

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

**PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA POR CÉLULAS
FLUTUANTES DE CIANOBACTÉRIAS POTENCIALMENTE
TÓXICAS EXPOSTAS A ALTAS INTENSIDADES DE LUZ**

ROSELI MACHADO DOS SANTOS

SÃO CARLOS - SP

2006

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

**PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA POR CÉLULAS
FLUTUANTES DE CIANOBACTÉRIAS POTENCIALMENTE
TÓXICAS EXPOSTAS A ALTAS INTENSIDADES DE LUZ**

ROSELI MACHADO DOS SANTOS

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

SÃO CARLOS - SP

2006

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

D724pm

Dos Santos, Roseli Machado.

Perda de matéria orgânica dissolvida por células flutuantes de cianobactérias potencialmente tóxicas expostas a altas intensidades de luz / Roseli Machado dos Santos. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

70 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Cianobactéria. 2. *Anabaena spiroides*. 3. *Microcystis aeruginosa*. 4. Fotoinibição. 5. Fotooxidação. I. Título.

CDD: 589.46 (20ª)

ROSELI MACHADO DOS SANTOS

PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA POR CÉLULAS FLUTUANTES DE CIANOBACTÉRIAS POTENCIALMENTE TÓXICAS EXPOSTAS A ALTAS INTENSIDADES DE LUZ

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

Aprovado em 28 de agosto de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Armando Augusto H. Vieira
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior
Membro Efetivo da Banca Examinadora

Profa. Dra. Sandra Protter Gouvêa
Membro Efetivo da Banca Examinadora

Dedico este trabalho

Aos familiares e amigos por acreditarem...

“Sabido é que todo efeito tem sua causa, e esta é uma universal verdade, porém, não é possível evitar alguns erros de juízo, ou de simples identificação, pois acontece considerarmos que este efeito provém daquela causa, quando afinal ela foi outra, muito fora do alcance do entendimento que temos e da ciência que julgávamos ter.”

(Saramago - A jangada de
pedra)

AGRADECIMENTOS

A divina presença Eu Sou que me permitiu alguns momentos de reflexão, paz e alegria.

Ao amigo e prof. Dr. Abílio Lopes de Oliveira Neto pelo apoio e direcionamento profissional.

Ao meu orientador prof. Dr. Armando Augusto H. Vieira, pela oportunidade concedida e confiança a mim depositada.

À minha família pelo apoio, compreensão e como um pedido de desculpas pelo afastamento e total ausência de seu convívio.

A agência financiadora **Fapesp** pela concessão da bolsa de auxílio a pesquisa de Mestrado (**Proc. 04/05939-4**).

Aos órgãos de fomento pela concessão de auxílio financeiro para o desenvolvimento do projeto temático, ao qual esta pesquisa esteve vinculada (**Fapesp: Proc. 99/07766-0** e **CNPq: Proc. 352261/96-0**).

A toda a equipe do laboratório de ficologia da **UFSCar**, pelo apoio e conselhos, durante a execução desta pesquisa. Em especial aos queridos amigos Fabrício, Letícia e Danilo, pelo companheirismo até altas horas.

Ao prof. Dr. José Eduardo dos Santos e a toda a equipe do **LAPA** - **UFSCar**, pela atenção, apoio moral, técnico, psicológico e por cederem um espaço para que eu pudesse finalizar a elaboração da parte escrita de minha pesquisa.

Ao prof. Dr. Irineu Bianchini por todos os conselhos e auxílio durante a fase de análise dos resultados.

À prof. Dra. Keico Okino Nonaka do departamento de Ciências Fisiológicas da **UFSCar** por disponibilizar o equipamento **Packard Tri Carb** para as medidas de radioatividade.

Aos integrantes da banca examinadora pela disponibilidade e contribuições que aperfeiçoaram este trabalho.

Ao amigo e técnico Luizinho (Joaquim) por ter encarado madrugar e me auxiliar na labuta, além de ter levado "aquela" rede a campo.

Ao querido Osmar, por ser exatamente como é.

Aos amigos tão queridos que sempre estiveram ao meu lado.

Em especial ao Du (Mosquitinho), Roberta, Ângela, Vivi (pequena grande amiga), Luquinhas (meu co-orientador de sempre), Re, Thi, Igor, Tatu, Mi, Senpai, Magnésio, tio Ed, Montanha, Nil, Xoleano, Ariano, Ronaldo (pelos momentos de relaxamento regados a cerveja, ao som do violão).

À Pérola que, mesmo sendo um monstrinho terrorista, sempre foi uma ótima companheira, trazendo conforto e alegria nos momentos difíceis.

E por fim a tantos outros, dos quais minha mente estressada não me permite recordar no momento.

Obrigada por participarem desta etapa, cada um a sua maneira, mas todos imprescindíveis.

RESUMO

Anabaena spiroides e *Microcystis aeruginosa* são cianobactérias que frequentemente formam florescimentos no Reservatório de Barra Bonita. A flutuação desses organismos e a turbulência característica do reservatório fazem com que as células que estavam iniciando o desenvolvimento do florescimento nas camadas inferiores da coluna fótica possam rapidamente ficar expostas a altas intensidades de luz quando na superfície. Esta exposição repentina a irradiâncias maiores pode causar fotoinibição e mesmo fotooxidação, podendo causar a liberar uma grande quantidade de matéria orgânica dissolvida pelas células. O presente trabalho foi realizado com o intuito de verificar se células de diferentes idades de cultivo de *A. spiroides* e *M. aeruginosa* sofrem fotoinibição da fixação de carbono, fotooxidação da clorofila-a e aumento na liberação de MOD quando expostas por diferentes períodos a irradiâncias elevadas. *A. spiroides* apresentou fotoinibição, juntamente com o aumento na excreção de matéria orgânica dissolvida, quando exposta a irradiâncias superiores ao seu E_K durante 4 horas e ao ser exposta a irradiância de $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durante 8 horas. *M. aeruginosa* não apresentou fotoinibição quando exposta a irradiâncias superiores a seu E_K por 4 horas, entretanto, apresentou um incremento significativo na liberação de C^{14}OD . As concentrações elevadas de C^{14}OD excretado pelas duas cianobactérias, aparentemente, não resultam de danos nas células, podendo representar um fator de adaptação às irradiâncias elevadas a que foram submetidas. Respostas semelhantes foram encontradas nos experimentos realizados no reservatório de Barra Bonita.

ABSTRACT

Anabaena spiroides and *Microcystis aeruginosa* are cyanobacteria that frequently bloom in Barra Bonita Reservoir. These floating organisms and the characteristic turbulence found at the reservoir exposure the cells to higher light intensities by lifting them from lower depths in the photic column to surface. The sudden exposure at higher irradiance could cause photoinhibition and photooxidation. This phenomenon could liberate high amounts of dissolved organic matter. This work aimed to investigate the carbon fixation photoinhibition in cells of *A. spiroides* and *M. aeruginosa* exposed to high irradiances, the chlorophyll photooxidation and the DOM released by cells of cultures differing in their physiologic state, after exposure to high irradiances through time at laboratory and field investigations. *A. spiroides* suffered photoinhibition and liberation of dissolved organic matter when exposed to irradiances higher than their E_K during four hours as well as when exposed to irradiance of $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ for eight hours. *M. aeruginosa* did not present photoinhibition in any case, however, their C^{14}OD liberation was significantly increased. The higher indexes of C^{14}OD excreted by these cyanobacteria are not apparently due to cell damage. Hence it might represent an adaptation factor to higher irradiances. Similar results were found in experiments incubated in Barra Bonita reservoir.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Localização do Reservatório de Barra Bonita.	2
Figura 2.	Crescimento de <i>Anabaena spiroides</i> . Concentração de clorofila-a em função do tempo de cultivo.	20
Figura 3.	Crescimento de <i>Microcystis aeruginosa</i> . a- número de células por ml de cultura em função do tempo de cultivo. b- concentração de clorofila-a em função do tempo de cultivo.	20
Figura 4.	Carbono-14 na fração total fixado (C ¹⁴ OT), fração particulada (C ¹⁴ OP) e na fração dissolvida (C ¹⁴ OD) liberada pelas células de <i>A. spiroides</i> após 4h de exposição a diferentes irradiâncias. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.	21
Figura 5.	Concentração de clorofila-a na cultura de <i>A. spiroides</i> com 12 e 35 dias de cultivo após 4h de exposição a diferentes irradiâncias.	22
Figura 6.	Carbono-14 na fração total fixado (C ¹⁴ OT), fração particulada (C ¹⁴ OP) e na fração dissolvida (C ¹⁴ OD) liberada pelas células de <i>M. aeruginosa</i> após 4h de exposição a diferentes irradiâncias. a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 28 dias de cultivo. c- Cultura com 49 dias de cultivo.	23
Figura 7.	Concentração de clorofila-a da cultura de <i>M. aeruginosa</i> com 14, 28 e 49 dias de cultivo em função da irradiância.	24
Figura 8.	Carbono-14 na fração total fixado (C ¹⁴ OT), fração particulada (C ¹⁴ OP) e na fração dissolvida (C ¹⁴ OD) liberada pelas células de <i>A. spiroides</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.	26
Figura 9.	Concentração de clorofila-a de <i>A. spiroides</i> exposta às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-2}$ em função do tempo. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.	27
Figura 10.	Carbono-14 na fração particulada (previamente fotoassimilado) e na fração dissolvida liberado pela cultura de <i>M. aeruginosa</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 49 dias de cultivo.	29
Figura 11.	Concentração de clorofila-a de <i>M. aeruginosa</i> exposta às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-2}$ em função do tempo. a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 49 dias de cultivo.	30

Figura 12. Carbono-14 na fração particulada e na fração dissolvida liberado pela cultura de <i>A. spiroides</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias incubada em frasco de policarbonato. b- Cultura com 35 dias incubada em frasco de policarbonato. c- Cultura com 12 dias incubada em frasco de quartzo d- Cultura com 35 dias incubada em frasco de quartzo.	32
Figura 13. Concentração de clorofila-a na cultura de <i>A. spiroides</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. b- Cultura com 35 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. c- Cultura com 12 dias incubada em frascos de quartzo. d- Cultura com 35 dias incubada em frascos de quartzo.	34
Figura 14. Carbono-14 na fração particulada e na fração dissolvida liberado pela cultura de <i>M. aeruginosa</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. b- Cultura com 49 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. c- Cultura com 14 dias incubada em frascos de quartzo d- Cultura com 49 dias incubada em frascos de quartzo.	36
Figura 15. Concentração de clorofila-a na cultura de <i>M. aeruginosa</i> após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. b- Cultura com 49 dias de cultivo incubada em frasco de policarbonato. c- Cultura com 14 dias incubada em frascos de quartzo. d- Cultura com 49 dias incubada em frascos de quartzo.	38

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Foto 1. *Anabaena spiroides*. a- Vários filamentos inseridos em uma mesma bainha mucilaginosa (aumento 400x - Nanquim); b- Único filamento mostrando em detalhe um heterocisto (aumento 400x - Nanquim).. 2
- Foto 2: *Microcystis* sp. a- Colônia em forma de anel (M.O.-200x); b- Colônias de formatos variados (M.O.- 100x); c- Dois tipos de colônias (M.O.-200x)..... 3
- Foto 3: *Microcystis aeruginosa*. a- Parte de uma grande colônia (M.O.-400x- Nanquim); b- Células com MOD (M.O.-400x- Nanquim)..... 3

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento I com <i>Anabaena spiroides</i> com 12 e 35 dias de cultivo após 4 horas de exposição a diferentes irradiâncias.	22
Tabela 2.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento I com <i>Microcystis aeruginosa</i> com 14, 28 e 49 dias de cultivo após 4 horas de exposição a diferentes irradiâncias.	25
Tabela 3.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento II com <i>A. spiroides</i> com 12 e 35 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	28
Tabela 4.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento II com <i>Microcystis aeruginosa</i> com 14 e 49 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	31
Tabela 5.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento III com <i>A. spiroides</i> com 12 e 35 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em campo.	35
Tabela 6.	Valores médios dos parâmetros analisados durante o experimento III com <i>M. aeruginosa</i> com 12 e 35 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em campo.	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Caracterização dos organismos	11
3.2. Condições de cultivo	11
3.3. Axenização das culturas	11
3.4. Determinação da densidade celular	12
3.5. Procedimento experimental	13
3.5.1. Experimento I	13
3.5.2. Experimento II	16
3.5.3. Experimento III	17
3.6. Análises estatísticas	18
4. RESULTADOS	20
4.1. Experimento I	21
4.2. Experimento II	26
4.3. Experimento III	32
5. DISCUSSÃO	40
5.1. Experimento I	40
5.2. Experimento II	43
5.3. Experimento III	44
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
7. REFERÊNCIAS	52
APÊNDICE	79

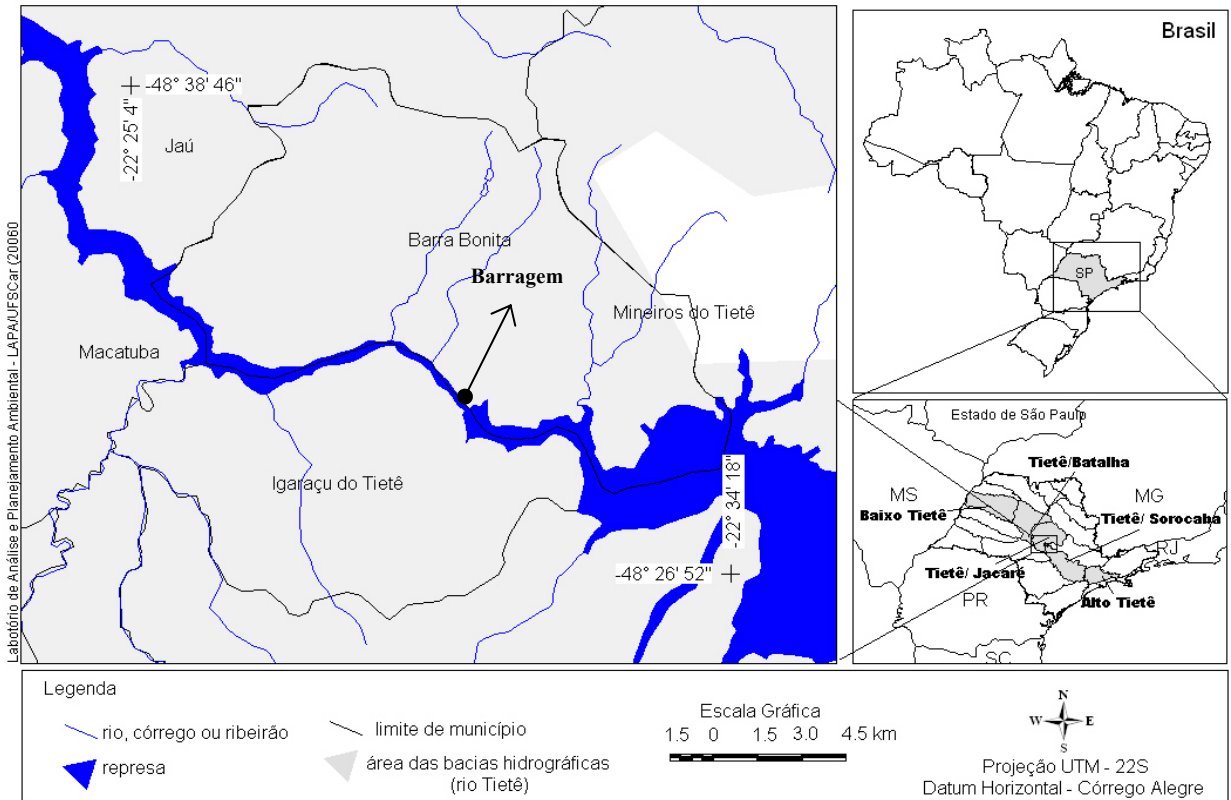
1. INTRODUÇÃO

A eutrofização de lagos e reservatórios participa do processo de degradação da qualidade de água, promovendo florescimento de algas azuis ou cianofíceas (divisão Cyanophyta, classe Cyanophyceae), ou cianobactérias, (das bactérias gram-negativas Cyanobacteria), representando prejuízo à utilização destes recursos (Rabouille et al., 2003).

O reservatório de Barra Bonita (**Figura 1**) é um dos sete reservatórios existentes a partir da junção dos rios Tietê e Piracicaba. Localiza-se na região mais populosa e desenvolvida do interior do estado de São Paulo, cujo clima transita entre o tropical e o subtropical com mudanças sazonais pouco pronunciadas. O regime de “*mixing*” de suas águas está intimamente relacionado com a ação de ventos, alternando períodos de turbulência e curtos períodos de estratificação da coluna d’água (Calijuri e Dos Santos, 1986; Calijuri et al., 2002).

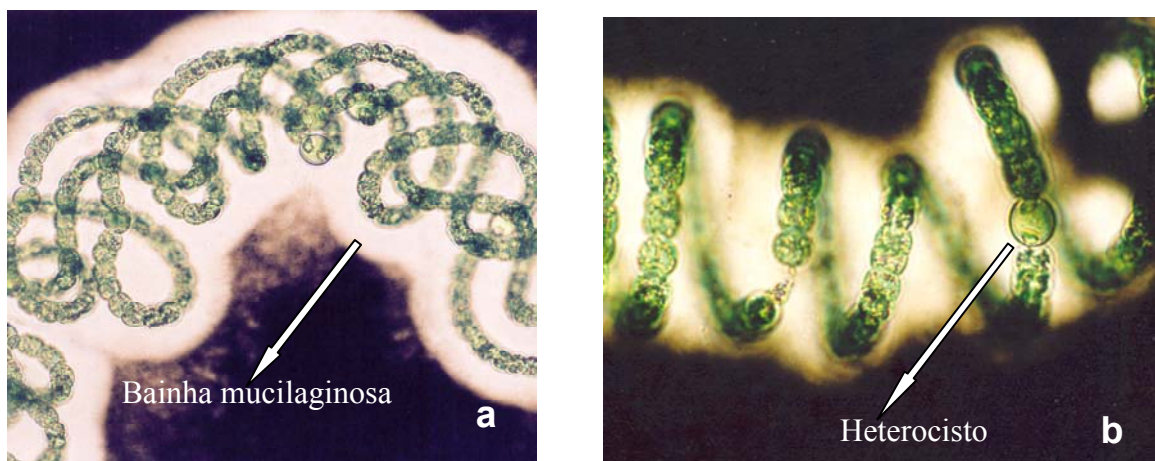
O fitoplâncton deste reservatório caracteriza-se pela dominância das cianofíceas, entre elas *Anabaena spiroides* (Klebahn) (**Foto 1a e b**), e várias espécies de *Microcystis* (**Foto 2**) como *M. aeruginosa* (Kütz.) (**Foto 3**) e *M. panniformis* (Komárek et al.) todas potencialmente tóxicas e formadoras de vesículas de gás que permitem sua flutuação (Fogg, 1969; Walsby, 1972 e 1994).

A flutuação desses organismos ocorre, muitas vezes, em resposta fisiológica a fatores ambientais que controlam suas taxas de fotossíntese, quando estes se tornam limitantes. Dentre estes fatores podemos citar: a irradiância incidente e a baixa concentração de CO₂ ou outros nutrientes que possuem um importante papel no desenvolvimento destes organismos (Disdale e Walsby, 1972; Grant e Walsby, 1977; Paerl, 1983; Paerl et al., 1985; Brookes et al., 2003).



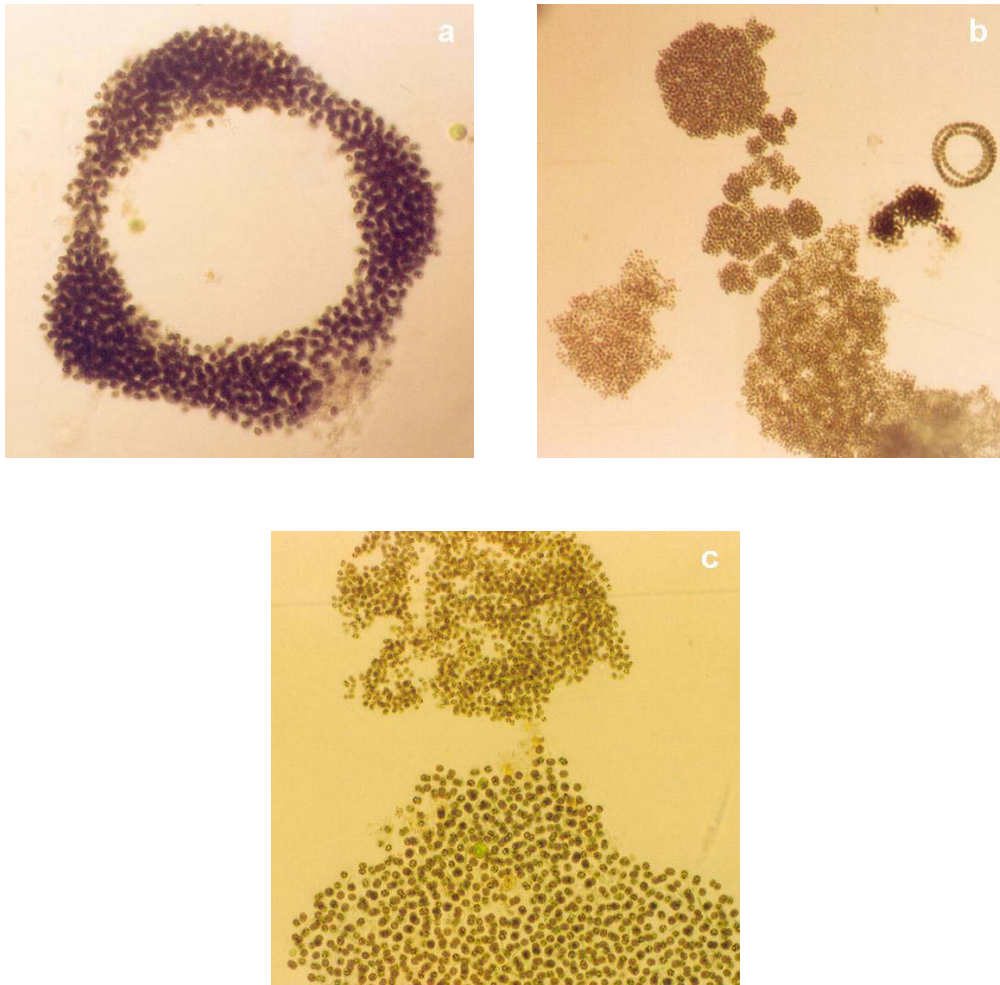
Fonte: Fushita, 2006.

Figura 1. Localização do Reservatório de Barra Bonita.



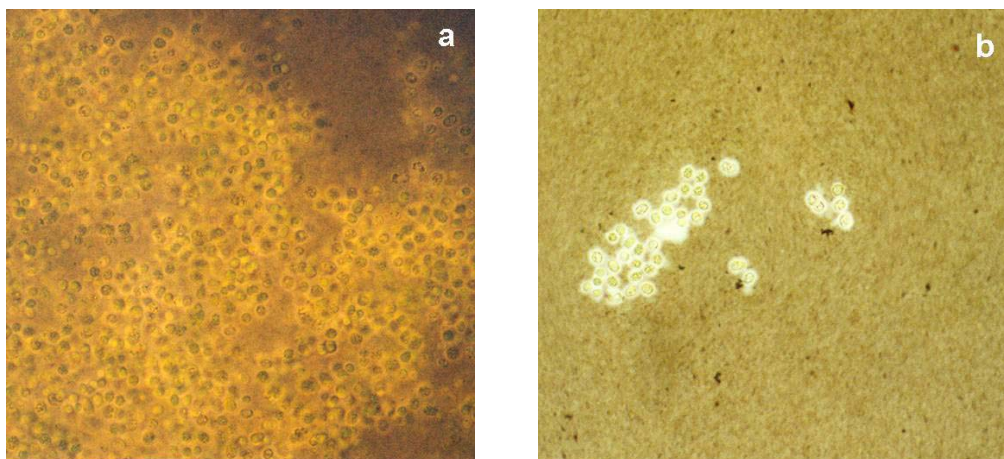
Fonte: Bittar, 2004.

Foto 1. *Anabaena spiroides*. a- Vários filamentos inseridos em uma mesma bainha mucilaginosa (aumento 400x - Nanquim); b- Único filamento mostrando em detalhe um heterocisto (aumento 400x - Nanquim).



Fonte: Bittar, 2004.

Foto 2: *Microcystis* sp. a- Colônia em forma de anel (M.O.-200x); b- Colônias de formatos variados (M.O.-100x); c- Dois tipos de colônias (M.O.-200x).



Fonte: Bittar, 2004.

Foto 3: *Microcystis aeruginosa*. a- Parte de uma grande colônia (M.O.-400x- Nanquim); b- Células com MOD (M.O.-400x- Nanquim).

A capacidade de flutuação (migração vertical) das cianobactérias aliada às características hidrodinâmicas do Reservatório de Barra Bonita representa um fator adicional de transporte de comunidades fitoplanctônicas, fazendo com que células em início do desenvolvimento do florescimento (*bloom*, em inglês) nas camadas inferiores da coluna fótica, sejam expostas a altas intensidades de luz quando na superfície.

A exposição de organismos fotossintetizantes a irradiâncias elevadas por longos períodos, resulta não apenas na redução da eficiência fotossintética (fotoinibição da fixação de CO₂) (Osmond et al., 1993; Porankiewicz et al., 1998), como na fotooxidação dos pigmentos fotossintéticos (Fallon e Brock, 1979; Reche et al., 1999), fato esse conhecido como fotobranqueamento (*photobleaching*, em inglês). Os dois fenômenos são distinguíveis e a fotoinibição geralmente precede o fotobranqueamento (Karentz et al., 1991; Sinhá e Häder, 1996; Zagarese et al., 2001).

Segundo Harris, 1978; Demmig-Adams e Adams III, 1996; Demmig-Adams et al., 1989; Walsh et al., 1997, a fotoinibição caracteriza-se pela diminuição da atividade fotossintética, conseqüente de um mecanismo regulatório e fotodano que ocorre quando a recuperação da atividade fotossintética requer o reparo da síntese protéica (proteína D1) (Campbell et al., 1998).

A extensão da fotoinibição depende da taxa de radiação incidente, bem como do tempo de exposição (Takahashi et al., 1971) e em muitos casos ocorre durante o período de maior intensidade luminosa, podendo ser reversível quando a irradiância incidente volta a aproximar-se daquela à qual o organismo está adaptado.

Alguns trabalhos destacam a importância da concentração relativa de CO₂ e O₂, relacionando o aumento da fotoinibição com concentrações elevadas de O₂ (Stewart e Pearson, 1970; Abeliovich e Shilo, 1972; Asami e Akazawa, 1978). Em contraposição,

Whitelam e Codd, (1983) afirmam que a concentração destes gases parece não interferir diretamente na fotoinibição, mas, somente no fotobranqueamento dos pigmentos fotossintéticos, uma vez que nem todo fenômeno fotoinibitório necessita da presença de O₂ e, em alguns casos de esgotamento de CO₂, sua presença é protetora contra a fotoinibição, agindo como um reservatório alternativo de energia fotoquímica seja através da fotorrespiração ou como acceptor de elétrons no fotossistema I (Powles et al., 1980; Osmond, 1981; Codd, 1981).

Os fotossistemas I (PSI) e II (PSII) são as maiores partes da “maquinaria” da fotossíntese molecular em cianobactérias, algas e plantas superiores. Ambos fotossistemas operam na membrana tilacóide. A principal função do PSII é a reação fotooxidativa da água para O₂ e o fornecimento de elétrons e prótons para o citocromo (Baroli e Melis, 1998). Por sua vez, o PSI aceita os elétrons do citocromo, catalisando sua transferência, via transmembrana, com a utilização de luz e produzindo energia intracelular para a assimilação de CO₂ (Melkozernov et al., 2006).

A fotoinibição ocorre através de dois mecanismos, em ambos a proteína D1, do centro de reação do fotossistema II (PSII), sofre fotodano. No primeiro, a fotoinibição é uma consequência da limitação do transporte de elétrons no lado doador do PSII e no segundo, é devida a uma limitação no lado acceptor do PSI (Demmig-Adams e Adams III., 1996). Em ambientes naturais os organismos fotossintéticos são expostos a uma gama de intensidades luminosas. Quando estas são baixas ocorre aumento na densidade do fluxo de fótons aliado ao aumento na fixação fotossintética de carbono. Entretanto, após certo limiar de irradiância incidente, ocorre a saturação da fixação de carbono e a fotossíntese torna-se incapaz de utilizar toda a energia absorvida pelos complexos de armazenamento de luz (LHCs) (Elrad et al., 2002), podendo levar à fotooxidação.

A fotooxidação ocorre sob condições de absorção de luz em excesso, quando os cloroplastos tornam-se altamente ácidos, a cadeia de transporte de elétrons é reduzida e a energia é acumulada pelo complexo de armazenamento de luz do fotossistema II (LHCII).

O excesso de excitação do LHCII pode resultar em aumento da meia vida da clorofila “*simplex*” na camada de pigmento e, conseqüentemente, na produção de clorofila “*triplex*” e oxigênio “*simplex*” (Melkozernov et al., 2006) que, se não for desintoxicado imediatamente, pode causar modificação em proteínas e peroxidação de lipídeos que, ao iniciar-se, torna-se auto-catalítica resultando em fotodestruição massiva da membrana celular (Niyogi, 1999).

Os danos causados às células, pela fotooxidação, são irreversíveis e podem levá-las a morte. Em conseqüência, ocorre a destruição da camada flutuante de cianobactérias, (Sinhá e Häder, 1998), liberando uma grande quantidade de matéria orgânica dissolvida (MOD) (Abeliovich e Shilo, 1972; Abeliovich et al., 1974; Eloff et al., 1976; Powles, 1984; Ibelings, 1996) e, o mais importante, significa também que se o florescimento for tóxico as toxinas serão liberadas imediatamente na água (Carmichael, 1992).

A relação entre a MOD e a radiação UV pode ser duplamente analisada. A MOD é o principal fator que controla a atenuação da radiação UV em muitos ecossistemas aquáticos (Scully e Lean, 1994; Morris et al., 1995). Por outro lado, a interação entre MOD e UV resulta em um número de reações fotoquímicas com extensas conseqüências ao ecossistema (Lindell et al., 1996), originando um grande potencial de distúrbio das condições físico-químicas da água.

Muitos mecanismos de aclimatação à exposição a irradiâncias elevadas, incluindo a UV, são descritos na literatura. Estes mecanismos seriam induzidos durante a

aclimação a outros fatores de estresse ambiental (Demmig e Björkman, 1987; Krause e Behrend, 1986; Oxborough e Horton, 1987; Weiss e Berry, 1987).

A existência de uma correlação entre a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e a UVB em ambiente natural faz com que muitos mecanismos estejam envolvidos na tolerância a ambos os fatores. Porém, a resposta celular a estes fatores de estresse depende das condições de desenvolvimento e da composição celular. (Sinhá e Hader, 1998).

As características físico-químicas e hidrodinâmicas do reservatório de Barra Bonita possibilitam a ocorrência de florescimentos de cianobactérias durante, praticamente, o ano todo (Sotero-Santos et al., 2006). Estes florescimentos são constituídos, principalmente, por *Microcystis aeruginosa*, *M. panniformis*, *Anabaena spiroides* (Calijuri e Dos Santos, 1986; Calijuri et al., 2002) e *Planktothrix tropicalis*, apesar desta última. não formar um florescimento típico (informação verbal)¹. Entretanto, neste trabalho foram estudadas apenas *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena spiroides* por serem as mais importantes cianofíceas do reservatório em termos de produção de biomassa (Calijuri e Dos Santos, 1986; Calijuri et al., 2002); Dellamano-Oliveira, 2006)

Microcystis aeruginosa é atualmente, uma das cianobactérias com citação mais freqüente na literatura especializada em ficologia e saneamento e, muitas vezes, também em jornais diários devido aos problemas na qualidade das águas, ocasionados por seus freqüentes florescimentos e por suas toxinas que, em determinadas circunstâncias, podem causar tragédias, como a que ocorreu em Caruaru, PE (Jochimsen et al., 1998). É, conseqüentemente, um organismo do qual se tem um enorme volume de dados acerca de sua fisiologia e ecologia.

¹Informação veiculada por Armando Augusto Henrique Vieira, 2006.

São abundantes os estudos sobre a influência de fatores ambientais, como luz, temperatura e nutrientes, na formação de florescimentos, flutuação celular, fotossíntese e outros aspectos do crescimento de *M. aeruginosa* (Paerl, 1983; Paerl et al., 1985; Ibelings e Mur, 1992; Ibelings 1996; Klemer et al., 1996; Wallace et al., 2000). Como aquele realizado por Rabouille et al., (2003), no qual concluíram que a irradiância disponível apresenta um grande impacto na quantidade de carbono acumulado por *Microcystis* durante a fotossíntese, interferindo grandemente na variação da densidade de colônias.

Anabaena spiroides apresenta vacúolos de gás que lhe permitem fazer parte, juntamente com *Microcystis* spp, da massa flutuante de cianobactérias. Possui a habilidade de manter uma intensa produção de biomassa por extensos períodos no epilímnio, utilizando estratégias fisiológicas que lhe permitem a otimização do uso de energia, sombreando o fitoplâncton das camadas inferiores da zona fótica durante os florescimentos de verão (Kellar e Paerl, 1980). É produtora de neurotoxinas e hepatotoxinas, além de liberar geosmina, substância que confere à água odor desagradável. Apresenta heterocistos (ou heterócitos) que lhe possibilitam a fixação de nitrogênio molecular (N₂) diretamente da atmosfera. Este processo requer um consumo energético considerável (Gutschick, 1978) e para suprir esta demanda, *Anabaena* depende grandemente da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) (Kellar e Paerl, 1980).

Espécies como *M. aeruginosa* e *A. spiroides* que, como parte de seu ciclo biológico, acumulam-se na superfície da coluna fótica não devem ser muito afetadas em termos de fotoinibição da fotossíntese, mesmo em regiões tropicais, como ocorre, por exemplo, com as clorofíceas e diatomáceas (Goldman et al., 1963). De fato, dados da literatura mostram que populações naturais de *M. aeruginosa* não sofrem fotoinibição quando expostas a irradiâncias tão altas quanto 2000 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Paerl et al., 1985; Bittar et

al., 2005). Entretanto, outros dados são conflitantes e mostram a ocorrência de fotooxidação de cianobactérias, incluindo populações de cultivos de *M. aeruginosa* expostas a altas intensidades de luz (Abeliovich e Shilo, 1972; Eloff et al., 1976) e, até mesmo, a interferência de níveis de PAR na produção e conteúdo de microcistina (Wiedner et al., 2003). Em ambos os casos, contudo, constatou-se que populações naturais suportam melhor as irradiâncias elevadas do que populações cultivadas em laboratório.

Em trabalho recente (Bittar et al., 2005) mostrou-se que uma população cultivada de *M. aeruginosa*, oriunda de Barra Bonita, na fase senescente de seu desenvolvimento não apresentou fotoinibição sob irradiâncias tão altas quanto $2.000 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, o que por si só representa um indício de que esta população tem comportamento diferente daquelas populações cultivadas citadas em trabalhos anteriores que, por sua vez, apresentaram fotoinibição. Contudo, no experimento de “curva de luz” realizado por Bittar et al., (2005) constatou-se a liberação de compostos de alta massa molecular e fotooxidação da clorofila-a, em células na fase estacionária de crescimento.

Os trabalhos sobre resistência de *M. aeruginosa* e *A. spiroides* não abordam a perda quantitativa e qualitativa de carbono orgânico eventualmente liberado por populações na superfície da coluna fótica sob os efeitos da irradiação (incluindo a faixa UV), em ambientes tropicais. Desse modo, por serem ubíquos e freqüentes os florescimentos de cianobactérias em reservatórios tropicais, torna-se importante a realização de estudos acerca da ecologia destes organismos, possibilitando, em longo prazo, o estabelecimento de soluções de manejo e gerenciamento destes ecossistemas.

2. OBJETIVOS

Tendo em vista a frequência dos *florescimentos* de *Anabaena spiroides* e *Microcystis aeruginosa* no Reservatório de Barra Bonita, este trabalho objetivou:

- Observar a ocorrência de fotoinibição da fixação de carbono pelas células quando expostas a irradiâncias elevadas;
- Mensurar a liberação de MOD, bem como a fotooxidação da clorofila-a de células oriundas de culturas em diferentes estados fisiológicos, após diferentes períodos de exposição a irradiâncias elevadas, em laboratório e em campo;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização dos organismos

Anabaena spiroides – Representada por filamentos espiralados, não ramificados, cujas células encontram-se inseridas em uma matriz mucilaginosa (**Foto 1a e b**). Apresentam heterócitos e acinetos

Microcystis aeruginosa – Representada por células esféricas inseridas em uma matriz mucilaginosa (**Foto 2**). Estas células dividem-se de forma irregular sendo, portanto, possível encontrarmos colônias esféricas ou de forma irregular acumulando-se próximas à superfície de lagos e reservatórios

3.2. Condições de cultivo

Os experimentos foram efetuados com culturas axênicas de *Microcystis aeruginosa* e culturas unialgais de *Anabaena spiroides*, originalmente isoladas do reservatório de Barra Bonita. Atualmente ambas as espécies integram o acervo da coleção de culturas do Departamento de Botânica da UFSCar (WDCM 835), catalogadas como BB005 e BB007, respectivamente.

As culturas estoque foram mantidas em meio ASM-1 (Gorham et al., 1964) e ASM-1 com adição de Tris (500 mg.l^{-1}) para *M. aeruginosa* e *A. spiroides*, respectivamente, sob irradiância de $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em um ciclo de 12:12h claro-escuro e temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1$.

3.3. Axenização das culturas

Para obtenção da cultura axênica de *M. aeruginosa* foram realizadas consecutivas lavagens, diluições e re-isolamentos.

Uma cultura na fase exponencial de crescimento foi centrifugada em centrífuga (Excelsa Baby II Modelo 206 R), em 939 G por 10 minutos. As células foram ressuspensas em meio de cultura esterilizado sendo, agora, centrifugadas em 626 G. Este procedimento (lavagem das células) foi repetido três vezes. Após as lavagens as células precipitadas foram ressuspensas em 50ml de meio ASM-1 esterilizado do qual foi retirado 1ml, sendo este volume diluído em 10ml de meio ASM-1. O isolamento das células foi realizado com a utilização de micropipetas, ao microscópio, em câmara de fluxo laminar e as células obtidas foram inoculadas em tubos contendo 10 ml de meio ASM-1 esterilizado.

A fim de testar a possível contaminação dos inóculos por fungos e bactérias, foram feitas, paralelamente, inoculações em meio ASM-1 contendo peptona e glicose (250 mg.l⁻¹ de cada). Assim, foram consideradas axênicas as culturas oriundas de inóculos em cujas réplicas, mantidas em meio de cultura contendo peptona e glicose, não ocorreu o crescimento de fungos ou de bactérias durante, pelo menos, três semanas consecutivas.

A axenização de *A. spiroides* encontra-se em fase de elaboração. Desta forma não foi possível utilizar culturas axênicas durante os experimentos, porém os testes de contaminação do inoculo indicaram que esta foi bastante reduzida, devido às lavagens e centrifugações dos inóculos.

3.4. Determinação da densidade celular

As contagens de células de *M. aeruginosa* foram realizadas diretamente em hemocitômetro Fucks Rosenthal, antes e depois das incubações das células às determinadas irradiâncias. O crescimento de *A. spiroides* foi mensurado através da análise da concentração de clorofila-a uma vez que, por se tratar de uma cianobactéria filamentosa espiralada, as determinações do crescimento através de contagens celulares seriam imprecisas.

Antes e após os períodos de incubação às irradiâncias, uma amostra de 20 ml (2 réplicas) da cultura foi filtrada em filtro de fibra de vidro com poro 0.7 μm para a determinação da concentração de clorofila-a utilizando a metodologia de Talling e Driver (1963). Aos filtros foram adicionados 10 ml da solução (50 % v/v) de acetona 90 % + DMSO, sendo estes mantidos em freezer (-5 °C) por 24 h, para extração do pigmento.

3.5. Procedimento experimental

Os experimentos foram divididos em três etapas, duas realizadas em laboratório e uma em campo:

3.5.1. Experimento I - “Curva de luz”

- **Incubação**

As cianobactérias foram expostas em frascos de policarbonato a diferentes irradiâncias: 33, 66, 166, 376, 547, 1062 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A temperatura dos frascos incubados foi mantida por água corrente a 23 °C \pm 1, controlada por banho termoestatizado. As sete irradiâncias foram determinadas com base naquelas encontradas no Reservatório de Barra Bonita em dias claros, sendo obtidas através da utilização de lâmpadas halógenas dicróicas de 50W, lâmpadas halógenas “palito” de 300 e 500 W e filtros neutros combinados (tecido tipo “filó” preto). As intensidades de luz foram avaliadas com auxílio do radiômetro (Biospherical Instruments Inc. QSL-100).

Para a incubação de *M. aeruginosa* foram utilizados inóculos em três fases do desenvolvimento celular: início da fase exponencial de crescimento (14 dias), meio da fase exponencial (28) e fase senescente (49). A incubação de *A. spiroides* foi realizada em duas fases do desenvolvimento celular: meio da fase exponencial (12 dias) e fase senescente (35

dias). Com o intuito de evitar o auto-sombreamento que o aumento da densidade celular causa às culturas de *M. aeruginosa* e *A. spiroides*, na fase exponencial e senescente, respectivamente, efetuou-se uma diluição das culturas nestas idades de modo a manter aproximadamente o mesmo número de células ($10^5 \text{ cel. ml}^{-1}$). Esta diluição foi feita com meio de cultura ASM-1 e ASM-1 com Tris, para *M. aeruginosa* e *A. spiroides*, respectivamente, contendo nutrientes (previamente mensurados) correspondentes àqueles encontrados na cultura com essas idades.

O experimento foi realizado em uma caixa de PVC contendo divisórias para cada irradiância, pelas quais circulava água com temperatura de $23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$. Sob cada irradiância e em cada idade celular foram incubados dois frascos de policarbonato contendo 100 ml de cultura com $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ($0,02 \text{ } \mu\text{Ci.ml}^{-1}$). Os frascos foram incubados por quatro horas sendo agitados manualmente a cada 15 minutos. Ao final do período de incubação duas réplicas de 10ml foram filtradas para cada frasco em membrana de acetato de 47 mm de diâmetro e poros de $0.45 \mu\text{m}$ (Sartorius) sob uma pressão de 24 cm Hg.

- **Quantificação do Carbono-14**

A fim de quantificar o carbono-14 fotoassimilado, bem como a fração dissolvida de carbono-14 excretada, foram utilizados os cálculos descritos por Steemann-Nielsen (1952), com modificações de Teixeira (1973). As medidas de radioatividade por cintilação líquida foram feitas segundo Vieira e Aidar-Aragão (1983).

Para separar a fração particulada da fração dissolvida de carbono-14, as amostras foram submetidas à filtração em membrana de acetato. Os filtrados, ausentes de células (carbono - 14 orgânico dissolvido), foram acidificados para pH 2.8-3.0 e borbulhados por 45 minutos para eliminar (na forma de $^{14}\text{CO}_2$) o $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ inorgânico que não foi

assimilado pelas células, sendo este fixado em uma solução de KOH (3 M). Após este processo o pH de cada amostra foi reajustado para 6,8 - 7,0.

Cada filtro de membrana (contendo as células e, portanto o carbono - 14 orgânico fotoassimilado) e 8ml do filtrado de cada amostra (2 réplicas) foram colocados em vials contendo 10 ml de solução cintiladora. Dois tipos diferentes de soluções cintiladoras foram utilizadas: para amostras sólidas (filtros de membrana) foram adicionados 150 mg.l⁻¹ de dimethyl POPOP {1,4 bis [2-(4-methyl-5-phenyloxazole)] benzeno} + 3 g.l⁻¹ de PPO (diphenyloxazole) em Tolueno + Renex 95[®] (2:1 v/v), enquanto para amostras aquosas (filtrados) foram adicionados 150 mg.l⁻¹ de dimethyl POPOP + 3 g.l⁻¹ de PPO em Tolueno + Renex 95[®] (7:6 v/v). O uso de diferentes misturas de tolueno/Renex 95[®] fez-se necessário, devido à maior estabilidade da emulsão aquosa na mistura 7:6. As radioatividades das amostras foram obtidas através da utilização do contador de cintilação líquida Packard (Downers Grove, Illinois) Tricarb 1550. Os cálculos foram feitos segundo Vieira et.al., (2002).

- **Determinação dos pontos E_K**

O Ponto E_K indica sob qual irradiância a taxa de fotossíntese começa a tender para a saturação, trata-se do ponto de inflexão da “curva de luz”.

Para calcular o valor do E_K das “curvas de luz” que não apresentaram fotoinibição utilizou-se a equação da hipérbole, modelo proposto por Talling (1957). Quando a fotoinibição ficou evidente o modelo utilizado foi aquele proposto por Steele (1962).

Os dois modelos forneceram os parâmetros necessários à aplicação da equação:

$$E_k = P_{\max} / \alpha$$

Em que:

P_{\max} = valor máximo de carbono fixado encontrado;

α = valor da inclinação da reta obtida por regressão linear com os pontos anteriores à inflexão da curva.

3.5.2. Experimento II

O Experimento II foi efetuado para verificar se as duas cianobactérias selecionadas, crescendo a $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (valor próximo ao E_K determinado durante o Experimento I), aumentariam suas as taxas de excreção quando expostas repentinamente à irradiância de $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (equivalente à máxima encontrada no Reservatório de Barra Bonita). Para tanto foi avaliada a relação entre a liberação de matéria orgânica na forma de carbono-14 orgânico dissolvido (C^{14}OD) por *A. spiroides* e *M. aeruginosa* quando expostas a irradiância de $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e a liberação de C^{14}OD a $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, além do carbono - 14 orgânico fixado na fração particulada (C^{14}OP) e concentração de clorofila-a, seguindo as metodologias descritas no experimento I. Para a realização do experimento II o radioisótopo ($20 \mu\text{Ci}$ de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$) foi adicionado ao volume de 500 ml da cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias e *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo, respectivamente. Estas culturas foram incubadas por 4 horas sob a irradiância de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para assimilar o carbono - 14 orgânico (C^{14}O) e amostras de 5 ml foram retiradas a cada hora para monitorar a assimilação do radioisótopo pelas células e verificar o momento da saturação do C^{14}O nas culturas. Após

este período as células foram centrifugadas em Centrifuga Excelsa Baby II Modelo 206 R a 1252 G, lavadas e novamente centrifugadas por 15 minutos a 1252 G (2 vezes) para eliminação de eventual matéria orgânica dissolvida sendo, posteriormente, ressuspensas em 2000 ml de meio ASM-1 com as concentrações de nutrientes correspondentes àquelas encontradas nas culturas com as idades selecionadas. Os 2000 ml de cultura foram distribuídos em dois frascos de Teflon[®] (com capacidade para 500 ml e transparentes à radiação UV) e incubados (2 réplicas) sob as irradiâncias de 200 (Ek) e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ durante 8 horas. Amostras iniciais e a cada duas horas foram retiradas para as análises descritas. A fim de evitar possíveis variações os frascos foram agitados e as réplicas tiveram suas posições trocadas a cada hora.

3.5.3. Experimento III

O experimento III foi realizado na represa de Barra Bonita a fim de verificar se as respostas fisiológicas apresentadas pelas culturas de *Microcystis aeruginosa* com 14 e 49 dias e *Anabaena spiroides* com 12 e 35 dias, crescendo sob a irradiância de 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, quando expostas a irradiâncias elevadas durante 8 horas sob condições naturais, seriam semelhantes àquelas encontradas em laboratório. Este experimento seguiu os mesmos procedimentos utilizados durante o experimento II e a cultura foi incubada no reservatório de Barra Bonita em profundidades sob as quais a radiação incidente correspondeu a 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

As irradiâncias foram medidas com radiômetro Quantum/ Radiometer/ Photometer LiCor, modelo Li-250.

Após o período de assimilação do radioisótopo pelas cianobactérias no laboratório (4 horas sob a irradiância de 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), as amostras foram centrifugadas e os *pelets* obtidos foram mantidos sob a temperatura de aproximadamente 4°C, transportados

até o local de incubação, sendo, então diluídos em 3500 ml de meio ASM-1 (para *M. aeruginosa*) e 3500 ml de ASM-1 com Tris (para *A. spiroides*), distribuídos em 16 frascos de policarbonato e 16 frascos de quartzo (transparentes à UV). O experimento foi montado em duplicata e sob cada irradiância foram incubados 8 frascos de policarbonato e 8 de quartzo. A utilização de dois tipos de frascos serviu para avaliar possíveis diferenças nas respostas apresentadas pelas cianobactérias quando incubadas em recipientes transparentes ou não à radiação ultravioleta.

A cada duas horas foram retirados 2 frascos de quartzo e 2 de policarbonato para cada irradiância. No momento da retirada dos frascos incubados, foram realizadas medições da radiação incidente no corpo d'água e, quando necessário, alterações na disposição dos frascos, a fim de corrigir as possíveis variações da quantidade de radiação incidente.

A temperatura da água do reservatório de Barra Bonita (local de incubação das amostras) foi mensurada a cada duas horas, mantendo-se a $23^{\circ}\text{C} \pm 2$.

3.6. Análises estatísticas

Para todos os experimentos com *A. spiroides* e *M. aeruginosa* foram utilizadas modelagens matemáticas. No experimento I (CO^{14}T , C^{14}OP , C^{14}OD) foram ajustadas hipérboles segundo os modelos propostos por Steele (1962) e Talling e Driver (1963), utilizando, para tanto, os valores obtidos para cada amostra.

Nos experimentos I (somente para clorofila-a) II e III (para todos os parâmetros analisados) foram aplicadas curvas exponenciais de regressão ($y=ab^x$), utilizando os valores obtidos em cada amostragem.

Em todos os experimentos, a diferença e a significância entre os resultados foram verificadas através da aplicação do teste estatístico não-paramétrico Kruskal-Wallis. Este teste estatístico serviu para analisar se os resultados obtidos para cada amostra eram iguais ou diferentes entre si, considerando as irradiâncias às quais foram submetidas, as idades das culturas e os frascos utilizados em sua incubação. A significância utilizada foi $p < 0,05$, calculada considerando-se todos os pontos dos gráficos para cada experimento, independente do modelo adotado.

4. RESULTADOS

“Curva de Crescimento”

Anabaena spiroides

Na Figura 2 apresenta-se a curva de crescimento de *A. spiroides* expressa em concentração de clorofila-a.

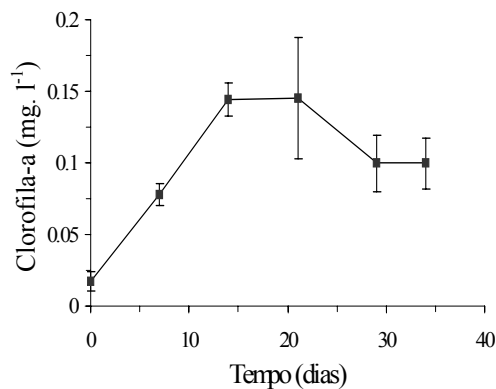


Figura 2. Crescimento de *Anabaena spiroides*. Concentração de clorofila-a em função do tempo de cultivo.

Microcystis aeruginosa

Na Figura 3a e b apresentam-se as curvas de crescimento de *M. aeruginosa* expressas em número de células e em concentração de clorofila-a.

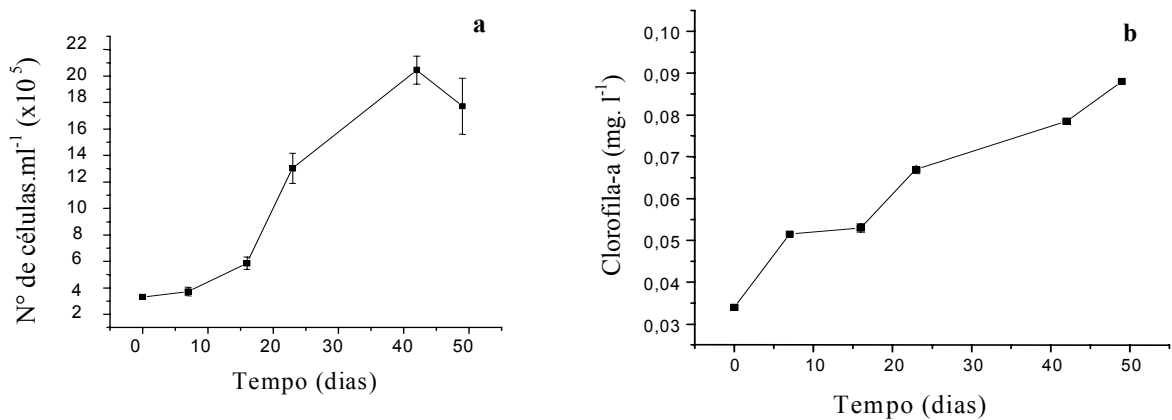


Figura 3. Crescimento de *Microcystis aeruginosa*. a- número de células por ml de cultura em função do tempo de cultivo. b- concentração de clorofila-a em função do tempo de cultivo.

4.1. Experimento I

Anabaena spiroides

Na Figura 4a, b e Tabela 1 apresentam-se os dados de carbono-14 total fixado ($C^{14}OT$), carbono-14 na fração particulada ($C^{14}OP$) e carbono-14 liberado na fração dissolvida ($C^{14}OD$) pela cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias, após 4 horas de exposição a diferentes irradiâncias.

Houve uma diminuição acentuada ($p < 0,05$) na fixação de $C^{14}OP$ com o aumento da intensidade luminosa (a partir de $400 \mu\text{mol.}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Os pontos E_K , correspondentes às intensidades luminosas sob as quais a fotossíntese tende à saturação, foram 260 e $255 \mu\text{mol.}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para a cultura de *A. spiroides* com 12 dias e 35 dias de cultivo, respectivamente.

Para ambas as idades da cultura de *A. spiroides* a liberação de $C^{14}OD$ teve um incremento significativo ($p < 0,05$) que acompanhou o aumento das intensidades luminosas, sendo mais expressivo sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A diferença na concentração de $C^{14}OP$ e $C^{14}OD$ entre as duas idades não foi significativa.

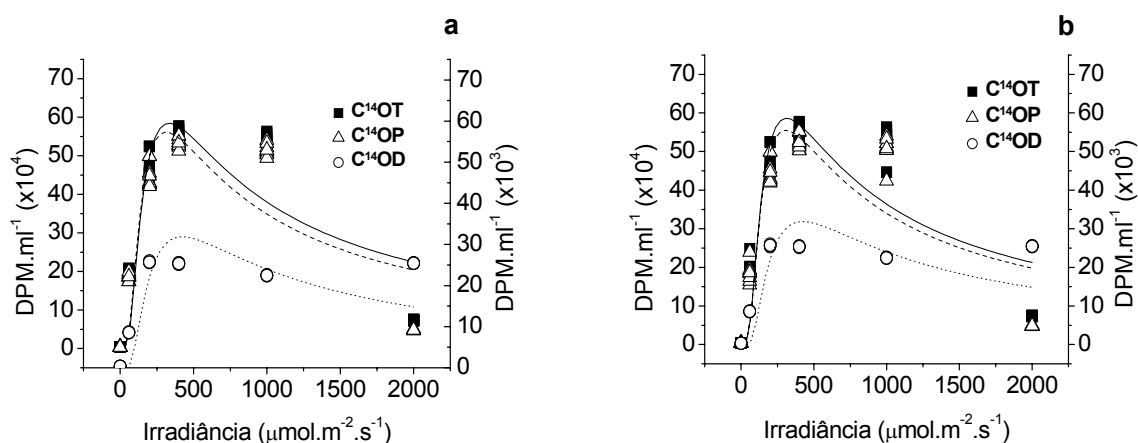


Figura 4. Carbono-14 na fração total fixado ($C^{14}OT$) fração particulada ($C^{14}OP$) e na fração dissolvida ($C^{14}OD$) liberada pelas células de *A. spiroides* após 4 h de exposição a diferentes irradiâncias. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.

Na Figura 5 e Tabela 1 são apresentados os valores de clorofila-a da cultura de *A. spiroides* após as 4 horas de incubação com 12 e 35 dias de idade. Para as duas idades houve um incremento na concentração do pigmento até a irradiância de 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ocorrendo, sob irradiâncias superiores a esta, um declínio significativo ($p < 0,05$).

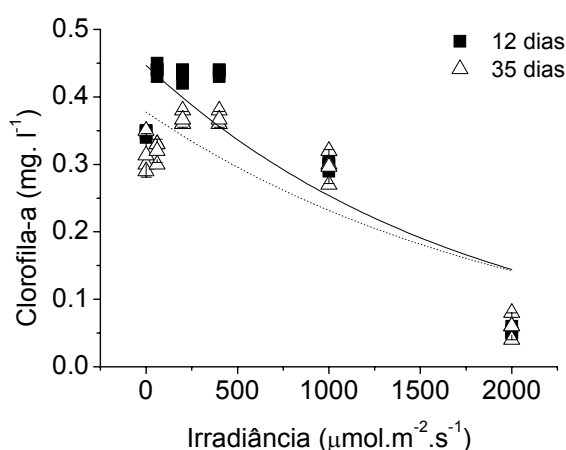


Figura 5. Concentração de clorofila-a na cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo após 4 h de exposição a diferentes irradiâncias.

Tabela 1. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento I com *Anabaena spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo após 4 horas de exposição a diferentes irradiâncias.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	C ¹⁴ OT (DPM.ml ⁻¹)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Liberação de C ¹⁴ OD (%)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)
12	0	4158 ± 216	3571 ± 212	338 ± 14	9 ± 0,5	0,35 ± 0,01
	60	206125 ± 9029	186295 ± 8973	8579 ± 94	4 ± 0,2	0,44 ± 0,01
	200	461310 ± 32654	448137 ± 32724	25732 ± 169	5 ± 0,4	0,43 ± 0,01
	400	545277 ± 13830	533683 ± 13737	25354 ± 180	4 ± 0,1	0,44 ± 0,01
	1000	523642 ± 15576	514938 ± 15554	22445 ± 123	4 ± 0,1	0,3 ± 0,01
	2000	73993 ± 1431	48065 ± 1462	25445 ± 96	35 ± 0,7	0,05 ± 0,01
35	0	4066 ± 323	3721 ± 310	344 ± 23	9 ± 0,5	0,31 ± 0,03
	60	194875 ± 25559	186295 ± 25487	8579 ± 87	4 ± 1	0,32 ± 0,02
	200	472560 ± 33658	446887 ± 33741	25673 ± 230	5 ± 0,5	0,37 ± 0,01
	400	549027 ± 18952	523683 ± 18949	25344 ± 168	5 ± 0,2	0,37 ± 0,01
	1000	529892 ± 36112	507438 ± 36062	22453 ± 117	4 ± 1	0,3 ± 0,02
	2000	73879 ± 1265	48440 ± 1241	25439 ± 122	34 ± 0,6	0,06 ± 0,02

Microcystis aeruginosa

Na Figura 6a b e c e Tabela 2 apresenta-se os dados de carbono-14 total fixado ($C^{14}OT$), carbono-14 na fração particulada ($C^{14}OP$) e carbono-14 liberado na fração dissolvida ($C^{14}OD$) pela cultura de *M. aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias de cultivo, após 4 horas de incubação.

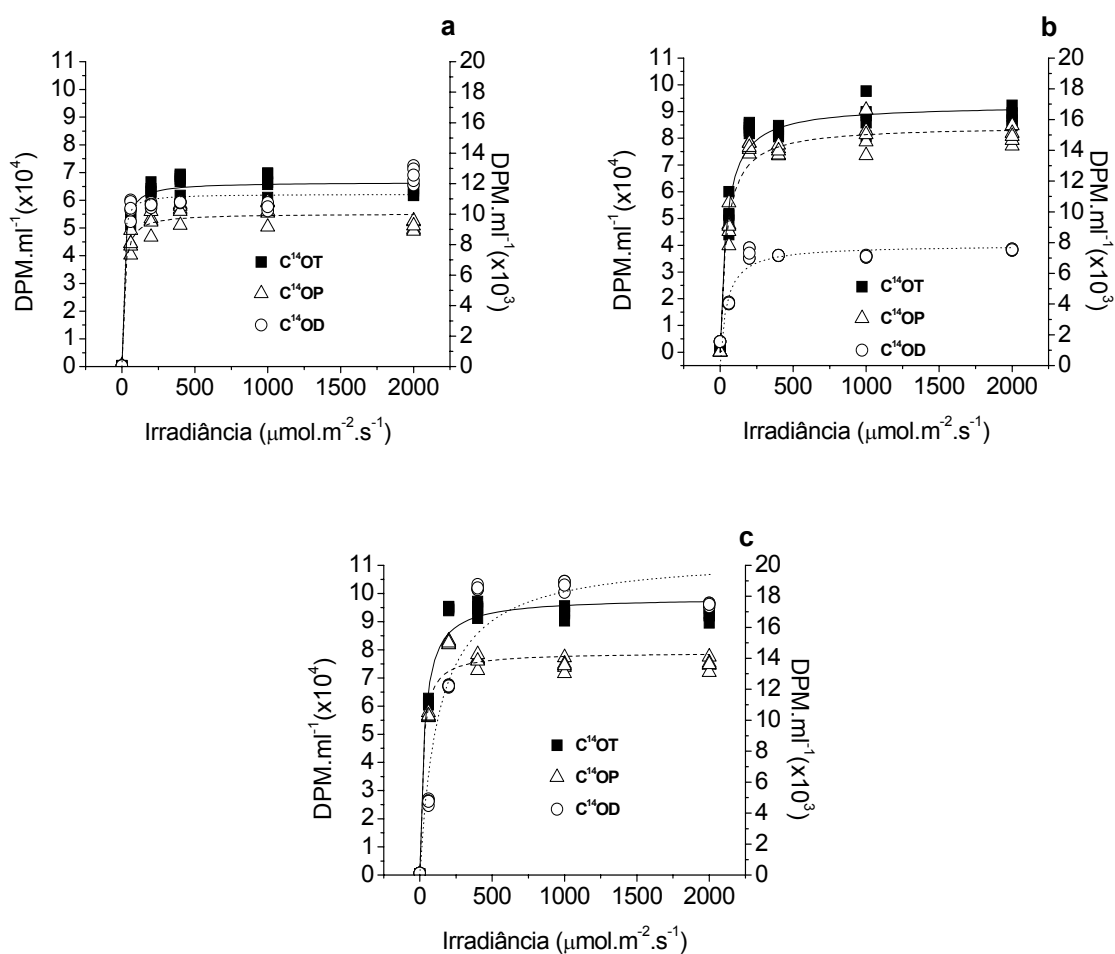


Figura 6. Carbono-14 na fração total fixado ($C^{14}OT$), fração particulada ($C^{14}OP$) e na fração dissolvida ($C^{14}OD$) liberada pelas células de *M. aeruginosa* após 4h de exposição a diferentes irradiâncias ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 28 dias de cultivo. c- Cultura com 49 dias de cultivo. Dados em DPM.ml^{-1} .

As culturas com 14 (**Figura 6a**) e 28 dias (**Figura 6b**) apresentaram um incremento ($p < 0,05$) na fixação de carbono-14 que acompanhou o aumento da intensidade luminosa até a irradiância de $400\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, mantendo-se constante sob as irradiâncias

superiores a esta. Por outro lado a cultura de *M. aeruginosa* com 49 dias de cultivo (**Figura 6c**) apresentou um incremento ($p < 0,05$) na fixação de carbono-14 somente até a irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, estabilizando-se sob as irradiâncias superiores à esta (**Tabela 2**).

Os pontos E_K foram 305, 136 e 88 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para a cultura de *M. aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias, respectivamente.

O carbono-14 na fração dissolvida liberado pelas culturas de *M. aeruginosa* com 14 (**Figura 6a**) e 28 (**Figura 6b**) dias de cultivo, após 4 horas de incubação, apresentou um incremento ($p < 0,05$) que acompanhou o aumento das irradiâncias, sendo maior sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A cultura com 49 dias de cultivo (**Figura 6c**) apresentou um incremento ($p < 0,05$) na liberação de C^{14}OD até a irradiância de $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. As altas porcentagens de C^{14}OD apresentadas pela cultura incubada no escuro (**Tabela 2**), são devidas à baixa concentração de carbono-14 fotoassimilado.

Na Figura 7 e Tabela 2 apresenta-se a concentração de clorofila-a da cultura de *M. aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias de cultivo, após 4 horas de incubação.

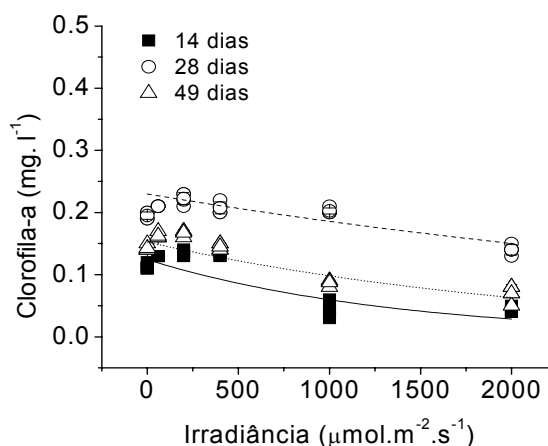


Figura 7. Concentração de clorofila-a da cultura de *M. aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias de cultivo em função da irradiância.

As células nas três idades apresentaram queda significativa ($p < 0,05$) na concentração do pigmento quando expostas a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. No entanto, a cultura com 49 dias apresentou queda significativa ($p < 0,05$) na concentração do pigmento de suas células já quando exposta à $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Quando expostas a irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ as células pertencentes a cultura, nas três idades selecionadas, não apresentaram queda significativa na concentração de pigmento.

Tabela 2. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento I com *Microcystis aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias de cultivo após 4 horas de exposição a diferentes irradiâncias.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	C ¹⁴ OT (DPM.ml ⁻¹)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Liberação de C ¹⁴ OD (%)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)
14	0	229 ± 54	185 ± 60	44 ± 8	21 ± 8	0,11 ± 0,005
	60	54745 ± 3178	44366 ± 3688	10379 ± 651	19 ± 2	0,13 ± 0
	200	62769 ± 4036	52162 ± 3911	10606 ± 152	17 ± 0,9	0,13 ± 0,01
	400	66860 ± 3472	56073 ± 3441	10787 ± 46	16 ± 0,8	0,13 ± 0,01
	1000	66547 ± 4170	56067 ± 4216	10480 ± 250	16 ± 1	0,11 ± 0,013
	2000	63400 ± 1966	50837 ± 1898	12563 ± 608	20 ± 1	0,04 ± 0,005
28	0	-----	111 ± 10	-----	-----	0,19 ± 0,01
	60	51250 ± 6664	47183 ± 6705	4067 ± 56	8 ± 1	0,21 ± 0
	200	83914 ± 1893	76626 ± 1978	7315 ± 383	9 ± 0,5	0,22 ± 0,01
	400	82418 ± 1923	75261 ± 1924	7157 ± 4,6	9 ± 0,2	0,21 ± 0,01
	1000	88510 ± 7131	81410 ± 7197	7100 ± 69	8 ± 0,7	0,2 ± 0,005
	2000	88310 ± 3273	80774 ± 3293	7536 ± 47	8 ± 0,3	0,14 ± 0,01
49	0	238 ± 7,3	120 ± 5,6	118 ± 3	50 ± 1	0,14 ± 0,005
	60	61305 ± 973	56546 ± 847	4759 ± 188	8 ± 0,2	0,16 ± 0,005
	200	94670 ± 704	82489 ± 695	12211 ± 69	13 ± 0,1	0,17 ± 0,005
	400	94601 ± 2445	76062 ± 2382	18539 ± 156	20 ± 0,5	0,14 ± 0,01
	1000	93149 ± 2158	74422 ± 2334	18727 ± 330	20 ± 0,7	0,09 ± 0,005
	2000	92336 ± 2176	74852 ± 2259	17484 ± 107	19 ± 0,5	0,07 ± 0,014

4.2. Experimento II

Anabaena spiroides

Os dados de carbono-14 na fração particulada (previamente fotoassimilado a $200\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) bem como a fração dissolvida liberada por *A. spiroides* com 12 e 35 dias de idade após exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ são apresentados na Figura 8a, b e na Tabela 3.

A fração particulada do carbono-14 variou significativamente ($p<0,05$) entre as duas irradiâncias, apresentando decaimento sob a irradiância de 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para as duas idades selecionadas. Não ocorreu variação significativa ao longo do período de exposição à irradiância de 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Houve um aumento significativo ($p<0,05$) na liberação de C^{14}OD (proveniente do “pool” particulado previamente fotoassimilado) pela cultura de *A. spiroides* nas duas idades de cultivo somente quando expostas a irradiância de 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

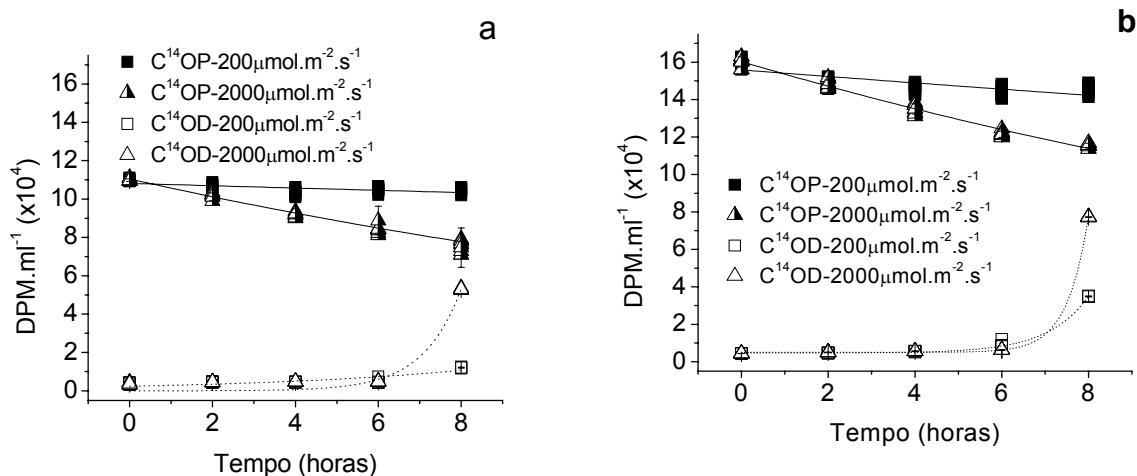


Figura 8. Carbono-14 na fração total fixado (C^{14}OT), fração particulada (C^{14}OP) e na fração dissolvida (C^{14}OD) liberada pelas células de *A. spiroides* após 8 h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.

Na Figura 9a e b e na Tabela 3 apresenta-se a concentração de clorofila-a (mg.l^{-1}) da cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias de idade, após exposição às irradiâncias 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Quando exposta a 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ as duas idades de cultivo apresentaram uma perda significativa ($p < 0,05$) de clorofila-a. Houve influência da idade celular na diminuição da concentração de clorofila-a, uma vez que a cianobactéria com 35 dias apresentou queda ($p < 0,05$) na concentração do pigmento mesmo quando exposta a irradiância de 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (correspondente ao seu E_K).

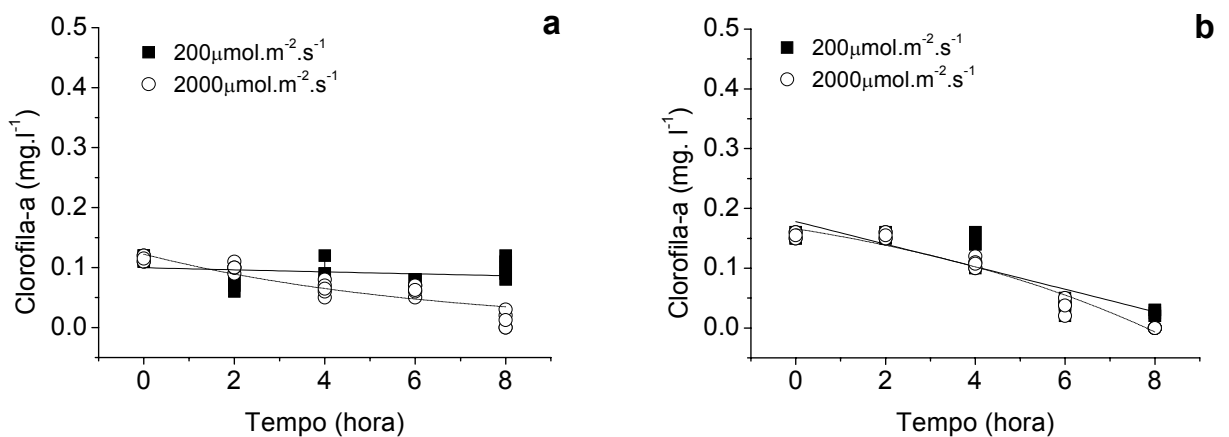


Figura 9. Concentração de clorofila-a de *A. spiroides* exposta às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em função do tempo. a- Cultura com 12 dias de cultivo. b- Cultura com 35 dias de cultivo.

Tabela 3. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento II com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Tempo (hora)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	Perda de C ¹⁴ OP (%)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)
12	200	0	109841 ± 692	0	3786 ± 561	0,11 ± 0,01
		2	106002 ± 2018	3.5 ± 2.1	4507 ± 359	0,08 ± 0,02
		4	103545 ± 1861	6 ± 1.7	4503 ± 234	0,09 ± 0,02
		6	104968 ± 1436	4.4 ± 1.4	4738 ± 1072	0,08 ± 0
		8	104472 ± 1632	5 ± 1.4	12071 ± 260	0,1 ± 0,02
	2000	0	109841 ± 692	0	3786 ± 561	0,11 ± 0,01
		2	101176 ± 2022	7 ± 1.2	4493 ± 59	0,1 ± 0,01
		4	92417 ± 2530	16 ± 1.3	4782 ± 72	0,06 ± 0,01
		6	88768 ± 7455	24 ± 1.3	4841 ± 84	0,06 ± 0,01
		8	74687 ± 10286	31 ± 3	53120 ± 361	0,01 ± 0,01
35	200	0	160111 ± 2726	0	4426 ± 65	0,15 ± 0,006
		2	148736 ± 2715	7 ± 1.8	4657 ± 211	0,15 ± 0,006
		4	146209 ± 2632	9 ± 1.7	5643 ± 269	0,14 ± 0,03
		6	144052 ± 3045	10 ± 1.6	8260 ± 294	0,04 ± 0,013
		8	145814 ± 2515	9 ± 2.5	34880 ± 243	0,025 ± 0,006
	2000	0	160111 ± 2726	0	4420 ± 62	0,15 ± 0,006
		2	148113 ± 2268	7 ± 2.6	5049 ± 119	0,15 ± 0,006
		4	135057 ± 2691	16 ± 2.4	5629 ± 39	0,11 ± 0,01
		6	121475 ± 1581	24 ± 1.3	6266 ± 43	0,04 ± 0,013
		8	115597 ± 1124	28 ± 1.6	77251 ± 149	0 ± 0

Microcystis aeruginosa

Os dados de carbono-14 na fração particulada (previamente fotoassimilado a $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) bem como a fração dissolvida liberada por *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de idade após exposição às irradiâncias de 200 e $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ são apresentados na figura 10a, b e na Tabela 4.

Para as duas idades de cultivo a fração particulada do carbono-14 não apresentou queda significativa nas irradiâncias selecionadas. Da mesma forma a liberação de matéria orgânica dissolvida manteve-se estável ao longo de todo o período de exposição.

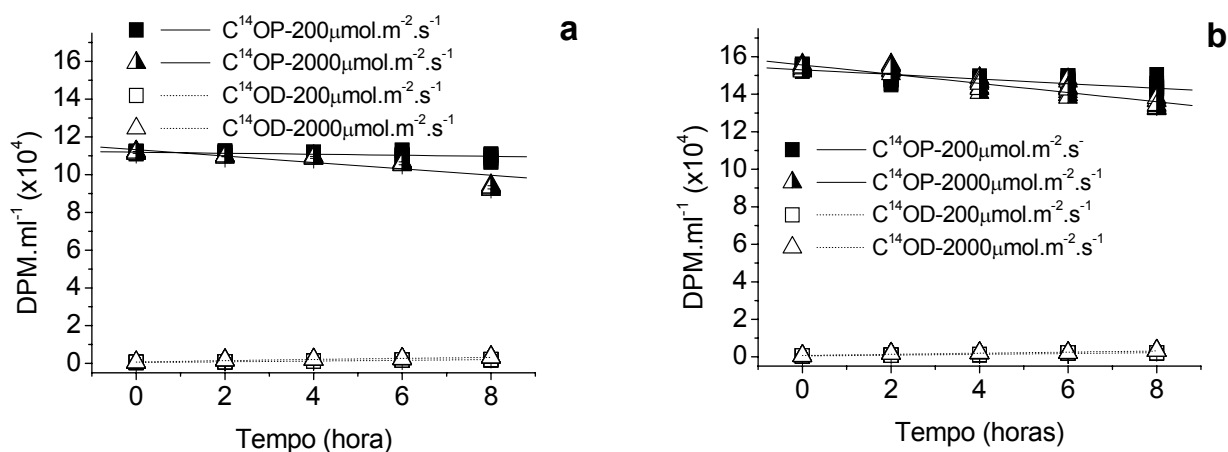


Figura 10. Carbono-14 na fração particulada (previamente fotoassimilado) e na fração dissolvida liberado pela cultura de *M. aeruginosa* após 8 h de exposição às irradiâncias de 200 e $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 49 dias de cultivo.

Na Figura 11a e b e na Tabela 4 apresentam-se as concentrações de clorofila-a presentes na cultura de *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de idade, respectivamente após exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as duas irradiâncias utilizadas, uma vez que ao serem expostas a 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ as duas culturas apresentaram uma perda significativa ($p < 0,05$) de clorofila-a, que por sua vez não ocorreu quando estas foram expostas a irradiância de 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

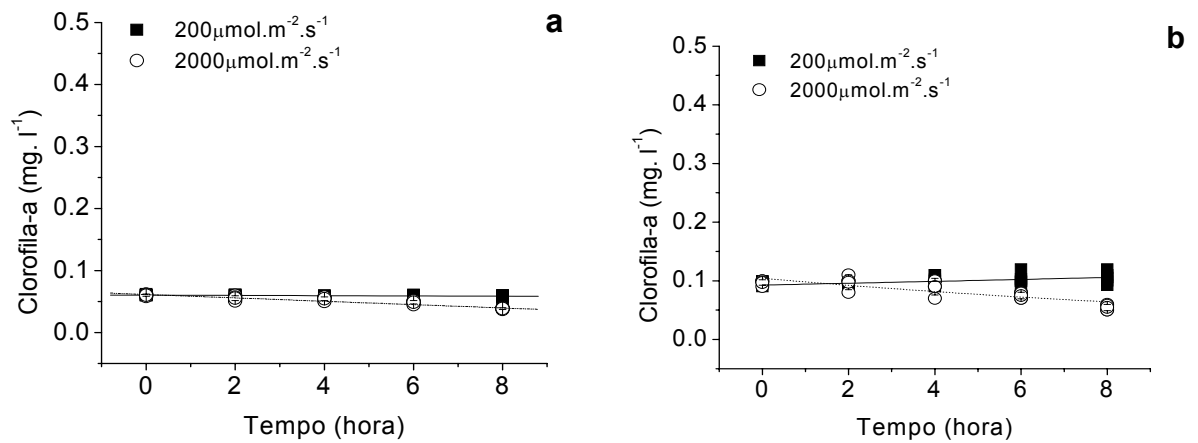


Figura 11. Concentração de clorofila-a de *M. aeruginosa* exposta às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em função do tempo. a- Cultura com 14 dias de cultivo. b- Cultura com 49 dias de cultivo.

Tabela 4. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento II com *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Tempo (hora)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	Perda de C ¹⁴ OP (%)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)
14	200	0	111846 ± 517	0	452 ± 30	0,06 ± 0,001
		2	111333 ± 986	0.5 ± 1	819 ± 5	0,06 ± 0,001
		4	111053 ± 724	0.7 ± 1	1070 ± 14	0,06 ± 0,002
		6	110386 ± 1687	1.3 ± 1.3	1769 ± 22	0,06 ± 0,005
		8	108904 ± 1781	3 ± 1.8	1904 ± 58	0,06 ± 0,005
	2000	0	111846 ± 517	0	573 ± 77	0,06 ± 0,002
		2	109738 ± 300	2 ± 0.45	1614 ± 68	0,055 ± 0,004
		4	109169 ± 537	2 ± 0.75	2039 ± 27	0,054 ± 0,003
		6	106017 ± 724	5 ± 0.77	2406 ± 36	0,049 ± 0,003
		8	93251 ± 868	17 ± 0.71	3220 ± 60	0,038 ± 0,003
49	200	0	154308 ± 1361	0	488 ± 76	0,1 ± 0,005
		2	147906 ± 1810	4 ± 2	801 ± 6	0,09 ± 0,002
		4	147577 ± 1423	4 ± 1.3	1100 ± 3	0,1 ± 0,01
		6	147116 ± 2083	5 ± 1.3	2078 ± 6	0,1 ± 0,01
		8	144039 ± 2980	7 ± 2.2	2076 ± 51	0,11 ± 0,01
	2000	0	154308 ± 1361	0	488 ± 76	0,1 ± 0,005
		2	154183 ± 1918	0.1 ± 0.9	1679 ± 68	0,1 ± 0,013
		4	145586 ± 2908	6 ± 2.4	2018 ± 27	0,09 ± 0,014
		6	142540 ± 3557	8 ± 2.7	2049 ± 35	0,07 ± 0,01
		8	134319 ± 2329	13 ± 1.3	3309 ± 70	0,05 ± 0,005

4.3. Experimento III

Anabaena spiroides

Na Figura 12a-d e na Tabela 5 apresentam-se os dados de $C^{14}OP$ (previamente fotoassimilado a $200\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e $C^{14}OD$ liberado pela cultura de *A. spiroides* com 12 (Figura 12a e c) e 35 dias (Figura 12b e d) de cultivo durante 8 horas de incubação em frascos de policarbonato (Figura 12a e b) e quartzo (Figura 12c e d).

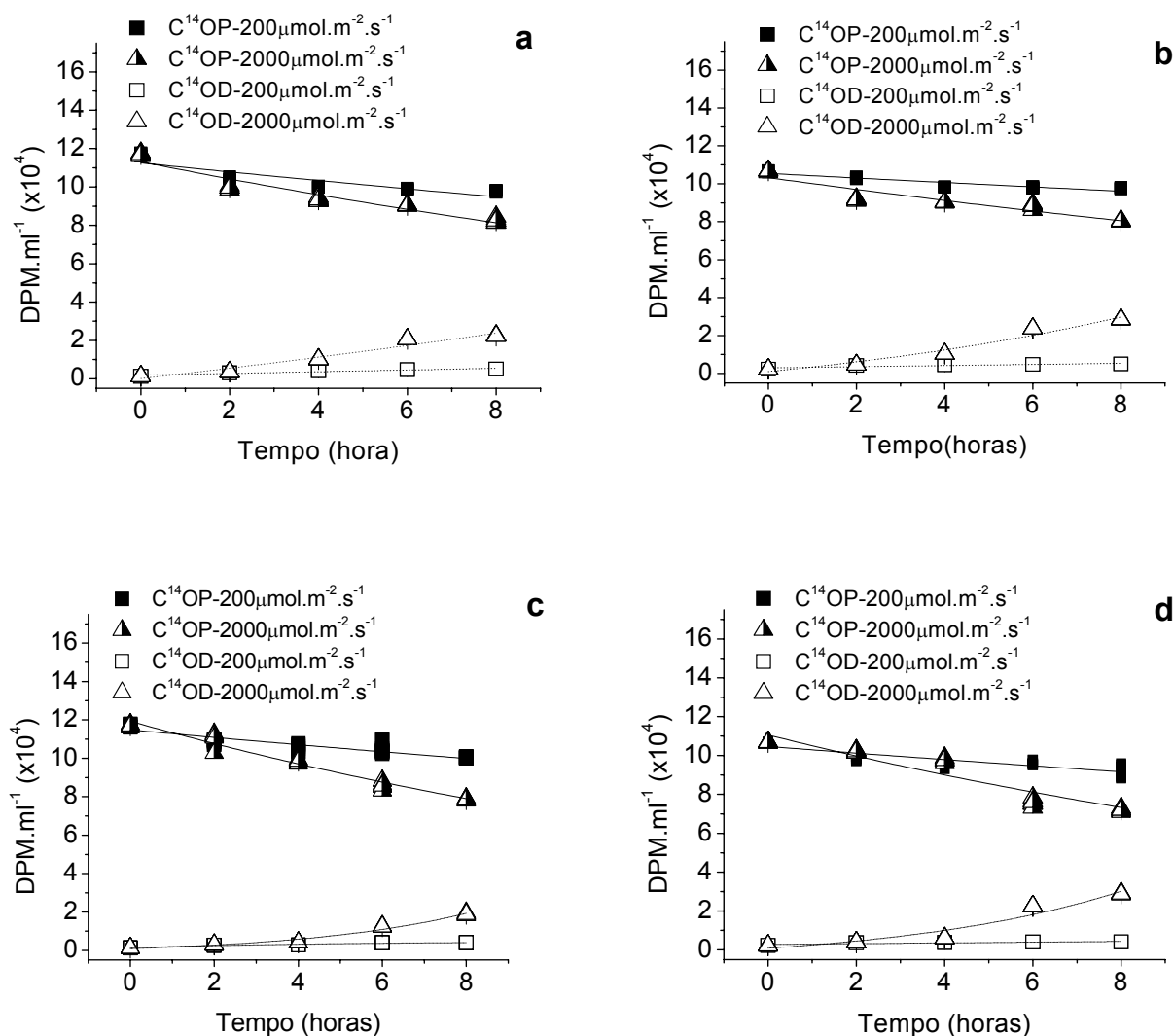


Figura 12. $C^{14}OP$ fotoassimilado e $C^{14}OD$ liberado pela cultura de *A. spiroides* após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias incubada em frasco de policarbonato b- Cultura com 35 dias incubada em frasco de policarbonato. c- Cultura com 12 dias incubada em frasco de quartzo. d- Cultura com 35 dias incubada em frasco de quartzo.

Para as duas idades selecionadas houve uma perda significativa ($p < 0,05$) de $C^{14}OP$ quando *A. spiroides* foi exposta à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, o mesmo não ocorreu quando a cianobactéria foi exposta a irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

A perda de carbono particulado foi acompanhada pelo incremento da liberação de $C^{14}OD$. Considerando o frasco utilizado na incubação de *A. spiroides* não houve diferenças significativas nas respostas apresentadas pelas células tanto em relação à perda de $C^{14}OP$, quanto em relação à liberação de $C^{14}OD$, em nenhuma das idades selecionadas.

Na Figura 13a-d e na Tabela 5 apresentam-se os valores da concentração de clorofila-a na cultura de *A. spiroides* com 12 (**Figura 13a e c**) e 35 dias (**Figura 13b e d**) de cultivo após 8 horas de incubação em frascos de policarbonato (**Figura 13a e b**) e quartzo (**Figura 13c e d**). As duas idades selecionadas apresentaram queda significativa ($p < 0,05$) na concentração de clorofila-a sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, independente dos frascos utilizados durante sua incubação.

As perdas de clorofila-a pela cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo incubada em frascos de policarbonato, assim como pela cultura com 12 dias incubada em frasco de quartzo à $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ não foram significativas. Por outro lado, a cultura com 35 dias de cultivo incubada em frasco de quartzo à $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, sofreu um declínio significativo ($p < 0,05$) na concentração do pigmento.

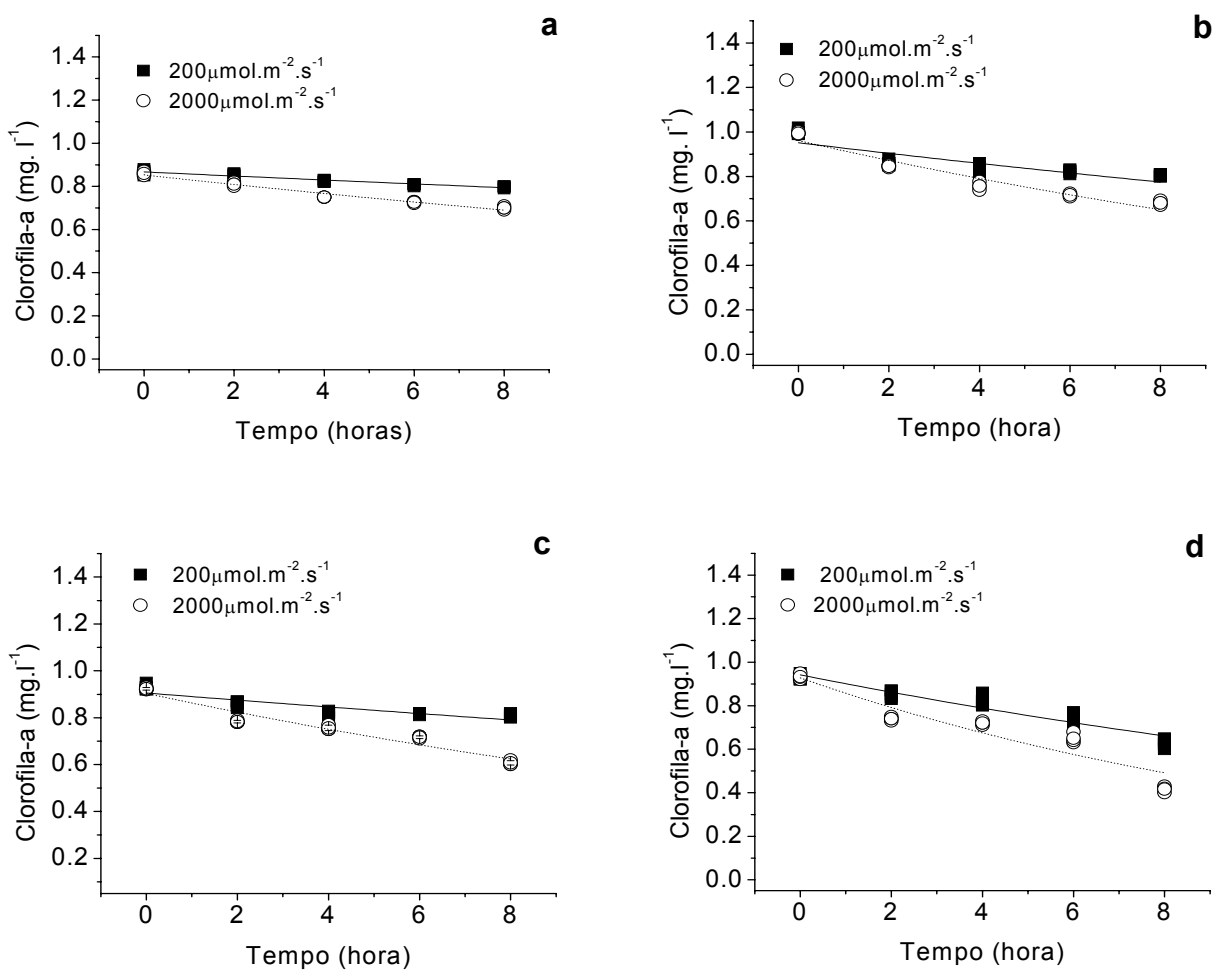


Figura 13. Concentração de clorofila-a na cultura de *A. spiroides* após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 12 dias de cultivo incubada em frascos de policarbonato. b- Cultura com 35 dias de cultivo incubada em frascos de policarbonato. c- Cultura com 12 dias incubada em frascos de quartzo. d- Cultura com 35 dias incubada em frascos de quartzo.

Tabela 5. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento III com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em campo.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Frasco	Tempo (hora)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	Perda de C ¹⁴ OP (%)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)
12	200	Policarbonato	0	116970 ± 773	0	1307 ± 6	0,9 ± 0,013
			2	103820 ± 1141	11 ± 0.8	3105 ± 53	0,85 ± 0,01
			4	100065 ± 312	14 ± 0.64	4146 ± 23	0,82 ± 0,01
			6	98910 ± 580	15 ± 0.8	4705 ± 17	0,81 ± 0,005
			8	97918 ± 509	16 ± 0.7	4995 ± 16	0,8 ± 0,005
		Quartzo	0	116970 ± 773	0	1325 ± 52	0,93 ± 0,014
			2	108737 ± 1066	7 ± 1.2	2705 ± 55	0,9 ± 0,014
			4	105061 ± 2159	10 ± 1.8	2804 ± 73	0,82 ± 0,013
	2000	Policarbonato	0	116970 ± 773	0	1304 ± 6	0,9 ± 0,01
			2	99615 ± 834	15 ± 0.9	3525 ± 23	0,81 ± 0,01
			4	93405 ± 422	20 ± 0.7	10172 ± 14	0,75 ± 0
			6	90457 ± 922	23 ± 0.45	20628 ± 84	0,73 ± 0,005
			8	82532 ± 1317	29 ± 1.1	22363 ± 93	0,7 ± 0,01
		Quartzo	0	116970 ± 773	0	1325 ± 52	0,9 ± 0,01
			2	110701 ± 3276	5 ± 3.1	2928 ± 49	0,78 ± 0,01
			4	98635 ± 921	16 ± 1.3	4137 ± 11	0,76 ± 0,011
35	200	Policarbonato	0	106834 ± 367	0	2299 ± 20	1 ± 0,014
			2	102990 ± 577	3.6 ± 0.6	4111 ± 53	0,86 ± 0,014
			4	98277 ± 225	8 ± 0.35	4536 ± 18	0,82 ± 0,04
			6	98030 ± 466	8 ± 0.4	4706 ± 23	0,82 ± 0,01
			8	97707 ± 438	8 ± 0.6	4990 ± 22	0,8 ± 0,01
		Quartzo	0	106834 ± 367	0	1325 ± 52	0,93 ± 0,014
			2	108737 ± 1066	8 ± 1.12	2705 ± 55	0,85 ± 0,021
			4	105061 ± 2159	9 ± 1.6	2804 ± 73	0,82 ± 0,03
	2000	Policarbonato	0	106834 ± 367	0	2299 ± 20	0,99 ± 0,01
			2	91780 ± 501	14 ± 0.6	4556 ± 23	0,84 ± 0,005
			4	90353 ± 265	15 ± 0.4	10291 ± 77	0,76 ± 0,02
			6	88535 ± 1132	17 ± 1.2	23676 ± 61	0,72 ± 0,01
			8	80393 ± 268	25 ± 0.35	28475 ± 93	0,68 ± 0,011
		Quartzo	0	106834 ± 367	0	1325 ± 52	0,93 ± 0,015
			2	110701 ± 3276	4 ± 0.7	2928 ± 49	0,74 ± 0,01
			4	98635 ± 921	9 ± 1.2	4137 ± 11	0,72 ± 0,01
2000	Quartzo	6	85772 ± 1982	29 ± 1.6	12445 ± 201	0,65 ± 0,03	
		8	78607 ± 544	32 ± 0.7	18931 ± 560	0,42 ± 0,015	

Microcystis aeruginosa

Na Figura 14 e na Tabela 6 apresentam-se os dados de $C^{14}OP$ (previamente fotoassimilado a $200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e $C^{14}OD$ liberado pela cultura de *M.aeruginosa* com 14 (Figura 14a e c) e 49 dias (Figura 14b e d) de cultivo durante a incubação de 8 horas (em profundidades nas quais as irradiâncias incidentes foram 200 e $2000\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) em frascos de polycarbonato (Figura 14a e b) e quartzo (Figura 14c e d).

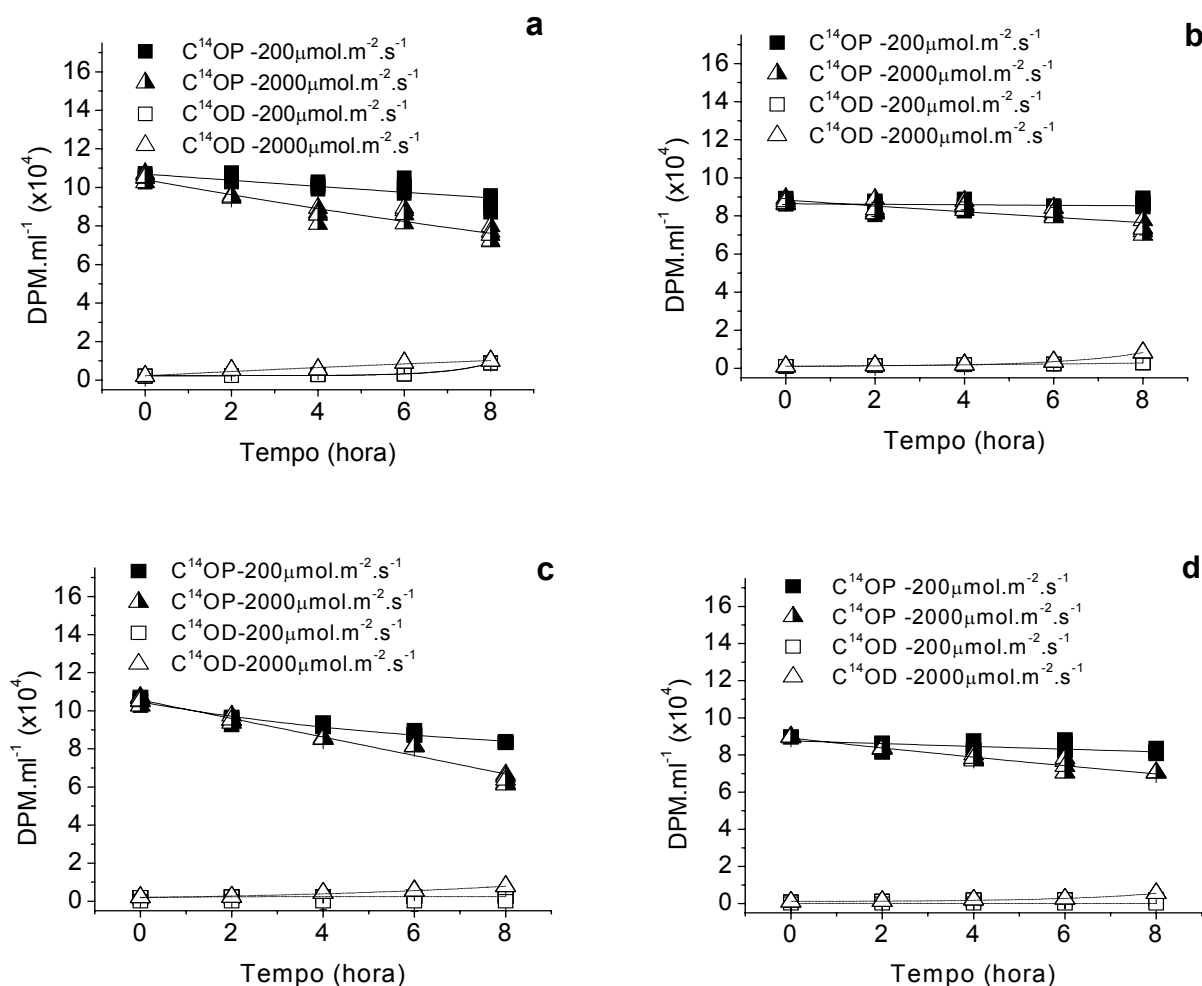


Figura 14. $C^{14}OP$ fotoassimilado e $C^{14}OD$ liberado pela cultura de *M. aeruginosa* após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e $2000\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo incubada em frascos de polycarbonato. b- Cultura com 49 dias de cultivo incubada em frascos de polycarbonato. c- Cultura com 14 dias incubada em frascos de quartzo d- Cultura com 49 dias incubada em frascos de quartzo.

Para as duas idades selecionadas houve uma perda significativa ($p < 0,05$) de $C^{14}OP$ quando *M. aeruginosa* foi exposta à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, o mesmo não ocorreu quando a cianobactéria foi exposta a irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

A perda de carbono particulado apresentada pela cianobactéria exposta a foi acompanhada pelo incremento da liberação de $C^{14}OD$, quando a cultura com 14 e 49 dias de cultivo foi incubada em frascos de policarbonato. Por outro lado, o mesmo não ocorreu após incubação em frascos de quartzo, tendo em vista que, apesar de ser significativa, a quantidade de $C^{14}OD$ liberada pela cultura exposta à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ esteve muito próxima àquela liberada pela cultura exposta a $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, para as duas idades selecionadas.

Na Figura 15a-d e Tabela 6 apresentam-se os valores das concentrações de clorofila-a na cultura de *M. aeruginosa* com 14 (**Figura 15a e c**) e 49 dias (**Figura 15b e d**) de cultivo, após período de 8 horas de incubação (em profundidades nas quais as irradiâncias incidentes foram 200 e $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), em frascos de policarbonato (**Figura 15a e b**) e quartzo (**Figura 15c e d**).

As duas idades selecionadas apresentaram queda significativa ($p < 0,05$) na concentração de clorofila-a quando a incubadas tanto em frascos de policarbonato quanto em frascos de quartzo sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Quando incubada sob irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo manteve a concentração de clorofila-a estável, independente da composição dos frascos utilizados.

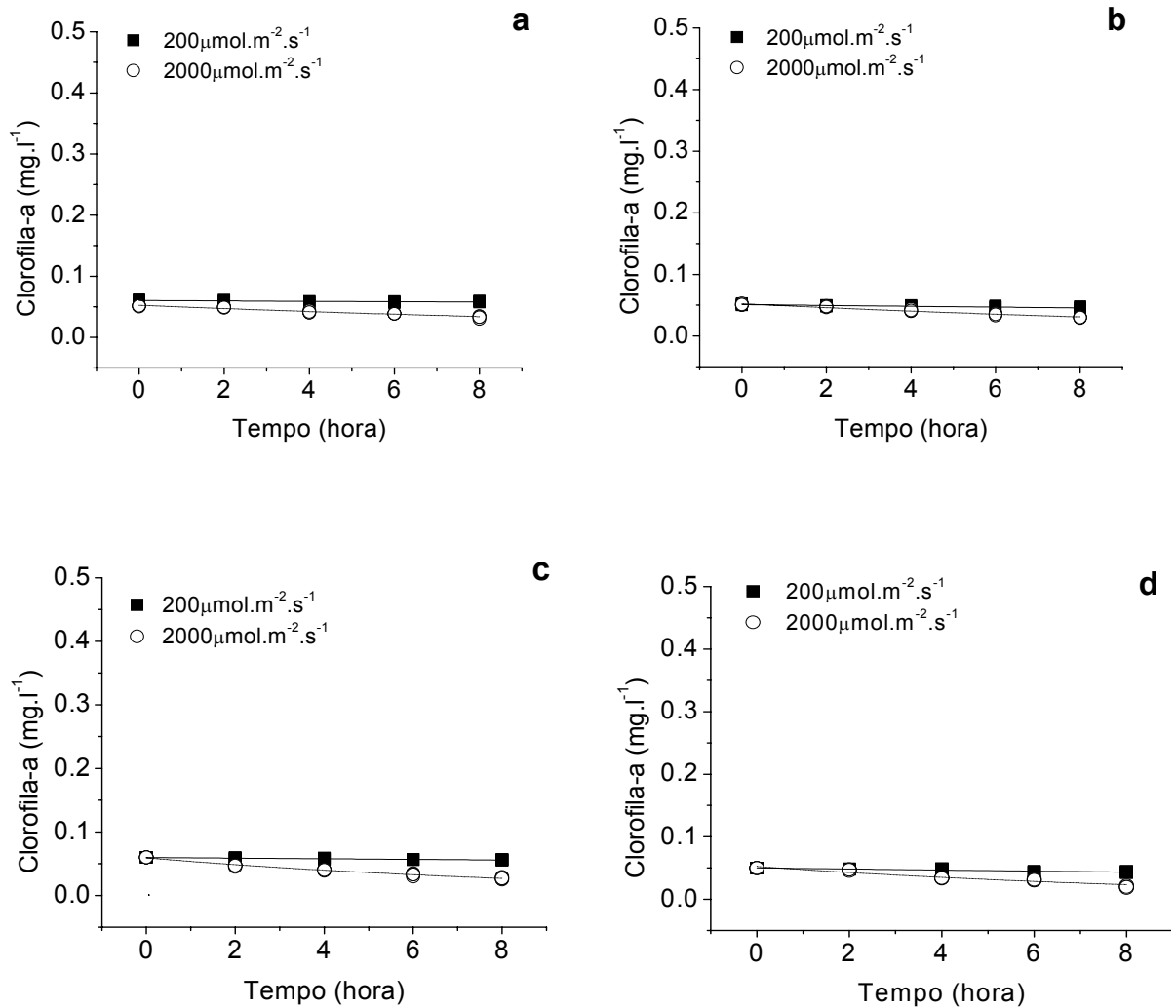


Figura 15. Concentração de clorofila-a na cultura de *M. aeruginosa* após 8h de exposição às irradiâncias de 200 e $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. a- Cultura com 14 dias de cultivo incubada em frascos de policarbonato. b- Cultura com 49 dias de cultivo incubada em frascos de policarbonato. c- Cultura com 14 dias incubada em frascos de quartzo. d- Cultura com 49 dias incubada em frascos de quartzo.

Tabela 6. Valores médios (com erro padrão) dos parâmetros analisados durante o experimento III com *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo após 8 horas de exposição às irradiâncias de 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em campo.

Idade (dia)	Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Frasco	Tempo (hora)	C ¹⁴ OP (DPM.ml ⁻¹)	Perda de C ¹⁴ OP (%)	C ¹⁴ OD (DPM.ml ⁻¹)	Clorofila-a (mg.l ⁻¹)	
14	200	Policarbonato	0	105334 ± 2072	0	2073 ± 40	0,06 ± 0,003	
			2	104724 ± 2130	0.6 ± 1.3	2295 ± 22	0,06 ± 0,001	
			4	100995 ± 1733	4 ± 2	2789 ± 90	0,058 ± 0,001	
			6	100366 ± 3581	5 ± 4.4	3172 ± 69	0,057 ± 0,001	
			8	91802 ± 4119	13 ± 4	8902 ± 62	0,058 ± 0,001	
		Quartzo	0	105334 ± 2072	0	2073 ± 40	0,06 ± 0	
			2	95203 ± 1905	9.6 ± 0.2	2408 ± 21	0,058 ± 0,002	
			4	92811 ± 960	12 ± 2.2	2413 ± 42	0,058 ± 0,001	
	2000	Policarbonato	2	87869 ± 1284	17 ± 1.2	2466 ± 50	0,056 ± 0,001	
			4	83371 ± 380	21 ± 1.3	2533 ± 37	0,056 ± 0,001	
			6	83371 ± 380	21 ± 1.3	2533 ± 37	0,056 ± 0,001	
			8	83371 ± 380	21 ± 1.3	2533 ± 37	0,056 ± 0,001	
			0	105334 ± 2072	0	2084 ± 53	0,051 ± 0,001	
		Quartzo	2	95135 ± 581	10 ± 1.5	5228 ± 18	0,049 ± 0,001	
			4	85821 ± 3513	18 ± 4.3	5538 ± 42	0,041 ± 0,002	
			6	86163 ± 3525	18 ± 2.5	9041 ± 28	0,039 ± 0,0005	
49	200	Policarbonato	8	75290 ± 3776	28 ± 5	10023 ± 6	0,033 ± 0,002	
			0	105334 ± 2072	0	2084 ± 53	0,06 ± 0,0005	
			Quartzo	2	95334 ± 1536	9.5 ± 1.6	2279 ± 48	0,047 ± 0,001
				4	85364 ± 398	19 ± 1.7	4295 ± 85	0,04 ± 0,001
				6	81388 ± 169	23 ± 1.4	5482 ± 191	0,033 ± 0,002
		Policarbonato	8	63760 ± 2535	39.5 ± 2	7897 ± 36	0,027 ± 0,002	
			0	87622 ± 1595	0	970 ± 15	0,051 ± 0,001	
			Quartzo	2	85487 ± 3482	2 ± 5	1416 ± 37	0,049 ± 0,001
	4	85013 ± 3067		3 ± 2.9	1868 ± 40	0,048 ± 0,001		
	6	84476 ± 834		4 ± 2	2252 ± 28	0,047 ± 0,001		
	8	86802 ± 2119		1 ± 3	2784 ± 88	0,045 ± 0,003		
	0	89700 ± 283		0	975 ± 9	0,05 ± 0,0005		
	2000	Policarbonato	2	84005 ± 2675	6 ± 3	1436 ± 23	0,048 ± 0,001	
			4	82844 ± 3611	7.6 ± 4	2047 ± 8	0,048 ± 0,001	
			6	84792 ± 3060	5.5 ± 3	2206 ± 5	0,044 ± 0,001	
			8	81905 ± 1464	8.7 ± 2	2254 ± 31	0,043 ± 0,001	
0			87622 ± 1595	0	970 ± 15	0,051 ± 0,001		
Quartzo		2	83409 ± 3655	4.8 ± 3.7	1520 ± 54	0,047 ± 0,001		
		4	85337 ± 2065	2.5 ± 3.7	1929 ± 31	0,041 ± 0,002		
		6	81929 ± 2664	6 ± 4	3421 ± 119	0,035 ± 0,002		
2000	Policarbonato	8	73284 ± 3253	7.8 ± 2	8282 ± 57	0,03 ± 0,001		
		0	89700 ± 283	0	975 ± 9	0,05 ± 0,0005		
		Quartzo	2	83428 ± 372	4.8 ± 4	1337 ± 2	0,047 ± 0,001	
			4	78244 ± 1369	2.5 ± 4	2043 ± 8	0,034 ± 0,0005	
			6	73925 ± 4092	6 ± 4	2554 ± 40	0,031 ± 0,001	
	8	70529 ± 183	16 ± 4	5549 ± 27	0,02 ± 0,002			

5. DISCUSSÃO

5.1. Experimento I

Os resultados apresentados neste estudo indicam fotoinibição da fixação de carbono, aliado ao aumento na excreção de $C^{14}OD$ e, em alguns casos fotooxidação da clorofila-a de *A. spiroides*. Por outro lado *M. aeruginosa* quando exposta às maiores irradiâncias, equivalente àquelas encontradas em ambientes naturais, mostrou-se mais resistente.

Ao longo do experimento de 4 horas (“curva de luz”) com *A. spiroides* constatou-se que o aumento das irradiâncias foi acompanhado pelo incremento na fixação de carbono, até o ponto E_K , mantendo-se estável até $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Houve queda significativa na fixação de carbono somente sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, para as duas idades selecionadas. Uma vez que o incremento na fixação de carbono-14 está diretamente relacionado à fotossíntese, é possível concluir que em condições de irradiâncias máximas ocorreu fotoinibição da fixação de carbono pelas células de *A. spiroides* nas duas idades selecionadas.

A influência de altos valores de irradiância sobre o fitoplâncton é amplamente abordada na literatura (Hellebust, 1970; Ignatiades e Fogg, 1973; Nalewajko et al., 1976; Mykkestad, 1995). Estes autores sugerem que irradiâncias elevadas podem causar danos na membrana celular, afetando sua permeabilidade e resultando no aumento da liberação de matéria orgânica. Outros autores como Staats et al., (2000) destacam que o aumento da excreção celular de microalgas pode representar uma maneira do organismo desfazer-se do excesso de carbono na célula. Desta forma, não é possível afirmar que o incremento da excreção celular sob as irradiâncias mais elevadas esteja vinculado a qualquer dano na integridade física da cianobactéria, pois, este critério não seria satisfatório. Holzinger e Lütz

(2006) sugerem análises mais específicas, como o estudo da ultraestrutura das cianobactérias após o período experimental, permitindo a observação tanto de danos como de adaptações que possam resultar da exposição a diferentes níveis de irradiância.

Apesar da concentração de clorofila-a ter declinado juntamente com o aumento da irradiância incidente, isto, por si só, não indica uma resposta fotooxidativa da membrana celular, pois, do contrário, este dano teria causado a queda total na fixação de carbono particulado devido à morte celular. Possivelmente o declínio na concentração de pigmento sob as irradiâncias superiores a $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ esteve relacionado com o processo de adaptação a altas intensidades ou com um pequeno grau de fotobranqueamento e até fotooxidação da clorofila-a de *A. spiroides*.

Em todos os casos não foi observada qualquer influência da idade celular na resposta fisiológica de *A. spiroides* após 4 horas de exposição a irradiâncias superiores ao seu E_K .

A cultura de *M. aeruginosa* com 14 e 28 e 49 dias de cultivo durante o experimento de 4 horas (“curva de luz”) apresentou um incremento na fixação de carbono orgânico até as irradiâncias correspondentes ao seu E_K , tendo sua fixação estabilizada quando exposta à irradiâncias superiores a estas. As diferenças nos pontos E_K , para cada idade, podem representar uma influência da idade celular da cianobactéria em sua resistência a altas intensidades de luz, visto que o E_K da cultura com 49 dias de idade foi bem menor do que àqueles encontrados para a cultura com 14 e 28 dias.

Segundo Dillon et al., (2003), organismos fotossintéticos apresentam respostas fenotípicas a mudanças na irradiância solar, sendo importantes devido à habilidade em captarem radiação fotossinteticamente ativa suficiente para uma fotossíntese eficiente enquanto minimizam a fotoinibição ou os danos resultantes da exposição a esta radiação, o

que parece ter ocorrido, neste estudo, com *M. aeruginosa* que não apresentou sinais de fotoinibição em nenhuma das idades selecionadas. Estes resultados são esperados uma vez que o ambiente do qual o grupo foi isolado é um reservatório tropical exposto a irradiâncias elevadas. Resultados semelhantes foram apresentados por Bittar et al., (2005).

A excreção celular de *M. aeruginosa* teve pouca variação durante o aumento das irradiâncias, apresentando aumento significativo somente sob a irradiância de 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para as culturas com 14 e 28 dias de cultivo. No entanto, a cultura com 49 dias apresentou um aumento significativo na liberação de carbono orgânico dissolvido já em 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, corroborando a hipótese de que culturas mais velhas sofrem maior influência de altas intensidades luminosas. Esta relação entre idade celular e excreção foi abordada por autores como Reynolds (1987), que afirmam que a idade celular causa inabilidade das células, na fase senescente, para regular a flutuação, afetando a liberação de matéria orgânica.

É importante ressaltar que as baixas concentrações de C^{14}OD apresentadas pela cultura de *M. aeruginosa* com 49 dias cultivo sob a irradiância de 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ podem ter ocorrido em função da fotodegradação do $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ excretado (ou fotorespirado) na forma de C^{14}O_2 , o que será abordado mais adiante.

M. aeruginosa exposta a irradiâncias elevadas durante 4 horas apresentou uma queda significativa na concentração de clorofila-a, porém esta não caracterizou fotooxidação, uma vez que não houve fotoinibição na fixação de carbono pela cultura em nenhuma das idades selecionadas. Sendo assim, é sugerido que esta queda na concentração de pigmento seja uma resposta adaptativa da cianobactéria.

5.2. Experimento II

Após 8 horas de incubação da cultura de *A. spiroides* com 12 e 35 dias de idade à irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ não foi observada fotoinibição da fixação de carbono uma vez que estas células foram expostas à irradiância próxima ao seu E_K . No entanto, quando exposta à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ houve uma perda significativa do carbono fotoassimilado pela cianobactéria, indicando que a fotoinibição que ocorre sob irradiâncias elevadas causa também um aumento da liberação de MOD previamente fotoassimilada que, neste caso, foi mais expressiva a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ do que àquela apresentada a $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Não foi observada a influência da idade celular na liberação de matéria orgânica dissolvida, visto que não houve diferença significativa na liberação de C^{14}OD entre as idades.

O aumento na liberação de matéria orgânica dissolvida, apresentado por *A. spiroides* quando exposta às irradiâncias elevadas pode indicar um fator de estresse potencial causado pelo excesso de radiação incidente.

Quando exposta à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ durante 8 horas, a cultura de *A. spiroides* apresentou uma queda significativa na concentração de clorofila-a para as duas idades selecionadas. Porém, somente a cultura com 35 dias de cultivo apresentou fotooxidação do pigmento, indicando influência da idade celular na resposta fisiológica da cianobactéria aliada, provavelmente, ao longo tempo de exposição à alta intensidade luminosa. Este fato pode ser corroborado pela observação de queda significativa na concentração de clorofila-a da cultura com 35 dias a partir de 6 horas de exposição à irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apesar desta aproximar-se de seu E_K ($255 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Ao contrário de *A. spiroides*, *M. aeruginosa* não apresentou perda significativa de carbono fotoassimilado para nenhuma das idades selecionadas, mesmo quando exposta durante 8 horas à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Também não houve incremento na

liberação de matéria orgânica dissolvida sob a irradiância mais elevada, indicando grande resistência desta cianobactéria a altas intensidades luminosas, mesmo quando o período de exposição foi superior a 4 horas.

A ausência de fotoinibição da fixação de $C^{14}OP$ por *M. aeruginosa*, diverge dos resultados apresentados por Whitlam e Codd (1983), a partir de um experimento semelhante, no qual a cianobactéria apresentou fotoinibição a partir da irradiância de $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Contudo, é importante salientar que a cultura estoque utilizada por estes pesquisadores foi mantida sob a irradiância de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ estando, portanto, aclimatada a irradiâncias mais baixas do que a cultura utilizada no presente trabalho além de, provavelmente, ter sido isolada de uma região temperada cuja radiação incidente é menos pronunciada.

Houve perda significativa de clorofila-a pela cultura com 14 e 49 dias, porém esta não indicou fotooxidação do pigmento. A fotooxidação foi considerada somente quando as concentrações de clorofila-a encontrados chegaram a zero. Mesmo sendo estatisticamente significativas, diante das variações de irradiâncias impostas ao experimento, as diferenças na concentração do pigmento entre as irradiâncias selecionadas foram baixas, podendo indicar uma fotoadaptação, na qual os teores de clorofila-a e outros pigmentos como carotenóides apresentam decréscimos (Dillon, et al., 2003).

5.3. Experimento III

Quando incubada no Reservatório de Barra Bonita, *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo apresentou respostas às irradiâncias de 200 e $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ semelhantes àquelas encontradas no experimento realizado em laboratório, demonstrando fotoinibição na fixação de $C^{14}OP$ acompanhada pelo incremento na liberação de $C^{14}OD$, somente quando

exposta à $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Ao comparar os frascos utilizados nas incubações, também não foram constatadas diferenças significativas entre as respostas fisiológicas apresentadas por *A. spiroides*, talvez devido ao fato da espécie estar adaptada ao nível elevados de radiação UV (a qual o frasco de quartzo não bloqueia) desse ambiente de onde foi isolada.

A concentração de clorofila-a apresentou declínio quando *A. spiroides* foi incubada sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para as duas idades selecionadas, independente, neste caso, do frasco utilizado na incubação. Porém, somente a cultura com 35 dias apresentou queda significativa na concentração desse pigmento quando incubada em frasco de quartzo sob a irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apesar desta aproximar-se de seu E_K , indicando que a interferência da idade celular na resposta fisiológica desta cianobactéria à radiação UV pode estar vinculada com a transparência do frasco utilizado durante sua incubação, uma vez que ao ser incubada em frasco de policarbonato (opaco a UV) *A. spiroides* com 35 dias de cultivo não apresentou queda significativa na concentração do pigmento.

Quando incubada durante 8 horas, em ambiente natural a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, *M. aeruginosa* apresentou fotoinibição na fixação de C^{14}OP para a cultura com 14 e 49 dias. Houve interferência da composição do frasco utilizado, uma vez que a cultura incubada em frascos de policarbonato apresentou fotoinibição na 8ª hora de exposição a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, ao passo que a cultura incubada em frasco de quartzo apresentou fotoinibição da fixação de C^{14}OP já na 4ª hora. Quando exposta à $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a cultura nas duas idades selecionadas não apresentou fotoinibição da fixação de C^{14}OP , independente do frasco utilizado.

Os incrementos nas liberações de $C^{14}OD$ por *M. aeruginosa*, nas duas idades selecionadas acompanharam os declínios de $C^{14}OP$ quando esta foi exposta a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, não sendo significativos quando a mesma foi exposta a $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Durante a incubação de *M. aeruginosa* houve interferência da composição dos frascos utilizados, visto que a cultura incubada em frascos de policarbonato sob a irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ apresentou concentrações de $C^{14}OD$, liberado na 8ª hora, superior àquelas apresentadas pela cultura incubada em frascos de quartzo neste mesmo período. Devido à transparência do frasco de quartzo à radiação UV, era esperado que as concentrações de MOD liberadas pela cultura incubada nestes frascos fossem superiores àquelas da cultura incubada em frascos de policarbonato, devido à ação danosa da radiação UV, por exemplo, à membrana celular.

Estas diferenças nas concentrações de $C^{14}OD$ liberado pela cultura de *M. aeruginosa* entre os frascos pode ter ocorrido devido ao processo de fotodegradação (mencionado anteriormente) da matéria orgânica dissolvida sob influência da radiação UV (Achterberg e van den Berg, 1994), que degradaria o radioisótopo $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ em $C^{14}\text{O}_2$, possibilitando sua re-assimilação pela cianobactéria através da fotossíntese, principalmente quando não há indícios de dano celular. No entanto, como não houve incremento na fixação $C^{14}OP$ pela cultura de *M. aeruginosa* na 8ª hora de exposição a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, quando incubada em frascos de quartzo, é possível que o $C^{14}\text{O}_2$, oriundo da fotodegradação ou da fotorespiração, tenha passado a integrar a fração inorgânica do carbono-14 que não foi assimilado, tendo sido eliminado durante o processo de borbulhamento das amostras. Isto explica porque, em alguns casos, o $C^{14}OD$ mensurado não corresponde à perda de $C^{14}OP$.

As concentrações de clorofila-a na cultura com 14 e 49 dias apresentaram queda quando expostas à irradiância de $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, mantendo-se estável sob a

irradiância de $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, independente do frasco utilizado em sua incubação. Nesse caso, ressalta-se que o estresse potencial causado pela exposição de microorganismos a altos níveis de radiação fotossinteticamente ativa e, em particular, à radiação ultravioleta é bem conhecido e extensamente abordado na literatura (Goldman, et al., 1963; Abeliovich e Shilo, 1972; Eloff et al., 1976; Myklestad, 1995; Babu et al., 1998; Dillon et al., 2003; Kumar et al., 2004). Efeitos deletérios da radiação UV são apontados por Franklin e Foster (1997) e Sinhá e Hader (2002). No entanto, no presente trabalho, a cianobactéria *M. aeruginosa* mostrou-se resistente ao maior nível de irradiância, incluindo a faixa UV, ao qual foi submetida mesmo quando a exposição foi prolongada, o que pode ter ocorrido em função da presença de características fotoadaptativas adicionais, descritas por alguns autores como Paerl et al., (1985) e Mac Donald et al., (2003) para diversos grupos de cianobactérias.

Segundo Mac Donald et al., (2003) a resistência de algumas cianobactérias a UVB, por curtos períodos, está relacionada com sua expressão gênica que muda rapidamente, levando ao acúmulo de proteínas e carotenóides que, aparentemente, permitem às células tolerar uma dose de UVB superior à apropriada. Isto poderia explicar, em parte, a resistência apresentada por *M. aeruginosa*, à radiação UV durante 8h, o que talvez não ocorresse se o experimento fosse realizado durante vários dias consecutivos. Por outro lado, espécies de *Anabaena* são mais suscetíveis ao oxigênio reativo (simples) gerado pelo excesso de radiação UVB, estando este envolvido em danos oxidativos, peroxidação de lipídeos, quebra da fita do DNA e branqueamento da clorofila-a (He e Häder, 2002).

A fotorespiração, que reduz a fixação de CO_2 , é incrementada sob condições de altas intensidades de luz e excesso de O_2 , juntamente com baixas concentrações de CO_2 “livre”. Concomitante a este processo, ocorre uma inibição temporária da fixação de N_2 , até mesmo nos heterócitos da cianobactéria *Anabaena*, devido aos altos níveis de oxigênio

dissolvido no ambiente (Tolbert, 1974). Isto explica, em parte, a menor resistência desta cianobactéria às irradiâncias às quais foi exposta, quando comparada àquela apresentada por *M. aeruginosa* sob as mesmas circunstâncias.

Em geral, organismos fotossintéticos respondem à absorção de excesso de luz com uma série de mecanismos fotoprotetores de curto e longo prazo que, por sua vez minimizam os danos (Ivanov et al., 2000). Ben-Amotz et al., (1989) e Elrad et al., (2002) destacam como mecanismo de curto prazo, a ação fotoprotetora dos carotenóides que agem na desintoxicação e limitação da formação do oxigênio simples e até mesmo na proteção direta da membrana celular através da ação da zeaxantina (Vincent e Quesada, 1994; Schagerl e Muller, 2006), um dos diferentes tipos de carotenóides presentes em cianobactérias. A relação entre o aumento na concentração de carotenóides e a fotoproteção de cianobactérias tem sido amplamente citada na literatura (Clayton, 1966; Kellar e Paerl, 1980; Kohl e Nicklisch, 1988; Richter, 1996; Falkowski e Raven, 1997; Franklin et al., 2003; Schagerl e Muller, 2006). Sua ação fotoprotetora está relacionada à habilidade em extinguir o estado de excitação da clorofila-a, gerada por tipos de oxigênio ativos como o oxigênio simples e os radicais hidroxilas (Ben-Amotz et al., 1989). Entretanto, muitas vezes o excesso de radiação leva a fotodestruição da clorofila-a e também dos carotenóides (Krinsky e Denke, 1982; Ridley, 1982; Powles, 1984, Krinsky, 1988).

Sinhá et al., (1998) apontam outros mecanismos fotoprotetores desenvolvidos por cianobactérias expostas a irradiâncias elevadas, incluindo a radiação UV. São eles: o reparo do DNA por fotoreativação; o acúmulo de enzimas antioxidantes e a produção de aminoácidos semelhantes a micosporinas (em inglês MAAs). Os MAAs são substâncias hidrossolúveis encontradas em altas concentrações em organismos expostos a altos níveis de radiação solar, agindo na absorção de UV (Nakamura et al., 1982). Estes compostos

encontram-se relacionados a oligossacarídeos presentes na parede celular e podem ser ativamente excretados acumulando-se extracelularmente e agindo como um protetor (Garcia-Pichel et al., 1993; Garcia-Pichel e Castenholz, 1993). Estas substâncias poderiam explicar o aumento da liberação de $C^{14}OD$ apresentado por *M. aeruginosa* sob as maiores irradiâncias (“curva de luz”, realizada no experimento I), apesar de não ter ocorrido fotoinibição da mesma, e podem também ter agido em *A. spiroides*, sem, no entanto, apresentar uma ação fotoprotetora efetiva.

Os resultados apresentados no presente trabalho indicam que as cianobactérias *A. spiroides* e, principalmente *M. aeruginosa*, cultivadas em laboratório, são tolerantes a irradiâncias superiores ao seu E_k , correspondentes àquelas encontradas em ambiente natural. Porém, segundo Paerl et al., (1985) divergências drásticas podem ser observadas na resposta entre cianobactérias pertencentes a populações naturais e cultivadas dentro da mesma espécie, quando expostas a altos níveis de radiação ultravioleta, tornando importante o estudo de populações naturais em laboratório e campo.

Além disso, populações naturais podem ser repetitivamente expostas a UV, estando sujeitas aos efeitos cumulativos, particularmente em “pools” de proteínas estáveis e abundantes como a RUBISCO ou ficobiliproteínas (Castenholz et al., 2000), podendo aclimatar-se através do desenvolvimento de mudanças em seu conteúdo e/ou na composição do aparato fotossintético (Cunningham et al., 1992).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que em nenhum dos experimentos realizados neste trabalho houve fotooxidação das cianobactérias selecionadas, pôde-se observar que o aumento na excreção de $C^{14}OD$, aparentemente não esteve relacionado com qualquer dano na membrana celular, mas sim com uma possível resposta adaptativa das cianobactérias às irradiâncias elevadas as quais foram submetidas como, por exemplo, a liberação de aminoácidos semelhantes à micosporinas (MAAs) e a liberação do excesso de carbono fotoassimilado que não pode ser re-incorporado sob condições de estresse.

É importante ressaltar a possibilidade de parte do $C^{14}OD$ liberado pelas cianobactérias, quando incubadas em frascos transparentes à radiação UV (Teflon[®] e quartzo), ter sido fotodegradada ou fotorespirada, passando a integrar a fração inorgânica do carbono-14 que não foi assimilado ($C^{14}O_2$ eliminado durante o processo de borbulhamento das amostras) não sendo, portanto, avaliado. Esta ausência de determinação do $C^{14}O_2$ fotorespirado ou fotodegradado impossibilitou a realização de um cálculo estequiométrico, sendo assim, não foi possível confrontar diretamente os dados de perda de $C^{14}OP$ com o aumento de $C^{14}OD$.

A alusão da resistência das cianobactérias selecionadas a irradiâncias elevadas, resulta de uma observação indireta, visto que não foram realizadas análises mais detalhadas da integridade celular (ultraestrutura), síntese protéica, conteúdo enzimático e de outros pigmentos (carotenóides) que, por sua vez, poderiam fornecer dados mais elucidativos acerca da resposta fisiológica destes organismos e possíveis danos estruturais oriundos das condições de estresse às quais foram submetidos. Outra análise importante seria a mensuração da quantidade de toxinas liberadas (no caso das cianobactérias analisadas serem tóxicas), visto que há citações na literatura sobre a interação entre o estresse celular de cianobactérias, como

M. aeruginosa, e a liberação de microcistina (Ross et al., 2006). Além disso, os resultados aqui apresentados referem-se a populações cultivadas, sendo necessários estudos semelhantes com populações naturais, a fim de que se possa compreender, de forma mais ampla, as respostas fisiológicas de *A. spiroides* e *M. aeruginosa* aos altos níveis de irradiância incidente na maioria dos reservatórios tropicais nos quais estas estão presentes. Deve-se considerar, também, as grandes flutuações das condições ambientais e nutricionais que ocorrem na natureza, além das interações ecológicas, por exemplo, a degradação da MOD liberada pelo fitoplâncton por populações de bactérias heterotróficas em sistemas bentônicos (Goto et al., 2001), que acabam sendo excluídas nos estudos realizado sob condições controladas, sejam estes desenvolvidos em laboratório ou no campo (Xu et al., 2001).

Por fim, é importante atentar para as limitações metodológicas encontradas durante a realização de experimentos laboratoriais, buscando alternativas experimentais que visem identificar e compreender de forma mais ampla as respostas fisiológicas de um dado organismo a determinados fatores, extrapolando estas respostas às condições encontradas em ambientes naturais. De qualquer forma, no presente trabalho, estas limitações metodológicas não comprometeram a precisão das análises ou a interpretação dos resultados obtidos.

7. REFERÊNCIAS

- ABELIOVICH, A., KELLENBERG, D., SHILO, M., 1974. Effect of Photooxidative conditions on levels of superoxide dismutase in *Anacystis nidulans*. J. Photochem. Photobiol. 19 (5):379-82.
- ABELIOVICH, A. E SHILO, M., 1972. Photooxidative death in blue-green algae. J. Bacteriol. (111): 682-689.
- ACHTERBERG, E. P.; VAN DEN BERG, C. M. G. 1994. In-line ultraviolet-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. Anal. Chim. Acta 291:213-232.
- ASAMI, S., AKASAWA, T., 1978. Photooxidative damage in photosynthetic activities of *Chromatium vinosum*. Plant Physiol. 62: 981-986.
- BABU, G. S., JOSHI, P. C., VISWANATHAN, P. N. 1998. UVB- Induced Reduction in Biomass and Overall Productivity of Cyanobacteria. Biochem. Biol. Res. Comm. 244: 138-142.
- BAROLI, I., MELIS, A. 1998. Photoinhibitory damage is modulated by the rate of photosynthesis and by the photosystem II light-harvesting chlorophyll antenna size. Planta 205: 288-296.
- BEN-AMOTZ, A., SHAISH, A., AVRON, M., 1989. Mode of Action of the Massively accumulated β -Carotene of *Dunaliella bardawil* in Protecting the alga against Damage by Excess Irradiation. Plant Physiol. 91: 1040-1043.
- BITTAR, T.B., COLOMBO, V., VIEIRA, A.A.H., 2005. Release of carbon by cells of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in culture under Different Irradiances. Acta Limnol. Bra.: 15-26.
- BROOKES, J. D., REGEL, R. H., GANF, G. G., 2003. Changes in the photo-chemistry of *Microcystis aeruginosa* in response to light and mixing. New Phytol. 158: 151-164.
- CALIJURI, M. C. E DOS SANTOS, A.C.A. 1986. Short-term changes in the Barra Bonita reservoir (São Paulo), Brazil): emphasis on the phytoplankton communities. Hydrobiol. 330: 163-175.

- CALIJURI, M. C., DOS SANTOS, A. C. A., JATI, S., 2002. Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, S.P- Brazil). *J. Plan. Reser.* 24(7): 617-634.
- CAMPBELL, D., ERIKSSON, M. J., OQUIST, G., GUSTAFSSON, P., CLARKE, A. K., 1998. The cyanobacterium *Synechococcus* resists UV-B by exchanging photosystem II reaction-center D1 proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 364-369.
- CARMICHAEL, W. W., 1992. Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. A review. *J. Appl. Bacteriol.* (72): 445-459.
- CASTENHOLTZ, R. W., GARCIA-PICHEL, F., 2002. Cyanobacterial responses to UV-radiation. In: Whitton, B. A., Potts, M. (Eds) *The ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and space.* Klu. Academ. Pub. Ams. 591-611.
- CLAYTON, R. K. 1966. Physical process involving chlorophyll *in vivo*. In: Vernon, L. P.; Seely (eds). *Chlorophylls: physical, chemical and biological properties.* Academ. Press Inc. New York.
- CODD, G. A., 1981. Photoinhibition of photosynthesis and photoinactivation of ribulose biphosphate carboxylase in algae and cyanobacteria. In: Smith, H. (ed). *Plants and daylight spectrum.* pp. 315-337. Academ. Press. London.
- CUNNINGHAM, F. X., VONSHAK, A. JR., GANTT, E., 1992. Photoacclimation in the Red Alga *Porphyridium Cruentum*. Changes in Photosynthetic Enzymes, Electron Carriers, and Light-Saturated Rate of Photosynthesis as a Function of Irradiance and Spectral Quality. *Plant Physiol.* 100: 1142-1149.
- DELLAMANO-OLIVEIRA, M. J., 2006. Comunidade fitoplanctônica do reservatório de Barra Bonita e sua relação com a composição e quantidade de polissacarídeos extracelulares e agregados gelatinosos. Tese (Doutorado em Ciências- Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006. 99p.
- DEMMIG, B., BJÖRKMAN, O., 1987 Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171: 171-184.
- DEMMIG-ADAMS, B., WINTER, K., KRÜGER, A., CZYGAN, F-C., 1989. Light Response of CO₂ assimilation, Dissipation of Excess Excitation Energy, and Zeaxanthin Content of Sun and Shade Leaves. *Plant Physiol.* 90: 881-886.

- DEMMIG-ADAMS, B. E ADAMS III, W. W., 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Tren. Plant Sci.* 1 (1) : 21-26.
- DILLON, J. G., MILLER, S. R., CASTENHOLZ, R. W. 2003. UV- Acclimation responses in natural of cyanobacteria (*Calothrix* sp.). *Appl. Environ. Microbiol.*, 5(6): 473-483.
- DISDALE, M. T. E WALSBY, A, E., 1972. The interrelation of cell turgor pressure, gas vaculation, and buoyance in a blue green alga. *J. Exp. Bot.* (23): 561-570.
- ELOFF, J. N., STEINITZ, Y., SHILO, M., 1976. Photooxidation of Cyanobacteria in Natural Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 01 (31): 119-126.
- ELRAD, D., NIYOGI, K. K., GROSSMAN, A. R., 2002. A Major Light-Harvesting Polypeptide of Photosystem II Functions in Thermal Dissipation. *The Plant Cell* 14: 1801-1816.
- FALKOWSKI, P. G., RAVEN, J. A., 1997. *Aquatic photosynthesis*. Abingdon, UK: Blackw. Sci.
- FALLON, R. D., BROCK, T. D., 1979. Decomposition of Blue-Green Algal (Cyanobacterial) Blooms in Lake Mendota, Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 37(5): 820-830.
- FOGG, G.E. 1969. The Leeuwenhoek lecture, 1968: The physiology of an algal nuisance. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 173: 175-189.
- FRANKLIN, L. A. E FOSTER, R. M. 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur. J. Phycol.* 32: 207-232.
- FRANKLIN, L. A., OSMOND, C. B., LARKUM, A. W. 2003. Photoinhibition, UV-B and algal photosynthesis. In: Larkum, A. W., Douglas, S. E., Raven, J. A. (Eds), *Advances in Photosynthesis and Respiration Photosynthesis in Algae*. Kluwer Academ. Pub. Dord. 351-384.
- GARCIA-PICHEL, F. E CASTENHOLZ, R. W. 1993. Occurrence of UV-Absorbing, Mycosporine-Like Compounds among Cyanobacterial Isolates and an Estimate of Their Screening Capacity. *Appl. Environ Microbiol.* 59(1): 163–169.
- GARCIA-PICHEL, F., WINGARD, C. E., AND CASTENHOLZ, R. W. 1993. Evidence Regarding the UV Sunscreen Role of a Mycosporine-Like Compound in the Cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* (59): 170-176.

- GOLDMAN, C. R., MASON, D. T., WOOD, B. J., 1963. Light injury and inhibition in Antarctic freshwater phytoplankton. *Limnol. Ocean.* 8: 313-322.
- GORHAM, P. R., MCLACHLAV, J. R., HAMMER, V. T., KIM, W. K., 1964. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flo-aquae*. *Verh. Int. Ver. Theor Angew Limnol.* 15: 796-804.
- GOTO, N., MITAMURA, O., TERAJ, H., 2001. Biodegradation of photosynthetically produced extracellular organic carbon from intetidal benthic algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 257:73-86.
- GRANT, N. G. E WALSBY, A. E., 1977. The contribution of photosynthate to turgor pressure rise in the planktonic blue green algae *Anabaena flos-aquae*. *J. Exp. Bot.* 28: 409-415.
- GUTSCHICK, V. P., 1978. Energy and nitrogen fixation. *Bio. Sci.* 28: 571-575.
- HARRIS, G. P., 1978. Photosynthesys, productivity and growth: The physiological ecology of phytoplankton. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 10: 1-171.
- HE, Y.Y., HÄDER, D. P., 2002. UV-B-induced formation of reactive oxigen species and oxidative damage of the cyanobacterium *Anabaena* sp.: protective effects of ascorbic acid and N-acetyl-L-cysteine. *J. Photochem. Photobiol.* 66(2): 115-124.
- HELLEBUST, J. A. 1970. Light (plants). In: *Marine Ecology* (Ed. by O. Kinne). Wiley Inter. London. 1 (1): 125-158.
- HOLZINGER, A. E LÜTZ, C. 2006. Algae and UV irradiation: Effects on ultrastructure and related metabolic functions. *Micron.* 37: 190-207.
- IBELINGS, B. W. & L. R. MUR, 1992. Microprofiles of photosynthesis and oxygen concentration in *Microcystis* scums. *FEMS Microbiol. Ecol.* 86: 195–202
- IBELINGS, B. W. 1996. Changes in photosynthesis in response to combined irradiance and temperature stress in cyanobacterial surface waterbloom. *J. Phycol.*, 32: 549-557.
- IGNATIADES L. E FOGG G. E. 1973. Studies on tehe factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve in culture. *J. Mar. Biol. Ass. Unit. King.* 53: 937-956.

- IVANOV, A. G., MISKIEWICZ, E., CLARKE, A. K., GREENBERG, B. M., HUNER, N. P. A., 2000. Protection of photosystem II against UV-A and UV-B radiation in the cyanobacterium *Plectonema boryanum*: the role of growth temperature and growth irradiance. J. Photochem. Photobiol. 72: 772-779.
- JOCHIMSEN, E.M., CARMICHAEL, W.W., AN, J., DENISE, M.C., COOKSON, S.T., HOLMES, .E.M., ANTUNES, M.B.C., MELO, F.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 hemodialysis center in Brazil. N. Engl. Med. 338 (13): 873-878.
- KARENTZ, D., CLEAVER, J. E., MICHELL, D. L., 1991. DNA damage in the Antarctic. Nature 350: 28.
- KELLAR, P. E., PAERL, H. W., 1980. Physiological Adaptations in Response to Environmental Stress During an N₂-Fixing *Anabaena* Bloom. Appl. Environ. Microbiol. 40 (3): 587-595.
- KLEMER, A.R., J.J. CULLEN, M.T. MAGEAU, K.M. HANSON AND R.A. SUNDELL, 1996. Cyanobacterial buoyancy regulation: The paradoxical roles of carbon. J. Phycol. 32: 47-55.
- KOHL, J-G., NICKLISCH, A., 1988. Ökophysiologie der algen. Berlin Akadem. Ver.
- KRAUSE, G. H., BEHREND, U., 1986. ΔpH-dependent chlorophyll fluorescence quenching indicating a mechanism of protection against photoinhibition of chloroplasts. FEBS Lett. 200: 298-302.
- KRINSKY, N. I., 1988. Mechanisms of inactivation of oxygen species by carotenoids. In: Nygaard, O. (Eds). Anticarcinogenesis and radiation protection. Plenum Press, New York, pp 41-46.
- KRINSKY, N. I., DENKE, S. M., 1982. Interaction of oxygen and oxyradicals with carotenoids. JNCL 69: 205-210.
- KUMAR A., TYAGI M. B., JHA P. N. 2004. Evidences showing ultraviolet-B radiation-induced damage of DNA in cyanobacteria and its detection by PCR assay. Biochem. Biophys. Res. Comm., 318: 1025-1030.

- LINDELL, M. J., GRANALI, H. W., TRANVIK, L. J., 1996. Effects of sunlight on bacterial growth in lakes of different humic content. *Aqua. Microbiol. Ecol.* 11: 135-14.
- MAC DONALD, T., DUBOIS, L., SMITH, C., CAMPBELL, A. 2003. Sensitivity of Cyanobacterial Antenna, Reaction Center and CO₂ Assimilation Transcripts and Proteins to Moderate UVB: Light Acclimation Potentiates Resistance to UVB. *J. Photochem. Photobiol.* 77(4): 405-412.
- MELKOZERNOV, A. N., BARBER, J., BLANKENSHIP, R. E., 2006. Light Harvesting in Photosystem I Supercomplexes. *Biochem.* 45(2): 331-345.
- MORRIS, D. P., ZAGARESE, H. E., WILLIAMSON, C. E., BALSEIRO, E. G., HARGREAVS, B. R., MODENUTTI, B., MOELLER, R., QUEIMALIÑOS, C., 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol. Ocean.* 40: 1381-1391.
- MYKLESTAD, S. M., 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Sci. Tot. Environ.* 165: 155-164.
- NAKAMURA, H., KOBAYASHI, J., HIRATA, Y. 1982. Separation of mycosporine-like amino acids in marine organisms using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chrom.* 250: 113–118.
- NALEWAJKO, C., DUNSTALL, T. G., SHEAR, H. 1976. Kinetics Of Extracellular Release In Axenic Algae And In Mixed Algal-Bacterial Cultures: Significance In Estimation Of Total (Gross) Phytoplankton Excretion Rates. *J. Phycol.* 12 (1): 1-5.
- NIYOGI, K. K., 1999. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Ann. Ver. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 333-359.
- OSMOND, C. B., 1981. Photorespiration and photoinhibition. Some implications for the energetic of photosynthesis. *Biochem. Biophys. Acta.* 639: 77-98.
- OSMOND, C. B., RAMUS, J., LEVAVASSEUR, G., FRANKLIN, L. A., HENLEY, W. J., 1993. Fluorescence quenching during photosynthesis and photoinhibition of *Ulva rotundata* Blid. *Planta* 190: 97-106.

- OXBOROUGH, K., HORTON, P., 1987. Characterization of the effects of antimycin A upon high energy state quenching of chlorophyll fluorescence (q_E) in spinach and pea chloroplasts. *Phot. Res.* 12: 119-128.
- PAERL, H. W., 1983. Partitioning of CO₂ fixation in the colonial cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*: mechanism promoting formation of surface scums. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 252-259.
- PAERL, H. W., BLAND, P. T., BOWLES, W. D., HAIBACH, M. E. 1985. Adaptation to High-Intensity, Low-Wavelength Light among Surface Blooms of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 1046-1052.
- PORANKIEWICZ, J., SCHELIN, J., CLARKE, A. K., 1998. The ATP-dependent CLp protease is essential for acclimation to UV-B and low temperature in the cyanobacterium *Synechococcus*. *Mol. Microbiol.* 29: 275-283.
- POWLES, S. B., CHAPMAN, K. S. R., OSMOND, C. B., 1980. Photoinhibition of intact attached leaves of C₄ plants: Dependence on CO₂ e O₂ partial pressures. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 737-747.
- POWLES, S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 35: 15-44.
- RABOUILLE, S., THÉBAULT, J-M, SALENÇON, M-J., 2003. Simulation of carbon reserve dynamics in *Microcystis* and its influence on vertical migration with Yoyo model. *C. R. Biol.* 326: 349-361.
- RECHE, I., PACE, M. L., COLE, J. J., 1999. Relationship of trophic and chemical conditions to photobleaching of dissolved organic matter in lake ecosystems. *Biochem.* 44: 259-280.
- REYNOLDS, C. S. 1987. Cyanobacteria waterbloom. In: Callow, J. A. (ed) *Advances in botanical research.* Academ. Press, London, 13: 67-143.
- RICHTER, G., 1996. *Biochemie der Pflanzen.* Stuttgart, New York: Georg Thie. Ver.
- RIDLEY, S. M., 1982. Carotenoids and herbicide action. In: Britton, G., Goodwin, T. W. (Eds), *Carotenoids Chemistry and Biochemistry.* Perg. Press Oxford. 353-369.

- ROSS, C., SANTIAGO-VÁZQUEZ, L., PAUL, V., 2006. Toxin release in response to oxidative stress and programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aqua. Toxicol.* 78: 66-73.
- SCHAGERL, M., MULLER, B., 2006. Acclimation of chlorophyll α and carotenoid levels to different irradiances in four freshwater cyanobacteria. *J. Plant Physiol.* 163: 709-716.
- SCULLY, N. M., LEAN, D. R. S., 1994. The attenuation of ultraviolet radiation in temperate lakes. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 43: 135-144.
- SINHÁ, R. P. E HADER, D. P. 2002. Life under solar UV radiation in aquatic organisms. *Adv. Space Res.* 30: 1547-1556.
- SINHÁ, R. P. E HÄDER, D. P., 1998. Effects of ultraviolet-B radiation in three rice field cyanobacteria. *J. Plant Physiol.* 153: 763-769.
- SINHÁ, R. P., HÄDER, D. P., 1996. Photobiology and ecophysiology of rice field cyanobacteria. *J. Photochem. Photobiol.* 64: 887-896.
- SINHÁ, R. P., KLISCH, M., GRÖNIGER, A., HADER, D. -P. 1998. Ultraviolet-absorbing/screening substances in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 47: 83-94.
- SOTERO-SANTOS, R. B., SILVA, C. R. S. E., VERANI, N. F., NONAKA, K. O., ROCHA, O., 2006. Toxicity of a cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (Middle Tietê River, São Paulo, Brazil). *Ecotox. Environ. Saf.* 64: 163-170.
- STAATS, N., STAL, L. J., DE WINDER, B., MUR, L. R. 2000. Oxygen photosynthesis as driving process in exopolysaccharide production of benthic diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 193: 261-269.
- STEELE, J. H. 1962. Environmental Control of Photosynthesis in the Sea. *Limnol. Ocean.* 7 (2): 137-150.
- STEEMANN-NIELSEN, E., 1952. The use of radio-active carbon (C^{14}) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 18: 117-140.
- STEWART, W. D. P. E PEARSON, H. W., 1970. Effects of aerobic and anaerobic conditions on growth and metabolism of blue-green algae. *Proc. R. Soc. London Ser. B.* 175: 293-311.

- TAKAHASHI, M., SHIMURA, S., YAMAGUCHI, Y., FUJITA, Y., 1971. Photo-inhibition of phytoplankton photosynthesis as a function of exposure time. *J. Ocean. Soc. Japan.* 27: 43-50.
- TALLING, J. F. 1957. The phytoplankton population as a compound photosynthetic system. *New. Phytol.*, 56: 133-149.
- TALLING, J.F. E DRIVER, D. 1963 – Some problems in the estimation of chlorophyll-a in phytoplankton. *Proc. Conference on Productivity Measurements, Marine and Fresh Waters; Held. Univ. Have 1961. U.S. Atom. En. Comm. TID- 7633* 142-146.
- TEIXEIRA, C, 1973. Introdução aos métodos para medir produção primária do fitoplâncton marinho. *B. Inst. Ocean. USP*, 22: 59-92.
- TOLBERT, N. 1974. Photorespiration, p. 474-504. In: Stewart, W. D. P. (ed), *Algal physiology and biochemistry*. B. Sci. Pub. Oxford.
- VIEIRA, A. A. H. E AIDAR-ARAGÃO, E. 1983. O emprego de cintilação líquida no estudo da excreção de matéria orgânica dissolvida pelo fitoplâncton. *Bolm. Inst. Ocean. S. Paulo*, 31(1): 39-53.
- VIEIRA, A. A. H., COLOMBO, V., ROCHA, O. 2002. Release of extracellular carbohydrates by *Peridinium willei* (Dinophyceae) under different irradiances. *Hoehnea*, 29: 241-247.
- VINCENT, W. F., QUESADA, A. Ultraviolet radiation effects on cyanobacteria: implications for Antarctic microbial ecosystems, In: Weiler, C. S., Penhale, P. A., (Eds). 1994. *Ultraviolet Radiation in Antarctica: Measurements and Biological Effects*. Ant. Res. Ser., Amer. Geo. Union. Washington, DC. 62: 111-124.
- WALLACE, B. B, BAILEY M. C., HAMILTON, D. P., 2000. Simulation of vertical position of buoyancy regulating *Microcystis aeruginosa* in a shallow eutrophic lake. *Biom. Life Sci. Ear. Environ. Sci.* 62 (4): 320-333.
- WALSBY, A. E. 1972. Structure and function of gas vacuoles. *Bacteriol Rev.* 36 (1): 1-32.
- WALSBY, A. E. 1994. Gás vesicles. *Microbiol. Rev.* 58: 94-144.
- WALSH, K., JONES, G. J., DUNSTANT, R. H., 1997. Effect of Irradiances on Fatty Acid, Carotenoid, Total Protein Composition and Growth of *Microcystis aeruginosa*. *Phytochem.* 44 (5): 817-824.

- WEISS, E., BERRY, J. A., 1987. Quantum efficiency of photosystem II in relation to energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 894: 198-208.
- WHITELAM, G. C., CODD, G. A., 1983. Photoinhibition of photosynthesis in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Planta* 157: 561-566.
- WIEDNER, C. VISSER, P. M., FASTNER, J., METCALF, J. S., CODD, G. A., MUR, L. R. 2003 Effects of the Microcystin Content of *Microcystis* Strain PCC 7806. *69(3)*: 1475-1481.
- XU, W, TANG, H., WANG, Y., CHITNIS, P.R., 2001. Proteins of the cyanobacterial photosystem I. *Biochem. Biophys. Acta* 1507: 32-40.
- ZAGARESE, H. E., DIAZ, M., PEDROZO, F., FERRARO, M., CRAVERO, W., TARTAROTTI, B., 2001. Photodegradation of natural organic matter exposed to fluctuating levels of solar radiation. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 61: 35-45.

APÊNDICE

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento I com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo exposta a diferentes irradiâncias, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento I								
Idade (dia)	12				35			
Coeficiente	C ¹⁴ OT	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OT	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.73	0.74	0.60	0.75	0.75	0.74	0.60	0.72
P1	195261050 ± 63081126	175330634 ± 57296730	13472449 ± 118810	-----	182835231 ± 56025269	169752151 ± 55215806	13476406 ± 4121659	-----
P2	334 ± 96	312 ± 93	423 ± 106	-----	312 ± 88	306 ± 92	423 ± 106	-----
a	-----	-----	-----	0.447 ± 0.0515	-----	-----	-----	0.377 ± 0.042
b	-----	-----	-----	0.999 ± 0	-----	-----	-----	0.999 ± 0

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento II com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo exposta a 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento II												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	200						2000					
	12			35			12			35		
Idade (dia)												
Coeficiente	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.59	0.75	0.11	0.84	0.72	0.73	0.96	0.97	0.86	0.87	0.93	0.94
a	108157	2367	0.0997	105517	3110	0.952	110480	8.405	0.122	103303	4112	0.961
	± 1418	± 1068	± 0.0128	± 1458	± 459	± 0.038	± 2355	± 23	± 0.015	± 3261	± 1620	± 0.029
b	0.994	1.207	0.982	0.988	1.069	0.975	0.957	2.985	0.854	0.969	1.285	0.952
	± 0.003	± 0.080	± 0.027	± 0.003	± 0.028	± 0.009	± 0.005	± 1.024	± 0.037	± 0.007	± 0.071	± 0.007

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento III com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo exposta a 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento III												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	200											
Frasco	Policarbonato						Quartzo					
Idade (dia)	12			35			12			35		
Coeficiente	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.77	0.81	0.97	0.84	0.72	0.73	0.9	0.84	0.80	0.87	0.67	0.95
a	112545	2251	0.867	105517	3110	0.952	114809	1874	0.906	104666	2889	0.941
	± 3429	± 486	± 0.005	± 1458	± 459	± 0.038	± 1821	± 329	± 0.021	± 1790	± 352	± 0.025
b	0.979	1.117	0.989	0.988	1.069	0.975	0.983	1.11	0.983	0.983	1.052	0.957
	± 0.006	± 0.039	± 0.001	± 0.003	± 0.028	± 0.009	± 0.003	± 0.032	± 0.005	± 0.004	± 0.023	± 0.006

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento III com *A. spiroides* com 12 e 35 dias de cultivo exposta a 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento III												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	2000											
	Policarbonato						Quartzo					
Frasco	12			35			12			35		
Idade (dia)	12			35			12			35		
Coeficiente	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.93	0.88	0.97	0.87	0.93	0.94	0.98	0.97	0.94	0.89	0.92	0.89
a	11316	3855	0.853	103303	4112	0.961	119316	1643	0.904	110595	2943	0.928
	± 3253	± 1802	± 0.01	± 3261	± 1620	± 0.029	± 2166	± 531	± 0.027	± 4882	± 1499	± 0.061
b	0.959	1.262	0.974	0.969	1.285	0.952	0.95	1.362	0.955	0.95	1.34	0.924
	± 0.006	± 0.084	± 0.002	± 0.007	± 0.071	± 0.007	± 0.004	± 0.06	± 0.007	± 0.01	± 0.094	± 0.016

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento I com *M.aeruginosa* com 14, 28 e 49 dias de cultivo exposta a diferentes irradiâncias, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento I												
Idade (dia)	14				28				49			
Coeficiente	C ¹⁴ OT	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OT	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OT	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	1	0.99	0.98	0.75	0.99	0.99	0.34	0.7	0.99	0.97	0.95	0.86
P1	66553 ± 1159	55218 ± 1615	11324 ± 482	-----	92531 ± 3091	84697 ± 2696	4783 ± 1111	-----	92531 ± 3091	79086 ± 3810	20658 ± 1910	-----
P2	12.340 ± 2.933	13.523 ± 5.04752	6.703 ± 6.35	-----	41 ± 9	41 ± 8.583	1 ± 0	-----	41 ± 9	18 ± 9.137	129.01 5 ± 50.477	-----
a	-----	-----	-----	0.136 ± 0.016	-----	-----	-----	0.216 ± 0.01	-----	-----	-----	0.163 ± 0.01
b	-----	-----	-----	0.999 ± 0	-----	-----	-----	1 ± 0	-----	-----	-----	0.999 ± 0

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento II com *M.aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo exposta a 200 e 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento II												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	200						2000					
	14			49			14			49		
Idade (dia)	14			49			14			49		
Coeficiente	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.90	0.93	0.87	0.81	0.88	0.51	0.74	0.92	0.88	0.93	0.89	0.80
a	112072	596	0.06 ± 0	152504	623	0.093	114156	1008	0.062	156609	623	0.099
	± 319	± 113		± 1469	± 167	± 0.004	± 3462	± 190	± 0.003	± 2044	± 167	± 0.003
b	0.997	1.166	0.992	0.993	1.176	1.017	0.981	1.159	0.954	0.983	1.176	0.975
	± 0.001	± 0.034	± 0.002	± 0.002	± 0.048	± 0.009	± 0.006	± 0.034	± 0.01	± 0.003	± 0.048	± 0.007

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento III com *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo exposta a 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento III												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	200											
	Policarbonato						Quartzo					
Frasco	14			49			14			49		
Idade (dia)	14			49			14			49		
Coeficiente	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
R²	0.83	0.85	0.67	0.1	0.98	0.94	0.96	0.74	0.95	0.60	0.2	0.89
a	106944 ± 2017	931 ± 520	0.06 ± 0.001	86416 ± 1102	1094 ± 64	0.051 ± 0	103535 ± 1538	2191 ± 79	0.06 ± 0	87667 ± 1728	8 ± 7	0.05 ± 0.001
b	0.985 ± 0.004	1.313 ± 0.102	0.994 ± 0.002	0.998 ± 0.003	1.126 ± 0.01	0.986 ± 0.002	0.972 ± 0.003	1.02 ± 0.007	0.992 ± 0.001	0.991 ± 0.004	1.136 ± 0.1544	0.982 ± 0.004

Valores (com erro padrão) dos coeficientes obtidos no experimento III com *M. aeruginosa* com 14 e 49 dias de cultivo exposta a 2000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, após aplicação de modelagem matemática.

Experimento III												
Irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	2000											
	Policarbonato						Quartzo					
Frasco	14			49			14			49		
Idade (dia)	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila	C ¹⁴ OP	C ¹⁴ OD	Clorofila
Coeficiente												
R ²	0.94	0.90	0.96	0.74	0.97	0.98	0.95	0.98	0.99	0.99	0.95	0.93
a	103985	3273	0.0525	88351	486	0.052	106404	1927	0.059	89085	685	0.052
	± 2503	± 673	± 0.001	± 2541	± 168	± 0.001	± 3295	± 201	± 0.001	± 569	± 193	± 0.003
b	0.962	1.159	0.947	0.982	1.421	0.936 ±	0.946	1.193	0.906	0.97	1.292	0.903
	± 0.005	± 0.037	± 0.006	± 0.006	± 0.066	0	± 0.007	± 0.018	± 0.004	± 0.001	± 0.051	± 0.016