição das cianobactérias foram o nitrogênio, fósforo,  $\text{CO}_2$ ,  $Z_{\text{eu}}$ , chuvas e vento. Identificamos 28 táxons do fitoplâncton, 19 de cianobactérias (68%), 5 clorofíceas (18%) e 4 diatomáceas (14%). Dentre as cianobactérias, 50% são potencialmente tóxicas. Espécies de *Aphanizomenon* sp (*Aphanizomenon manguinii*, *A. gracile*, *A. issatschenkoi*), *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis* spp (*M. panniformis*, *M. protocystis*, *M. navacekii*) tiveram alta biomassa (90-97%) e formaram florações intensas e alternadas durante o ciclo anual. Utilizando a abordagem de grupos funcionais proposta por Reynolds *et al.* (2000) identificamos que *Cylindrospermopsis* (**Sn**) dominou na ocorrência de chuvas, estratificação, ventos fracos, baixa  $Z_{\text{eu}}$ , baixos níveis de  $\text{NO}_3^-$  e PSR e alto de  $\text{NH}_4^+$  e N:P. *Microcystis* spp (**M**) dominou no início de desestratificação e de estiagem, maior  $Z_{\text{eu}}$ , baixos níveis de  $\text{NO}_3^-$  e PSR e altos níveis de  $\text{NH}_4^+$  e N:P. Ambas mostraram-se mais eficientes na exploração dos recursos. Na estiagem, período de mescla total da coluna d'água, baixa  $Z_{\text{eu}}$ , altos valores de  $\text{NO}_3^-$ , PSR e baixos de  $\text{NH}_4^+$  e N:P, espécies de associações **H** (*Aphanizomenon* sp, *Anabaena* spp), **S<sub>1</sub>** (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*) e diatomáceas (**P**), adaptadas a viverem em ambientes com deficiência de luz, coexistiram mantendo maior uniformidade na distribuição da biomassa.

Palavras chave: Reservatório, semi-árido, eutrofização, fitoplâncton, cianobactérias,

## ABSTRACT

The present paper outlines the aspects of ecology of phytoplankton, and in particular, the dominance of cyanobacterial population in Armando Ribeiro Gonçalves reservoir (06°08' S ; 37° 07' W) located in the semi-arid of Brazil. The capacity of the reservoir is  $2,4 \times 10^9 \text{ m}^3$  and it represents 68% of the total surface water, which offers water supply to 400.000 inhabitants. Climatic, hydrological, physical and chemical parameters that regulates the temporal patterns of cyanobacteria populations were investigated for the annual cycle of 2000. The samplings were taken intensively during four days, which included both wet and dry season. Cellular biovolume was used as an expression of the phytoplanktonic biomass and also the diversity, equitability and abundance of organisms were estimated. The reservoir presented polymictic circulation and stratification observed during rainy season and isothermy in the dry season. The environmental parameters that most influenced the cyanobacteria distribution were nitrogen, phosphorus,  $\text{CO}_2$ ,  $Z_{\text{eu}}$ , rain and wind. We identified 28 taxa of phytoplankton: 19 Cyanobacteria (68%); 5 Chlorophyceae (18%) and 4 diatomaceae (14%). Among the Cyanobacteria 50% are potentially toxic. *Aphanizomenon* sp (*Aphanizomenon manguinii*, *A. gracile*, *A. issatschenkoi*), *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis* spp (*M. panniformis*, *M. protocystis*, *M. navacekii*) showed high biomass (90-97%) and formed intense blooms which alternated during the annual cycle. Using the functional groups approach proposed by Reynolds *et al.* (2000), we have identified the *Cylindrospermopsis* (Sn) dominance during rains, stratification, slow winds, low  $Z_{\text{eu}}$ , low  $\text{NO}_3^-$  and PSR levels and high  $\text{NH}_4^+$  and N:P levels. *Microcystis* spp (M) dominated in the beginning of stratification and drought, higher  $Z_{\text{eu}}$ , low  $\text{NO}_3^-$  e PSR levels and high  $\text{NH}_4^+$  e N:P levels. Both showed more efficiency in the resource exploitation. During the drought, period of water column mixing, low  $Z_{\text{eu}}$ , high  $\text{NO}_3^-$ , PSR levels and low  $\text{NH}_4^+$  e N:P levels occurred. Association of H (*Aphanizomenon* sp, *Anabaena* spp),  $S_1$  (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*), as well as  $S_1$  (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*) and diatomáceas (P) species, all adapted to poor light environment, coexisted but maintaining larger uniformity in the biomass distribution.

Key words: Reservoir, semi-arid, eutrophication, phytoplankton, cyanobacteria.

## INTRODUÇÃO

As alterações ambientais estão ligadas a diversos eventos, que vão desde o incremento populacional à utilização excessiva de recursos (Straskraba & Tundisi 1999). O desenvolvimento tecnológico e a globalização cada vez mais intensa demandam conhecimentos consistentes sobre a limnologia de reservatórios, os quais são de fundamental importância para aperfeiçoar o gerenciamento da qualidade da água. Neste sentido, estudos sobre a comunidade fitoplanctônica têm despertado grande interesse científico não somente devido à sua vasta distribuição e condição de produtores primários na cadeia trófica (Davis 1955), mas também por responder prontamente às mudanças do ambiente, funcionando como um refinado sensor das variações ambientais (Margalef 1983).

As cianobactérias formam um grupo importante dentro do fitoplâncton de água doce compondo vários gêneros amplamente distribuídos pelo mundo (Gibson & Smith 1982). Em condições naturais as cianobactérias convivem de forma equilibrada com os demais organismos, porém são muito bem adaptadas e tolerantes a ambientes extremos (Brock 1972). Para isso utilizam vários mecanismos de adaptação para sobrevivência que lhes conferem vantagens competitivas, tornando-as dominantes e persistentes em corpos d'água com diferentes estados tróficos. Tais características consistem principalmente na capacidade de produção de pigmentos acessórios necessários para absorção mais eficiente de luz em qualquer habitat, fixar nitrogênio atmosférico, habilidade em armazenar nutrientes essenciais e metabólicos e acumular gás em vacúolos no citoplasma (aerótopos) que permitem a sua flutuabilidade na coluna d'água (Canfield *et al.* 1989; Blomqvist *et al.* 1994; Huszar & Caraco 1998). Ocorrem frequentemente em condições eutróficas, por

vezes desenvolvendo florações tóxicas, contaminando a água e tornando-a imprópria para o consumo humano, além de acarretar danos à biota aquática (Bartran *et al.* 1999; Carmichael 2001).

Grupos funcionais, requerimentos para crescimento e estratégias adaptativas do fitoplâncton de água doce são descritos detalhadamente por Reynolds (1988,1994,1997,1998), Reynolds *et al.* (2002) e Harris (1980,1986). Lund (1965) investigou a influência de fatores físico-químicos e micronutrientes para o crescimento e reprodução de fitoplâncton em lagos tropicais. Hutchinson ( 1961, 1967) por sua vez chamou a atenção com a teoria do paradoxo do plâncton e aborda diversos aspectos sobre ecologia do limnofitoplâncton. Melack (1981) reporta sobre a atividade fotossintética do fitoplâncton em lagos africanos e outros estudos pioneiros realizados pelos seguidores de Tilman *et al.* (1982) demonstram que as razões N:P podem explicar a sucessão do fitoplâncton nos lagos (Sommer 1989, 1999; Sommer *et al.* 1986; Reynolds 1999).

Estudos recentes em ecossistemas de água doce têm evidenciado o uso de características biológicas para incluir espécies em grupos coerentes não taxonômicos (Huszar & Caraco 1998; Marinho & Huszar (no prelo). O conceito de modelo de habitat, inicialmente proposto por Southwood (1977) para animais, tem sido aplicado como base para o fitoplâncton, considerando um certo número de eixos ambientais diagnósticos para diferenciar atributos e adaptações de espécies. Aplicando o modelo de estratégias adaptativas de espécies (C-invasivas, S-stress-tolerantes e R-ruderais) inicialmente proposta por Grime (1977,1979) para vegetação terrestre, Reynolds (1980,1997) e Reynolds *et al.* (2002) agruparam a vegetação pelágica de acordo com as características comuns em 31 associações descritoras de diferentes condições ambientais, das quais onze incluem as cianobactérias.

De acordo com Huszar & Silva (1999) estudos sobre fitoplâncton no Brasil estão contidos em 164 publicações, abrangendo 134 sistemas, dos quais 44 têm sua sazonalidade conhecida. Estes resultados evidenciam o importante papel assumido pelas cianobactérias nos nossos ecossistemas aquáticos, que em períodos de maior biomassa ou densidade dominaram 52% dos 44 sistemas amostrados. Nestes ambientes, a ecologia da comunidade fitoplanctônica dos reservatórios tornou-se melhor conhecida, sendo representada por 69 trabalhos, dos quais dois se referem à região nordeste (Barbieri et al. 1989, Silva et al. 1997). Apesar dos estudos realizados no Rio grande do Norte não estarem incluídos nesta revisão é importante citar os trabalhos sobre ecologia de fitoplâncton realizados neste Estado há uma década e meia por Chellappa (1990) and Chellappa et al. (1996, 1998, 2000). Tais trabalhos foram desenvolvidos em ambientes estuarinos, lagoas, reservatórios artificiais e rios. Na sua maioria evidenciam processos de eutrofização e dominância considerável de cianobactérias.

Pesquisas recentes na região nordeste do Brasil vem dando importante contribuição aos estudos sobre eutrofização e florações de cianobactérias, os quais foram realizados em diferentes sistemas limnéticos no semi-árido de Pernambuco e Rio Grande do Norte (Huszar et al. 2000; Bouvy et al. 1999; 2000; Chellappa 1990; Chellappa et al. 1996, 1998, 2000). Tais estudos evidenciaram a rápida invasão e dominância de *Cylindrospermopsis raciborski* nessas regiões de grande escassez de água.

Estudos sobre a comunidade fitoplanctônica realizados na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves revelaram a dominância de cianobactérias. Foram atribuídas como possíveis causas a intensa utilização de agro-fertilizantes e longos períodos de estiagem na região, associados ao elevado tempo de residência da água proporcionando



estados de eutrofização e favorecendo a sua dominância no reservatório (Costa 1996,1998,1999).

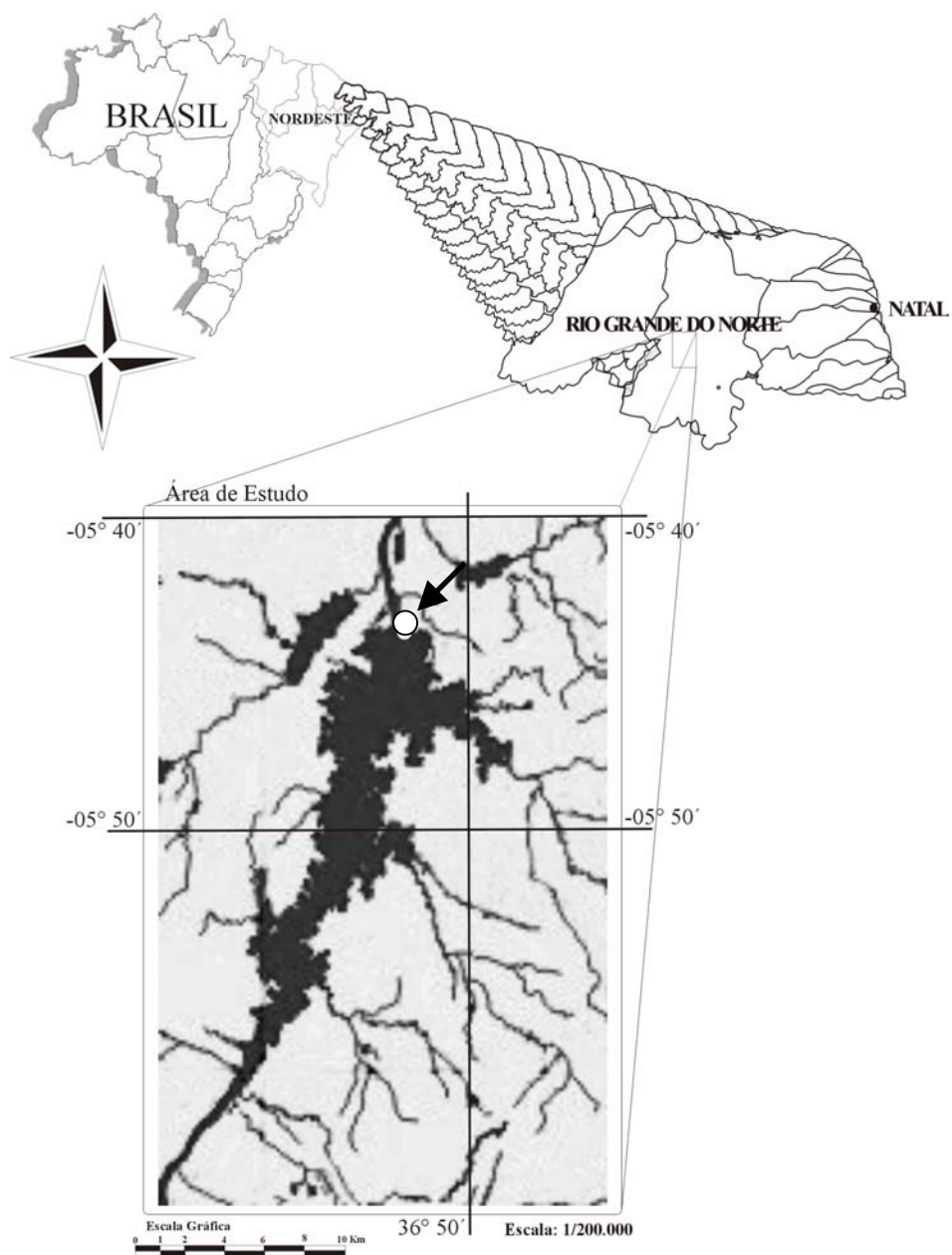
O propósito deste trabalho é reconhecer os padrões temporais de populações de cianobactérias e os fatores ambientais que regulam a sua dominância.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

O açude Armando Ribeiro Gonçalves (05°14'30'', 06°08'30'' S e 36°43'00'', 37°07'00'' W) localiza-se no estado do Rio Grande do Norte (Figura 1). É considerado o maior reservatório destinado a irrigação da América Latina e o segundo maior para múltiplas utilizações do nordeste do país. Com capacidade volumétrica máxima de  $2.4 \times 10^9 \text{ m}^3$ , representa 68% do total de água de superfície acumulada no estado, profundidade média de 12,3m e máxima de 33m. Destina-se ao abastecimento de água para 400 mil habitantes, usos de pesca, aquicultura, irrigação e recreação.

A região possui grande déficit hídrico, temperaturas elevadas com pequena amplitude térmica anual, precipitação média anual de 350-550 mm. As chuvas são escassas e concentradas de abril a maio, com distribuição muito irregular, caracterizando um período de poucas chuvas (fevereiro - maio) e o restante de total estiagem.



**Figura 1** - Localização e estação de coletas na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves no período estudado.

## Amostragem

O estudo foi realizado na época de chuvas (abril-maio/2000), em um período intermediário entre chuvas e estiagem (final de maio até julho/2000) e de estiagem total (novembro-dezembro/2000). As amostras de água (n=22) foram coletadas em curtos intervalos de tempo, a cada 4 dias, em único ponto na superfície, a 10%, e 1% de luz, a 5m e 10m de profundidade e fundo, com garrafa de Van Dorn a 300 metros do talude principal da barragem.

## Variáveis físicas, químicas e climáticas

Foram determinados o pH, condutividade elétrica, temperatura da água, oxigênio dissolvido (Golterman *et al.*; 1978), alcalinidade (Golterman *et al.* 1978), CO<sub>2</sub> total, CO<sub>2</sub> livre e total, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>-</sup>, (Mackereth *et al.* 1978), material em suspensão total, orgânico e inorgânico (Teixeira *et al.* 1965), Nitrato- $\mu\text{gN-NO}_3\text{-L}^{-1}$ (Mackereth *et al.* 1978), Nitrito- $\mu\text{gN-NO}_3\text{-L}^{-1}$ (Golterman *et al.*1978),amônio- $\mu\text{gN-NH}_4^+\text{L}^{-1}$  (Koroleff 1976), PSR- $\mu\text{gPSR L}^{-1}$  e PTD- $\mu\text{gPTD L}^{-1}$ , (Golterman *et al.*1978), NT- $\mu\text{gNT L}^{-1}$  e PT- $\mu\text{gPT L}^{-1}$ (Valderrama 1981). O índice do estado trófico (IET) foi calculado utilizando o índice de Carlson (1977) modificado para ambientes tropicais por Toledo Jr. *et al.* (1983). A zona eufótica ( $Z_{\text{euf}}$ ) foi calculada como 2,7 vezes a transparência da água medida com o disco de Secchi. A razão  $Z_{\text{euf}}/Z_{\text{max}}$  foi utilizada como índice de disponibilidade de luz na coluna da água (Jensen et al. 1994). A porcentagem de absorção vertical de luz (10%, e 1% ) foi estimada de acordo com Poole & Atkins (1929). Também foram analisados dados

climáticos (vento e temperatura do ar) e o tempo de residência da água foi calculado de acordo com Calijuri (1988).

### **Análise do fitoplâncton**

Amostras de água foram coletadas com rede de plâncton (20  $\mu\text{m}$ ) e fixadas com formol a 4% para análise qualitativa em microscopia convencional. Utilizando-se o sistema de classificação de Komárek & Anagnostidis (1986, 1995, 1998) para as Chroococcales, Anagnostidis & Komárek (1988) para as Oscillatoriales e Komárek & Anagnostidis (1989) para as Nostocales, as populações foram identificadas sempre que possível em nível infragenérico. Para as demais classes do fitoplâncton foram utilizadas: Round (1971) para as clorofíceas e Simonsen (1979) para as diatomáceas. Para a quantificação as amostras foram fixadas com lugol acético e as populações foram enumeradas em campos aleatórios (Uhelinger 1964), seguindo o método descrito por Utermhol (1958). Os indivíduos (células, colônias e filamentos) foram enumerados até atingir 100 espécimes da espécie predominante, seguido de 100 da sub-dominante, sendo o erro menor que 20%, a um coeficiente de confiança de 95% (Lund et al. 1958). Outros componentes do fitoplâncton também foram contabilizados para se estabelecer a proporção de dominância das cianobactérias em relação à comunidade fitoplanctônica. O biovolume ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) das espécies foi estimado como proposto por Hillebrand et al. (1999) e Edler (1979). Para diversidade específica ( $H'$ ) foi utilizado o índice de Shannon-Wiener (Shannon & Weaver 1963). A riqueza específica foi estimada pelo número de taxa na amostra e a equitabilidade segundo Pielou (1966 e 1975). Associações da comunidade fitoplanctônica seguiram as recomendações de Reynolds (1997 e 2002). A clorofila a foi

extraída com etanol a quente (90%), corrigida para feofitina e medida por espectrofotometria ( Lorenzen 1967).

### **Análise dos dados**

Análise de correspondência canônica (CCA) foi utilizada para determinar o padrão de distribuição das cianobactérias em relação aos fatores ambientais nos períodos estudados. A CCA é uma análise multivariada de gradiente direto que ordena os eixos por combinações lineares com as variáveis ambientais. A matriz das variáveis ambientais foi composta pelas seguintes variáveis: pH, zona eufótica ( $Z_{eu}$ ),  $CO_2$  livre, N:P, fósforo total dissolvido (PTD), nitrogênio total dissolvido (NTD). Para a matriz das espécies utilizamos os dados da biomassa de *Aphanizomenon* spp, *Microcystis* spp, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Snowella* cf. *lacustris*, outras cianobactérias, diatomáceas e clorofíceas. A significância das variáveis foi determinada pelo teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações,  $p < 0,05$ ). O teste foi realizado pelo programa CANOCO versão 3.1 (Ter Braak 1990).

Relações entre grupos e/ou espécies de fitoplâncton com variáveis ambientais foram avaliadas usando o teste de correlação de Spearman sendo consideradas significativas apenas as correlações ( $p < 0,05$ ) através do STATISTIC (versão 5. 1). Análise multivariada também foi utilizada para identificar o grau de significância de cada variável selecionada.

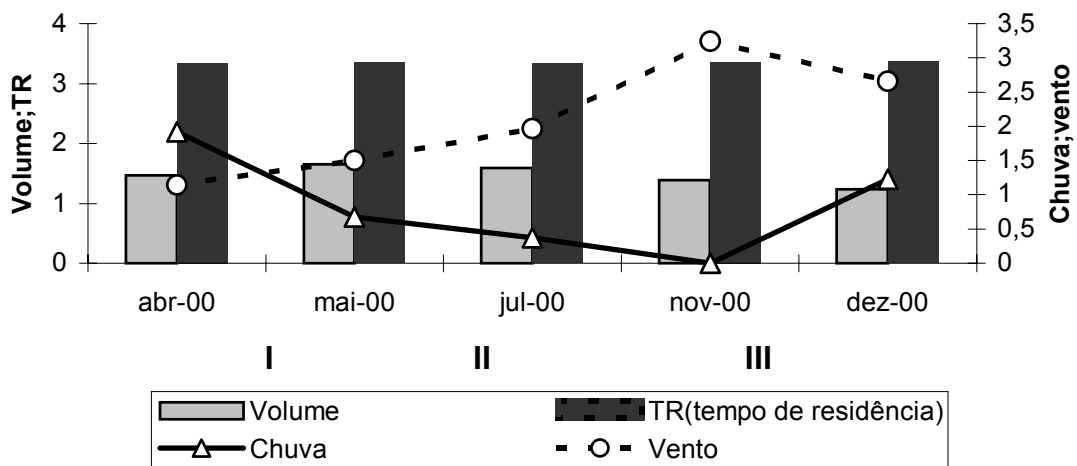
## RESULTADOS

A comunidade fitoplanctônica apresentou dominância de cianobactérias compostas por poucas espécies contribuindo com alta biomassa durante todo o estudo. Com base na variação da composição e biomassa das espécies de cianobactérias identificamos três períodos distintos (períodos I, II e III). O período I (04-abril/04-maio/2000), época de ocorrência de chuvas, foi caracterizado por valores maiores de biomassa e dominância de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Nos períodos II (08-maio/7-julho/2000) e III (17-novembro/23-dezembro/2000) houve menor biomassa e dominância de *Microcystis* spp e *Aphanizomenon* spp respectivamente. O período III destaca-se dos demais pela presença e maior contribuição de outras espécies de cianobactérias e de outros grupos do fitoplâncton (diatomáceas e clorofíceas). No período II (intermediário), inicia-se a estiagem e o período III é de estiagem total.

### Características climáticas e hidrológicas

No período em estudo as características hidrológicas do reservatório mostraram-se compatíveis com as condições climáticas locais e com os atributos de seu uso. A velocidade do vento foi significativa na separação dos três períodos. No período I o vento teve a mais baixa velocidade (1,1 m/s), seguida do período II (2m/s) e maior velocidade no período III (3,2 m/s). A temperatura média do ar foi de 28°C (máx.=30 °C ; mín.= 26.5 °C), sem grandes variações na amplitude, sendo menor nos períodos I e II (26.5 °C) e maior no período III (29°C). Poucas chuvas começaram a cair antes da época prevista para a região, iniciando no final de dezembro, com maiores precipitações em abril

(192mm). A estiagem teve início a partir de julho estendo-se até novembro. O volume do reservatório variou de  $1,24 \times 10^9 \text{ m}^3$  (dez./2000) a  $1,65 \times 10^9 \text{ m}^3$ (mai./2000), o que representa cerca de 50% de sua capacidade volumétrica total. O tempo médio de residência da água no reservatório foi de 3 anos sem variações significativas durante todo o estudo (Figura 2).



**Figura 2** - Variação das características climáticas e hidrológicas nos três períodos estudados: período I (04-abril/04-maio/2000); período II (08-maio/7-julho/2000); período III (17-novembro/23-dezembro/2000); (Volume  $\times 10^9 \text{ mm}^3$ ; TR em anos; chuva  $\times 10^2 \text{ mm}$ ; velocidade do vento em  $\text{m.s}^{-1}$ ).

## Variáveis físicas e químicas

Ocorreram pequenas amplitudes de variações na temperatura da água com mínima de 26,5 °C e máxima de 28 °C durante o estudo. No período I a diferença máxima de temperatura entre a superfície e o fundo foi de 2,5 °C e no período II, essa diferença variou de 0,5 a 1,5 °C. O período III distingue-se dos anteriores por apresentar a coluna da água isotérmica com temperatura de 27 °C. O oxigênio dissolvido na coluna d'água variou de 5,8 a 8,2 mg.L<sup>-1</sup>. Nos períodos I e II a coluna d'água ficou quimicamente estratificada com diferença entre 3,5 a 1,04 mg.L<sup>-1</sup> (41-65%) da superfície para o fundo. No período III essa diferença diminuiu consideravelmente da superfície em relação ao fundo de 9 a 25% e foi o período de maior porcentagem de saturação de oxigênio (90-101%). O pH variou de 8 a 9 na coluna d'água, com maiores valores no período I seguidos dos períodos II e II. Maiores diferenças do valor da superfície para o fundo ocorreram nos períodos I e II (10-19%) e valores menores no período III (1-10%). A condutividade máxima foi de 338 µS.cm<sup>-1</sup> e a mínima, 148 µS.cm<sup>-1</sup>. Maiores valores ocorreram no período I, seguido do período III e menores no (período II). A extensão da zona eufótica ( $Z_{eu}$ ) foi baixa (média=3m), mínima de 2m período II e máxima de 4,2m no período I. Menores valores ocorreram nos períodos I e II (2m-2,8m) e maiores no período III (2,7m-3,5m). A média da profundidade referente a 10 % de luz foi de 1,4 m, com mínima de 1 m no período I e máxima de 1,8 m no período II. A média da razão entre zona eufótica e a profundidade máxima ( $Z_{eu}/Z_{max}$  %) foi menor no período II (11,5%), seguida do período I (13,9%) e maior no período III representando 15,8% da luz na coluna d'água (tabela Ia). Com relação ao material em suspensão, matéria orgânica, CO<sub>2</sub> total, CO<sub>2</sub> livre, CO<sub>3</sub><sup>-</sup>,



HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e alcalinidade, maiores valores também ocorreram no período I, seguidos dos períodos II e III (tabela Ib).

**Tabela Ia** - Médias das diferentes profundidades ( $\pm$  desvio padrão/n=7) da temperatura, oxigênio dissolvido, % de saturação, condutividade, pH, alcalinidade e valores de transparência (Secchi) da água,  $Z_{eu}$ , e  $Z_{eu}/Z_{max}$  na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves no período estudado.

P*		TEMP. (°C)	OD (mg L <sup>-1</sup> )	%SAT Oxig.	COND. ( $\mu$ s.cm <sup>-1</sup> )	pH	alc. (mg L <sup>-1</sup> )	Secchi (m)	$Z_{eu}$ (m)	$Z_{eu}/Z_{max}$ (%)
	<b>DATAS</b>									
<b>(I)</b>	4/4/00	27,5 $\pm$ 0,9	6,4 $\pm$ 1,3	81 $\pm$ 17,7	329 $\pm$ 6,4	8,8 $\pm$ 0,7	113 $\pm$ 2,4	1	2,7	13
	8/4/00	27,7 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 1,4	74 $\pm$ 18	308 $\pm$ 39,9	9,0 $\pm$ 0,6	106 $\pm$ 3,7	0,9	2,4	12
	12/4/00	28,3 $\pm$ 1,3	6,4 $\pm$ 1,3	82 $\pm$ 18,4	326 $\pm$ 5,2	8,8 $\pm$ 0,4	106 $\pm$ 3,3	1,1	2,9	14
	17/4/00	27,1 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 1,1	79 $\pm$ 13,2	298 $\pm$ 14,7	8 $\pm$ 0,4	98 $\pm$ 8,1	1,1	2,9	13
	21/4/00	26,4 $\pm$ 0,5	6,5 $\pm$ 1,4	81 $\pm$ 17,9	338 $\pm$ 46,4	8,5 $\pm$ 0,4	96 $\pm$ 3,6	0,9	2,4	12
	24/4/00	27 $\pm$ 0,4	6,6 $\pm$ 1,4	83 $\pm$ 17,5	305 $\pm$ 63,8	8,6 $\pm$ 0,3	94 $\pm$ 1,8	1,1	3	14
	29/4/00	27,4 $\pm$ 0,7	6,9 $\pm$ 1,6	87 $\pm$ 21,3	311 $\pm$ 8,9	8,6 $\pm$ 0,3	97 $\pm$ 5,6	1,1	3	14
	4/5/00	27,5 $\pm$ 0,6	7 $\pm$ 1,7	88 $\pm$ 22,5	322,4 $\pm$ 6	8,5 $\pm$ 0,4	99 $\pm$ 6,6	1,5	4,2	19
<b>(II)</b>	8/5/00	27,5 $\pm$ 0,7	6,6 $\pm$ 1,7	83 $\pm$ 22,1	322 $\pm$ 8,1	8,4 $\pm$ 0,4	97 $\pm$ 4,1	0,8	2	10
	13/5/00	26,9 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 1,5	74 $\pm$ 19	286 $\pm$ 4,8	8 $\pm$ 0,2	96 $\pm$ 3,9	1	2,7	12
	25/5/00	27,2 $\pm$ 0,4	7,6 $\pm$ 2,4	94 $\pm$ 7,8	148 $\pm$ 0,8	8,5 $\pm$ 0,6	98 $\pm$ 4	0,8	2	10
	7/7/00	26,6 $\pm$ 0,4	7,7 $\pm$ 1,3	95 $\pm$ 17,1	297 $\pm$ 2,5	8,1 $\pm$ 0,2	95 $\pm$ 2,3	1,1	3	14
	17/11/00	27 $\pm$ 0	7,6 $\pm$ 0,5	95 $\pm$ 6,1	260 $\pm$ 7,3	8,4 $\pm$ 0,1	78 $\pm$ 13,1	1,1	3	15
<b>(III)</b>	21/11/00	27,2 $\pm$ 0,2	8,2 $\pm$ 0,8	102 $\pm$ 10,6	264 $\pm$ 7	8,5 $\pm$ 0,2	99 $\pm$ 2	1,2	3	14
	24/11/00	27,9 $\pm$ 0,6	7,8 $\pm$ 1,7	99 $\pm$ 22,2	393 $\pm$ 8	8,5 $\pm$ 0,3	99 $\pm$ 3,7	1	2,7	13
	29/11/00	27 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,7	99 $\pm$ 8,6	255 $\pm$ 3,5	8,3 $\pm$ 0,2	96 $\pm$ 2,4	1,2	3,2	16
	2/12/00	27,2 $\pm$ 0,3	7,1 $\pm$ 1,1	90 $\pm$ 13,4	264 $\pm$ 4,5	8,1 $\pm$ 0,2	98 $\pm$ 3,6	1,1	3	16
	6/12/00	27 $\pm$ 0	7,6 $\pm$ 1,1	96 $\pm$ 14	264 $\pm$ 6,4	8,4 $\pm$ 0,3	96 $\pm$ 2	1,2	3,2	17
	9/12/00	27,5 $\pm$ 0,5	7,6 $\pm$ 1,3	97 $\pm$ 16,9	268 $\pm$ 2,4	8,4 $\pm$ 0,3	100 $\pm$ 2,6	1,3	3,5	18
	13/12/00	27 $\pm$ 0	7 $\pm$ 1,4	89 $\pm$ 18,4	268 $\pm$ 2,4	8,2 $\pm$ 0,1	95 $\pm$ 8,9	1,3	3,5	8
	18/12/00	27 $\pm$ 0	7,9 $\pm$ 1,1	101 $\pm$ 14,5	280 $\pm$ 2,5	7,9 $\pm$ 1,1	98 $\pm$ 6,5	1,2	3,2	17
	23/12/00	28 $\pm$ 0,3	7,6 $\pm$ 1,1	98 $\pm$ 13,5	280 $\pm$ 2,5	7,9 $\pm$ 0,3	95 $\pm$ 1,7	1	2,7	14

\*P=período

**Tabela Ib-** Médias das diferentes profundidades ( $\pm$  desvio padrão/n=7) do material em suspensão (MS), material inorgânico (MI), material orgânico (MO), CO<sub>2</sub> livre, CO<sub>2</sub> total, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e CO<sub>3</sub> na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves no período estudado.

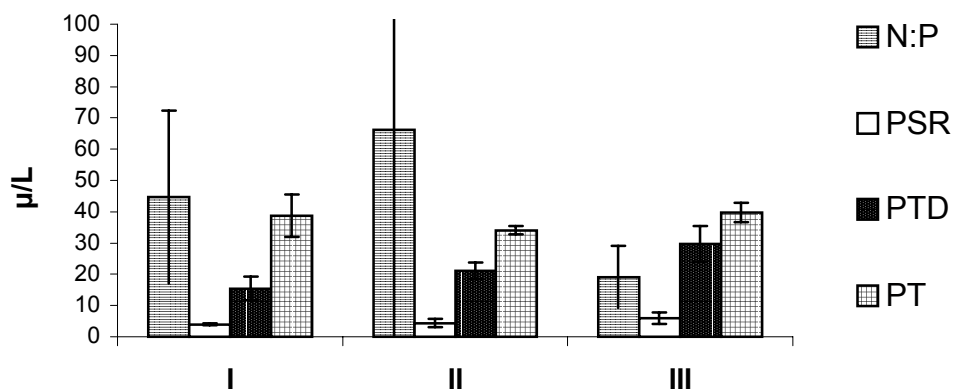
<b>P*</b>	<b>MS</b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>MI</b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>MO</b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>CO<sub>2</sub></b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>HCO<sub>3</sub></b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>CO<sub>3</sub></b> (mg .L <sup>-1</sup> )	<b>CO<sub>2</sub> T</b> (mg .L <sup>-1</sup> )	
<b>DATA</b>								
<b>(I)</b>	4/4/00	11 $\pm$ 1,2	4,9 $\pm$ 2,9	6,1 $\pm$ 3,4	1,2 $\pm$ 1,6	123,1 $\pm$ 10,5	6,8 $\pm$ 4,9	95,0 $\pm$ 5,7
	8/4/00	11 $\pm$ 1,2	4,9 $\pm$ 2,9	6,1 $\pm$ 3,4	1,2 $\pm$ 1,8	123,1 $\pm$ 20,8	6,8 $\pm$ 9,7	95,0 $\pm$ 9,3
	12/4/00	14 $\pm$ 3,3	4,7 $\pm$ 3,3	9,8 $\pm$ 4,6	1,2 $\pm$ 0,7	123,1 $\pm$ 8,0	6,8 $\pm$ 2,6	95,0 $\pm$ 4,9
	17/4/00	13 $\pm$ 6,2	5,4 $\pm$ 5,4	7,5 $\pm$ 2,8	1,2 $\pm$ 2,0	123,1 $\pm$ 9,8	6,8 $\pm$ 1,0	95,0 $\pm$ 5,9
	21/4/00	21 $\pm$ 33	3,6 $\pm$ 5,6	17,4 $\pm$ 28	1,2 $\pm$ 1,0	123,1 $\pm$ 4,3	6,8 $\pm$ 1,2	95,0 $\pm$ 3,3
	24/4/00	5 $\pm$ 6,1	3,1 $\pm$ 3,4	8,2 $\pm$ 6,1	0,3 $\pm$ 0,02	107,7 $\pm$ 1,1	3,2 $\pm$ 0,2	80,3 $\pm$ 0,8
	29/4/00	10 $\pm$ 12	3,9 $\pm$ 6,4	6,3 $\pm$ 5,5	1,0 $\pm$ 1,1	120,5 $\pm$ 8,9	6,2 $\pm$ 1,1	92,5 $\pm$ 6,7
<b>(II)</b>	4/5/00	7 $\pm$ 2	1,7 $\pm$ 0,9	5,5 $\pm$ 2,0	1,0 $\pm$ 3,8	120,1 $\pm$ 6,6	6,1 $\pm$ 1,7	92,1 $\pm$ 6,6
	8/5/00	14 $\pm$ 92	9,3 $\pm$ 12,5	4,8 $\pm$ 11	1,0 $\pm$ 1,8	119,6 $\pm$ 7,1	6,0 $\pm$ 1,3	91,6 $\pm$ 6,1
	13/5/00	6 $\pm$ 7	2,6 $\pm$ 4,0	4,0 $\pm$ 3,1	0,9 $\pm$ 0,8	119,0 $\pm$ 4,8	5,9 $\pm$ 0,3	91,1 $\pm$ 3,6
	25/5/00	14,5 $\pm$ 10	3,7 $\pm$ 3,1	10,8 $\pm$ 7,7	0,9 $\pm$ 1,8	118,3 $\pm$ 13,7	5,7 $\pm$ 6,0	90,4 $\pm$ 6,9
	7/7/00	9 $\pm$ 3	2,1 $\pm$ 1,3	6,9 $\pm$ 2,4	0,9 $\pm$ 1,0	117,5 $\pm$ 2,9	5,5 $\pm$ 0,4	89,7 $\pm$ 2,6
<b>(III)</b>	17/11/00	7 $\pm$ 4,6	4,7 $\pm$ 4,8	2,3 $\pm$ 1,3	0,9 $\pm$ 0,2	119,2 $\pm$ 16,6	5,9 $\pm$ 0,4	91,2 $\pm$ 12,2
	21/11/00	13 $\pm$ 17	9,1 $\pm$ 18,1	4,6 $\pm$ 2,4	0,9 $\pm$ 0,3	119,0 $\pm$ 1,8	5,8 $\pm$ 1,0	91,0 $\pm$ 1,2
	24/11/00	7 $\pm$ 2,6	1,7 $\pm$ 1,0	5,5 $\pm$ 2,7	0,6 $\pm$ 1,6	122,9 $\pm$ 4,4	2,4 $\pm$ 0,9	91,0 $\pm$ 3,4
	29/11/00	7 $\pm$ 4,6	0,9 $\pm$ 4,1	6,8 $\pm$ 4,6	0,9 $\pm$ 0,4	111,8 $\pm$ 4,4	1,4 $\pm$ 0,7	82,6 $\pm$ 3,2
	2/12/00	7,5 $\pm$ 4	3,4 $\pm$ 3,9	4,1 $\pm$ 1,3	1,3 $\pm$ 0,6	117,8 $\pm$ 4,1	1,2 $\pm$ 0,8	87,3 $\pm$ 3,1
	6/12/00	5,8 $\pm$ 44	5,3 $\pm$ 5,7	0,5 $\pm$ 4,9	0,8 $\pm$ 0,5	112,9 $\pm$ 4,4	2,1 $\pm$ 1,6	83,8 $\pm$ 2,5
	9/12/00	8 $\pm$ 11	4,2 $\pm$ 6,8	4,0 $\pm$ 5,1	0,9 $\pm$ 1,0	117,8 $\pm$ 4,1	2,1 $\pm$ 0,9	87,4 $\pm$ 3,1
	13/12/00	11 $\pm$ 85	4,9 $\pm$ 8,0	6,4 $\pm$ 77,4	1,1 $\pm$ 0,1	115,7 $\pm$ 8,3	1,1 $\pm$ 0,2	85,3 $\pm$ 6,1
18/12/00	38 $\pm$ 2	3,8 $\pm$ 1,2	34,8 $\pm$ 1,4	2,5 $\pm$ 1,7	117,33 $\pm$ 7,21	0,8 $\pm$ 0,7	87,7 $\pm$ 5,7	
23/12/00	6,5 $\pm$ 52	2,5 $\pm$ 4,4	4,1 $\pm$ 2,0	2,5 $\pm$ 1,7	115,4 $\pm$ 3,5	0,8 $\pm$ 0,7	86,3 $\pm$ 3,6	

\*P=período

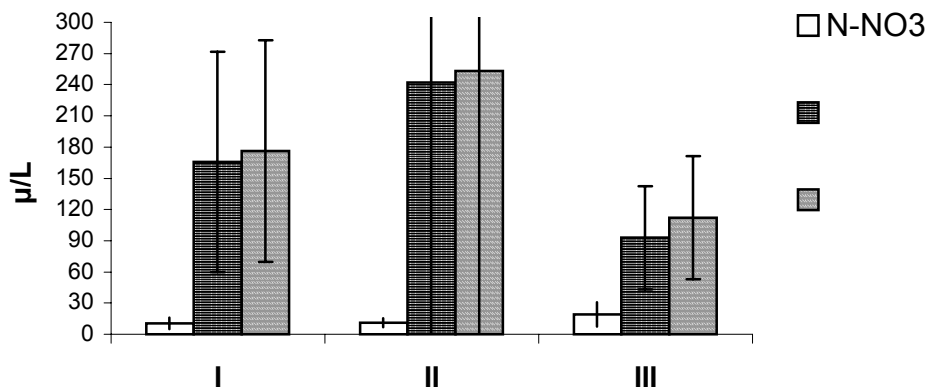
Durante o estudo o reservatório apresentou altas concentrações de nutrientes inorgânicos, nitrogênio e fósforo total e elevadas razões N:P. Maiores valores de nitrogênio e fósforo total foram registrados no início da estiagem (período II-intermediário) aumentando até o final do período III (estiagem total).

O período I foi caracterizado por apresentar menores valores de PSR (4  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), NO<sub>3</sub> (10,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e maiores valores de PT (39  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). Neste período, os valores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (165  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), NTD (176  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e razões N:P (45) foram intermediários entre os dois outros períodos. No período II, registramos maiores razões N:P (66), maiores

concentrações de nitrato ( $11 \mu\text{g.L}^{-1}$ ),  $\text{NH}_4^+$  ( $242 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), NTD ( $253 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e menores de PT ( $34 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). O período III caracterizou-se por apresentar maiores concentrações de PSR ( $6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), PT ( $40 \mu\text{g.L}^{-1}$ ),  $\text{NO}_3$  ( $19 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e menores de  $\text{NH}_4^+$  ( $93 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), NTD ( $112 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e da razão N:P(19) (figuras 3 e 4).



**Figura 3.** Médias das diferentes profundidades (n=7) da razão N:P, fósforo solúvel reativo (PSR- $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), fósforo total dissolvido (PTD - $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e fósforo total (PT- $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos três períodos estudados: período I (04-abril/04-maio/2000); período II (08-maio/7-julho/2000); período III (17-novembro/23-dezembro/2000).



**Figura 4 -** Médias das diferentes profundidades (n=7) do nitrato ( $\text{N-NO}_3 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), amônio ( $\text{N-NH}_3^+ \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e NTD (nitrogênio total dissolvido) nos três períodos estudados: período I (04-abril/04-maio/2000); período II (08-maio/7-julho/2000); período III (17-novembro/23-dezembro/2000).

A variação das concentrações do nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ - N-NO<sub>3</sub>), amônio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ - N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), fósforo solúvel reativo ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ -PSR), fósforo total dissolvido ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ -PTD), fósforo total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ -PT), nitrogênio total dissolvido ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ -NTD), razão atômica N:P e do nitrogênio total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ -NT) durante o estudo são ilustradas na tabela III.

**Tabela III** – Variação média das profundidades (n=7) dos nutrientes inorgânicos (N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PSR, NTD- $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) razão atômica N:P, fósforo total dissolvido, fósforo total e nitrogênio total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos três períodos estudados.

<b>P*</b>		<b>N-NO3(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>N-NH4+(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>PSR(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>PTD(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>PT(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>NTD*(<math>\mu\text{g-1}</math>)</b>	<b>N:P</b>	<b>NT</b>
<b>(I)</b> <b>(Chuva)</b>	<b>Med.</b>	10,5	165,8	4,0	15,4	38,7	176,3	44,7	841,1
	<b>DP</b>	5,6	105,9	0,4	3,7	6,7	106,6	27,7	357,7
	<b>Máx.</b>	16,4	328,3	4,5	20,6	50,6	344,7	95,5	1223,0
	<b>Mín.</b>	0,0	86,1	3,5	8,3	30,0	100,3	23,0	22,3
<b>(II)</b> <b>(Int.)</b>	<b>Med.</b>	10,9	242,3	4,4	21,2	34,1	253,3	66,1	1192,2
	<b>DP</b>	4,2	271,6	1,3	2,7	1,3	270,2	77,5	71,4
	<b>Máx.</b>	16,4	649,4	6,0	23,7	35,2	658,3	181,5	1290,7
	<b>Mín.</b>	6,7	93,3	3,1	17,4	32,8	105,1	20,8	1120,0
<b>(III)</b> <b>(estiag.)</b>	<b>Med.</b>	19,3	92,8	6,0	29,7	39,7	112,0	19,1	1372,0
	<b>DP</b>	11,8	49,7	1,9	5,7	3,0	59,1	9,9	469,3
	<b>Máx.</b>	40,0	171,4	10,4	40,2	44,2	198,9	37,0	2252,8
	<b>Mín.</b>	4,6	49,2	4,3	23,9	35,2	57,3	9,8	853,0

\*P=período; Int=intermediário, estiag=estiagem.

A classificação do estado trófico calculado pelo IET de Carlson, IET de Carlson modificado e pela equação de Toledo, com base nos valores PT, PSR, transparência da água (DS) e clorofila a (CHL), enquadraram o reservatório em estado de eutrofia. Pelos critérios da OEDC o estado trófico variou de eutrófico a hiper-eutrófico e pelo índice de Carlson foi eutrófico para todos os parâmetros. Pelo índice de Carlson modificado foi classificado como mesotrófico para PT e DS, eutrófico para clorofila-*a*, e no limite entre meso-eutrofia para o PSR (Tabela IV).

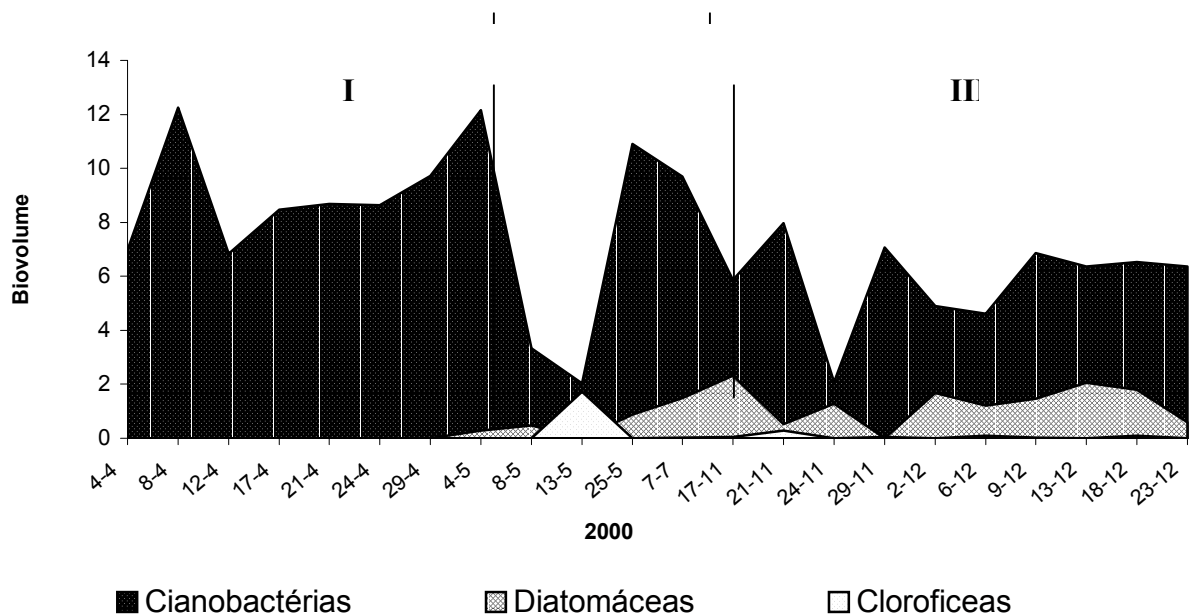
**Tabela IV.** Índices de estado trófico (IET) na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves no período de abril a dezembro de 2000.

ARG*	IET	IETM	CLASSIFICAÇÃO		
	(Carlson 1977)	(Carlson modificado)			OEDC *** (Volenheider <i>et al.</i> 1980)
PT ( $\mu\text{gLg}^{-1}$ )	59	50	EUT.	MES.	EUT.
CHL ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	56	56	EUT	EUT.	EUT.
DS (m)	60	50	EUT.	MES.	HIP.
PSR ( $\mu\text{gL}^{-1+}$ )		54		MES/EUT.♦	
IET MEDIO** (Toledo <i>et al.</i> 1983)	41	54	MES.	MES/EUT.♦	

\* Barragem Armando Ribeiro Gonçalves \*\*Média ponderada da equação \*\*\*média anual em  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; ♦ = limite entre os critérios.

### Composição e associação das espécies do fitoplâncton

A comunidade do fitoplâncton da Barragem Armando Ribeiro no período estudado foi composta por 28 táxons, assim distribuídos: 19 de cianobactérias (67%), 5 clorofíceas (17%) e 4 diatomáceas (14%). Das dezenove espécies de cianobactérias, os gêneros *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis* e *Microcystis* tiveram alta biomassa (90-97%), alternando a sua dominância e caracterizando florações intensas durante o ciclo anual. Todavia, apenas 5 espécies de clorofíceas e 3 de diatomáceas contribuíram pouco com a biomassa total nos períodos II (7%) e III (20%). Houve maior expressão de Clorofíceas coloniais da ordem Chlorococcales (*Oocystis lacustris*, *Sphaerocystis* sp, *Botryococcus braunii*) no período II, decrescendo no terceiro período. Diatomáceas centrais (*Aulacoseira granulata*, *Aulacoseira* sp e *Nitzschia* sp) apresentaram maior contribuição no período III (Figura 5).



**Figura 5-** Médias das diferentes profundidades (n=7) da biomassa (biovolume= $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) do fitoplâncton no ciclo anual de estudo (períodos I, II e III).

Com relação a abordagem de associações dos grupos funcionais do fitoplâncton de acordo com Reynolds (2002), o reservatório em estudo foi descrito por espécies de associação **Sn**, **M** e **H<sub>1</sub>**, apresentando alternância na dominância nos três períodos (I = **Sn**; II=**M**; III= **H<sub>1</sub>**). A espécie descritora do período I foi *Cylindrospermopsis raciborskii* (**Sn**), do período II foram espécies de *Microcysis* spp (**M**) e no período III por espécies de *Aphanizomenon* spp (**H<sub>1</sub>**). Outras cianobactérias estiveram presentes, mas contribuindo com baixa biomassa: *Snowella* cf. *lacustris*, *Aphanocapsa* sp, *Aphanothece* sp, *Planktothrix agardhii*, *Limnothrix* sp, *Geitlerinema unigranulatum*, *Coelomoron tropicalis*, *Merismopedia* sp, *Anabaena* cf. *viguieri*, *Anabaena* sp. *Anabaena circinalis*, *Raphidiopsis mediterranea* e *Sphaerocavum brasiliense*. As espécies de associação **Sn** são bem adaptadas a ambientes de águas quentes e túrbidos, tolerantes a

baixa disponibilidade de luz e nitrogênio, e sensíveis a fluxos de correntes. Espécies de associação **M** são adaptados em ambientes que possuem camadas de misturas diárias na coluna da água, tolerantes a alta insolação e sensíveis a fluxos de correntes e baixa disponibilidade de luz. Já as espécies de associação **H<sub>1</sub>** são fixadoras de nitrogênio, tolerantes a baixas concentrações de nitrogênio e carbono, sensíveis à mistura da coluna da água, baixa disponibilidade de luz e fósforo. A contribuição relativa (%) e a biomassa ( $\text{mm}^3\text{L}^{-1}$ ) do total do fitoplâncton e das cianobactérias dominantes e associações das cianobactérias descritoras dos três períodos estudados são ilustradas na tabela V.

**Tabela V** - Associação das cianobactérias descritoras dos três períodos estudados (Reynolds *et al.* 2002), contribuição da biomassa das cianobactérias dominantes expressa em biovolume (%), contribuição da biomassa do fitoplâncton total expressa em biovolume ( $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ).

	Período I (4/abr-4/mai/2000)		Período II (8/mai-7/jul/2000)		Período III (17/nov-23/dez/2000)	
	%	assoc.	%	assoc.	%	assoc.
<b>CIANOACTÉRIAS</b>		<b>Sn</b>		<b>Sn</b>		
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	90		19		14	Sn
<i>Aphanizomenon</i> spp*	1	H1	1	H1	46	H1
<i>Microcystis</i> spp*	7	M	69	M	12	M
<i>Snowella cf. lacustris</i>	-	-	-	-	3	Lm
<b>Outras cianobactérias (%)</b>	2		4		5	
<b>Outros grupos (%)</b>	0		7		20	
<b>Biomassa total (<math>\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}</math>)</b>	6>8.3<12		2>7.0<11		4>7.2<11	

\* *Microcystis panniformis*, *Microcystis* sp, *M.protocystis* e *M.novacekii*

\*\**Aphanizomenon cf. manguinii*, *A. gracile*, *Aphanizomenon cf. issatschenkoi*.

Outras cianobactérias de associação **Lm** (*Snowella* cf. *lacustris*), espécies de diatomáceas de associação **P** (*Aulacoseira granulata*, *Aulacoseira* sp) e de clorofíceas de associação **F** (*Sphaerocystis* sp e *Oocystis lacustris*), apesar de pouco abundantes, estiveram sempre associadas às populações de cianobactérias. Espécies de associação **Lm** e **P** são bem adaptadas no epilímnio de ambientes eutróficos, tolerantes a baixas concentrações de carbono, sensíveis a misturas, correntes e a deficiências de luz. As espécies de associação **F** incluem as clorofíceas coloniais, que são tolerantes a alta turbidez e pouco nutrientes.

As demais espécies de cianobactérias identificadas neste trabalho, *Aphanizomenon* spp (*Aphanizomenon gracile* e *A.* cf. *manguinii*), *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis* spp (*Microcystis panniformis*, *M. protocystis*) foram dominantes e constantes. A espécie *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi* foi abundante e comum. *Snowella* cf. *lacustris* sp, *Anabaena* sp, *Sphaerocavum brasiliense* e *Aphanizomenon* cf. *manguinii* foram freqüentes, porém a abundância relativa não foi significativa. *Planktothrix agardhii*, *Raphidiopsis mediterranea*, *Limnothrix* sp, *Microcystis novacekii*, *Anabaena* cf. *viguieri* e *Coelomoron tropicalis* apresentaram ocorrência comum, mas sem abundância relativa significativa. *Anabaena circinalis*, *Aphanothece* sp, *Aphanocapsa* sp, *Merismopedia* sp e *Anabaena circinalis* foram raras. Espécies de chlorococales (*Oocystis lacustris*, *Sphaerocystis* sp) e de Diatomáceas (*Aulacoseira granulata* e *Aulacoseira* sp) apresentaram freqüência de ocorrência comum mas com baixa abundância relativa (tabela VI).

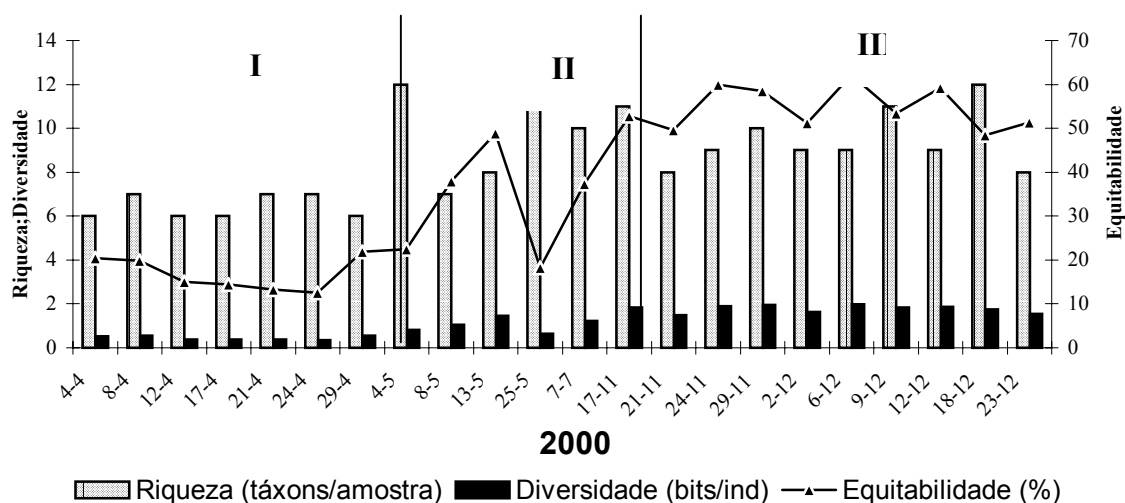


**Tabela VI** - Composição, tipo de associação (Reynolds *et al.* 2002), abundância relativa AR\* (Lobo & Leighton 1986) da comunidade fitoplanctônica (D=dominante, A=abundante) e Frequência de ocorrência FO\*\* (Ct=constante, F $\geq$  80%; F=freqüentes, 50% $\geq$  F >80%; Co=comum 20%  $\geq$  F>50%; R=raras, < 20%)

	Assoc.	AR*	FO**
<b>Cianobactérias</b>			
<i>Anabaena circinalis</i>	H <sub>2</sub>	-	R
<i>Anabaena cf. viguieri</i>	H <sub>2</sub>	-	Co
<i>Anabaena sp</i>	H <sub>2</sub>	-	F
<i>Aphanizomenon gracile</i>	H <sub>1</sub>	D	Co
<i>Aphanizomenon cf. manguinii</i>	H <sub>1</sub>	D	F
<i>Aphanizomenon cf. issatschenkoi</i>	H <sub>1</sub>	A	Co
<i>Aphanocapsa sp</i>	K	-	R
<i>Aphanothece sp</i>	K	-	R
<i>Coelomoron tropicalis</i>	Lm	-	Co
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Sn	D	Ct
<i>Limnothrix sp</i>	S1	-	Co
<i>Merismopedia sp</i>	Lo	-	R
<i>Microcystis panniformis</i>	M	D	Ct
<i>Microcystis protocystis</i>	M	D	Ct
<i>Microcystis novacekii</i>	M	-	Co
<i>Planktothrix agardhii</i>	S1	-	Co
<i>Raphidiopsis mediteranea</i>	Sn	-	Co
<i>Snowella cf. lacustris</i>	Lm	-	F
<i>Sphaerocavum brasiliense</i>	M	-	F
<b>Clorofíceas</b>			
			R
<i>Botryococcus braunii</i>	F	-	
<i>Oocystis lacustris</i>	F	-	Co
<i>Monoraphidium sp</i>	J	-	R
<i>Staurastrum leptocladum</i>	P	-	R
<i>Sphaerocystis sp</i>	F	-	Co
<b>Diatomáceas</b>			
<i>Aulacoseira granulata</i>	P	-	Co
<i>Aulacoseira sp</i>	P	-	Co
<i>Cyclotella sp</i>	D	-	R
<i>Nitzschia sp</i>	D	-	R

## Atributos da comunidade do fitoplâncton

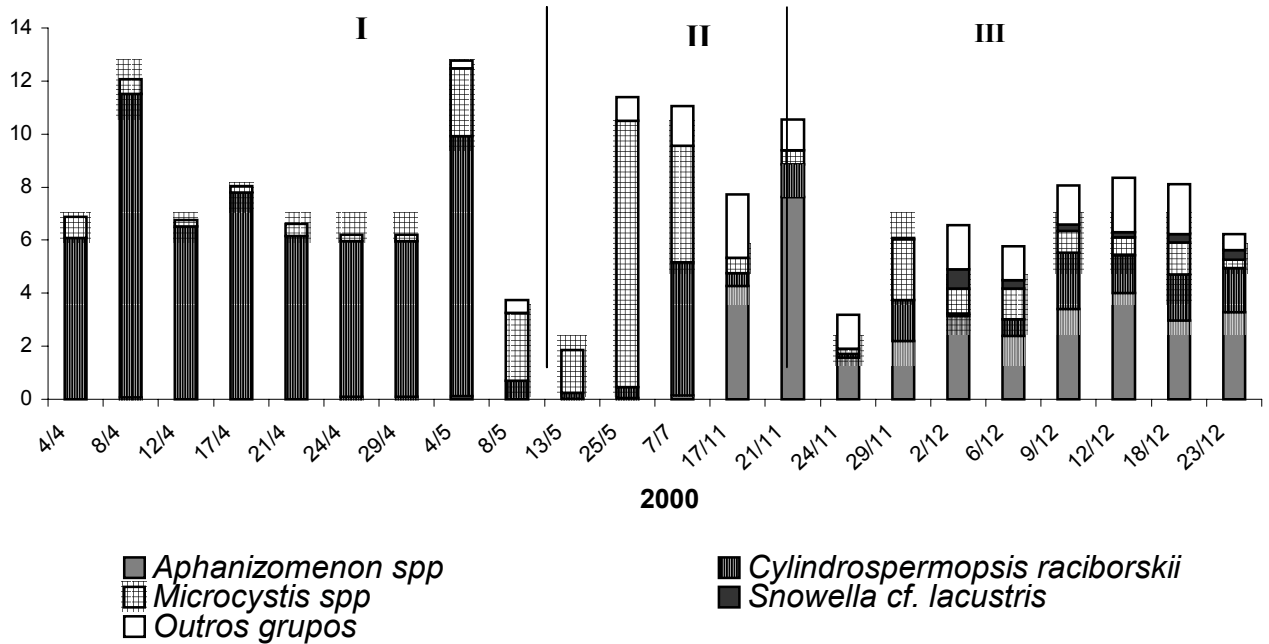
A diversidade de espécies foi baixa durante todo o ciclo anual estudado (0,35 a 1,97 bits.ind<sup>-1</sup>). O período I apresentou menores valores médios de diversidade, riqueza e equitabilidade. Do período II para o III houve aumento gradativo da equitabilidade e riqueza de espécies. No período III observou-se maior uniformidade na distribuição das espécies, que teve os mais altos valores médios de equitabilidade (60%) em relação ao período II com 30% e período I com 20% (figura 7).



**Figura 7-** Variação de atributos da comunidade do fitoplâncton (riqueza, diversidade específica e equitabilidade) nos três períodos estudados no ciclo anual.

## **Distribuição temporal das cianobactérias**

No período I *Cylindrospermopsis raciborskii* apresentou uma contribuição relativa média de 90% (n=8), com picos de 97% (12/04/2000) e menores valores de 79% (4/5/2000). Houve baixa contribuição de outras cianobactérias (2%) e ausência de outros grupos do fitoplâncton. A biomassa total foi a mais alta durante o estudo ( $8,3 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ ). No período II *Microcystis* spp contribuiu com média de 69% (n=4) e apresentou picos com 80% (12/5/2000) e 88% (25/5/2000). Houve maior contribuição de outras cianobactérias (4%) em relação ao período anterior e a presença de diatomáceas e clorofíceas (7%). O período III foi marcado por alta biomassa de *Aphanizomenon* spp (47%; n=10), com pico máximo de 72% (21/11/2000) seguido de 53% (17/11/2000 - 23/12/2000). A biomassa total também foi mais baixa do que no período I, porém ocorreu maior diversidade de outras cianobactérias e de outros grupos do fitoplâncton (diatomáceas e clorofíceas) que contribuíram com 5% e 20% respectivamente com a biomassa total no período (Figura 6).

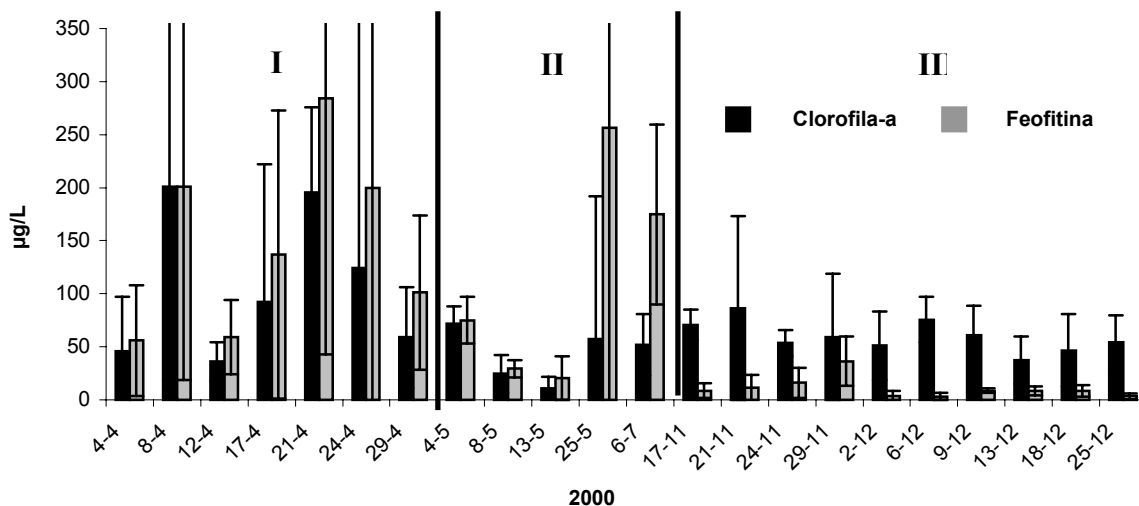


**Figura 6-** Médias das diferentes profundidades (n=7) da biomassa (biovolume =  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) das cianobactérias no ciclo anual de estudo (períodos I,II e III).

### Varição temporal da clorofila-*a* e feofitina

A média das diferentes profundidades das concentrações de clorofila-*a* durante o estudo variou de 11 a  $269 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . No período I registraram-se maiores valores e variações na amplitude (36 a  $269 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Menores concentrações ocorreram no período II (11 a  $57 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) aumentando no período III (13 a  $86 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), mas com menor amplitude de variação. Um pico foi registrado em 25 de maio/2000 ( $135 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , ocasião de intensa floração de *Microcystis spp.*). As concentrações de feofitina foram altas nos períodos I e II (21 a  $350 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e mais baixas no período III (2,5- $23 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Picos de feofitina ocorreram em 25 de maio/2000 ( $320 \mu\text{g. L}^{-1}$ ) durante a floração de *Microcystis* spp, em 8-24 de abril/2000 ( $182 - 350 \mu\text{g. L}^{-1}$ ) durante as florações de *Cylindrospermopsis raciborskii* (figura 8).

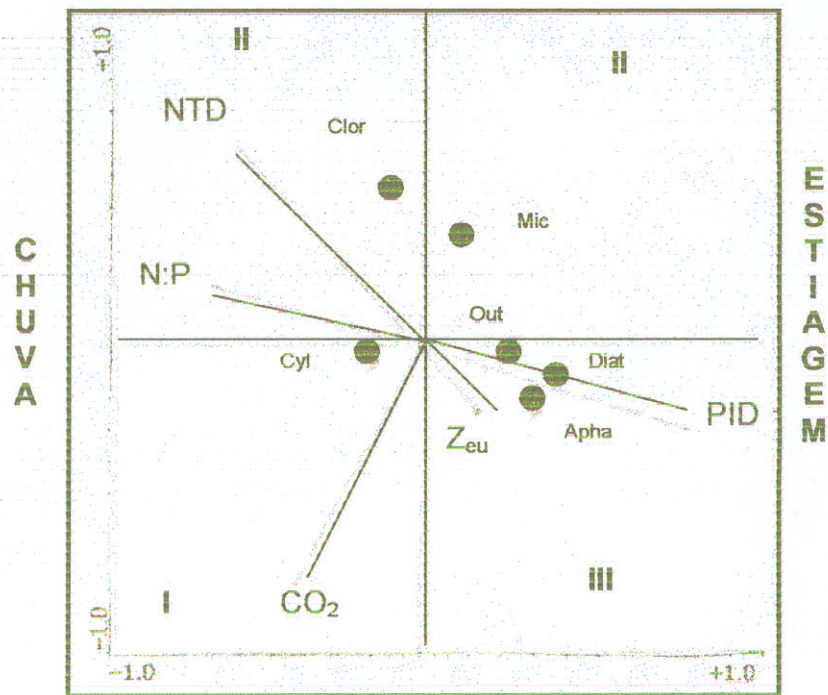


**Figura 8** - Média das diferentes profundidades (n=7) da clorofila-a ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) e feofitina ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) durante o estudo.

### Correlação entre as espécies e variáveis ambientais

O teste de permutação de Monte Carlo ( $p < 0,05$  e 999 permutações) feito com as variáveis ambientais (pH,  $Z_{eu}$ , NDT, PTD, N:P,  $\text{CO}_2$ ) indicou que o fósforo total dissolvido (PTD), o  $\text{CO}_2$  e nitrogênio total dissolvido (NTD) foram significantes na explicação da variação do padrão de distribuição das cianobactérias na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves. O PTD explicou 50% da variância, seguida do  $\text{CO}_2$  (16%) e NT (17%) totalizando 90% da variação total. Os dois primeiros eixos explicaram 45% da variabilidade total dos dados com estas três variáveis. A variância total para todas as

variáveis foi 92%, que representa 46% da explicabilidade total do sistema. (Figura 9, Tabelas VII,VIII ).



**Figura 9** - Diagrama de ordenação da análise de correspondência canônica (CCA) com as variáveis ambientais. O nitrogênio total dissolvido (NTD), fósforo total dissolvido (PTD) e  $\text{CO}_2$  influenciaram significativamente na distribuição das espécies (Cyl= *Cylindrospermopsis raciborskii*, Mic= *Microcystis* spp Apha= *Aphanizomenon* spp, Dia= Diatomácea, Clor= Clorofícea, out=outras cianobactérias).

**Tabela VII** - Engenvalue (proporção da variância explicada das espécies pelo eixo- $\lambda$ ), correlação entre as espécies e as variáveis ambientais dos primeiros dois eixos da CCA e % da variância explicada das espécies X variáveis ambientais.

	<b>Variáveis ambientais</b>	
	$\lambda 1$	$\lambda 2$
<b>Engenvalue</b>	0.642	0.255
<b>% Variância</b>	0.32	0.13
<b>(<math>\lambda 1 + \lambda 2</math>)</b>	<b>45%</b>	

**Tabela VIII.** Correlação das variáveis ambientais com os primeiros dois eixos pelo teste de Monte Carlo ( $p < 0,05$ ; 999 permutações) das variáveis ambientais, engenvalue e variância total explicada por todas as variáveis.

	<b>Variáveis ambientais</b>		
	<b>P</b>	<b>F-ratio</b>	<b>Variância</b>
<b>PTD</b>	0.010	6.70	0.50
<b>CO<sub>2</sub></b>	0.054	2.32	0.16
<b>NTD</b>	0.040	2.59	0.17
<b>pH</b>	0.591	0.47	0.03
<b>N:P</b>	0.642	0.54	0.03
<b>Zeus</b>	0.750	0.38	0.03
<b>Variância total</b>			0.92
<b>Inércia total</b>			1.985

As correlações significativas obtidas através da análise de variância ( $p < 0,05$ ), com a finalidade de detectar a significância explicativa de cada espécie com as variáveis ambientais, foram as seguintes: *Cylindrospermopsis raciborskii*: vento ( $R^2 = -0.60$ ),  $Z_{eu}$  ( $R^2 = -0.77$ ), N:P ( $R^2 = -0.60$ ) e NT ( $R^2 = -0.54$ ); para *Aphanizomenon* sp: vento ( $R^2 = +0.80$ ), fósforo solúvel reativo-PSR ( $R^2 = +0.77$ ),  $CO_2$  ( $R^2 = -0.63$ ) e  $Z_{eu}$  ( $R^2 = +0.58$ ); *Microcystis* sp: condutividade e NT ( $R^2 = +0.94$ ); *Snowella* :  $CO_2$  ( $R^2 = -0.62$ ); Diatomáceas: PTD ( $R^2 = +0.88$ ); outras cianobactérias: PTD ( $R^2 = +0.92$ ); clorofíceas: vento ( $R^2 = +0.60$ ),  $CO_2$  ( $R^2 = -0.58$ ).

Os resultados da análise de variância mostraram que dos fatores físicos investigados neste estudo o vento representou o melhor modelo para a distribuição de *Aphanizomenon* spp, outras cianobactérias e diatomáceas. A zona eufótica ( $Z_{eu}$ ) representou melhor a distribuição de *Cylindrospermopsis raciborskii*.

## DISCUSSÃO

Fatores ambientais como condições climáticas, distribuição geográfica, estabilidade térmica, nutrientes, temperatura e pH, e as relações tróficas dos organismos com estas variáveis, têm explicado as variações na estrutura da comunidade (Lund 1965; Shapiro 1973; 1990; Padišák et al. 1988; Porter 1977; Smith 1986). A distribuição das cianobactérias na Armando Ribeiro Gonçalves foi influenciada significativamente por fatores químicos tais como o fósforo, nitrogênio, razões N:P,  $CO_2$  e condutividade; climáticos (ventos e temperatura) e físicos (Intensidade luminosa- $Z_{eu}$ ). Os resultados também mostraram importante significância da temperatura e do oxigênio dissolvido,



respectivamente, influenciando a circulação térmica e a disponibilidade de nutrientes na coluna d'água. A variação temporal dessas variáveis definiu marcadamente o ciclo anual das cianobactérias no reservatório que exibiu alta biomassa com alternância na dominância, tendo assim ocorrido: *Cylindrospermopsis raciborskii* (período I), *Microcystis* spp (período II) e *Aphanizomenon* spp (período III). As condições ambientais do sistema determinaram o padrão de distribuição dessas espécies e o desenvolvendo de florações mistas intensas ( $7 - 12 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) em todo ciclo anual.

*Cylindrospermopsis raciborskii* é uma espécie subtropical considerada invasiva, originalmente descrita na Indonésia como *Anabaena raciborskii* (Wolszynka 1912) e ocorre em ambientes com alta temperatura, ricos em nutrientes, reservatórios muito eutróficos e em águas rasas mesclados ou estratificados (Amand 2002; Komárkova *et al.* 1999). Sua dominância no período I, época de chuvas e ventos fracos (1,1 m/s), deve-se às menores concentrações de PSR ( $4 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e NTD ( $176 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e elevada condutividade elétrica ( $338 \mu\text{Scm}^{-1}$ ) registradas durante o estudo. Maior variação de amplitude da temperatura na água, com diferença máxima de  $2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  da superfície para o fundo foi registrada neste período, caracterizando estratificações pequenas e transitórias. Conjuntamente também ocorreu estratificação química, com diferenças de oxigênio dissolvido superiores a 50% do fundo em relação à superfície, bem como menor porcentagem de saturação do oxigênio. Diferenças de apenas  $0,5^\circ\text{C}$  entre a superfície e fundo permitem o estabelecimento de estratificações térmicas relativamente estáveis. Isso porque em regiões com temperaturas elevadas, pequenas diferenças proporcionam grandes diferenças na densidade da água (Payne 1986).

A significativa correlação negativa da biomassa de *Cylindrospermopsis* com o vento ( $R^2 = -0,60$ ;  $p = 0,004$ ) e com a  $Z_{\text{eu}}$  ( $R^2 = -0,77$ ;  $p = 0,001$ ) também demonstrou

ser um bom modelo para distribuição dessa espécie no reservatório. Shafik *et al.* (1997) atribuíram maior biomassa dessa espécie a adaptações fisiológicas para crescimento em condições de baixa luminosidade ( $I_K$ =nível de saturação da luz para fotossíntese= $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). A capacidade dessa espécie alcançar alta biomassa com baixa disponibilidade de luz corrobora tais afirmações e mostra que ela foi mais eficiente na competição pela luz do que as demais cianobactérias encontradas neste estudo. Isto também foi constatado pela manutenção de alta biomassa entre 5-15 metros de profundidade, onde a disponibilidade de luz correspondia a valores bem inferiores a  $Z_{eu}$  (2.7) correspondente a 13% da  $Z_{eu}/Z_{max}$ .

A ocorrência de chuvas neste período contribuiu com o aumento do material em suspensão na água diminuindo a razão  $Z_{eu}/Z_{max}$ . O sistema tendeu à alcalinidade com maior disponibilidade de carbono nas formas de  $\text{CO}_3$  e  $\text{HCO}_3^+$  demonstrando-se compatível com a habilidade destes organismos em utilizar eficientemente estas formas de carbono em relação aos demais grupos de algas (Shapiro 1973,1990,1997). Tais condições favoreceram a dominância de *Cylindrospermopsis raciborskii* desenvolvendo florações intensas ( $8,2-12 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) compondo 90-97% da comunidade de fitoplâncton.

*C. raciborskii* também correlacionou-se positivamente com a condutividade ( $R^2= 0,52$  e  $p= 0,013$ ), provavelmente por causa dos processos de concentração de sais com a evaporação, que é elevada devido à alta intensidade luminosa local. Tal fato deve-se possivelmente, também, à degradação da matéria orgânica, que se correlacionou positivamente com essa espécie ( $R^2=0,44$  e  $p=0,030$ ), e apresentou maiores concentrações neste período. Isto ocorre porque a grande senescência dos organismos após as florações, e sua posterior mineralização pelas bactérias, coloca a matéria orgânica à disposição de outros organismos, incrementando a condutividade elétrica. As condições redutoras e altas

concentrações do íon amônio observadas neste período confirma aponta essa possibilidade.

O “Paradoxo do Plâncton” de Hutchinson (1961), “como muitas espécies podem existir em um ambiente aparentemente isotrópico”, tem sido discutida com base em várias hipóteses. Dentre elas destaca-se a teoria da coexistência das espécies através da limitação por diferentes recursos, o grau de disponibilidade e da taxa de assimilação de cada espécie. Estudos indicam que o fator regulador da comunidade não seria a quantidade, mas sim a razão entre as concentrações de diferentes recursos limitantes, além dos requisitos mínimos de cada espécie quanto a esse recurso (Tilman *et al.* 1982; Sommer 1984).

Pesquisas mostram que diferentes razões de nutrientes, por exemplo nitrogênio e fósforo, podem explicar o padrão de distribuição das espécies. O fósforo é reconhecido como principal elemento controlador da produção do fitoplâncton em ambientes continentais de regiões temperadas e tropicais em vista da sua influência direta no aumento na biomassa dos organismos (Hecky & Kilman 1988 ; Schindler 1977). No entanto, trabalhos realizados em tais regiões mostram que tanto o nitrogênio quanto o fósforo limitam o crescimento do fitoplâncton (Moss 1969; Elser *et al.* 1990; Downing *et al.* 1999). Outros trabalhos evidenciam que as cianobactérias são mais eficientes na competição por nitrogênio, inclusive as espécies não fixadoras de nitrogênio, do que por fósforo (Smith 1983), e que fatores como temperatura e luz podem influenciar a eficiência das cianobactérias na assimilação destes nutrientes (Tilman *et al.* 1981).

Durante este estudo as concentrações de nitrogênio e fósforo inorgânico dissolvido estiveram acima dos valores considerados limitantes para o crescimento do fitoplâncton. Reynolds (1997), baseado na constante de saturação para o crescimento

destes organismos estimou valores de 3 a 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de fósforo solúvel reativo (PSR) e 80 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de nitrogênio inorgânico (NI) como limitantes para o fitoplâncton. Devido a grande disponibilidade de fósforo e nitrogênio no reservatório, as razões N:P não foram bons argumentos para explicar a distribuição do fitoplâncton. Todavia, é importante ressaltar que as razões N:P encontradas durante o estudo foram maiores do que as registradas na literatura em ambientes dominados por cianobactérias (Smith 1983). No entanto, menores razões N:P e NTD, em relação a estimativa do estudo foram encontradas nos períodos de dominância de espécies fixadoras de nitrogênio, como por exemplo *C. raciborskii* (período I) e *Aphanizomenon* sp, *Raphidiopsis* e *Anabaena* (período III). Por serem nitrofilicas, estas podem utilizar diferentes formas de compostos nitrogenados (Stewart 1974). Também existe a possibilidade de conversão do fósforo orgânico em inorgânico, através da fosfatase alcalina conforme já demonstrado em outras espécies do fitoplâncton (Panosso 2001). Provavelmente utilizando-se essas, ou outras, adaptações fisiológica, as cianobactérias puderam assimilar diferentes formas de nitrogênio e fósforo disponíveis no ambiente.

Apesar dos baixos valores de PSR indicarem condições de limitação desse elemento, a grande disponibilidade de fósforo total encontrada não valida essa hipótese para a barragem Armando Ribeiro Gonçalves. Isto porque, muito provavelmente, ocorre rápida assimilação de PSR pelo fitoplâncton, especialmente pelas cianobactérias que são hábeis em estocar esse elemento, impedindo a sua detecção analítica. Por outro lado, as condições climáticas locais como por exemplo, altas temperaturas e insolação, favorecem o rápido metabolismo no reservatório, conforme é demonstrado por (Esteves 1998).

Espécies fixadoras de nitrogênio têm maior afinidade pelo fósforo do que as não fixadoras (Jensen et al. 1994). Estudos recentes revelam a alta afinidade dessas

espécies por fósforo e sua eficiente adaptação para estocá-lo (Istvánovics et al. 2000). A dominância de *C. raciborskii* em ambientes tropicais tem sido atribuída à sua habilidade para fixar nitrogênio (Harris & Baxter 1996). No entanto menos que 8 % da população apresentou heterocitos neste período, semelhante a resultados reportados por outros autores em reservatórios brasileiros que também encontraram somente 10% da população com heterocito (Branco & Senna 1996; Bouvy et al. 1999, 2000; Huszar et al. 2000). Nossos resultados mostraram que na barragem Armando Ribeiro Gonçalves, *C. raciborskii* foi boa competidora tanto por nitrogênio quanto por fósforo, visto que alcançou maior biomassa em períodos de menores valores desses nutrientes durante o estudo.

As variáveis ligadas ao incremento da biomassa de *C. raciborskii* no reservatório foram: alta temperatura, estratificação térmica e química, ventos fracos e baixa zona eufótica, alcalinidade, maiores concentrações de amônio e menores de nitrato. Pinto-Coelho & Giani (1985), Branco & Senna (1991) e Souza et al. (1998), concomitantemente atribuíram a dominância de *C. raciborskii* a épocas de chuvas, ventos fracos e alta temperatura. Nossos resultados também corroboram com as condições demonstradas por Halwkins (1996), Pádisak (1997) e Harris & Baxter (1996) para o sucesso dessa espécie em ambientes continentais. Trabalhos têm mostrado que baixas concentrações de nitrato deflagram a dominância de *C. raciborskii* (Marinho & Huszar (no Prelo). No entanto, mesmo com concentrações saturantes de amônio, menores valores de nitrato parecem deflagrar a dominância de *C. raciborskii* na Barragem Armando Ribeiro. O mesmo comportamento também foi observado no reservatório Tapacurá, também na região nordeste (Ferreira 2002). A autora atribui a possível habilidade de *C. raciborskii* em ter maior rapidez e absorção de amônio em ambientes redutores, estratificados térmica e quimicamente.

No final do período I (4/5/2000) ocorreu expressiva diminuição na diferença de temperatura entre superfície e fundo ( $0,5^{\circ}\text{C}$ ) e aumento na zona eufótica (4,2 m) no sistema. Isto proporcionou mudanças na estabilidade térmica da água, diminuindo as estratificações e iniciando-se o processo de mescla na coluna d'água. O estabelecimento dessas novas condições físicas proporcionou mudanças na composição e biomassa do fitoplâncton. Isso pode ser comprovado através da brusca queda na biomassa total ( $2-6 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) nos dias 8 e 13/5/2000, e dominância de espécies de *Microcystis* spp, as quais desenvolveram florações intensas ( $7-10 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) compondo até 88% da biomassa total nos dias 25/5/2000 e 7/7/2000. Menor biomassa do fitoplâncton registrada em algumas amostragens deste período permitiu maior disponibilidade de luz no sistema, uma vez que isso diminui o efeito do auto-sombreamento pelo fitoplâncton na coluna d'água (Esteves 1998). Mudança nas condições térmicas do sistema e aumento da  $Z_{\text{eu}}$  incrementou a diversidade específica, o que foi constatado pelo aparecimento de outras cianobactérias (*Snowella cf. lacustris*) e espécies de clorofíceas coloniais que coexistiram com biomassas menores de *C. raciborskii*. Clorofíceas coloniais foram significativamente correlacionadas com a matéria orgânica ( $R^2=-0.43$ ;  $p=0,042$ ),  $Z_{\text{eu}}$  ( $R^2=0,41$ ;  $p=0,05$ ) e  $\text{CO}_2$  ( $R^2=-0.62$ ;  $p=0,042$ ).

A frequência, duração ou intensidade dos distúrbios possuem grande influência sobre a diversidade, estabelecimento do estado de equilíbrio e sobre o retorno aos estágios iniciais de sucessão (Sommer *et al.* 1993). A expressiva queda na biomassa ocorrida em 8 e 13/5/2000 sugere que houve um distúrbio de alta frequência, talvez próximo ao tempo de geração das algas ( $< 3$  dias). Após duas semanas, com a mescla da coluna d'água estabelecida houve incremento da biomassa total mantendo-se na média para o período ( $7-8 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ). Na ocasião, no máximo 2 espécies representavam 90% da

biomassa total. Sommer *et al.*(1993) considera “equilíbrio da comunidade” períodos em que 2 ou 3 espécies contribuam com 80% ou mais da biomassa total e que sua existência ou co-existência persista por tempo suficiente, mais que 1 ou 2 semanas, sem decréscimo na biomassa. De acordo com o autor, pode-se presumir que a comunidade se adaptou às novas condições ambientais tendendo à fase de equilíbrio, apesar da baixa diversidade.

*Microcystis* spp apresentou correlação significativa com a condutividade e  $Z_{eu}$  ( $R^2=0.94$  e  $p=0.001$ ), baixas concentrações de  $CO_2$ , maiores razões N:P (66:1), baixa disponibilidade de PSR ( $4,4 \mu g L^{-1}$ ) e alta de NTD ( $253 \mu g L^{-1}$ ). Maior disponibilidade de nitrogênio induz à formação de vacúolos e os produtos fotossintéticos são canalizados para a síntese de materiais intracelulares e não para o acúmulo de carboidratos, favorecendo a flutuabilidade e diminuição da taxa de sedimentação (Kirk 1994). Além disso, *Microcystis* spp possui um sistema eficiente para regular sua densidade, que aumenta na presença de luz e sob deficiência de P, tornando-as altamente competitivas em ambientes eutróficos com tais condições. De acordo com Harris (1986) *Microcystis* alcança maior biomassa com razões N:P >50.

A progressão das florações e conseqüente aumento de pH levam a que processos fotossintéticos incidam fortemente nas reduções progressivas de  $CO_2$  livre (Pearl & Ustach 1982). Como a difusão molecular é lenta, os suprimentos de  $CO_2$  da atmosfera e sedimentos durante estratificações, tornam-se insuficientes para suprir a demanda fotossintética. Neste caso, as cianobactérias flutuantes levariam vantagem competitiva alcançando maior biomassa ao se manterem na superfície (Reynolds & Walsby 1975). Tais evidências justificam a presença de cianobactérias que possuem aerótipos e a capacidade de desenvolverem alta biomassa no reservatório.

Maiores concentrações de amônia neste período podem ter sido decorrentes do processo de decomposição, pelas bactérias, das florações senescentes de *C. raciborskii* sob as condições redutoras do hipolínio no período anterior (I). O incremento de amônio pode ter sido a causa do aumento da biomassa de *Microcystis* e declínio de *C. raciborskii*. Este padrão de distribuição também foi observado em outros reservatórios do nordeste (Bouvy *et al.* 1998).

No período III, época de estiagem total na região, ocorreram ventos mais fortes ( $3 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Embora este valor tenha sido o maior registrado durante o estudo, não foi suficiente para promover a mescla total da coluna d'água, mas é suficiente para promover a circulação até 3 metros na coluna d'água, mantendo assim a zona eufótica (3m) totalmente mesclada. As condições climáticas locais de temperatura, vento e insolação são mais altas e permanecem estáveis durante a estiagem. Apesar de não ter sido calculada a zona de mistura, muito provavelmente pequenas amplitudes de variações da temperatura neste período determinaram o estabelecimento de novas condições térmicas no sistema. Isto foi comprovado por total isoterminia e desestratificação química da coluna d'água, promovendo a mescla do sistema neste período. Concomitantemente, outros processos físicos inerentes do sistema, que são adaptados às suas condições de usos, promoveram a estabilidade do ambiente. Como exemplo, a diminuição da vazão para garantir o suprimento de água à população e conseqüente aumento na residência da água, conforme demonstrado em estudo realizado em 1998 neste mesmo ambiente (Costa 1999).

Diferentemente dos demais períodos, ocorreram maiores valores de PSR ( $6 \mu\text{g L}^{-1}$ ), PT ( $40 \mu\text{g L}^{-1}$ ), e menores valores de NTD ( $112 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e baixas razões N:P (19:1). Tais condições favoreceram a dominância de *Aphanizomenon* spp, que teve média de 46 % da biomassa total e desenvolveu florações menos intensas do que as de



*Microcystis* e de *C. raciborskii*, representando nesta ocasião até 72 % da biomassa total. Maior disponibilidade de PSR e menor de NTD incrementou a biomassa total neste período, favorecendo o aparecimento de outras cianobactérias fixadoras de nitrogênio (*Anabaena*, *Raphidiopsis*, *Aphanizomenon*), de não fixadoras de nitrogênio (*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix* sp) e Crococales (*Snowella cf. lacustris*, *Coelomoron tropicalis*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece*). Também houve maior contribuição de diatomáceas centrais (*Aulacoseira granulata*). Isto foi comprovado pela correlação significativa do PSR com a biomassa de diatomáceas ( $R^2=0,88$ ;  $p=0,001$ ) e demais cianobactérias ( $R^2=0,92$ ;  $p=0,001$ ) que co-existiram, mesmo com menor contribuição relativa, com *Microcystis*, *Cylindrospermopsis* e *Aphanizomenon* neste período. Espécies de *Anabaena* e *Aphanizomenon* geralmente ocorrem em ambiente com N:P > 10 < 20 e *Oscillatoria/Planktothrix* < 40 (Harris (1986). A queda dos valores de NTD ocorrida durante esse período, pode ser atribuída à maior competição por este recurso pelas demais espécies presentes. O incremento de PSR provavelmente foi decorrente da mineralização bacteriana e o incremento do PT e NT, através da incorporação celular, a partir das florações ocorridas nos períodos anteriores. De acordo com a hipótese de distúrbio intermediário formulada por Connell (1978) eventos intermediários (3-8 dias) levam a diversidade máxima, quando as espécies características de estágios pioneiros e maduros podem co-existir (Padisák *et al.* 1993). Concordando com os autores, maiores valores de diversidade específica, sem variações significativas da biomassa no período III, sugerem a existência de distúrbios com frequência intermediária. Reynolds (1988) considera que na avaliação do processo sucessional, a fase de Equilíbrio deve ter entre 35-50 dias sem alterações físicas no ambiente. De fato durante o período III o sistema permaneceu

estável, ou seja, sem alterações térmicas e químicas por 60 dias, ocasião em que 3 ou mais espécies contribuíram com 80-90% da biomassa total durante todo esse período.

Elevados valores de clorofila-*a* e feofitina com grandes amplitudes de variações ocorridos durante o estudo, principalmente nos períodos I e II, podem ser justificados pelo aumento e declínio das florações. Florações senescentes liberam pigmentos degradados, diminuindo a clorofila ativa como consequência da morte dos organismos (Shuman & Lorenzen 1975). No período III não ocorreram variações significativas da clorofila-*a*, sendo seus valores compatíveis com a biomassa do fitoplâncton, que teve maior uniformidade na distribuição das espécies durante o estudo.

A descrição dos sistemas aquáticos através do grupamento taxonômico é muito dificultada por causa dos diferentes requerimentos das espécies entre si (Reynolds 1997). Por este motivo optamos por descrever o sistema através do conceito de associações de grupos funcionais do fitoplâncton proposto por Reynolds *et al.* (2002). Com base nesta abordagem, identificamos grupos de espécies que descreveram adequadamente as condições ambientais durante o estudo.

As condições ambientais do período I (chuvas, estratificação térmica e química, menores valores de nitrato, NTD e PSR) selecionaram a espécie *C. raciborskii* (**Sn**). O amplo domínio de espécies de associação **Sn** (*Cylindrospermopsis*) foi também observado em outros reservatórios nordestinos (Ferreira 2002; Bressan 2001). São espécies que se mostram bem adaptadas em ambientes de pouca luz, sugerindo boa habilidade em utilizar melhor estratégia de antena de luz, do que a de fixar nitrogênio, face à baixa proporção de filamentos heterocitados (Huszar *et al.* 2000)

No período II, o estabelecimento de novas condições ambientais (início de desestratificação térmica e química, maiores razões N:P, e NTD,  $\text{NH}_4^+$ , baixo PSR),

selecionou a espécie *Microcystis* de associação **M**. Estas são espécies formadores de florações, presentes em ambientes mesclados e ricos em nutrientes com tolerância à baixa intensidade luminosa. Formas coloniais grandes e achatadas possuem antenas de luz melhores devido a sua maior razão superfície/volume (Huszar *et al.* 2000). Também ocorreram neste período espécies de Crococales (*Snowella cf. lacustris*), de associação **Lm**, características de ambientes eutróficos, tolerantes a alta intensidade de luz e sensíveis a fluxo de correntes e Clorococales de associação **F**, tolerantes a turbidez e baixo nível de nutrientes.

Após intensas florações de *Microcystis* sp e *C. raciborskii*, ocorridas nos períodos anteriores (I,II), houve incremento do PSR e PT e diminuição das concentrações de nitrogênio e a razão N:P, além do estabelecimento da isoterminia e maior circulação da água. Tais condições, favoreceram a dominância de espécies heterocitadas, de associação **H<sub>1</sub>** (*Aphanizomenon* spp) e **H<sub>2</sub>** (*Anabaena* spp), e não heterocitadas, **Sn** (*Raphidiopsis mediterranea*), **S<sub>1</sub>** (*Limnothrix* e *Planktothrix*), que são típicas de ambientes turbulentos, águas mornas, eutróficos, com pouco nutrientes e boa disponibilidade de luz (Reynolds *et al.* 2002). As espécies de associação **H<sub>2</sub>**, **Sn** e **S<sub>1</sub>** co-existiram com baixa abundância relativa.

Nos períodos II e III também estiveram presentes, embora sem significância relativa, diatomáceas de associação **P** (*Aulacoseira granulata*), típicas de ambientes eutróficos, turbulentos e sensíveis a ambientes estratificados, e de associação **D** (*Nitzschia*), típicas de ambientes túrbidos, enriquecidos, turbulentos e tolerantes a correntes; além de clorofícias de associação **X<sub>1</sub>** (*Monorraphidium*, *Oocystis*) típicas de lagos enriquecidos e sensíveis à predação pelo zooplâncton.

Apesar da classificação trófica através do IET de Carlson modificado ter inserido a Barragem Armando Ribeiro Gonçalves no limite entre meso-eutrofia, decidimos classificar o sistema como eutrófico, baseados nas associações funcionais do fitoplâncton. De acordo com Huszar *et al.* (1998) as associações definem melhor o estado trófico dos sistemas tropicais em detrimento dos critérios da OECD. Concordando com a autora, isto nos leva a apontá-las como excelentes indicadores ambientais para sistemas do semi-árido nordestino.

### **AGRADECIMENTOS**

A autora agradece aos Drs. Vera Huszar/Museu Nacional-RJ, Sandra Azevedo/UFRJ, Magnólia F. F. Araújo, Renata Panosso, José Luiz Attayde, Jorge Lins e Carlos A. R. Silva da UFRN, por suas contribuições para este trabalho. Também agradecemos ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

## REFERÊNCIAS CITADAS

AMAND, A. St. *Cylindrospermopsis raciborskii*: an invasive alga. 2002. Disponível em: <http://www.naims.org>. Acesso em: 30 janeiro 2003.

BARBIERI et al. Plâncton, produção primária e alguns fatores físico-químicos de dois lagos da Baixada Maranhense. **Revista bras. Biologia**. 49: 399-408, 1989.

BARTRAN, J.W.W. et al. Introduction. In: CHORUS, I. & BARTRAM (ed.) – **Toxic cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management**. World Health Organization, London and New York, 1999. p.1-14.

BLOMQUIST et al. Ammonium-nitrogen: A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen fixing cyanobacteria in aquatic systems. **Arch. Hydrobiol.**, 132: 141-164, 1994.

BOUVY, M. et al. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of Northeast Brazil. **Aquatic. Microbi. Ecol.** 20: 285-297, 1999.

BOUVY, M. et al. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. **Aquatic. Microbi. Ecol.** 23: 13-27, 2000.

BRANCO, C.W.C.; SENNA, P.A.C.. The taxonomic elucidation of Paranoá Lake (Brasilia, Brazil) problem: *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Bull. Jard. Bot. Natl. Belgique, Bruxelles**. 61: 85-96, 1991.

BRANCO, C.W.C.; SENNA, P.A.C. Phytoplankton composition, community structure and seasonal changes in a tropical reservoir (Paranoá Reservoir, Brazil). **Algol. Stud.** 81: 69-84, 1996.

BROCK, T.D. Lower pH limit for the Existence of Blue-Green algae: Implications. **Science**, Madison, v.179, p. 480-483, 1972.

CALIJURI, M. C. **Respostas Fisiológicas da Comunidade Fitoplanctônica e fatores Ecológicos em Ecossistemas com Diferentes Estágios de Eutrofização**. 1988. 292p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento)- Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo,1988.

CANFIELD, D.E. et al. Factors influencing the abundance of blue-green algae in Florida Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 1232-1237, 1989.

CARLSON, R. E. A trophic state index for lakes. **Limnol. Oceanog.** 22: 361-369, 1977.

CARMICHAEL, W. W. Health effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: “The CyanoHABs”. **Human and Ecological Risk Assessment**. 7(5): 1393-1407, 2001.

CHELLAPPA, N. T. Phytoplankton species composition, chlorophyll biomass, and primary productivity of Jundiaí reservoir, northeast Brazil before and after eutrophication. **Acta Hydrobiologia**. 32, 75-91, 1990.

CHELLAPPA, N. T. et al. Studies on the microalgae of Rio grande de Norte: A comparison of the phytoplankton assemblages of an oligotrophic and eutrophic lakes, Brazil. **Beih. Nova Hedwigia** (Stuttgart) 65, 513-524, 1996.

CHELLAPPA, N. T et al. Physiological Ecology of Cyanophycean Population from impounded Freshwater aquatic ecosystems (Barragem Gargalheiras) of Rio Grande do Norte state. In: **IV Simpósio de Ecossistemas brasileiros, 2-7 de Abril de 1998; Anais...** Águas de Lindóia, SP, Brasil, 1998. (2): 372-380.

CHELLAPPA, N.T.; COSTA, M.A.M. and MARINHO, I.R. Harmful cyanobacterial blooms from semiarid freshwater ecosystems of North-East Brazil. **Australia. Aust. Soc. Limnol.** (Newsletter). 38: 2, 45-49, 2000.

CONNELL, J. Diversity in tropical rain forest and coral reefs. **Science**, 199: 1304-1310. 1978.

COSTA, I. A. S. **Estudos das microalgas em relação a diversidade, dominância, biomassa de clorofila e produtividade primária na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. 62p. Monografia. (Especialização em bioecologia aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 1996.

COSTA, I. A. S. **Ecologia Dinâmica da Comunidade Fitoplânctônica da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. 158p. Dissertação ( Mestrado em Ecologia Aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 1999.

COSTA I.A. S.; CHELLAPPA, N. T.; ARAÚJO M. F. F. Estudo do Fitoplâncton da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN. **Acta Limnologica Brasiliensis**, 10(1): 67-80. 1998.

DAVIS, C.C. **The marine and Freshwater Plankton**. Michigan. Michigan State University Press, 562p. 1955.

DOWNING, J. A.; OSENBURG, C. W. & SARNELLE, O. Meta-analysis of marine nutrient - Enrichment experiments: Variation in the magnitude of nutrient limitation. **Ecology**, 80(4):1157-1167. 1999.

EDLER, L. Recommendations of marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and Chlorophyll. UNESCO, Working Group 11, Baltic Marine Biologists, National Swedish Environmental Protection Board, Stockholm, 36p. 1979.

ELSER, J. J.; MARZOLF, E. R.; GOLDMAN, C. R. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton in freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. **Canadian journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 47:1468-1477. 1990.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 1988. 676p.

FERREIRA, C. J. A. **Dinâmica do fitoplâncton de um reservatório hipereutrófico (Reservatório Tapacuruá, Recife, PE), com ênfase em *Cylindrospermopsis raciborskii* e seus morfotipos**. 79p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2002.

GIBSON, C.E.; SMITH, R.V. Freshwater phytoplankton. In: CARR, N.G. & WHITTON, B.A. The Biology of Cyanobacteria. Oxford: **Blackwell Sc Publ.**, p. 463-489. 1982.

GRIME, J. F. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. **Amer. Nat.** 111: 1169-1194. 1977.

GRIME, J. F. **Plant strategies and vegetation process**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 442p.

HARRIS, G.P. Spatial and temporal scales in phytoplankton ecology: Mechanisms, methods, models and management. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v. 37, 877-900. 1980.

HARRIS, G.P. **Phytoplankton ecology**. London: Chapman & Hall, 1986.

HARRIS, G.P. & BAXTER, G. Interannual variability in phytoplankton biomass and species composition in a subtropical reservoir. **Freshwat. Res.** 21: 467-475. 1996.

HAWKINS, P. R. Factors which influence the development of blooms of *Cylindrospermopsis*. A new toxic algal bloom challenge for Australia, Brisbane city Hall, 24 Oct. 1996, Symposium. (Abstract)



HECKEY, R. E.: & KILHAM, P. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidences of the effects of enrichment. **Limnology and Oceanography** 33: 796-822. 1998.

HILLEBRAND, H. et al.. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of Phycology** 35:403-424. 1999

HUSZAR et al. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. **Hydrobiol.**, 424:67-77. 2000.

HUSZAR, V.L.M.; CARACO, N. The relationship between phytoplankton composition and physical chemical variables: a comparison of taxonomic and morphological-functional approaches in six temperate lakes. **Freshwat. Biol.** 40:1-18. 1998.

HUSZAR, V.L.M.; SILVA, L.H.S. A estrutura da comunidade fitoplanctônica no Brasil: Cinco Décadas de Estudos. **Limnotemas**, 2:1-21. 1999.

HUTCHINSON, G. E. The paradox of the Plankton. **Am. Nat.**, 95: 137-147. 1961.

HUTCHINSON, G.E. **A treatise on Limnology**. Volume II: Introduction to Lake Biology and the Limnoplankton. Wiley, New York. 1967.

ISTVÁNOVIS et al. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanophyceae) in through flow cultures. **Freshwat. Biol.** 43:257-275. 2000.

JENSEN et al. Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes. **Can. J. Fish aquat. Sci.** 51:1692-1699. 1994.

KIRK, J.T.O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: 1994. p. 341-358. v. 77.

KOMÁREK, J.; AGNOSTIDIS, K., Modern approach to the classification system of Cyanophytes, 2: Choococcales. **Archiv für Hydrobiologie, suppl. 73, Algological Studies** 43: 157-226. 1986.

KOMÁREK, J.; AGNOSTIDIS, K., Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 – Nostocales. **Arch. Hydrobiol. Suppl.** 82 (3): 247-345. 1989.

KOMÁRKOVÁ et al. Extreme morphology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, cyanobacteria) in the lagoon do Peri, a freshwater coastal lagoon, Santa Catarina, Brazil. **Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud.**, v. 94, p. 20222. 1999.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: **Grasshoff, K. Methods of seawater analysis**. New York: Verlag. Chemie Weinheim, 1976. p.117-181.

LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. **Limnol. Oceanog.** 12: 343-346. 1967.

LUND et al. The inverted microscope method of estimating algal numbers and statistical basis of estimating counting. – **Hydrobiologia** 11: 143-170. 1958.

LUND, J.W.G. The ecology of the Freshwater Phytoplankton. **Biol. Ver.**, 40: 231-293. 1965.

MACKERETH, F.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. Water analysis: some revised methods for limnologists. Ambleside: **Freshwater Biological Association Scientific Publication**, n. 36, 120p. 1978.

MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Editorial Òmega. 1983.

MELAK, J. M. Photosynthetic activity of phytoplankton in tropical Africa soda lakes. **Hydrobiol.** 81:71-85. 1981.

MOSS, B. Limitation of algal growth in some central african waters. *Limnol. Oceanogr.*, 14: 591-601. 1969.

PADISÀK et al. The role of storms in the summer succession of the phytoplankton in community in a shallow lake (lake Balaton, Hungary). **J. Plankton Res.** 25: 499-508. 1988.

PADISÀK et al. Intermediate disturbance hypothesis in phytoplankton ecology. **Kluwer Acad. Publ.** 199p. 1993.

PADISÀK, J. & REYNOLDS, C.S. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to the cyanobacteria – *Hydrobiologia* 384: 41-53. 1998.

PANOSSO, R. The eord of extracelular phosphatase in aquatic environenment. **Oecologia.** 9: 33-56. 2001.

PAYNE, A. I. The ecology of tropical lakes and rivers. New York, **John Willey.** 301p. 1986.

PIELOU, E.C. Species – diversity and pattern in the study of ecological succession. **Jour. Theoret. Biol.** 10: 370:382. 1966.

PIELOU, E.C. Ecological Diversity. New York, **Wiley-Interscience,** 165p. 1975.

PINTO-COELHO, R. M; GIANI, A. Variações sazonais do fitoplâncton e fatores físicos e químicos da água no reservatório do Paranoá, Brasília, DF. **Ciência e cultura,** São Paulo, v. 37, n.12, p. 2000-2006. 1985.

POOLE, H.H. & ATKINS, W.R.G. Photo-electric measurement of submarine illumination through out the year. **Journ. Mar. Biol. Assoc.**, v. 16, p.297-324. 1929.

PORTER, K.G. The plant animal interface in freshwaters ecosystems. **Am. Sci.** 65: 159-170. 1977.

REYNOLDS et al. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research.** 24: 417-428. 2002.

REYNOLDS, C. S. Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability. **Freshwater Biology.** v. 14, p. 111-142. 1984.

REYNOLDS, C. S. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake system. **Holarctic Ecol.** 3: 141-159. 1980.

REYNOLDS, C. S., What factors influence the species composition of Phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiol.** 369/370: 11-26. 1980.

REYNOLDS, C. S., Phytoplankton assemblages in reservoir. In: TUNDISI, J. G. & M. Straskrabaa, (ed) – Theoretical reservoir ecology and its application. International institute of ecology. **Backhuys publishers**, p. 439-456.1999.

REYNOLDS, C.S. & WALSBY, A.E. Water – blooms. **Biol. Ver.**, v.50,p.437- 481. 1975.

REYNOLDS, C.S. Functional morphology and adaptative strategies of freshwater phytoplankton. In: SANDGRE, C.D. ed. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge: **Cambridge Univ. Press.** p. 388-433. 1988.

REYNOLDS, C.S. Vegetation Processes in the Pelagic: A model for ecosystem theory, **Ecology Institute**, Germany: 377p. 1997.

ROUND, F.E. The taxonomy of the chlorophyta II. **British phycological journal.** 6(2): 235-264. 1971.

SCHINDLER, D. W. Evolution of Phosphorus limitation in Lakes. **Science**, 195:260-262. 1977.

SHAFIK, H. M. et al. A *Cylindrospermopsis raciborskii* szaporodásának jellegzetességei zárt és folyamatos tenyészetekben (Growth of *Cylindrospermopsis raciborskii* in bath and continuous cultures). **Hydrológiai Közlöny** 77:17-18. (in Hungarian with English summary). 1997.

SHANNON, C.E. & WEAVER, W. The Mathematical theory of communication. **Univ. Illinois Press. Urbana.** 173 pp. 1963.

SHAPIRO. Currents beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for the importance of CO<sub>2</sub> and pH. **Ver. Int. Ver. Limnol.** 24:38-54. 1990.

SHAPIRO, J. Blue-green algae: Why they become dominant. **Science**, 179:382-384. 1973.

SHUMAN, F.R. & LOREZEN, C.J. Quantitative degradation of chlorophyll by a marine herbivore. **Limnol. Oceanog.** 20:580-586, 1975.

SILVA, E. M.; STRADMANN, M.T.S. & OMENA, A.C.A. Limnological studies in a small, eutrophic lake (Lagoa Abaeté, Salvador, Bahia, Brazil). **Verh. Int. Verein. Limnol.**, 26:268. 1997.

SIMONSEN, R. The diatom system: ideas on phylogeny. **Bacillaria**, 2:9-71. 1979.

SMITH, V.H. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. **Science**, 221: 669-671.1983.

SMITH, V.H. Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green algae in lake phytoplankton. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 43: 148-153. 1986.

SOMMER et al. Hutchinson's heritage: The diversity-disturbance relationships in phytoplankton. **Hydrobiologia**. 249, (Dev. hydrobiol. 81): 1-7, 1993.

SOMMER, U. The paradox of the plankton: fluctuations of phosphorus availability maintain diversity of phytoplankton in flow-through cultures. **Limnol. Oceanogr.** 29(3): 633-636. 1984.

SOMMER, U. The role of competition for resources in planktonic succession. Plankton ecology; Succession in plankton communities (Ed. U. Sommer). **Springer Verlag**, Berlin, p. 57-106. 1989.

SOMMER, U.; GLIWICZ, Z.M.; LAMPERT, W. & Duncan, A. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. **Archiv. Für Hydrobiol.** 106: 433-471. 1986.

SOUTHWOOD, T.R.E. Habitat, template for ecological strategies? **J. Animal Ecol.** 13:73-81. 1977.

SOUZA et al. *Cylindrospermopsis raciborskii* (wołoszynska) Seenayya et Subba Raju (Cyanophyceae) dominance and a contribution to the Knowledge of rio Pequeno arm, Billings reservoir, Brazil. **Environ. Toxicol. Water qual.**, v. 13, p 73-81, 1998.

STEWART, W.D.P. Algae physiology and Biochemistry. **Academic Press.**, 985p. 1974.

STRASKRABA, M. & TUNDISI, J. G. Reservoir water quality management. **ILEC Guidelines series**, n. 9, 129p. 1999.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J. G. & KUTNER, M.B. Plankton studies In: a mangrove II: The standing-stock and some ecological factors. **Boletim do Instituto Oceanográfico**. São Paulo, 24: 23-41. 1965.

TER BRAAK, C. J. F. Updates notes: Canoco version 3.1. **Agriculture mathematics Group**, Wageningen, 35p. 1990.

TILMAN, D. KILHAM, S. S. & KILHAM, P. Phytoplankton community Ecology: The role of limiting nutrients. **Ann. Rev. Of Ecol. Syst.**, 13: 349-372. 1982.

TILMAN, D., MATTSON, M. & LANGER, S. Competition and nutrient kinetics along a temperature gradient: An experimental test of a mechanistic approach to niche theory. **Limnol. Oceanog.**, 26:1020-1033. 1981.

TOLEDO Jr., A. et al. Aplicação de modelos simplificados para avaliação e processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA. 1983, Camboriú. **Anais...** 1983. p.1-34.

UHELINGER, V. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. **Arch Sci**, 17: 121-23. 1964.

ÜTERMOL, H. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton methodik. *Mitt Int cer Theor Angew Limnol.*, 9: 1-38. 1958.

VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorus In: natural waters. **Marine Chemistry.**, 10: 109-122. 1981.

WOLOSZYNSKA, J. Das phytoplankton einiger javanischer Seen, mit Berücksichtigung des Sawa-Planktons. **Bull. Acad. Sci. Cracovie. Mat.-nat.**, Ser. B, Cracovie. p. 649-709, 1912.

## **CAPÍTULO V**

# **DISCUSSÃO GERAL**



## DISCUSSÃO GERAL

A determinação dos fatores que podem influenciar a distribuição das espécies do fitoplâncton, principalmente aqueles resultantes da ação antrópica, é extremamente importante e faz-se necessária para o desenvolvimento de técnicas de manejo para os ambientes aquáticos. Tais técnicas são revertidas em ações mitigadoras essenciais para a manutenção da qualidade da água, especialmente a destinada ao consumo humano. Assim, o monitoramento das variações na composição e biomassa de fitoplâncton e o conhecimento aprofundado dos fatores determinantes destas variações é fundamental para o desenvolvimento de modelos em que a previsibilidade possibilite o aperfeiçoamento do gerenciamento da qualidade da água, principalmente em regiões de grandes déficits hídricos com ambientes que possuem incidência de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas.

A Barragem Armando Ribeiro Gonçalves possui baixa zona eufótica, é alcalina e tem condições saturantes de nitrogênio e fósforo para o crescimento do fitoplâncton, águas mornas e elevado tempo de residência da água durante todo ano. Conjuntamente as condições climáticas locais que apresentam altas temperaturas e insolação, baixa pluviosidade com pequena amplitude de variação anual, oferecem condições “ótimas” para o estabelecimento da dominância de cianobactérias formadoras de florações tóxicas e não tóxicas. Pelo fato das cianobactérias permanecerem no ambiente com longos períodos de estabilidade e sob condições ideais de sobrevivência, o sucesso do seu crescimento parece estar ligado às suas especificidades fisiológicas frente às variações das condições ambientais. Isto parece indicar que as mudanças na composição de espécies ocorreram mais como resultado de influências autogênicas do que por alogênicas.

Em síntese, o reservatório no período estudado apresentou condições eutróficas, circulação polimítica, com estratificações transitórias no período de chuvas e isoterminia no período de estiagem. Na estiagem o vento proporcionou a circulação da camada fótica no sistema, disponibilizando nutrientes e influenciando o padrão de distribuição do fitoplâncton conferindo maior equilíbrio na comunidade. Condições climáticas e processos físicos inerentes do reservatório foram determinantes para a circulação térmica total do sistema e a mistura das camadas profundas.

A análise dos nossos resultados comparados com as teorias ecológicas possibilitou um entendimento das possíveis relações ecológicas que influenciaram e determinaram a estrutura e função do fitoplâncton, especialmente as cianobactérias, no reservatório, e foram explicadas através de atributos da comunidade e argumentos sobre ecofisiologia de espécies. Neste sentido, os conceitos recentes que consideram os nutrientes ou suas razões não como causa, mas como efeito do estabelecimento das comunidades e do seu uso diferenciado pelos recursos disponíveis Reynolds (1999); Canfield *et al.* (1989); Blomqvist *et al.* 1994) parecem perfeitamente adequados para o sistema estudado.

A análise realizada em curtos intervalos de tempo (quatro dias), bem próximo ao tempo de gerações das algas, possibilitou identificar a existência e a intensidade de distúrbios no sistema, permitindo uma melhor e mais detalhada avaliação e entendimento das forças direcionadoras da estrutura e padrões sucessionais da comunidade do fitoplâncton no reservatório.

Tanto nas descrições estatísticas quanto nas baseadas em observações, as principais variáveis que influenciaram o padrão de distribuição das espécies no sistema durante o estudo foram as seguintes: climáticas (ventos, chuvas e temperatura); físicas

(tempo de residência da água, zona eufótica, circulação térmica) e químicas (nitrato, amônio, fósforo solúvel reativo e fósforo total e CO<sub>2</sub> livre).

A variação desses fatores promoveu o estabelecimento de períodos ecologicamente distintos que foram descritos através de associações de espécies. A abordagem fitosociológica de Reynolds (1997) e Reynolds *et. al*, (2002), baseada no conceito de associações e seleção de espécies, mostrou-se eficaz como descritores ambientais para o reservatório em estudo.

Com base neste conceito o ambiente foi descrito por espécies de associações **Sn**, **M** e **H<sub>1</sub>**, respectivamente representados pelas espécies *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis* spp e *Aphanizomenon* sp, as quais mostraram-se amplamente adaptadas às diferentes condições ambientais do reservatório. De forma geral, são espécies adaptadas e tolerantes a ambientes eutróficos com baixa luminosidade e águas mornas. Espécies de associação **Sn** e **M** são sensíveis a fluxos e correntes e, **H<sub>1</sub>** à mistura.

Assim, na época de chuvas e ventos fracos estabelecem-se estratificações térmicas e químicas, diminuindo a zona eufótica e favorecendo a formação de florescimentos de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Entre época de chuvas e de estiagem, quando a coluna da água começa a mesclar, aumenta a disponibilidade de nitrogênio e da condutividade elétrica desenvolvendo-se florações de *Microcystis* spp. Na estiagem, período de isoterminia e de mescla total na coluna d'água, *Aphanizomenon* spp domina e forma florações mistas menos intensas com essas outras duas espécies.

No período de chuvas, *Cylindrospermopsis raciborskii* mostrou-se mais eficiente na exploração dos recursos durante as estratificações e *Microcystis* spp com a desestratificação. Na estiagem, período que foi de maior circulação térmica, espécies de Nostocales (*Aphanizomenon* spp e *Anabaena*) e Oscillatoriales de associação

S<sub>1</sub>(*Planktothrix e Limnothrix*) e diatomáceas (P) (*aulacoseira granulata*), coexistiram, mantendo maior uniformidade na distribuição de biomassa. Portanto, este período foi o de maior estabilidade, sem grandes variações na biomassa total, maior diversidade específica e equitabilidade, comprovada por maior distribuição dos indivíduos na comunidade. Apesar da rara expressão em termos de ocorrência e biomassa de diatomácias, clorofíceas e demais cianobactérias elas se mostraram importantes como sensores ambientais.

A eficiência de *Microcystis* e *Cylindrospermopsis* em armazenar fósforo pode justificar os menores valores de PSR no período de chuvas, ficando grande quantidade de fósforo na forma orgânica particulada, o que justifica altas concentrações de PT no ambiente durante todo o estudo. Tal habilidade garante a dominância dessas espécies e exclusão das demais. O aumento das formas de fósforo na estiagem possivelmente foi consequência da incorporação celular e morte de células após as sucessivas florações nos períodos anteriores, liberando diferentes formas desse elemento no ambiente. Maior disponibilidade de PSR pode ter ocorrido devido à mineralização das algas mortas pelas bactérias. Conjuntamente, as condições de mescla na coluna d'água no sistema neste mesmo período, favoreceram maior circulação do fósforo, disponibilizando-o para as diatomáceas e clorofíceas. A presença de *C. raciborskii* em diferentes condições ambientais no sistema, confirma a grande amplitude de nicho dessa espécie e sugere que suas especificidades fisiológicas adaptativas são mais eficientes do que as de *Microcystis* e *Aphanizomenon*, uma vez que ela co-existiu mantendo biomassa significativa em todo o ciclo anual.

Com base nas amostras planctônicas coletadas na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, 71 % dos táxons identificados foram representados por cianobactérias (20 táxons) e destes 35% são potencialmente tóxicas (7 táxons). Isto significa que 50% da

população de cianobactérias no reservatório podem produzir cianotoxinas dependendo de suas especificidades genéticas e fisiológicas e também das condições ambientais do sistema.

Durante o estudo as cianobactérias formaram florações tóxicas com produção de cianotoxinas (microcistinas e saxitoxinas). A prevalência de microcistinas em 67% das amostras analisadas de água bruta e 50% na água tratada, alerta para possíveis riscos à saúde pública.

A presença de  $8.8 \mu\text{g l}^{-1}$  na água bruta e  $0,26 \mu\text{g/L}$  na água tratada registrada durante o estudo, demonstra eficiência na remoção dessa toxina pela estação de tratamento local. No entanto, parte da população local utiliza a água diretamente de um sistema de transporte de água aberto o “Canal do Pataxó”, sem tratamento prévio. Tal situação deve ser considerada como sendo de alto risco, visto que a exposição prolongada às microcistinas pode determinar maior incidência de câncer hepático nas populações expostas, devido estas toxinas constituírem-se em potentes promotoras de tumores (Azevedo 1999). A exposição das populações locais às cianotoxinas, através da sua potencial acumulação em musculatura de peixes, também deve ser considerada (Magalhães *et al.*, 2001). A ingestão dessa toxina, mesmo em pequenas doses, seja através do consumo do pescado ou da água, representa um grande risco à saúde da população a longo prazo.

A ocorrência de células de cianobactérias na água tratada utilizada para abastecimento doméstico, muito acima do limite máximo aceitável para água bruta (20 mil  $\text{cel.mL}^{-1}$ ), daquele e demais reservatório do Estado do Rio Grande do Norte (Costa *et al.* 2003 a, b), revela grande ineficiência na remoção de células nas estações de tratamento de água. Isto indica a necessidade de estudos relacionados com tipos e

eficiência de formas de tratamento, adaptados às condições locais e que sejam principalmente feitas através de medidas simples, práticas, rápidas e de baixo custo.

A constatação de elevados números de células de cianobactérias na água tratada durante este estudo levou a empresa de abastecimento local (CAERN) a buscar e experimentar alternativas para resolver o problema. Além disso, evidenciou-se a necessidade de investigação sobre a quantidade de cianobactérias e cianotoxinas que os próprios sistemas de tratamento e as lagoas de depuração despejam nos rios e lagoas da região através de manejo inadequado.

Algumas medidas já foram tomadas pela CAERN (Companhia de Águas e Esgotos do Rio Grande do Norte) no sentido do cumprimento da Portaria/1469 recomendada pelo Ministério da Saúde, que regulamenta o padrão de potabilidade para substâncias químicas nocivas à saúde. Inicialmente, foi possível capacitar funcionários para identificação e quantificação de cianobactérias e elaborar um plano inicial de monitoramento para o Estado. Tais medidas resultaram na não reativação do reservatório Itans, situado na região Seridó do Estado, em setembro de 2002, para fins de abastecimento doméstico devido à constantes florações de *Anabaena circinalis* e *Microcystis aeruginosa* na ordem de  $10^8$  a  $10^9$  células.mL<sup>-1</sup>.

Com base nas investigações obtidas neste estudo, foi possível apontar medidas mitigadoras, através de técnicas de manejo mais adequadas para o sistema. Medidas de prevenção e controle estão sendo tomadas pela CAERN na tentativa de reduzir drasticamente o número de células de cianobactérias na água tratada. Para isso, processos físicos de mistura nos pontos de captação de água das estações de tratamento e mudanças no sistema de filtração já estão sendo implementados. O novo sistema constará de processos de filtração lenta ascendente e descendente.

A alta prevalência de saxitoxina (60%) na água bruta do reservatório durante este estudo, assim como a presença de cianobactérias potencialmente produtoras dessa toxina, não somente neste, mas também em vários reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte (Costa *et al.* 2003a, 2003b) e na região nordeste (Molica *et al.* 2002) alerta para o fato de que estas toxinas podem ser mais largamente distribuídas do que se tem conhecimento, especialmente no semi-árido brasileiro.

A ocorrência de florescimentos tóxicos de cianobactérias registrado neste estudo apontam um risco permanente de cianotoxinas em águas de abastecimento, não somente na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, como também em outros reservatórios do Estado do RN. Portanto, existe a necessidade urgente de monitoramento regular no sentido de orientar as medidas de prevenção e controle das causas da eutrofização destes mananciais, implementação de medidas de controle das florações e o cumprimento da portaria 1469/2000 recomendada pelo Ministério da Saúde, visando a melhoria da qualidade da água.

## **CAPÍTULO VI**

# **CONCLUSÕES**



## CONCLUSÕES

Com base nas investigações realizadas sobre a dinâmica das populações de cianobactérias na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, consideramos as seguintes conclusões:

1. As características climáticas locais de altas temperaturas e insolação, poucas chuvas e ventos fracos sem grandes variações anuais de amplitude, associados a processos físicos inerentes do reservatório, parecem definir as condições hidrológicas e a circulação térmica do sistema, responsáveis pela mescla das camadas profundas;
2. O reservatório apresentou circulação polimítica, com estratificações no período de chuvas e isoterma no período de estiagem;
3. Devida a variação de classificação trófica obtida através de diferentes critérios, (eutrófico a hiper-eutrófico-OECD, eutrófico-IET Carlson, meso-eutrófico-IET Carlson modificado e mesotrófico-IET-médio da equação de Toledo *et al.* 1983), percebemos que esses critérios são importantes somente como indicador do potencial trófico do sistema;
4. Através das associações funcionais do fitoplâncton, que melhor definiu o grau de trofia do sistema o reservatório foi caracterizado como eutrófico. Também contribuíram para esta classificação as condições hidrológicas particulares do reservatório, e a dinâmica temporal das variáveis físicas e químicas;
5. A variabilidade temporal do fitoplâncton teve forte influência do sinergismo entre fatores climáticos e hidrodinâmica do reservatório, a qual foi percebida através da

- alternância na dominância de espécies entre os períodos de estratificação e de mescla total da coluna d'água;
6. Na estiagem o vento proporcionou a circulação da camada fótica ( $Z_{eu}=3m$ ) no sistema, influenciando na disponibilidade de nutrientes e no padrão de distribuição do fitoplâncton, conferindo assim maior equilíbrio na comunidade;
  7. A análise realizada em curtos intervalos de tempo possibilitou identificar e quantificar distúrbios no sistema, permitindo uma melhor avaliação e entendimento das forças direcionadoras da estrutura e padrões sucessionais da comunidade do fitoplâncton;
  8. No final do período de chuvas com o início da desestratificação, possivelmente houve um distúrbio de alta frequência, levando a uma expressiva queda na biomassa total e a transição da dominância de *C. raciborskii* para *Microcystis* spp;
  9. Estágio maduro ou próximo ao equilíbrio da comunidade foi alcançado durante a estiagem, período em que a estabilidade do sistema levou a diversidade máxima da sem variações significativas na biomassa, sugerindo ter sido consequência da ocorrência de um distúrbio de frequência intermediária;
  10. Pelo fato das cianobactérias permanecerem no ambiente por longos períodos de estabilidade e sob condições ambientais ideais para a sua sobrevivência, o sucesso do seu crescimento parece estar ligado às suas especificidades fisiológicas frente às variações das condições ambientais;
  11. As variáveis ambientais de maior influência na distribuição das cianobactérias foram o fósforo solúvel reativo, fósforo total, nitrogênio total dissolvido, CO<sub>2</sub> livre, zona eufótica, chuvas e vento;

12. Na época de chuvas e ventos fracos estabelecem-se estratificações térmicas e químicas, diminuindo a zona eufótica e favorecendo a formação de florescimentos de *Cylindrospermopsis raciborskii*.
13. Entre época de chuvas e de estiagem, quando a coluna da água começa a mesclar, havendo aumento da disponibilidade de nitrogênio e da condutividade elétrica desenvolvendo-se florações de *Microcystis* sp;
14. Na estiagem, período de isoterminia e de mescla total na coluna d'água, *Aphanizomenon* spp domina e forma florações mistas menos intensas com *Microcystis* e *Cylindrospermopsis*;
15. A baixa variação anual da biomassa do fitoplâncton, do fósforo e do nitrogênio total, indica não haver influência alóctone significativa de nutrientes para o sistema, a qual sugere ser definida por fatores autogênicos;
16. O conceito ecológico recente que considera os nutrientes ou suas razões, não como causa, mas como efeito do estabelecimento das comunidades e do seu uso diferenciado pelos recursos disponíveis parecem perfeitamente adequados para o sistema estudado;
17. A comunidade fitoplanctônica no reservatório não é limitada por nitrogênio e fósforo, mas parece ser influenciada pelas variações das formas inorgânicas desses elementos, as quais apontam ser consequência e não causa das variações da biomassa total;
18. As razões N:P foram mais altas do que as registradas na literatura para ambientes dominados por cianobactérias e devido a alta disponibilidade de nutrientes no sistema essas razões não foram bons argumentos para explicar a distribuição das populações de cianobactérias, mas pequenas variações nas estimativas durante o

- estudo, pareceram influenciar o crescimento de espécies fixadoras de nitrogênio quando as razões foram menores;
19. Espécies dominantes de associações (**Sn**, **M** e **H**) descreveram bem as condições de eutrofização e turbidez do reservatório. Portanto, o conceito de associações de espécies indica ser adequado e funcional para regiões tropicais, especialmente para o semi-árido brasileiro;
  20. *Cylindrospermopsis* (**Sn**) dominou na ocorrência de chuvas, estratificação, ventos fracos, baixa  $Z_{eu}$ , baixos níveis de  $NO_3^-$ ,  $CO_2$  e PSR e alto de  $NH_4^+$  e N:P;
  21. *Microcystis* spp (**M**) dominou no início da estiagem e de desestratificação do sistema, com maior  $Z_{eu}$ , baixos valores de  $NO_3^-$  e PSR e altos de  $NH_4^+$  e N:P;
  22. Na estiagem, período de mescla total da coluna d'água, baixa  $Z_{eu}$ , altos valores de  $NO_3^-$ , PSR e baixos de  $NH_4^+$  e N:P, espécies de associações **H** (*Aphanizomenon* sp, *Anabaena* spp), **S<sub>1</sub>** (*Planktothrix agardhii* e *Limnothrix*), clorofíceas (**F**) e diatomáceas (**P**), adaptadas a viverem em ambientes com deficiência de luz, coexistiram mantendo maior uniformidade na distribuição da biomassa;
  23. A presença de *C. raciborskii* em diferentes condições ambientais no sistema, confirma a grande amplitude de nicho dessa espécie e sugere que suas especificidades fisiológicas adaptativas são mais eficientes do que as de *Microcystis* e *Aphanizomenon*, uma vez que ela co-existiu mantendo biomassa significativa em todo o ciclo anual;
  24. A eficiência de *Microcystis* e *Cylindrospermopsis* em armazenar fósforo pode justificar os menores valores de PSR no período de chuvas durante as florações dessas espécies;

25. Maiores valores de fósforo total e dissolvido observados na estiagem possivelmente foi consequência da incorporação celular e de processos de mineralização bacteriana, respectivamente, após as sucessivas florações nos períodos anteriores, liberando diferentes formas desse elemento no ambiente;
26. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Sn) e *Microcystis* spp (M) mostraram-se mais eficientes na exploração dos recursos durante o estudo;
27. Na estiagem o fitoplâncton apresentou baixa variação de biomassa total, maior diversidade específica e equitabilidade, caracterizando estado de equilíbrio na comunidade e maior estabilidade do sistema;
28. A mescla na coluna d'água na estiagem favoreceu maior circulação do fósforo, disponibilizando-o para as diatomáceas e clorofíceas, aumentando a diversidade de espécies;
29. Apesar de baixa importância relativa das demais cianobactérias, clorofíceas e diatomáceas identificadas neste trabalho são importantes como sensores ambientais;
30. Das cianobactérias identificadas neste estudo, as espécies *Aphanizomenon* sp, *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis* spp (*M. panniformis*, *M. novacekii*, *M. protocystis*) foram dominantes e comuns; *Anabaena* sp, *Snowella* cf. *lacustris* e *Sphaerocavum brasiliense* não foram abundantes mas foram freqüentes; *Coelomoron tropicalis*, *Planktothrix agardhii*, *Raphidiopsis mediterranea*, *Limnothrix* sp também não foram abundantes mas tiveram freqüência de ocorrência comum e *Aphanocapsa* sp, *Aphanothece* sp, *Anabaena circinalis* e *Merismopedia* sp foram raras;

31. As Cianobactérias representaram 71% dos táxons identificados na comunidade do fitoplâncton e foram melhor representadas pelas ordens Nostocales e Chroococcales com 10 e oito táxons respectivamente, seguida da ordem Oscillatoriales com 3 táxons.
32. Dentre as espécies de cianobactérias identificadas 75% são potencialmente tóxicas indicando potencial risco à saúde humana;
33. Espécies potencialmente tóxicas, *C.raciborskii*, *Microcystis* spp e *Aphanizomenon* spp, formaram contínuas florações tóxicas mistas, com alternância alternando na dominância e aspecto visual de agregados verdes macroscópicos, durante todo o ciclo anual de estudo;
34. As espécies de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis panniformis*, *M. protocystis*, e *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii* tiveram maior ocorrência e abundância relativa durante o ciclo anual de 2000.
35. Nostocaceae foi representada por 5 gêneros/10 espécies: *Anabaena* sp, *Anabaena* sp<sub>1</sub>, *A.circinalis*, *A. viguieri*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon* cf. *manguinii*, *Aphanizomenon* cf. *issatschenkoi*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Cylindrospermum* sp e *Raphidiopsis mediterranea*; Merismopediaceae por 3 gêneros e 3 espécies: *Coelomoron tropicalis*, *Snowella* cf. *lacustris*, *Sphaerocavun brasiliense*; Microcistaceae por 1 gênero e 4 espécies: *Microcystis* sp, *M. protocystis*, *M. panniformis* e *M. novacekii*; Pseudanabaenaceae por 1 gênero e 1 espécie): *Geitlerinema unigranulatum*; *Oscillatoriaceae* (1 gênero/1 espécie), *Lyngbya* sp; Phormidiaceae (1 gênero e 1 espécie): *Planktothrix agardhii*.

- 36.** A presença de microcistinas e saxitoxinas na água bruta do reservatório aponta um risco permanente da ocorrência dessas toxinas em águas de abastecimento doméstico;
- 37.** A ingestão de microcistinas pela população local em pequenas doses, a longo prazo, através da sua acumulação em musculatura de peixes também deve ser considerada, devido à sua potencial capacidade de promover tumores hepáticos cancerígenos;
- 38.** A alta prevalência de saxitoxina na água bruta (60 %) alerta para o fato de que estas toxinas podem ser mais largamente distribuídas na água doce do que se tem conhecimento, especialmente no semi-árido brasileiro;
- 39.** A presença de cianobactérias na água tratada ( $8,2 \times 10^5$  cel.mL<sup>-1</sup>), cujo limite máximo aceitável para água bruta é de  $2 \times 10^4$  cel.mL<sup>-1</sup>, revela ineficiência na remoção de células nas estações de tratamento locais, indicando a necessidade urgente de monitoramento regular e implementação de medidas de controle das florações;
- 40.** Por fim, conclui-se que a inexistência da fiscalização ao cumprimento da portaria 1469/2000 no Rio Grande do Norte, a qual é recomendada pelo Ministério da Saúde para regulamentar o padrão de potabilidade e de substâncias nocivas à saúde humana, põe em risco a garantia da qualidade da água e, conseqüentemente, a saúde pública.

## PERSPECTIVAS E RECOMENDAÇÕES

A comprovação da toxicidade das florações de cianobactérias na Barragem Armando Ribeiro Gonçalves indica a necessidade de elaboração de propostas mitigadoras eficazes e adaptadas às condições locais. Portanto, o desenvolvimento de pesquisas complementares a fim de fornecer subsídios para formulação de prognósticos relacionados com a ocorrência e produção de cianotoxinas em ambientes eutrofizados em regiões de escassez de água, como é o caso do semi-árido brasileiro e especificamente o Rio grande do Norte é extremamente urgente e essencial. Assim, os resultados deste trabalho oferecem possibilidades e recomenda o desenvolvimento de pesquisas nas seguintes perspectivas:

- Monitoramento de microcistinas e saxitoxinas nos mananciais de abastecimento do estado, bem como nas clínicas de hemodiálise em todo o território Potiguar;
- Experimentos de bioensaios “in situ” e em laboratório para obter respostas mais precisas da dominância dessas espécies na região nordeste;
- Testes de toxicidade em animais aquáticos e experimentos de bioacumulação em diferentes organismos da cadeia alimentar;
- Experimentos com tipos de sistemas de filtração em diferentes escalas para testar a eficiência de remoção de células de cianobactérias;
- Isolamento e cultivo de cianobactérias para avaliar a toxicidade das espécies e de diferentes cepas da mesma espécie daquele e de outros reservatórios do Estado.



- Identificação de espécies por técnicas moleculares com a finalidade de precisar aspectos filogenéticos que possam explicar a toxicidade das espécies e possíveis variações morfológicas das mesmas.
- Capacitação de profissionais da área de saúde para atuarem com competência na fiscalização do padrão de qualidade da água para abastecimento humano.

## **CAPÍTULO VII**

# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANAGNOSTIDIS, K. & KOMÁREK, J. 1985. Modern approach to the classification system of Cyanophyta, 1: Introduction. **Algological Studies** 7:291-302.

ANAGNOSTIDIS, k; KOMÁREK, J. 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes 3 – Oscillatoriales. **Arch. Hydrobiol./suppl.** 80: 1-4, **Algol. Studies**, 50-53: 327-472. Stuttgart.

AZEVEDO, S. M. F. O.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; NAMIKOSHI, M. 1994. First Report of Microcystis from a Brazilian isolate of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **J. Appl. Phycol.**, 6: 261-265. Belgium

AZEVEDO, S.M.F.O. 1996. Currdents studies on toxic cyanobacteria(blue-reen algae) of brazilian water bodis. . **IV Congresso Latino Americano de Ficologia. July, Caxanbu, MG, Brasil, p.62. (RESUMO).**

AZEVEDO, S. M. F. O. 1998. Toxinas de cianobactérias: Causas e conseqüências para a saúde pública. **Medicina on line**, (1):3:1-19.

BAKER, P. D. & HUMPAGE, A. R. 1994. Toxicity associated with commonly occurring cyanobacteria in surface waters of Murray-Darling Basin, Australia. **Aust.Jour.Marine and Freshwat.Res.**, 45: 773-786.

BERNAZEU & EAUX-DUNE. 1974. Can microcystis enter drinking water distribution systems ? In: **Toxic Cyanobacteria current status research and management**, Steffensen, D. A. & Nicholson, B. C. (eds). Proceedings of an International Workshop-Adelaide, Australia, March 22-26:115-118.

BLOMQVIST et al. Ammonium-nitrogen: A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen fixing cyanobacteria in aquatic systems. **Arch. Hydrobiol.**, 132: 141-164, 1994.

BOURRELLY, P. 1981. Les algues d'eau douce: initiation à la systématique, 2: Les algues jaunes et brunes, Les Chrysophyceae, Phéophyceae, Xanthophycées et diatomées. **Paris: N. Boubée & Cie**, 517 p.

BOURRELLY, P. 1985. Les algues d'eau douce: initiation à la systématique, 3: Les algues bleues et rouges, les Eugléniens, Péridiens et Cryptomonadines. **Paris: N. Boubée & Cie**, 606 p.

BOUVY M., MOLICA, R.J.R, DE OLIVEIRA S., MARINHO, M., BEKER, B. (1999). Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of Northeast Brazil. **Aquatic. Microbi Ecol** 20: 285-297.

BROCK, T.D. 1972. Lower pH Limit for the Existence of Blue –Green Algae: Implications. **Science, Madson**, v. 179, p.480-483.

CALIJURI, M. C. **Respostas Fisiológicas da Comunidade Fitoplanctônica e fatores Ecológicos em Ecossistemas com Diferentes Estágios de Eutrofização.** 1988. 292p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento)- Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo,1988.

CALIJURI, M. C. 1999. **A comunidade fitoplanctônica em um reservatório tropical (Barra Bonita, SP).** Tese (livre docência). Escola de Engenharia de São Carlos, Brasil, 211 p.

CARACO, N & MILLER, R. 1998. Direct and Indirect effects of CO<sub>2</sub> on competition between a cyanobacteria and eukariotic phytoplankton. **Can J. Sci.** 55: 54-62.

CARLSON, R. E. A trophic state index for lakes. **Limnol. Oceanog.** 22: 361-369, 1977.

CONIELD, D,E. et al.1989. Factores influencing the abundance of blue-green algae in Florida Lakes. **Can. J. fish Aquatic. Sci.** 46:1232-1237.

CARMICHAEL, W. W. 1992. **A staus report on planktonic cyanobacteria (blue-green-algae) and their toxins.** Washington: EPA., 141p.

CARMICHAEL, W. W. 1994. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific American**, v. 270, n.1, p.64-72.

CARMICHAEL, W. W. 2001. Health effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: “The CyanoHABs”. **Human and Ecological Risk Assessment**, 7(5): 1393-1407.

CARMICHAEL W. W. & FALCONER, I.R.1993. Diseases related to fresherwater blue-green algal toxins, and control measures. In **Algal Toxins en Seafood an d Drinking Water**, ed. **I. R. Falconer**, pp.17-209. Academic Press, London.

CARMICHAEL, W.W. et al. 1988. Partial structure determination od hepatotoxic peptides from *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacterium) collected in pounds of Central China. **Toxicon**, v. 26, n. 12, p. 1213-1217.

CHAGAS, F. C. 1997. **Normais climatológicas para Mossoró-RN(1970-1996)**. ESAM-Escola Superior dse Agricultura de Mossoró. 40p.

CHELLAPPA, N. T. 1990. Phytoplankton species composition, chlorophyll biomass, and primary productivity of Jundiaí reservoir, northeast Brazil before and after eutrophication. **Acta Hydrobiologia**, 32: 75-91.

CHELLAPPA, N. T.; AMORIM, J. .M. .F.; BEZERRA, T. A., CID, V.; COSTA, I. A. 1996. Studies on the microalgae of Rio grande de Norte: A comparison of the phytoplankton assemblages of an oligotrophic and eutrophic lakes, Brazil. *Beih. Nova Hedwigia* 65: 513-524. Stuttgart.

CHELLAPPA, N. T.; BEZERRA, T. A.; COSTA, W. T. T. & MELO, S. C. 1998. **Physiological Ecology of Cyanophycean Population from impounded Freshwater aquatic ecosystems (Barragem Gargalheiras) of Rio Grande do Norte State**: Anais IV Simpósio de Ecossistemas brasileiros, 2-7 de Abril de 1998; Águas de Lindóia, SP, Brasil, Vol II:372-380.

CHELLAPPA, N. T et al. Physiological Ecology of Cyanophycean Population from impounded Freshwater aquatic ecosystems (Barragem Gargalheiras) of Rio Grande do Norte state. In: **IV Simpósio de Ecossistemas brasileiros, 2-7 de Abril de 1998; Anais...** Águas de Lindóia, SP, Brasil, 1998. (2): 372-380.

CHELLAPPA, N.T.; COSTA, M.A.M. and MARINHO, I.R.2000.Harmful cyanobacterial blooms from semiarid freshwater ecosystems of North-East Brazil. **Australia. Aust. Soc. Limnol.** (Newsletter). 38: 2, 45-49.

CHORUS, I. & BARTRAM, J. 1999. **Toxic Cyanobacteria in Water**. E & FN Spon, Londres, 416p.

COMPÈRE, P. 1974. Algues de la région du Lac Thad, 2: Cyanoophycées. Cahier de L'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Sér. **Hydrobiologie** 8: 165-198.

COMPÈRE, P. 1986. Flore pratique des algues d'eau douce de Belgique. 1- Cyanophyceae. **Jardim Botanique National de Belgique**. 120p.

COOD, G. A. 1998. Cyanobacterial blooms and toxins in fresh-, brackish and marine waters. In: REGUERA, B.; BLANCO, J. FERNÁNDEZ, M.L. ET AL. (ES). **Harmful algae**. P. 13-17 Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of Unesco.

COSTA, S. M. & AZEVEDO, S.M.F.O.1994. Implantação de um banco de culturas de cianofíceas tóxicas. **Iheringia**, (45):69:64-74.

COSTA, I. A. S. 1996. **Estudos das microalgas em relação a diversidade, dominância, biomassa de clorofila e produtividade primária na Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. Natal, RN 1996. 62p. Monografia. (Especialização em bioecologia aquática). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

COSTA, I. A. S. 1999. **Ecologia Dinâmica da Comunidade Fitoplânctônica da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu/RN**. 158p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN .

COSTA I.A. S.; CHELLAPPA, N. T.; ARAÚJO M. F. F. Estudo do Fitoplâncton da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN. **Acta Limnologica Brasiliensis**, 10(1): 67-80. 1998.

COSTA, I. A. S., ARAÚJO & CHELLAPPA N.T. 2001a. **Algas como bioindicadoras do nível trófico da Barragem Engenheiro Armando Ribeiro Gonçalves, Assu-RN**. VII



CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA 02-06 de Setembro 2001-João Pessoa, PB. p 22. (resumo).

COSTA, I. A. S.; ARAÚJO, M. F. F.; CHELLAPPA, N. T. 2001b. Contribution to our knowledge of Cyanobacteria from Brasil. **Toxin producing species from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State.** ABSTRACT BOOK, PLANKTON SIMPOSIUM - 20-22 de setembro de 2001 - Espinho-Portugal. p.1999.

COSTA, I. A. S.; CALAZANS, M. A. D.; MEDEIROS, F. B. B.; FREIRE, V. M.; BEZERRA, R. M. 2003a. **Prevalência de cianobactérias em mananciais de abastecimento público no Estado do Rio Grande do Norte.** IX Congresso Brasileiro de Limnologia. Juiz de Fora, Minas Gerais.(Resumo).

COSTA, I. A. S.; PANOSSO, R. SOUZA; S. R.MORALES C.; AZEVEDO, S. M. F.O. 2003b. **Ocorrência de cianobactérias potencialmente e cianotoxinas em ambientes Aquáticos do Estado do Rio Grande do Norte.** IX Congresso Brasileiro de Limnologia. Juiz de Fora, Minas Gerais.(Resumo).

DESIKACHARY, T. V. 1959. **Cyanophyta**, ICAR Monograph, New Delhi, India, 686 p.

EDLER, L. 1979.**Recommendations of marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and Chlorophyll.** UNESCO, Working Group 11, Baltic Marine Biologists, National Swedish Environmental Protection Board, Stockholm, 36p.

ESTEVEES, F. A. 1988. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 676p.

FALCONER, I. R. 2001. Toxic Cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. **Phycology** , 40: 228-233.

FALCONER, I. R. et al. 1994. 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. **Environ. Toxicol. Water Qual. Inter. J.** 9:132-139.

FAWELL J. K.; HART J.; JAMES H.A. 1993. Blue Green algae toxics-analysis, toxicity, treatment and environmental control. **Water Supply**, 11: 109-121.

FAWELL J. K.; JAMES, C. P. & JAMES, H. A. ET AL. 1994. Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water. **Water research Centre, Medmenham, UK**, 1-46.

FITZGERALD, D. J.; CUNLIFFE, D. A.; BURCH, M. D. 1999. Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia. **Environmental Toxicology**, 14(1): 203-207.

FRANCIS, G. 1879. Poisonous Australian Lake. **NATURE (LONDON)** 18:11-22.

GANF, G. G. 1974. diurnal mixing and the vertical distribution of phytoplankton in a shallow equatorial Lake (lake George) Uganda. . ecol. 62611-629.

GEITLER, L 1932. Cyanophyceae. In: Rabnhorst, L. (ed) **Kryptogamen-Flora Deustschand, Osterreich und der schweiz. Leipzig: Akademiische verlagasgesllschaft.** Ed. 14 Auf 2.1196p.

GIBSON, C.E.; SMITH, R.V. Freshwater phytoplankton. In: CARR, N.G. & WHITTON, B.A. The Biology of Cyanobacteria. Oxford: **Blackweel Sc Publ.**, p. 463-489. 1982.

GRIME, J. F. **Plant strategies and vegetation process.** New York: Jonh Eiley & Sons, 1979. 442p.

HANEY, J. F. 1987. Field studies on zooplankton-cyanobacteria interations. New Zealand L.J. Mar. **Freshwat. Res.** 21:467-475.

HARADA, K. I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANAB, M.; TERÃO, K. 1994. Isolation of Cylindrospermopsin from a cyanobacterium, *Umezakia natans* and its screening method. **Toxicon**, 32 (1): 73-84.

HARRIS,G.P. **Phytoplankton ecology.** London: Chapman & Hall,1986.

HAWKINS, P. R.; CHANDRACENA, N. R.; JONES, G. J.; HUMPAGE, A. R.; FALCONER, I. R. 1997. Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon*, 35: 341-346.

HOECK, V. D.; MANN, D.G. & JANHNS, H. M. 1995. **Algae: An introduction to phycology**. Cambridge Univ. Press, UK, 623p.

HRUDEY, S.; BURCH, M.; DRIKAS, M. & GREGORY R. 1999. **Toxic cyanobacterial in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. World health Organization, London and new York, p. 275-312.

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

HUSZAR, V.L.M.; CARACO, N. The relationship between phytoplankton composition and physical chemical variables: a comparison of taxonomic and morphological-functional approaches in six temperate lakes. **Freshwat. Biol.** 40:1-18. 1998.

HUSZAR, V.L.M.; SILVA, L.H.S. A estrutura da comunidade fitoplanctônica no Brasil: Cinco Décadas de Estudos. **Limnotemas**, 2:1-21. 1999.

HUTCHINSON, G. E. The paradox of the Plankton. **Am. Nat.**, 95: 137-147. 1961.

HUTCHINSON, G.E. **A treatise on Limnology**. Volume II: Introduction to Lake Biology and the Limnoplankton. Wiley, New York. 1967.

HILLEBRAND, H. et al. 1999. biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of Phycology** 35:403-424.

ISTVÁNOVIS et al. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanophyceae) in through flow cultures. **Freshwat. Biol.** 43:257-275. 2000.

JENSEN et al. Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes. **Can. J. Fish aquat. Sci.** 51:1692-1699. 1994.

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; NA, J.; CARDO, D. .M.; COOKSON S. T.; HOLMES, C. M. D.; ANTUNES, M. B. D.; DE MELO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO S. M. F. O.; JARVIS, W. R. 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialyses center *in* Brazil. **New England Journal of Medicine**, 338: 873-878.

JONES G. J. AND NEGRI A. P. (1997). Persistence and degradation of cyanobacterial pralalytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters. **Water Research** 31, 525-533.

JONES, G.J & ORR, P. T. 1994. Bloom forming blue-green algae (cyanobacteria) In: **Waterplants in Australia** (Edited by Stainty G. R. and Jacobs S.W.L). Saint and Associates: Darlinghurst, 258-267.

KIRK, J.T.O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: 1994. p. 341-358. v. 77.

KOMÁREK, J.; AGNOSTIDIS, K., Modern approach to the classification system of Cyanophytes, 2: Chroococcales. **Archiv für Hydrobiologie**, suppl. **73**, **Algological Studies 43: 157-226. 1986.**

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1989.Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4 – Nostocales. **Archiv für Hydrobiologie** 56:247-345, 1989. (**Algological Studies**, 56).

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1995. Nomenclatural novelties in chroococcalean cyanoprokaryotes. **Preslia**, 67: 15-23. Praha.

KOMÁREK, J.& ANAGNOSTIDIS, K. 1998. **Cyanoprokariota I**. Teil Chroococcales. – In: Ettl, H., et al. (Ed). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: J. Fischer, 19 (1): 1-548.

KOMÁREK, J. & AZEVEDO, M. T. de P. 2000. Geitlerinema unigranulatum, a common tropical cyanoprokaryote from fresh water reservoirs in Brasil. **Algol. Studies**, 99: 39-52. Stuttgart.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: **Grasshoff, K. Methods of seawater analysis.** New York: Verlag. Chemie Weinheim, 1976. p.117-181.

KRISHNAMURTHY T., CARMICHAEL W.W. AND SARVER E. W. 1986. Toxic peptides from freshwater cyanobacteria (blue-green algae). I. Isolation, Purification and charactererization of peptides from *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae*. **Toxicon** 24, 865-873.

LAGOS, N., ONODERA H. ZAGASTTO A. ANDRINOLO D., AZEVEDO M.F.Q. OSHIMA Y. 1999. The firrst evidence of paralytic shellfish toxins in the fresh water cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil.**Toxicon** 37, 1357-1373.

LAWRENCE J. F. MÉNARD C. 1991. Liquid chromatographic determination of paralict shelfish poisons in shellfish after prechrom,atographic oxitation. **Journal OAAC International**,\_74(6): 1006-10012.

LAWRENCE J. F.; MÉNARD C.; CHARBONNEAU C. F. AND HALL S. 1991. A study of tem toxins associated with pralatic shellfish poison using prechromatographic oxidation and liquid chromatographic with fluoreescence detection. **Journal of AOAC International**,\_ 74(2): 404-409.

LAWRENCE J. F. MÉNARD C. AND CLEROUX C. 1995. Evaluation of prechromatographic oxidation for liquid chromatographic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish. **Journal of AOAC International**, 78(2):514-520.

LAWRENCE J. F.; WONG B. AND MÉNARD C. 1996. Determination of carbomoyl saxitoxin and its analogues in shellfish by prechromatographic oxidation and liquid chromatographic with fluorescence detection. **Journal of AOAC International**, 79(5): 1111-1115.

LEMMERMANN, E. 1907. **Algen I**. Kryptogamenflora, 3: 1-256. Leipzig.

LEWIS, W. M. Jr. 1978. Dynamics and succession of the phytoplankton in a tropical lake: Lake Lanao, Philippines. **Journal of ecology**, 66:849-880.

LOBO, E. & LEIGHTON, G. 1986. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctónicas de los sistemas de desembocaduras de ríos y esteros de la zona central de Chile. **Rev. Biol. Mar.**, Valparaíso, 22: 1-29.

LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. **Limnol. Oceanog.** 12: 343-346. 1967.

LUND J. W. G.; KIPLING AND E. D. LECREN 1958. The inverted microscope method of estimating algae number and the statistical basis of estimating by counting. **Hydrobiologia** 11: 143-170.



LUND, J.W.G. The ecology of the Freshwater Phytoplankton. **Biol. Ver.**, 40: 231-293. 1965.

MACKERETH, F.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. Water analysis: some revised methods for limnologists. Ambleside: **Freshwater Biological Association Scientific Publication**, n. 36, 120p. 1978.

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

MAGRIN, A. G. E.; SENNA, P. A. C.; KOMÁREK, J. 1997. *Arthrospira skujae*, a new planktic tropical cyanoprokaryote. **Arch. Protistenk.**, 148: 479-489. Jena.

MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Editorial Ômega. 1983.

MELAK, J. M. Photosynthetic activity of phytoplankton in tropical Africa soda lakes. **Hydrobiol.** 81:71-85. 1981.

MOLICA et al. 2002. Toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) isolated from Tabocas reservoir in caruaru, Brazil, including demonstration of a new saxitoxin analogue. **Phycologia**, 41(6):606-611.

NASELLI-FLORES, 1999. Limnological aspects of sicilian reservoirs: A comparative, Ecosystemic Approach In: **Theoretical Reservoir Ecology and its Applications (Eds) J.G. Tundisi and M. Straskabra**) international conference on toxic cyanobacteria, North carolina, USA. 27 set-lout.

NEGRI A. P.; JONES G. J. ANG HINDMARSH M.1995. Sheep mortality associated with paralytic shellfish poisons from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* . **Toxicon** 33, 1321-1329.

NOGUEIRA, N. M.C. & FERREIRA-CORREIA, M. M. 2001. Cyanophyceae/Cyanobacteria in red mangrove forest at Mosquito and Coqueiros estuaries, São Luís, State of Maranhão, Brazil. **Brazil. J. Biol.**, 61 (3): 347-356. São Carlos.

ODUM, E. P. 1969. The strategy of ecosystem devolepment. **Science**, 164:262-270.

OHATANI, I.; MOOR, R.E. & RUNNEGAR, M.T.C. 1992. Cylindrospermopsin, a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. **J. Am Chem. Soc.** 114:7941-7942.

PADISÀK et al. Intermadiate disturbance hypothesis in phytoplankton ecology. **Kluwer Acad. Publ.** 199p. 1993.

PADISÀK, J. & REYNOLDS, C.S. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to the cyanobacteria – **Hydrobiologia** 384: 41-53. 1998.

PEARL, H. W. 1988. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (cyanobacteria) In: SANDGREN, C.D. ed. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. **Cambridge Univ. press**, 261-305.

PEARL, H. W., R. S.; FULTON, P. H.; MOISANDER & DYBLE, J. 2001. HARMFUL FRESHWATER ALGAL BLOOM, WITH AN EMPHASIS ON CYANOBACTERIA. **The Scientific World** :1:76-113.

PIANKA, E. R. 1970. On r and k selection. **Am. Nat.**, 104:592-597.

PIELOU, E.C. 1969. Species – diversity and pattern in the study of ecological succession. **Jour. Theoret. Biol.** 10: 370:382.

PIELOU, E.C. 1975. Ecological Diversity. New York, **Wiley-Interscience**, 165p.

PORFIRIO Z., RIBEIRO P. M., ESTEVAN C.S., RICARDO L.S., SANTANA A.E. G. 1999. Hepatosplenomegaly caused by na extract of Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Bloom collected in the Manguaba Lagoon, Alagoas- Brazil. **Revista de Microbiologia**, 30:278-285.

REYNOLDS, C. S. 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake system. **Holarctic Ecol.** 3: 141-159.

REYNOLDS, C. S., What factors influence the species composition of Phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiol.** 369/370: 11-26. 1980.

REYNOLDS, C.S. 1986. **The ecology of freshwater phytoplankton.** Cambridge studies in ecology, 384p.

REYNOLDS, C.S.1987. Cyanobacterial water-Blooms. **Advances en botanical Reserarch**, 13:67-143.

REYNOLDS, C.S. 1988. Functional morphology and adaptative strategies of freshwater phytoplankton. In: SANDGRE, C.D. ed. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge: **Cambridge Univ. Press.** p. 388-433.

REYNOLDS, C.S. 1997. Vegetation Processes in the Pelagic: A model for ecosystem theory, **Ecology Institute**, Germany: 377p.

REYNOLDS, C.S. 1999. Non-determination to probability, or N?P in the community ecology of phytoplankton. **Arch. Hydrobiol.** 146:2635.

REYNOLDS et al. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research.** 24: 417-428.

RIPPAKA, R. et al. 1979. Generic assignments, strain histories and properties pure cultures of cianobacteria. **J. Gen. Microbiol.**, 111:1-61.of

ROUND, F.E.1971. The taxonomy of the chlorophyta II. **British phycological journal**. 6(2): 235-264.

SALAS, H. & MARTINO, P. 1990. **Metodologias simplificadas para la avaliacion de eutrofication en lagos calidos tropicales**. Program Refioral CEPIS/HPE/IPOS, 50p.

SCHOPF, J. W. 1996. Cyanobacteria. Pioneers of the early earth. **Nova hedwigia**, 112: 13-32. eiheft.

SCHWIMMER M. AND SCHWIMMER D. 1968. Medical Aspects of Phycology. In: **Algae, Man, and the Environment (Edt) Daniel F. Jackson**. Syracuse university press New York, 279-358.

SENNA, P.A.C. & MAGIN, A. 1999. A importância da “boa” identificação dos organismos fitoplanctônicos para os estudos ecológicos. In: Pompêo, M. L. M. (Ed.). **Perspectivas na limnologia do Brasil**, São Luís (MA). União, 131-146.

SHANNON, C.E. & WEAVER, W. The Mathematical theory of communication. **Univ. Illinois Press. Urbana**. 173 pp. 1963.

SHAPIRO, J. 1973. Blue-green algae: Why they become dominant. **Science**, 179:382-384.

SHAPIRO. J. 1990. Currents beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for the importance of CO<sub>2</sub> and pH. **Ver. Int. Ver. Limnol.** 24:38-54.

- SIMONSEN, R. 1979. The diatom system: ideas on phylogeny. **Bacillaria**, 2:9-71.
- SINOVEN K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxins production. **Phycologia** 35 : 12-24.
- SINOVEN K. AND JONES G. 1999. Cyanobacterial toxins. In: **Toxic cyanobacterial in Water**, eds. I. Chorus and J. Bartram, pp. 41-111. E. and FN Spon, London.
- SIVONEN, K. & G. JONES, 1999. Cyanobacterial toxins. In: Chorus, I. & J. Bartram (ed.) – **Toxic Cyanobacteria in Water**: a guide line to public health significance, monitoring and management. World Health Organization, London and New York, p. 41-111.
- SMITH, V.H. 1986. Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green algae in lake phytoplankton. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 43: 148-153.
- SMITH, V.H. 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. **Science**, 221: 669-671.
- STAINER, R. Y.; KUNISAWA, R.; MANDEL, M.; COHEN-BAZIRE, G. 1971. Purification And Properties Of Unicellular Blue-Green Algae (Order Chroococcales). **Bacteriol. Reviews**, 35: 171-205.
- STEWART, W. D. P. 1974. **Algae physiology and Biochemistry**. Academic Press. 985.p

STOERMER, E.F. 1978. Phytoplankton assemblages as indicators of water quality in the Laurentian Great Lakes. **Trans. Amer. Microsc. Soc.**, 97:2-16.

STRICKLAND, J.D.H., PARSONS, T.R. 1960. **A manual of seawater analysis**. Ottawa, bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, 125.185p.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E. 1993. Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia. **Bol. Sanit. Panam.** 114(6): 502-511.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J. G. & KUTNER, M.B. Plankton studies In: a mangrove II: The standing-stock and some ecological factors. **Boletim do Instituto Oceanográfico**. São Paulo, 24: 23-41. 1965.

TER BRAAK, C. J. F. Updates notes: Canoco version 3.1. **Agriculture mathematics Group**, Wageningen, 35p. 1990.

TOLEDO Jr., A. et al. 1983. **Aplicação de modelos simplificados para avaliação e processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais**. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA. 1983, Camboriú. Anais... p.1-34.

TUNDISI, J. G. & MATSUMARA-TUNDISI, T. 1992. Eutrophication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives: *In*: Cordeiro-Marino (Ed.) **Algae and Environment: A general Approach**. Brazilian Phycological Society, 1-33.

TURNER P.C., GAMMIE A. J.; HOLLINRAKE K. AND CODD G. A.1990 Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. **B.M.J.** 300: 1440-1441.

TUNDISI, J. G.; BICUDO, C.E.M. & TUNDISI, T.M. 1995 (Eds). **Limnology in Brazil: Origin, Development and Perspectives.** ESTEVES, A F. BARBOSA, F. A.R. & BICUDO. E.C.E. FINEP/CNPq; SÃO Paulo, 376 p..

UHELINGER, V. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. **Arch Sci**, 17: 121-23. 1964.

ÜTERMOL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton methodik. *Mitt Int cer Theor Angew Limnol.*, 9: 1-38..

VALDERRAMA, J. C. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorus in natural waters. **Marine Chemistry.**, 10: 109-122.

VIANA, A. M. S. 1988. **Cartografia aplicada a hidrografia: O baixo Açu/RN.** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE, 29P.

WATANABE, M.F. & OISHI, S. 1980. Toxicities of *Microcystis aeruginosa* Collected from some Lakes, reservoirs, pond and Moat in Tokyo and Adjacent Regions. **Jap. J. limnol.**, 41:5-9.

WOLK, P. 1965. Control of sporulation in a blue-green alga. *Devl. Boil.* 12: 15-25.



WOLK, P. 1973. Physiological chemistry of blue-green algae. **Bact. Rev.** 37:15-25.

YUNES, J. S.; SALOMON, P. S.; MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K. A.; RAGGETT, S. L.; CODD, G. A. 1996. Blooms of cyanobacteria in the Patos Lagoon estuary, In Southern Brazil. *J. Aquatic Ecosystem Health*, 5: 223-229.