



VI-055 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DE MICROCISTINAS SOBRE AS COMUNIDADES DE PROTOZOÁRIOS NA REPRESA DE BARRA BONITA, RIO TIETÊ - SP

Laryssa Melo Rosa Araujo⁽¹⁾

Licenciada em Ciências Biológicas pela Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Feis –Unesp (2006). Mestranda em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos.

Alessandro Minillo⁽²⁾

Oceanógrafo e Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica pela Universidade do Rio Grande (2000). Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental pela Universidade de São Paulo - Escola de Engenharia de São Carlos (2005). Atualmente é pesquisador associado da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, onde desenvolve projeto de pesquisa como Jovem Pesquisador FAPESP.

Mirna Helena Regali Selegim⁽³⁾

Bacharel e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Carlos (1988), mestrado em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos (1992) e doutorado em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos (2001). Atualmente é professor adjunto da Universidade Federal de São Carlos e pesquisador da Universidade de São Paulo.

Endereço⁽¹⁾: Rua Dona Alexandrina, 2505 – Vila Costa do Sol – São Carlos – SP – CEP: 13566-290 - Brasil - Tel: (16) 3361-8173 - e-mail: laryssa_mra@hotmail.com

Endereço⁽²⁾: Alameda Bahia, 550, Centro – Ilha Solteira - SP - CEP: 15385-000 - Brasil - Tel: (18) 3743 1137 / 1261 - e-mail: alminillo@yahoo.com.br

RESUMO

Diante das diversas ocorrências de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas e das possíveis alterações causadas na rede trófica devido a sua presença, o presente estudo analisou, durante o período de um ano, a comunidade protozooplânctônica em um reservatório eutrófico que apresenta freqüentes florações dessas algas no intuito de verificar alterações nessas comunidades ligadas a esses eventos. As espécies *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* foram às espécies dominantes do ambiente durante os eventos de florações de cianobactérias. Quanto ao número de táxons e as densidades de protozoários encontradas, eles foram inferiores aos relatados em outros estudos realizados em ambientes com semelhante grau de trofia. Além disso, os resultados indicaram que tanto a densidade, como a diversidade e riqueza dos protozoários parecem ser afetadas negativamente pelas florações de cianobactérias e cianotoxinas (microcistinas) detectadas nas amostras analisadas.

PALAVRAS-CHAVE: Cianobactérias, Cianotoxinas, Reservatório, Eutrofização, Protozoários.

INTRODUÇÃO

Em decorrência das atividades antrópicas, os ecossistemas aquáticos têm alterado seu grau de trofia, passando da condição de oligo e mesotróficos para eutróficos ou mesmo hipereutróficos. A presença de freqüentes florescimentos de algas, em especial de cianobactérias constitui um cenário notório de eutrofização dos ambientes aquáticos. As cianobactérias exibem uma ampla versatilidade fisiológica e tolerância ecológica que contribuem para o seu sucesso competitivo e ocupação em diferentes ecossistemas aquáticos (Dokulil & Teubner, 2000). Este fato assume crescente relevância uma vez que estudos têm demonstrado, cada vez mais, o potencial tóxico de muitas espécies de cianobactérias para seres humanos (Carmichael *et al.*, 2001).

No Brasil, Sant'Anna e Azevedo (2000) reportam cerca de 20 espécies de 14 gêneros de cianobactérias potencialmente tóxicas, porém, em várias regiões brasileiras os dados continuam subestimados devido a escassez de estudos. Além disso, diversos registros de florações de cianobactérias têm ocorrido no país, sendo que uma expressiva parcela destes (>50%) tem indicado potencial tóxico (Costa & Azevedo, 1994).

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



água produzidos por cianobactérias dos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc* e *Oscillatoria*, que podem apresentar um grande número de variantes estruturais conhecidos (Sivonen *et al.*, 1992).

O conhecimento sobre as implicações ecológicas das microcistinas para a cadeia alimentar aquática é em parte especulativas, dada à gama de efeitos sub-letais que esses compostos podem estar promovendo (Christoffersen, 1996a), bem como a real capacidade de bioacumulação das cianotoxinas em diferentes níveis tróficos (Ibelings *et al.*, 2005). Embora a probabilidade de difusão passiva de microcistinas no interior da biota seja limitada, especialmente em sistemas bem tamponados (De Maagd *et al.*, 1999), o relativo impacto de exposição as cianotoxinas dissolvidas em comparação com a ingestão de células de cianobactérias tóxicas intactas sobre comunidades naturais de protozoários não foi diretamente quantificado (Zurawell *et al.*, 2005).

Os protozoários e organismos macrozooplânctônicos são importantes elos da cadeia alimentar aquática. Atualmente, vários trabalhos incluindo protozoários nos estudos do plâncton têm sido registrados na literatura, porém, poucos têm incluído estes microinvertebrados em um contexto quantitativo durante eventos de florações de cianobactérias (Christoffersen *et al.*, 2002). Protozoários flagelados e ciliados foram observados se alimentando de formas unicelulares e filamentosas de cianobactérias (Saito *et al.*, 2003), embora algumas espécies apresentem uma preferência alimentar sobre bactérias, quando existe a possibilidade de escolha (Caron *et al.*, 1991). Um estudo realizado por Christoffersen (1996b) verificou reduções no número e na taxa de crescimento de nanoflagelados heterotróficos durante florações tóxicas de *Microcystis* em um lago eutrófico na Dinamarca o que demonstra uma possível relação de sensibilidade dos elos da cadeia trófica aquática aos florescimentos de cianobactérias presentes no ambiente.

Devido à escassez de estudos envolvendo organismos da base da cadeia trófica e o potencial nocivo das toxinas das cianobactérias, o presente estudo avaliou o possível efeito de florescimentos de cianobactérias e suas cianotoxinas (microcistinas) sobre a comunidade de protozoários e um reservatório eutrófico na região sub-tropical do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local de estudo

O estudo foi realizado no reservatório de Barra Bonita (22° 29' S e 48° 34' W) localizado no rio Tietê. Este reservatório encontra-se a 290 km da capital do Estado de São Paulo, e recebe elevadas cargas de efluentes domésticos, industriais e agrícolas da região que percorre. O reservatório em estudo apresenta-se como um ambiente eutrófico, em que contínuos florescimentos de cianobactérias são registrados frequentemente nas últimas décadas (Barbosa *et al.*, 1999). Suas principais características são: área alagada de 310 Km², profundidade média de 10,1 m, volume total de 3.135 m³ x 10⁶, tempo de residência de 37 a 137 dias, vazão média anual de 402 m³/s (CETESB, 2001; Barbosa *et al.*, 1999).

Coleta das amostras e análises

Durante o período de julho/2007 a junho/2008 foram realizadas 5 coletas com periodicidade distinta, em um ponto central à montante do reservatório. Amostras de água (5L) foram coletadas a 0,5 m da superfície com auxílio de garrafa de Van Dorn, das quais foram separadas alíquotas para as análises de clorofila-a, cianotoxinas, composição do fitoplâncton e do protozooplâncton.

Foram calculados os índices de diversidade de Shannon-Wiener (H') (Ricklefs, 2003) das comunidades protozooplânctônicas, a partir das frequências relativas dos morfotipos encontrados em cada amostra analisada.

A clorofila-a foi determinada segundo o método espectrofotométrico de Marker *et al.* (1980), e para o seu cálculo foi utilizada a equação de Lorenzen (1967).

Para a análise qualitativa do fitoplâncton e protozooplâncton, foram coletadas amostras d'água de superfície por meio de arrastos horizontais utilizando rede de plâncton (20 µm abertura de malha). As amostras (200 mL) fitoplânctônicas foram fixadas (solução de formol 4%) assim como as protozooplânctônicas (solução saturada de cloreto de mercúrio). As amostras foram identificadas com o auxílio de lâmina e lâminula no caso do fitoplâncton e com lâmina para o protozooplâncton em microscópio óptico binocular Leica.



A análise quantitativa da comunidade fitoplanctônica foi realizada em microscópio invertido Olympus. Foram utilizadas amostras (200 mL) fixadas no campo com solução de lugol (0,5%) previamente sedimentadas em câmara de Utermöhl de 15 mL (Utermöhl, 1958). Os indivíduos foram enumerados em campos aleatórios, sendo os resultados expressos em densidade (org/mL) e calculados de acordo com a fórmula descrita por Ros (1979).

Para a quantificação de células de cianobactérias, sub-amostras foram retiradas e fixadas com lugol foram submetidas à digestão à quente com solução de hidróxido de sódio (NaOH – 1,0 M), conforme o proposto por Reynolds e Jaworski (1978) e Box (1981), e modificados em laboratório. Após a digestão foram realizadas três contagens de células em Hemacitômetro de Neubauer, sendo os valores médios das contagens expresso em células/mL.

Para análise quantitativa de protozoários fixados no campo, o material foi corado com azul de bromofenol segundo Pace e Orcutt (1981). Em laboratório, as amostras fixadas e coradas foram mantidas em 24 horas para a sedimentação do material particulado segundo Margalef (1969). Por ocasião das análises, o sobrenadante de cada frasco foi descartado e o material precipitado contado em câmaras de Sedgwick-Rafter (1 mL), após ser homogeneizado manualmente. As contagens foram realizadas em microscópio ótico e a densidade de protozoários foi expressa em org/mL.

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

Quantificação da hepatotoxina microcistina

Para a quantificação da concentração de cianotoxinas (microcistinas) intra e extracelulares presentes na água, sub-amostras (500 mL) de cada coleta foram filtradas em filtros tipo GF/C (0,45 µm). A microcistina intracelular foi quantificada da biomassa de células retidas no filtro, enquanto a microcistina extracelular foi determinada a partir da água filtrada.

Para a quantificação de microcistina foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE), (Shimadzu), equipado com detector "Photodiode Array" (SPD-M20A), munido com duas bombas de alta pressão (LC-20AT e LC 20AD), em coluna de fase reversa C-18 (modelo Shim-pack) com 4,6 x 150 mm e diâmetro de partícula de 5 µm segundo Meriluoto e Spoof (2005). Foi utilizado um fluxo de 1 mL min⁻¹, com tempo de corrida cromatográfica de 12 minutos para cada amostra analisada em triplicatas. A microcistina foi identificada por seu tempo de retenção e características do espectro UV com um comprimento de onda de 238 nm, juntamente com auxílio de um padrão comercial externo de calibração.

Análises Estatísticas

Os resultados obtidos durante esse estudo foram armazenados em planilhas eletrônicas dos programas Excel (Windows XP) e *Origin* (versão 6.0). O coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis analisadas foi calculado utilizando o programa BioEstat 5.0 (Ayres et al., 2007).

RESULTADOS

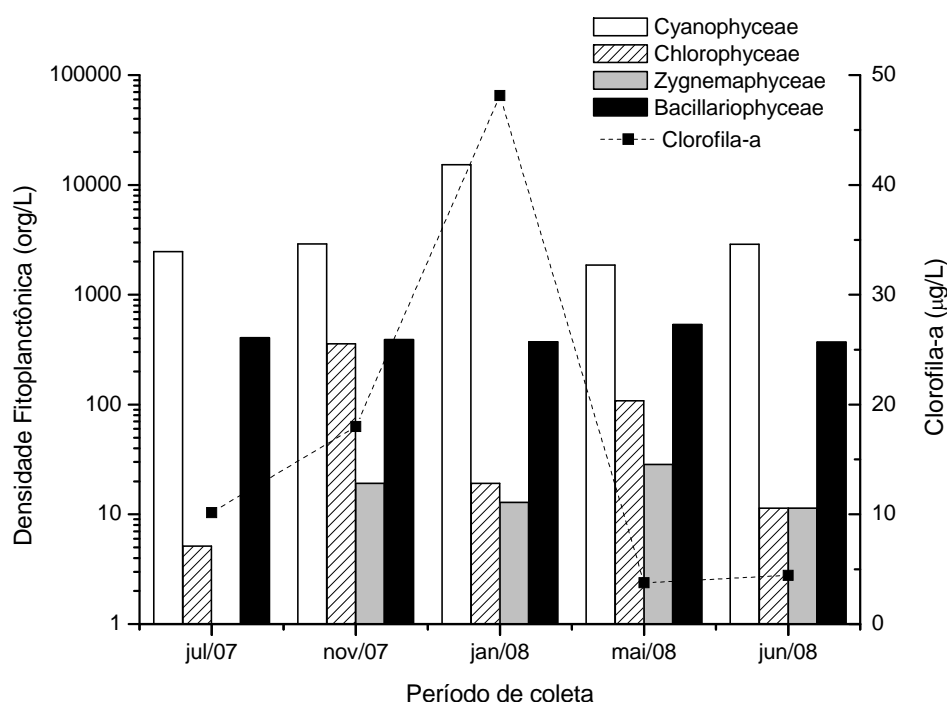
Fitoplâncton

A composição do fitoplâncton durante o período de estudo foi representada por 33 táxons, pertencentes a quatro classes: Cyanophyceae, Chlorophyceae, Zygnemaphyceae e Bacillariophyceae (Figura 1).

De modo geral a classe Cyanophyceae predominou com maiores densidades em todas as coletas. Sua maior densidade ocorreu em janeiro/08, quando houve um florescimento apresentando densidade de 15.346 org/L e altas concentrações de clorofila-a (48,14 µg/L). A menor densidade foi registrada em maio/08 com 1.863 org/L, período em que o apresentou um valor de clorofila-a de 3,77 µg/L (Figura 1).

Os florescimentos durante o período de estudo foram representados por uma composição mista de cianobactérias, com a dominância do gênero *Microcystis*. As densidades das espécies de cianobactérias registradas no período de estudo podem ser observadas na figura 2. Na figura podemos observar que as maiores densidades de células de *Microcystis* sp apresentaram valores entre 1237 a 13622 org/L, seguido por *Microcystis aeruginosa* com densidades entre 34 a 487 org/L.

Figura 1. Valores de clorofila-a e densidades das classes fitoplanctônicas presentes no reservatório de Barra Bonita durante o período de estudo.



A análise da quantificação de células de cianobactérias revelou valores variando entre 182.083 e 9.583 cél/mL de cianobactérias durante as coletas realizadas, com destaque para o mês de janeiro/08 com a maior densidade registrada (Figura 3).

A maior concentração de microcistina extracelular (256 µg/L) foi verificada na coleta de julho/07, período este que a densidade de cianobactérias foi de 140.000 cél/mL. Nesta coleta foi verificado o menor valor para microcistina intracelular, cuja concentração foi de 48 µg/L (Figura 3).

Nas coletas de novembro/07, maio/08 e junho/08 foram quantificadas as menores concentrações de cianotoxinas dissolvidas, como 55, 25 e 25 µg/L respectivamente. Neste período as concentrações de microcistina intracelular foram: 92, 99 e 40 µg/L respectivamente (Figura 3).

Foi encontrada uma baixa correlação entre a densidade de células de cianobactérias e a concentração de microcistina intracelular ($r = 0,3$ e $p = 0,624$). Porém houve uma correlação ($r = 0,9$ e $p = 0,037$) entre a densidade de células de cianobactérias e a concentração de microcistina extracelular.



Figura 2. Densidade de cianobactérias (org/L) quantificados no reservatório de Barra Bonita durante o período de estudo.

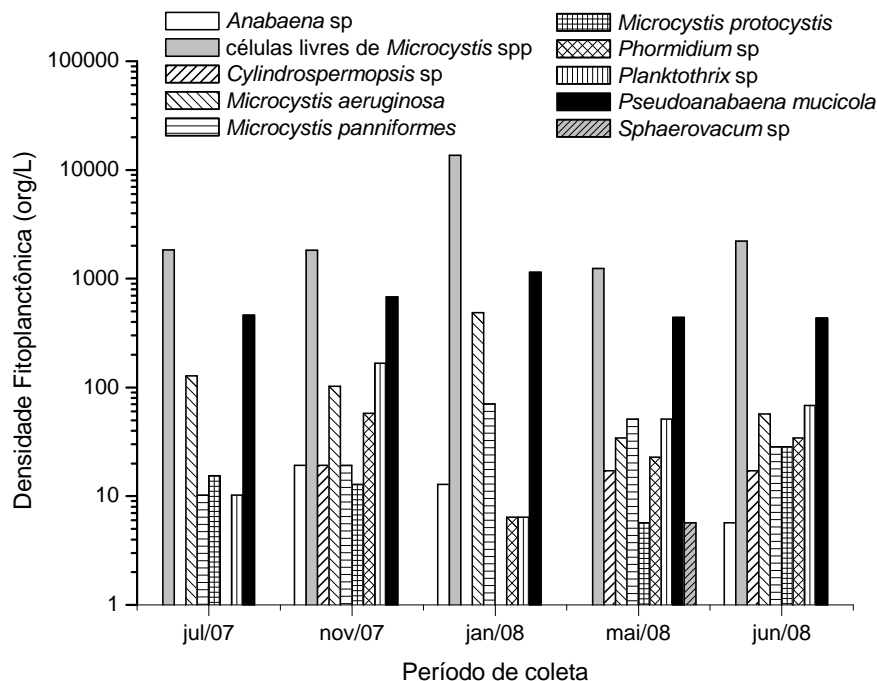
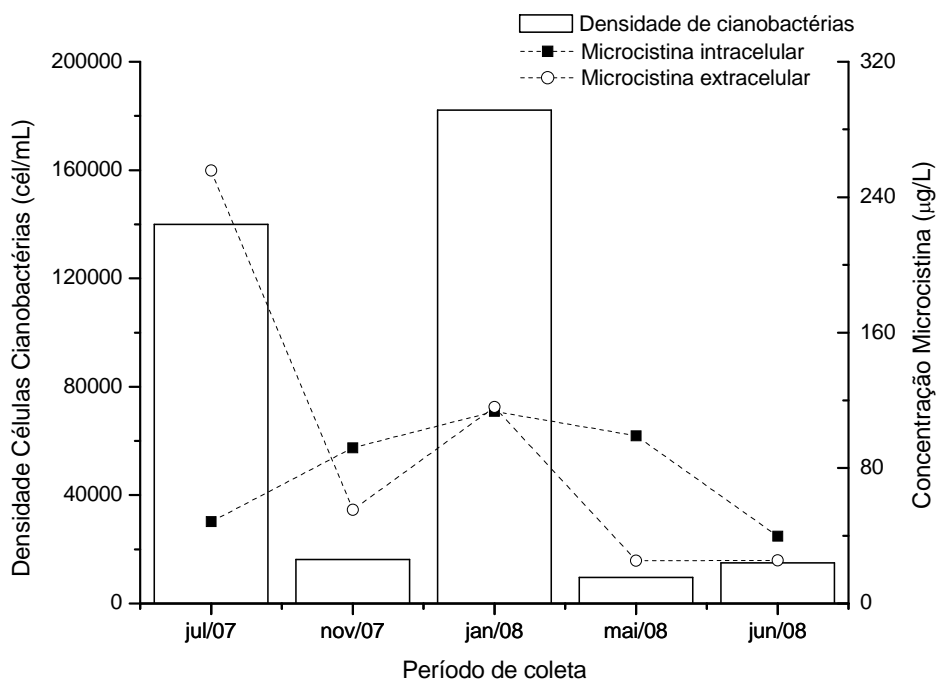


Figura 3. Densidade de células de cianobactérias (cél/mL), concentração de microcistina intra e extracelular (µg/L) no reservatório de Barra Bonita durante o período de estudo.



Protozoários

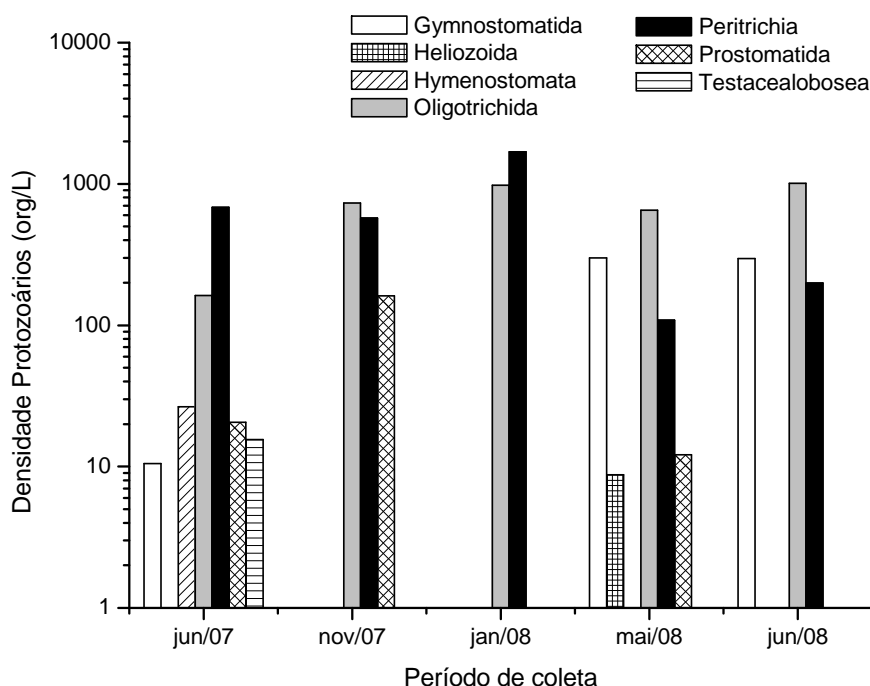
Para as amostras analisadas foram registrados 25 táxons de protozoários durante este estudo. A maioria representada por ciliados (23 táxons) e apenas um táxon de heliozoário (*Raphidocystis* sp.) e um testacealobosea (*Arcella vulgaris*). As espécies *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* foram observadas em todas as coletas realizadas.



Algumas espécies como *Arcella vulgaris*, *Askenasia chlorelligera*, *Askenasia volvox*, *Cinetochilum margaritaceum*, *Enchelys gasterosteus*, *Trichodina pediculus*, *Vorticella campanula* e *Raphidocystis* spp foram encontradas em apenas uma coleta durante o período de estudo.

Os protozoários identificados nas amostras pertencem aos grupos Gymnostomatida, Hymenostomata, Oligotrichida, Peritrichia, Prostomatida, Heliozoidea e Testacealobosea (Figura 4), sendo os ciliados pertencentes as cinco primeiras ordens.

Figura 4. Densidades dos grupos protozooplântônicos presentes no reservatório de Barra Bonita no período de coleta.



Os grupos oligotrichidas e peritrichidas foram dominantes, com médias de 699 e 650 org/L respectivamente, além de estarem presentes em todas as coletas. Dentre os peritrichidas, *Vorticella aquadulcis* foi a espécie dominante nas três primeiras coletas com densidades de 600, 560, e 1.685 org/L respectivamente. Os peritrichidas predominaram especialmente nas três primeiras coletas, enquanto que nas duas últimas predominaram os oligotrichidas. Dentre os oligotrichidas, a espécie *Halteria grandinella* predominou com 428 e 597 org/L de densidade.

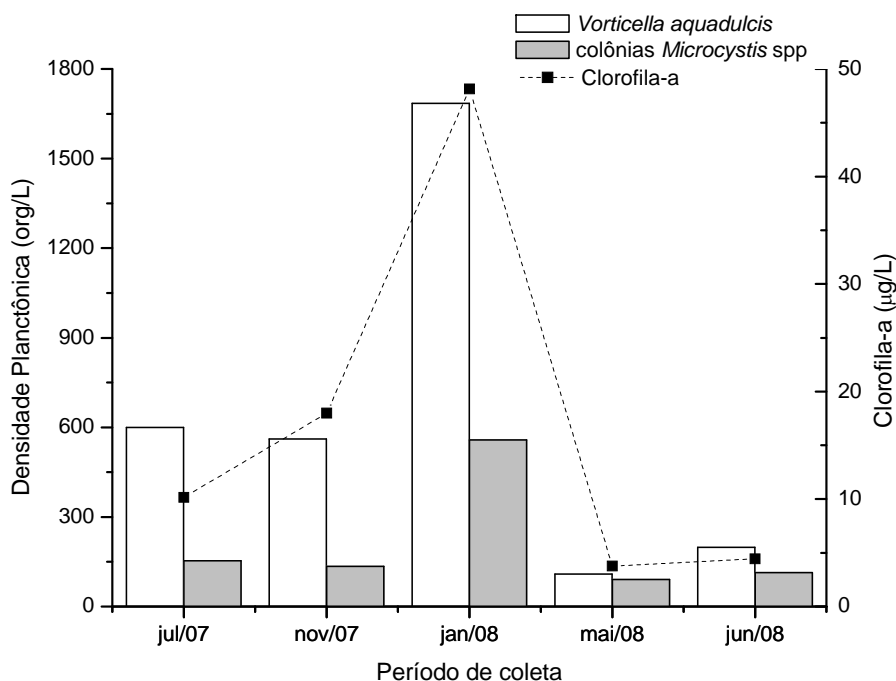
Considerando o período de estudo pode-se constatar que os quatro grupos de protozoários mais importantes para o ambiente foram, em ordem decrescente Oligotrichida, Peritrichida, Gymnostomatida e Prostomatida. Já os grupos Heliozoidea, Hymenostomata e Testacealobosea foram os menos expressivos com 9, 27 e 16 org/L respectivamente.

A espécie *Vorticella aquadulcis* apresentou uma correlação positiva ($r = 0,9$ e $p = 0,037$) com a clorofila-a. Porém na segunda coleta houve um aumento no valor de clorofila-a, mas não do protozoário, isso pode ser explicado pela queda da densidade de formas coloniais de *Microcystis* spp (Figura 5), visto que esta cianobactéria pode ser utilizada como substrato para sua fixação.

Considerando estes aspectos, pode-se verificar uma correlação positiva encontrada entre *Vorticella aquadulcis* e as formas coloniais de *Microcystis* spp. ($r = 1$ e $p = <0,0001$) as quais os protozoários desta espécie foram constantemente observados em associação (Figura 4).



Figura 5. Densidade de *Vorticella aquadulcis* (org/L), formas coloniais de *Microcystis* spp (org/L) e clorofila-a determinadas no reservatório de Barra Bonita, no período de coleta.



A maior densidade de protozoários (2.664 org/L) ocorreu em janeiro/08, na qual foi registrada a segunda maior concentração de microcistinas (229 µg/L). Neste período foi verificados o menor diversidade ($H' = 0,39$) e riqueza, com apenas 4 espécies (Figura 6).

A menor densidade de protozoários (673 org/L) foi observada na coleta de julho/07, com uma riqueza de 13 protozoários e a diversidade de 0,55. Nesta coleta a concentração de microcistinas detectadas nesta amostra foi a maior durante o período de coleta (304,16 µg/L) tendo uma densidade de 140.000 cél/mL de cianobactérias (Figura 6).

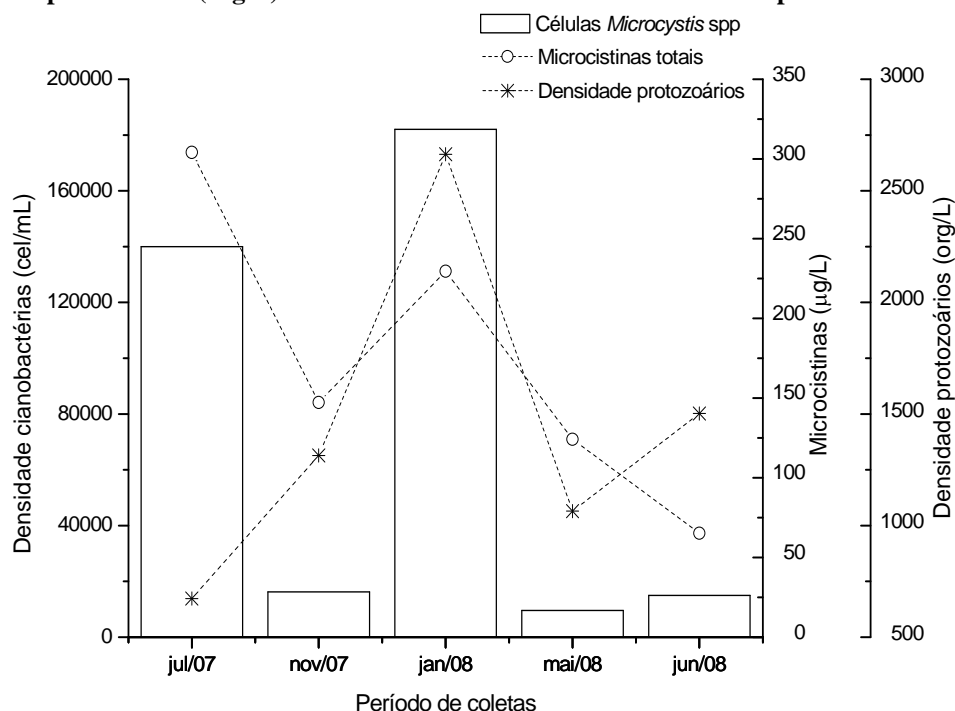
Na coleta realizada em novembro/07 foi calculada uma concentração de 147,26 µg/L de cianotoxinas, com densidade de 16.250 cél/mL de cianobactérias. Nesta coleta foi registrada uma riqueza de 10 táxons de protozoários, com uma densidade de 1.314 org/L e diversidade de 0,72 (Figura 6).

Em maio/08 registrou-se uma densidade de células de cianobactérias de 9.583 cél/mL, a menor registrada durante o período de coleta. A concentração de microcistinas detectadas nesta amostra foi de 124,16 µg/L. Diante da menor densidade de cianobactérias houve um aumento no número de táxons (14) e na diversidade de protozoários ($H' = 0,75$), sendo que, nesta coleta a densidade de protozoários registrada foi de 1.065 org/L (Figura 6).

A densidade de protozoários em junho/08 foi de 1.503 org/L, pode-se observar que houve um aumento em relação ao mês anterior, mesmo ocorrendo um aumento na densidades de cianobactérias, em especial do gênero *Microcystis* (2.883 cél/mL), porém a concentração de microcistina registrada nesta amostra (65,13 µg/L) foi a menor durante o período de coleta (Figura 6). Registrou-se nesta coleta 11 táxons, porém a índice de diversidade manteve em 0,75.

Pode-se observar que ocorreu uma correlação positiva entre clorofila-a e a densidade de protozoários ($r = 0,5$ com $p = 0,391$). Contudo, em relação a outras variáveis analisadas como densidade, diversidade e riqueza de protozoários não verificou-se esta mesma tendencia de correlação.

Figura 6. Densidade de celular de *Microcystis* spp (cel/mL), concentração de microcistina total (µg/L) e densidade de protozoários (org/L) no reservatório de Barra Bonita durante o período de coleta.



DISCUSSÃO

As florações de cianobactérias foram as grandes responsáveis pelos altos valores de clorofila-a. As florações encontradas no reservatório de Barra Bonita estiveram representadas principalmente por *Microcystis* sp e *Microcystis aeruginosa*. As maiores densidades de células de *Microcystis* sp ocorreram em julho/07 e janeiro/08, nas quais foram registradas as maiores concentrações de microcistinas. Não foi possível estabelecer no presente estudo uma correlação entre as densidades de células do gênero *Microcystis* e a concentração de microcistina intracelular, porém foi possível estabelecer uma correlação positiva entre a concentração de microcistina extracelular a densidade de células de *Microcystis* spp. Park *et. al.* (1998) reportaram a variação na toxicidade de uma floração natural como causa do crescimento e senescência das células, com altas concentrações de microcistinas ocorrentes durante a fase de crescimento exponencial.

Os protozoários ciliados predominaram o reservatório de Barra Bonita, sendo *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* as espécies dominantes. Um estudo realizado por Regali-Seleghim (1992 e 2001) no reservatório do Monjolinho, São Carlos (SP), verificou o predomínio de oligotríquidas, onde *Halteria grandinella* foi um dos protozoários dominantes no sistema. De acordo com Foissner (1999) a espécie *Halteria grandinella* é muito comum e frequentemente abundante na região pelágica, mas também frequente em águas corrente e salobra. Esta espécie alimenta-se de bactérias e algas, sendo assim sua presença indica ambientes em condições eutróficas ou hipereutróficas, especialmente quando ocorre em número considerável (1.000 ind/L).

Contudo, a espécie *Vorticella aquadulcis* apresentou correlação positiva com clorofila-a, tendo utilizado como principal substrato as colônias de *Microcystis*. Apesar da interação da *Vorticella aquadulcis* com colônias de *Microcystis* spp, esta foi utilizada provavelmente apenas como substrato de fixação pelo protozoário, já que sua alimentação é a base de bactérias e picoplâncton. Segundo Pratt e Rosen (1983), os ciliados peritríquidas são comumente encontrados fixados a uma variedade de substratos em habitats aquáticos, mas um grande número de peritríquidas no plâncton é infrequente.

Durante um florescimento de *Aphanizomenon flos-aqua* no Lago Erie – EUA/Canadá, foi observada a associação desta cianobactéria com o protozoário *Vorticella campanula*, a qual foi relativamente constante durante todo o período de floração (Hedendorf & Monaco, 1983). Ainda segundo esses autores, devido a necessidade da *Vorticella* em requerer um substrato, eles suspeitaram que a fixação inicial pode ter ocorrido



próximo ao fundo do lago, mas como persistem na colônia de algas flutuam juntas na coluna d'água. Além disso, o comportamento de alimentação pulsante da *Vorticella* produz um distinto movimento de deslizamento da colônia algal, tal observação sugere que benefícios mútuos podem ser atribuídos a essa associação (Hedendorf & Monaco, 1983).

Kerr (1983) estudando o lago de Balsam, Wisconsin (EUA), observou a associação de *Vorticella* spp com cianobactérias, sendo a associação dos vorticelídios mais freqüente com *Nostoc* sp. Ela não pode evidenciar a preferência de fixação de uma espécie de *Vorticella* por um dos táxons de cianobactérias, em vez disso observou a preferência de todas as espécies de *Vorticella* por *Nostoc* sp. No atual estudo não foi possível estabelecer uma preferência de *Vorticella aquadulcis* pelas formas coloniais de *Microcystis*, ao invés disso ela foi encontrada fixada nas colônias das três espécies identificadas (*Microcystis aeruginosa*, *M. panniformes* e *M. protocystis*).

Dentre os quatro grupos de protozoários importantes para o ambiente (Oligotrichida, Peritrichida, Gymnostomatida e Prostomatida respectivamente), Oligotrichida é de fato o grupo de ciliados mais importante para os ambientes aquáticos segundo Laybourn-Parry (1992), visto que costumam substituir os scuticociliatida (Hymenostomata) com o aumento do grau de trofia (Beaver e Crisman, 1989). Contudo este aspecto não pode ser observado no reservatório de Barra Bonita. A importância de Peritrichida pode ser atribuída à superfície de fixação proporcionada pelas cianobactérias. O predomínio de Oligotrichida e Peritrichida foi também relatado por Arantes et al. (2004) para o plâncton do reservatório hipereutrófico de Salto Grande, Americana (SP).

Comparando com os dados da literatura com as densidades de protozoários encontrados do presente estudo, os valores foram extremamente reduzidos, especialmente para ambientes eutróficos. Carrias et. al, 1994 e James et al, 1995 (*apud* Foissner, 1999), observaram em lagos temperados e subtropicais eutrofizados do Hemisfério Norte, densidade de protozoários entre 0 e 230.000 ind/L (Tabela 2). Gomes e Godinho (2003), analisando o lago Monte Alegre, SP, considerado um ambiente eutrófico, encontraram densidades de protozoários entre 3.600 a 389.000 ind/L. Já o estudo da densidade de protozooplâncton de Barbieri e Godinho-Orlandi (1989), no sistema eutrófico do Reservatório de Rio Grande, SP, encontraram densidades variando de 1.000 a 16.920 ind/L. Arantes et.al. (2004), analisando o ambiente hipereutrófico de Salto Grande, SP, verificou densidades de protozoários entre 3.100 a 19.600 ind/L (Tabela 2).

Tabela 1: Densidades de protozoários em ambientes eutrofizados, incluindo o ambiente de estudo Carrias et al., 1994 e James et al., 1995 (*apud* Foissner, 1999); Barbieri e Godinho-Orlandi, 1989; Gomes e Godinho, 2003; Arantes Jr et al., 2004).

Densidades (ind/L)	Local de Estudo	Estado Trófico	Região
12800 +/- 9300	Ontário	Eutrófico	Temperado
55500 +/- 7600	Floridian lakes	Eutrófico	Subtropical
17700	Quebec lakes	Eutrófico	Temperado
Até 9200	Esthwaite	Eutrófico	Temperado
300 – 10.400	Okaro	Eutrófico	Temperado
0 – 230.000	Dalnee	Eutrófico	Temperado
126.000 – 89.200	Floridian lakes	Hipereutrófico	Subtropical
1.000 – 16.920	Reservatório de Rio Grande	Eutrófico	Subtropical
3.600 – 389.000	Lago Monte Alegre	Eutrófico	Subtropical
3.100 – 19.600	Reservatório de Salto Grande	Hipereutrófico	Subtropical
673 – 2.664	Presente estudo		

No reservatório estudado o número de táxons encontrados e densidades protozooplânctônicas foram inferiores as relatadas para ambientes com o mesmo grau de trofia como no reservatório de Salto Grande estudado por Arantes et al. (2004), em que o número de táxons (30) e a densidade de protozoários encontrada (entre 3.100



ind/L a 19.600 ind/L) também foram inferiores às relatadas na literatura. Segundo estes autores isso se deve provavelmente a toxicidade apresentada pelo sistema com um todo.

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

A densidade de protozoários pode ter sido afetada pela concentração de microcistinas totais, bem como pela densidade de células de cianobactérias (Figura 6). Isto pode ser explicado pelo aumento da densidade fitoplânctônica, já que neste período também houve um aumento na densidade de protozoários tipicamente bacterívoros e algívoros, com preferência por cianobactérias.

CONCLUSÕES

Elevadas densidades de cianobactérias, com destaque para o gênero *Microcystis* foram verificadas no reservatório de Barra Bonita.

Foi detectada a presença de microcistinas produzidas pelos florescimentos encontrados no reservatório.

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

As espécies *Halteria grandinella* e *Vorticella aquadulcis* foram as espécies de protozoários mais dominantes do ambiente.

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

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

As densidades de protozoários variaram de acordo com a presença de florações na represa. As elevadas densidades das algas em especial da cianobactérias pode ter afetado a diversidade de protozoários.

As altas concentrações de microcistinas podem ter afetado as densidades e riquezas de protozoários nos corpos d'água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AYRES M., AYRES JR. M., AYRES D.L.; SANTOS A. A.S. **BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá - Belém, Pará. CNPQ, Brasília. 364p, 2007.
2. ARANTES JR. J.D, RIETZLER A.C., ROCHA O., REGALI-SELEGHIM M.H. Estudo das populações de protozoários (Ciliophora e Rhizopoda) no reservatório de Salto Grande – Americana – SP. In: **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP): Caracterização, impactos e propostas de manejo**. Eds. Espíndola E.L.G., Leote M.A. & Dornfeld C.B, Editora Rima, 155-177p, 2004.
3. BARBIERI, S.M., GODINHO-ORLANDI, M.J.L. Ecological studies on the planktonic protozoa of a eutrophic reservoir (Rio Grande Reservoir—Brazil). *Hydrobiologia*, 183, 1–10, 1989.
4. BARBOSA, F.A.R., PADISAK, J., ESPÍNDOLA, E.L.G., BORICS, G., ROCHA, O. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tietê -basin, São Paulo State, Brazil. In: Tundisi, J.G., Straskraba, M. (Eds.), *Theoretical Reservoir Ecology and its Applications*. Backhuys, São Carlos, pp. 425–437, 1999.



5. BEAVER J.R., CRISMAN T.L. The role of ciliated protozoa in pelagic freshwater ecosystems. *Microbial Ecology*, 17: 111-136, 1989.
6. BOX, J. D. Enumeration of cell concentration in suspensions of colonial freshwater microalgae, with particular reference to *Microcystis aeruginosa*. *British Phycological Journal*, 16 (2): 153-164, 1981.
7. CARMICHAEL, W.W, AZEVEDO, S.M.F.Q., AN, J.S., MOLICA, R.J.R., JOCHIMSEN, E.M., LAU, S., RINEHART, K.L., SHAW, G.R., EAGLESHAM, G.K. Human fatalities from Cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspect.*, 109: 663-668, 2001.
8. CARON, D. A., LIM, E. L., MICELI, G., WATERBURY, J. B., VALOIS, F. W. Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by a protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. *Marine Ecology Progress Series*. 76(3): 205-217, 1991.
9. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Relatório das águas interiores do Estado de São Paulo: 1998 – 2000. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente/CETESB. (Série Relatórios), 2001.
10. COSTA, S.M., AZEVEDO, S.M.F.O. Implantação de um Banco de Culturas de Cianofíceas Tóxicas. *Iheringia, Série Botânica*, 45: 69-74, 1994.
11. CHRISTOFFERSEN, K. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. *Phycologia*. 35:42-50, 1996a.
12. CHRISTOFFERSEN, K. Effect of microcystin on growth of single species and on mixed natural populations of heterotrophic nanoflagellates. *Natural Toxins*, 4:215-220, 1996b.
13. CHRISTOFFERSEN, K.; LYCK, S.; WINDING, A. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. *Aquatic Microbial Ecology*, 27:125-136, 2002.
14. DOKULIL, M.T. & TEUBNER, K. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 438: 1-12, 2000.
15. DE MAAGD, P. G. J.; HENDRIKS, A. J.; SEINEN, W., SIJM, D. T. H. M. pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR. *Water Research* 33:677-680, 1999.
16. FOISSNER, W., BERGER, H. , SCHAUMBURG, J. Identification and ecology of limnetic plankton ciliates. Bayerisches Landesamt für wasserwirtschaft. *Informationsberichte*, 793 p., 1999.
17. GOMES, E. A.T.; GODINHO M. J. L. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. *Acta Oecologica* 24: 153-161, 2003.
18. HEDENDORF, C. E., MONACO, M. E. Association of *Vorticella campanula* and *Anabaena flos-aqua* during a blue-green algal bloom in western Lake Erie. *Ohio Journal Science*. 83 (5): 270-271, 1983.
19. IBELINGS, B.W.; BRUNING, K. JONGE, J.; WOLFSTEIN, K.; DIONISIO PIRES, L.M.; POSTMA, J., BURGER, T. Distribution of Microcystins in a Lake Foodweb: No Evidence for Biomagnification. *Microbial Ecology*, 49: 487-500, 2005.
20. KERR, S. J. Colonization of Blue-green Algae by *Vorticella* (Ciliata: Peritrichida). *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 102(1): 38-47, 1983.
21. LAYBOURN-PARRY J. **Protozoan Plankton Ecology**. Chapman and Hall, London, 231 p., 1992.
22. LORENZEN, C.J. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. *Limnology Oceanography*, 12: 343-346p., 1967.
23. MARGALEF, R. Counting In: *Phytoplankton Manual*. Ed: Sournia, A., United Nation Educational, Scientific and Cultural Organization, Paris, 92p, 1969.
24. MARKER, A.F.H.; NUSCH, E.A.; RAI, H., RIEMANN, B. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv für Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 14: 91-106p., 1980.
25. MERILUOTO, J., SPOOF, L. Solid phase extraction of microcystins in water samples. Toxic European Project "Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxins Analysis", Finland Akademi University, Finland, 2005.
26. PACE, M.L., ORCUTT, J.D. The relative importance of protozoans, rotifers and crustaceans in a freshwater zooplankton community. *Limnology Oceanography*, 26: 822-830, 1981.
27. PARK, H. et. al. Temporal variabilities of the concentrations of intra – and extracellular microcystin and toxic microcystis species in a hypertrophic lake, Lake Suwa, Japan (1991-1994). *Environmental Toxicology and Water Quality*, 13 (1): 61-72, 1998.
28. PRATT, J. R., ROSEN, B. H. Association of *Vorticella* (Peritrichida) and Planktonic algae. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 102(1): 48-54, 1983.
29. RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 503 p., 2003.
30. REGALI-SELEGHIM, M. H. Flutuações nas comunidades planctônicas e bentônicas de um ecossistema artificial raso (Represa do Monjolinho, São Carlos. SP), com ênfase das populações de protozoários e bactérias. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos. SP. 162 p., 1992.



31. REGALI-SELEGHIM, M. H. Rede trófica microbiana em um sistema eutrófico raso (Reservatório do Monjolinho, São Carlos. SP), estrutura e função. Tese (doutorado). Universidade Federal de São Carlos. SP. 92 p., 2001.
32. REYNOLDS, C. S., JAWORSKI, G. H. M. Enumeration of natural Microcystis populations. *British Phycological Journal*, 13: 269-277, 1978.
33. ROS, J. **Práctica de Ecología. Barcelona.** Omega, 181p., 1979.
34. SAITO, T., SUGIURA, N., ITAYAMA, T., INAMORI, Y., MATSUMURA, M. Biodegradation of Microcystis and microcystins by indigenous nanoflagellates on biofilm in a practical treatment facility. *Environmental Technology*, 24:143–151, 2003.
35. SANT'ANA, C.L. AZEVEDO, M.T. DE PAIVA. Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacteria from Brazil, *Nova Hedwigia*, 71(3-4): 359-385, 2000.
36. SIVONEN, K., NAMIKOSHI, M., EVANS, W.R., CARMICHAEL, W.W., SUN, F., ROUHIAINEN, L., LUUKKAINEN, R., RINEHART, K.L. Isolation and characterization of a variety of microcystins from seven strains of the cyanobacterial genus *Anabaena*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2495-2500, 1992.
37. UTHERMÖHL, H. Zur Vervalkammung des Quantitativen Phytoplankton - Methodik. Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie. Mitteilung 9: 1-38, 1958.
38. ZURAWELL, R. W.; CHEN, H.; BURKE, J. M., PREPAS, E. E. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 8:1–37, 2005.