

VI-128 – ESTUDO *IN SITU* DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO PELO FITOPLÂNCTON EM UM RESERVATÓRIO SUBTROPICAL (SP, BRASIL)

Gabriela Albino Marafão⁽¹⁾

Engenheira Ambiental pelo UNISEB Centro Universitário. Mestranda em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP).

Vitória Fernandes de Melo Lima⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestranda em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP).

Adriana Cristina Poli Miwa⁽¹⁾

Química pelo Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Mestre e Doutora em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Especialista em Laboratório – Química do Laboratório BIOTACE do Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP).

Maria do Carmo Calijuri⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Mestre em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos. Doutora em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Livre docência pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Professora Titular do SHS/EESC/USP

Davi Gasparini Fernandes Cunha⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Doutor em Ciências (Engenharia Hidráulica e Saneamento) pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Pós-doutoramento pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP). Professor Doutor do SHS/EESC/USP.

Endereço⁽¹⁾: Av. Trabalhador São-Carlense, 400 – Pq Arnold Schmidt – São Carlos/SP – CEP: 13566-590 – Brasil – Tel: +55 (16) 3373-9560 – e-mail: gabi.marafao@gmail.com

RESUMO

Tendo em vista que a eutrofização artificial é um dos maiores desafios da sociedade em relação à manutenção dos usos múltiplos da água, é preciso estudar os mecanismos que influenciam a variação das características bióticas e abióticas dos reservatórios em resposta às interferências antrópicas, sobretudo ao incremento excessivo de nutrientes, nitrogênio e fósforo. Estes nutrientes afetam a produção da biomassa aquática e favorecem florações de cianobactérias, entre outros efeitos indesejáveis. A presente pesquisa quantificou a fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton por meio de um traçador, o isótopo $^{15}\text{N}_2$, pois algumas cianobactérias se beneficiam dessa habilidade competitiva para dominarem muitos ecossistemas aquáticos brasileiros. Para isso, foi estudado o reservatório de Itupararanga, localizado estado de São Paulo, em três amostragens em diferentes estações do ano. Além de variáveis físicas, químicas e biológicas da água, foram determinados dados quantitativos e qualitativos da comunidade fitoplânctônica e o Índice de Estado Trófico (IET). De acordo com os resultados obtidos, o reservatório se apresentou eutrófico a hipereutrófico e com dominância de cianobactérias, com abundâncias relativas na faixa de 56-93%. A fixação biológica de nitrogênio, cuja máxima taxa foi de 0,011 $\mu\text{g/L.h}$, esteve relacionada às diferentes espécies de cianobactéria, frequência de heterócitos, disponibilidade de nutrientes e de radiação solar fotossinteticamente ativa. Espera-se que os dados gerados nessa pesquisa contribuam para o entendimento dos motivos que levam à distribuição ubíqua das cianobactérias em muitos sistemas aquáticos e auxiliem a gestão eficiente dos recursos hídricos locais.

PALAVRAS-CHAVE: Eutrofização, Isótopo $^{15}\text{N}_2$, Índice de Estado Trófico, Cianobactérias, Gestão de Reservatórios.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso finito e dotado de valor econômico, o que torna imprescindível a criação de um arcabouço legal para seu gerenciamento e a conciliação entre seus diversos usos. Como resultado do crescimento populacional, da urbanização não planejada com extensas áreas impermeabilizadas, do aumento dos processos industriais que utilizam água demasiadamente e não possuem tratamento eficaz de efluentes, do manejo inadequado do solo na agricultura e pecuária e das crescentes demandas energéticas, a quantidade e a qualidade das águas têm se tornado comprometidas. Sabendo-se que a água possui usos múltiplos e está vinculada direta e indiretamente a serviços ambientais de suporte, regulação, provisão e culturais, é necessário assegurar os seus diferentes usos, principalmente os prioritários, como abastecimento humano e dessedentação de animais, além da manutenção do equilíbrio ecológico. A gestão integrada dos recursos hídricos visa ao seu aproveitamento de forma otimizada e racional, de maneira a minimizar conflitos entre os usuários.

Impactos antrópicos como barragens, dragagens e canalizações, também alteram a qualidade dos recursos hídricos, o transporte de sedimentos e o equilíbrio ecológico. Os reservatórios são obras de engenharia para armazenar água para diversos fins, como: produção de energia, abastecimento, regularização de vazões, reserva de água para irrigação, suprimento industrial de água, produção de biomassa (cultivo de peixes e pesca intensiva), transporte (hidrovias), recreação, entre outros. Com a crescente expansão industrial e urbana, eles estão propensos a perturbações das atividades antrópicas.

A eutrofização artificial, produzida por atividades humanas, remete ao excesso de nutrientes nos corpos de água, o que pode levar ao crescimento exacerbado de alguns grupos de organismos aquáticos, como macrófitas e fitoplâncton, acarretando prejuízos a determinados usos dos recursos hídricos. Os nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, são oriundos de efluentes domésticos e industriais, defensivos agrícolas e escoamento superficial. Uma das principais consequências desse processo é a ocorrência de florações de cianobactérias, grupo fitoplanctônico que engloba algumas espécies capazes de produzir toxinas e gerar riscos à saúde pública.

As cianobactérias ocorrem em gradiente significativo de condições em ambientes aquáticos e possuem vantagens estratégicas competitivas em relação a outros organismos. Esses mecanismos incluem o balanço e estoque de nutrientes, a produção de pigmentos que absorvem luz em ambientes diversos (com diferentes temperaturas e pH), além de algumas habilidades específicas, como a fixação biológica de nitrogênio atmosférico e a possibilidade de movimentação ao longo da coluna de água (e.g. via vesículas gasosas) em busca de gradientes favoráveis de luz. À fixação biológica de N_2 , em especial, tem sido atribuída parcela importante da explicação dos motivos que levam à distribuição ubíqua de algumas espécies de cianobactérias em sistemas aquáticos. O entendimento desse mecanismo e sua possível relação com a dominância de cianobactérias em muitos mananciais brasileiros, para o qual a presente pesquisa pretende contribuir, é essencial para o manejo dos reservatórios.

Essa pesquisa integra um projeto intitulado “Fixação biológica e assimilação de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia”, coordenado pelo Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha (SHS/EESC/USP) e financiado pela FAPESP (Processo N° 2014/02088-5). Pelo que se tem conhecimento, essa pesquisa é pioneira no Brasil, o que justifica a importância do tema a ser estudado.

MATERIAIS E MÉTODOS

• Área de Estudo e Atividades de Amostragem

A pesquisa foi realizada no reservatório de Itupararanga (Figura 1 e Tabela 1), o maior reservatório de água doce da região de Sorocaba e Votorantim (SP), impactado principalmente pelo uso agrícola em seu entorno. De acordo com Cunha & Calijuri (2011), o reservatório está em condição meso-eutrófica com propensão acelerada à eutrofização, principalmente pelo uso e ocupação da bacia hidrográfica e do impacto negativo de seus tributários. Apesar de ter sido construído para a produção de energia elétrica, atualmente ele é utilizado para abastecimento público, irrigação de propriedades agrícolas da região, navegação, pesca e lazer. Além disso, há áreas com diferentes coberturas do solo no entorno desse reservatório, nas quais culturas temporárias apresentam maior perda de solo por ação dos agentes erosivos e nutrientes; existe, ainda, especulação imobiliária por loteamentos que reduzem a área de vegetação nativa, entre outros impactos. A poluição difusa

também tem contribuído com cargas de nutrientes ao corpo de água (QUEIROZ & IMAI, 2007; SECCHIN, 2012).

As amostragens foram realizadas em três épocas do ano (entre 2014 e 2015), abrangendo períodos seco, chuvoso e intermediário. As coletas foram realizadas próximas à barragem do reservatório, por maior facilidade de acesso e de comparação com dados de outros reservatórios.

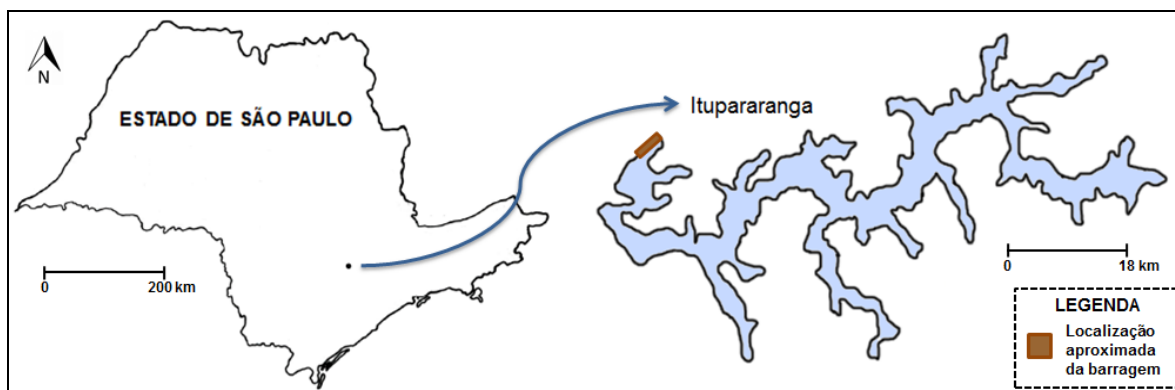


Figura 1: Localização aproximada do reservatório de Itupararanga no estado de São Paulo. Ilustração elaborada por Vitória Fernandes de Melo Lima (2014) e modificada pela autora.

Tabela 1: Informações sobre o reservatório de Itupararanga, incluindo coordenadas geográficas, ano de início da operação da barragem, área (km²), profundidade média (m) e tempo teórico de detenção hidráulica (dias).

Reservatório	Coordenadas geográficas aproximadas da barragem	Ano de início de operação	Área (km ²)	Profundidade média (m)	Tempo de detenção hidráulica (dias)
Itupararanga	23°36'44''S 47°23'50''O	1912	936	7,8	90-120

Fonte: Dados compilados de: Dos Santos (2003); Cunha & Calijuri (2011); Cunha (2012).

• Análises de Qualidade da Água

São quantificadas *in situ* variáveis físicas e químicas em diferentes profundidades da coluna de água com uma Sonda Multiparamétrica YSI556 (Yellow Springer): temperatura (°C), pH, condutividade elétrica (µS/cm), oxigênio dissolvido (mg/L e % de saturação) e potencial redox (mV). A partir da leitura da profundidade de desaparecimento do Disco de Secchi (m), é estimada a transparência da água.

Para a coleta de amostras de água e a realização de incubação para estimativa da fixação biológica de N₂, são escolhidas duas profundidades na zona eufótica de cada reservatório, conforme o perfil de Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa (RSFA) determinado a partir de um radiômetro (Quanta-Meter Ly-Cor, faixa de 400 a 700 nm). Essas duas profundidades (relativas a 50% e 10% da RSFA) foram escolhidas com base em outros estudos similares realizados em ambientes temperados e por refletirem condições intermediárias de disponibilidade de radiação solar. A coleta na profundidade correspondente a 50% da RSFA evita a eventual fotoinibição sobre os processos estudados, que poderia ocorrer para amostras superficiais, e a correspondente a 10% da RSFA representa uma condição de menor disponibilidade de luz, embora ainda na zona eufótica.

Com auxílio de uma garrafa de Van Dorn, são coletadas amostras nessas duas profundidades. No Laboratório de Biotoxicologia de Águas Continentais e Efluentes (BIOTACE), da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, são quantificadas as seguintes variáveis: nutrientes totais e dissolvidos (nitrogênio total Kjeldahl, amônia, nitrito, nitrato, fósforo total, fosfato total dissolvido e ortofosfato) de acordo com APHA (2005), clorofila-a e feofitina (NUSCH, 1980). Para os dados qualitativos e quantitativos da comunidade fitoplanctônica foram realizadas análises pelo método das câmaras de sedimentação (UTHERMÖHL, 1958) e são determinadas as densidades totais e de cada espécie fitoplanctônica (APHA,

2005), além da identificação dos organismos por meio de chaves de classificação disponíveis na literatura, sempre ao menor nível taxonômico possível. As análises da comunidade fitoplanctônica são realizadas por outros participantes do Projeto FAPESP “Fixação biológica e assimilação de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia” e os resultados são incluídos em um banco de dados acessível a todos os integrantes do projeto.

O cálculo do Índice de Estado Trófico segue a metodologia da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), proposta por Lamparelli (2004), em que são consideradas duas variáveis: clorofila-a (Equação 1) e fósforo total (Equação 2). O índice de transparência da água foi desconsiderado pelo fato de a turbidez não representar somente o fitoplâncton, mas material mineral em suspensão, podendo superestimar os resultados.

$$\text{IET (CL)} = 10 \times [6 - (0,92 - 0,34 \times (\ln \text{CL})) / \ln 2] \quad \text{Equação (1)}$$

$$\text{IET (PT)} = 10 \times [6 - (1,77 - 0,42 \times (\ln \text{PT})) / \ln 2] \quad \text{Equação (2)}$$

Em que PT: concentração de fósforo total (µg/L), CL: concentração de clorofila a (µg/L) e ln: logaritmo natural.

• Fixação Biológica de Nitrogênio

Nas profundidades de 50% de RSFA e 10% de RSFA são realizadas as incubações com o isótopo $^{15}\text{N}_2$. Sucintamente, os passos são os seguintes: frascos de vidro de 250 mL são completamente preenchidos com amostra e selados (tampa com septo) para que não haja contato com a atmosfera. Posteriormente, é injetado 0,5 mL de $^{15}\text{N}_2$ (99% at. % ^{15}N) em cada frasco e eles são agitados para mistura do gás no líquido. As incubações são realizadas com duas réplicas. Após os períodos de incubação ($T_1 = 12$ h e $T_2 = 24$ h), as amostras são filtradas em filtros GF/F 25 mm, posteriormente armazenados em freezer a -20°C . Nos frascos de controle ($T_0 = 0$ h), as amostras são filtradas imediatamente após a injeção de $^{15}\text{N}_2$. Os filtros, secos em estufa a 60°C por 24h, são acondicionados em local escuro e livre de umidade. Esses filtros, após serem envoltos em cápsulas de estanho, são encaminhados para a análise elementar para quantificação do nitrogênio particulado e a espectrometria de massa para determinação da composição isotópica ($^{15}\text{N}_2/^{14}\text{N}_2$). Tais análises são realizadas no Laboratório de Isótopos Estáveis, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP), em parceria com o Prof. Assoc. José Albertino Bendassoli (Figura 2).

As taxas de fixação desse método são calculadas pelas equações propostas por Montoya et al. (1996). Primeiramente, é calculado o número de mols de nitrogênio adicionado ($^{15}\text{N}_2$) de acordo com a Equação Geral dos Gases Ideais, que depois é dividido pelo volume do frasco de incubação. Em seguida, é efetuado o cálculo do nitrogênio no ambiente (Ne) a partir da densidade do líquido, temperatura, salinidade e os coeficientes de solubilidade do ar propostos por Hamme & Emerson (2004). Finalmente, a taxa de fixação de nitrogênio pode ser calculada pelas equações 3 e 4 (MONTROYA et al., 1996):

$$\text{rN} = [(\text{NOP} / \text{V}) \times (\text{Cp} - \text{Co})] / [\Delta t \times (\text{Cd} - \text{Co})] \quad \text{Equação (3)}$$

$$\text{Cd} = [(\text{Na} / (\text{Na} + \text{Ne}))] \times 100 \quad \text{Equação (4)}$$

Onde:

rN = taxa absoluta de fixação de nitrogênio (µg/L.h)

Co (% atômica) = % natural de $^{15}\text{N}_2$ (Cp) nos brancos, conforme a profundidade

Cp (% atômica) = $^{15}\text{N}_2$ particulado no início da incubação; presume-se que seja a % natural de $^{15}\text{N}_2$, dado obtido a partir da análise no CENA/USP

Cd (% atômica) = enriquecimento $^{15}\text{N}_2$

NOP/V = nitrogênio orgânico particulado dividido pelo volume filtrado de cada frasco (µg/L), sendo NOP a massa da biomassa retida no filtro multiplicada pela % de $^{15}\text{N}_2$ resultante da análise no CENA/USP

Δt = tempo de incubação (h), considerado do início da incubação até o final da filtração

Na = nitrogênio adicionado por frasco (µmol/L)

Ne = nitrogênio no ambiente (µmol/L)

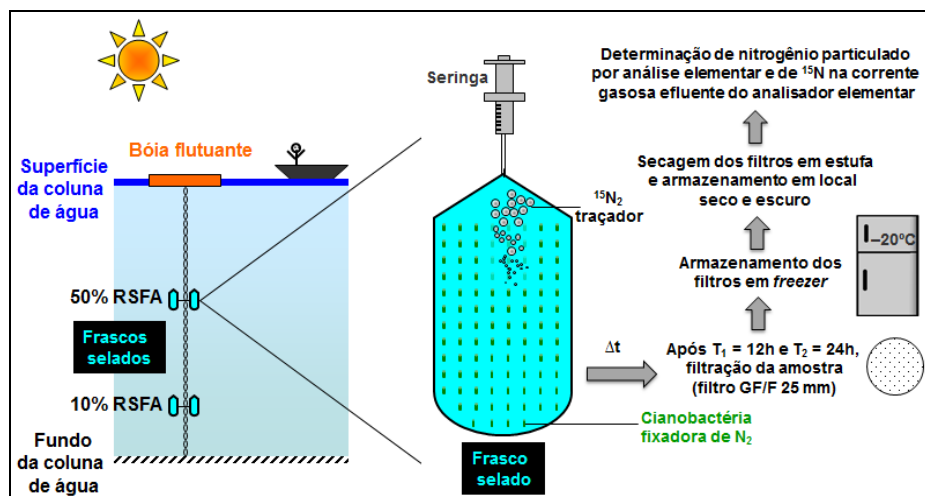


Figura 2: Esquema da fixação de nitrogênio pelo método direto com uso do traçador $^{15}\text{N}_2$.

RESULTADOS

Nas primeiras duas amostragens, o reservatório de Itupararanga mostrou indícios do impacto pelo período de estiagem, principalmente em outubro de 2014. Além disso, a área de acesso está pouco florestada e há formação de bancos de areia pelo rebaixamento do nível da represa (Figura 3).



Figura 3: Fotografias da amostragem de julho de 2014 (a, b, c), outubro de 2014 (d, e, f) e janeiro de 2015 (g, h, i) no reservatório de Itupararanga (SP).

Os perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa (RSFA, Figura 4) indicaram uma maior intensidade de RSFA na coleta de Julho de 2014 ($359 \mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$); porém, os horários da coleta de dados influenciaram diretamente esses resultados, bem como as condições meteorológicas locais. Nas três amostragens, pôde-se constatar que a RSFA se atenuou significativamente a partir de 4 m, chegando a valores próximos de zero. Foram definidas as profundidades para incubação de 0,4 e 2,5; 0,6 e 2,5; 0,8 e 3 m, correspondentes a 50% RSFA ($163, 60, 42 \mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$) e 10% RSFA ($45, 12, 8 \mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$) em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015, respectivamente.

Foi observada temperatura da água mais elevada no mês de outubro (27°C) e menor em julho (18°C). Os menores valores de condutividade elétrica e pH também referem-se a julho, com mínimos de 63 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 7,15. As menores concentrações de oxigênio dissolvido foram observadas em janeiro de 2015, com diminuição progressiva com a profundidade e zona anóxica a partir dos 8 m. Também nessa amostragem, que corresponde ao verão, houve estratificação em relação ao pH e ao oxigênio dissolvido (Figura 4).

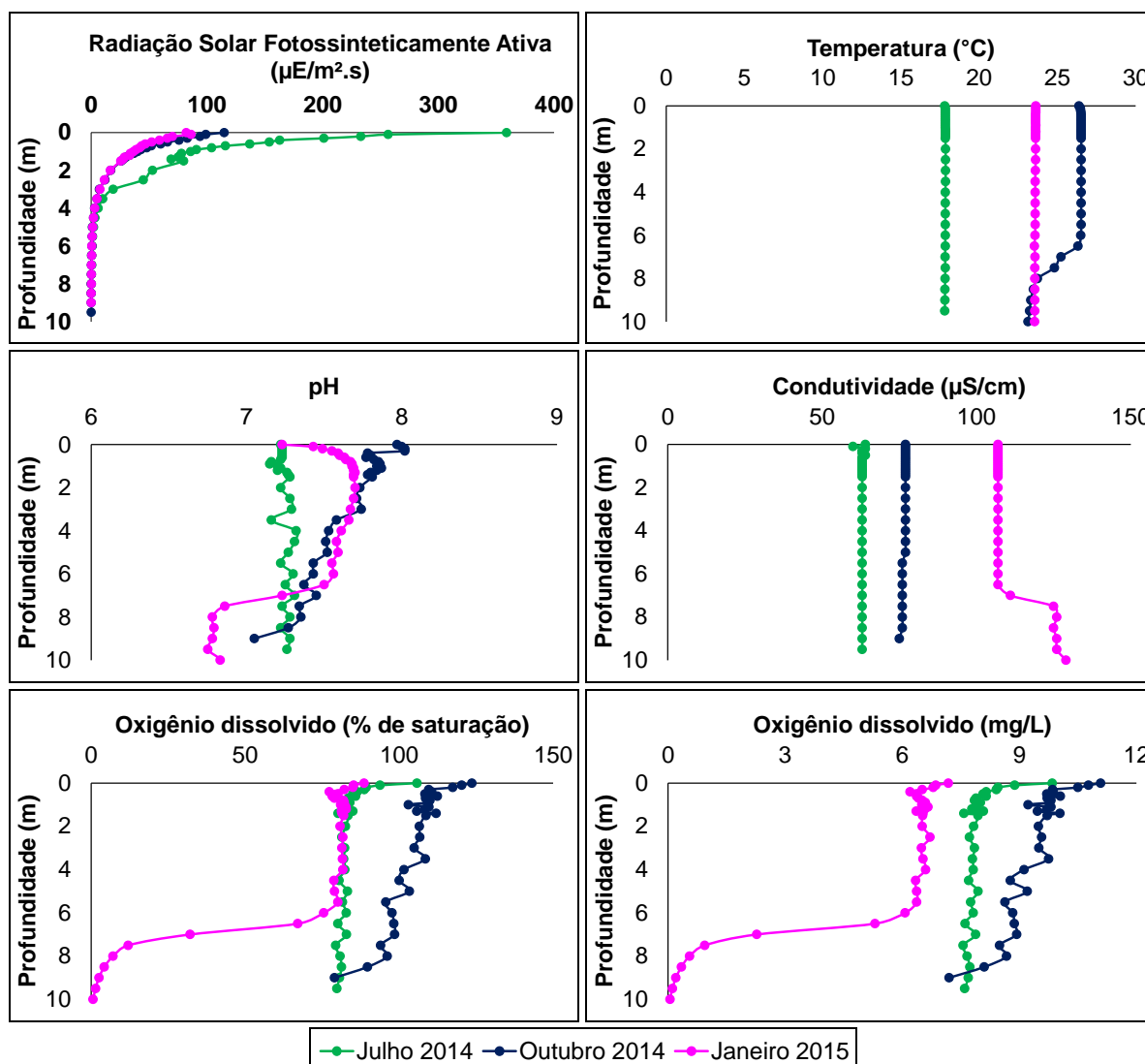


Figura 4: Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa (RSFA, $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (% de saturação e mg/L) no reservatório de Ituparanga em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

As concentrações médias dos nutrientes totais e dissolvidos encontram-se na Tabela 2. A série de fósforo apresentou variações entre as duas profundidades estudadas, com valores maiores a 10% da RSFA para o fósforo total (PT) e fosfato total dissolvido (PTD) em todas as amostragens. Já as concentrações de ortofosfato (PO_4) apresentaram tendência de aumento de 4 a 9 $\mu\text{g}/\text{L}$ entre julho de 2014 e janeiro de 2015. As concentrações de nitrato (NO_3) apresentaram-se semelhantes em julho de 2014 e janeiro de 2015 (300-450 $\mu\text{g}/\text{L}$), sendo que na amostragem de outubro de 2014, foram maiores, com máximo de 700 $\mu\text{g}/\text{L}$. Para o nitrito (NO_2) e o nitrogênio total kjeldahl (NTK), as maiores concentrações também foram observadas em outubro de 2014 (2 $\mu\text{g}/\text{L}$ e 1500 $\mu\text{g}/\text{L}$, aproximadamente). As maiores concentrações de amônia (NH_3) foram observadas no inverno (entre 4200 e 8300 $\mu\text{g}/\text{L}$), o que pode estar associado ao processo de amonificação decorrente do menor pH (em torno de 7), no qual se espera que a biota do reservatório atue na degradação da matéria orgânica.

Tabela 2: Concentrações de nutrientes totais (NTK e PT) e dissolvidos (NO₃, NO₂, NH₃, PTD e PO₄) no reservatório de Itupararanga, em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

		PO ₄ (µg/L)	PTD (µg/L)	PT (µg/L)	NO ₂ (µg/L)	NO ₃ (µg/L)	NH ₃ (µg/L)	NTK (µg/L)
Julho 2014	50% RSFA	4,3	21,5	25,6	1,2	450,0	8334,8	941,9
	10% RSFA	4,2	11,3	68,8	1,2	450,0	4251,7	928,2
Outubro 2014	50% RSFA	7,3	19,5	30,4	2,3	700,0	224,2	1698,0
	10% RSFA	7,9	28,7	52,9	2,1	700,0	111,2	1411,0
Janeiro 2015	50% RSFA	9,1	10,3	12,8	0,6	300,0	139,8	210,0
	10% RSFA	9,5	5,9	54,1	1,2	400,0	117,2	287,0

Para o Índice de Estado Trófico (IET, Tabela 3), foram obtidos valores correspondentes à categoria eutrófica ($59 < \text{IET} \leq 63$), supereutrófica ($63 < \text{IET} \leq 67$) e hipereutrófica ($\text{IET} > 67$), de acordo com os limites estabelecidos por Lamparelli (2004).

Tabela 3: Índices de Estado Trófico do Reservatório de Itupararanga (SP) e suas classificações, em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

		IET (CL)	IET (PT)	IET final	Classificação do estado trófico
Julho 2014	50% RSFA	65,1	62,0	63,5	Supereutrófico
	10% RSFA	65,1	67,9	66,5	Supereutrófico
Outubro 2014	50% RSFA	65,0	63,0	64,0	Supereutrófico
	10% RSFA	65,1	66,3	65,7	Supereutrófico
Janeiro 2015	50% RSFA	68,1	57,7	62,9	Eutrófico
	10% RSFA	68,9	66,5	67,7	Hipereutrófico

A densidade total fitoplanctônica no reservatório de Itupararanga foi menor no mês de outubro de 2014, na faixa de 9.000 indivíduos/mL e foi sempre maior na profundidade de 50% RSFA, entre 14.000 e 18.000 indivíduos/mL. As densidades foram 43% (julho de 2014), 58% (outubro de 2014) e 29% (janeiro de 2015) superiores na profundidade correspondente a 50% em comparação à de 10% de RSFA (Figura 5). Já a abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos mostrou, para a maioria dos casos, dominância das cianobactérias nas faixas de 56 a 93% (Figura 6). Considerando somente o grupo fitoplanctônico das cianobactérias, as abundâncias mais significativas estiveram relacionadas à espécie *Aphanocapsa elachista* em outubro de 2014 (65 e 79%, 50% e 10% RSFA) e *Cylindrospermopsis raciborskii* em julho de 2014 (90 e 46%, 50% e 10% RSFA) e janeiro de 2015 (70 e 50%, 50% e 10% RSFA). Nessa última amostragem aproximadamente de 14 e 9% (50% RSFA e 10% RSFA) dos filamentos de *C. raciborskii* apresentaram heterócio (Figura 7).

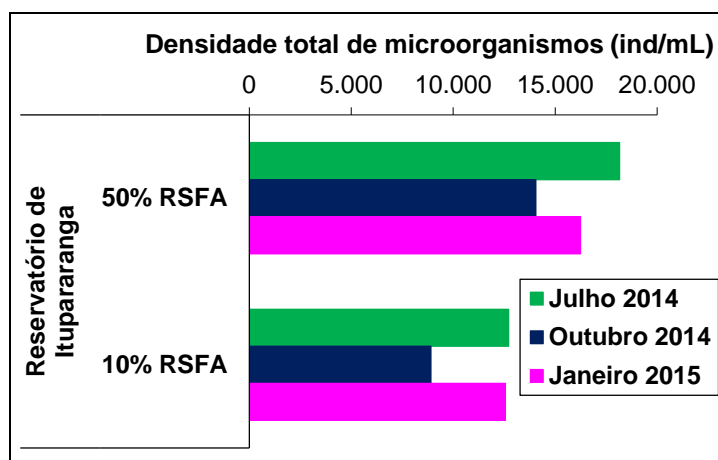


Figura 5: Densidade total de fitoplâncton (ind/mL) no reservatório de Itupararanga em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

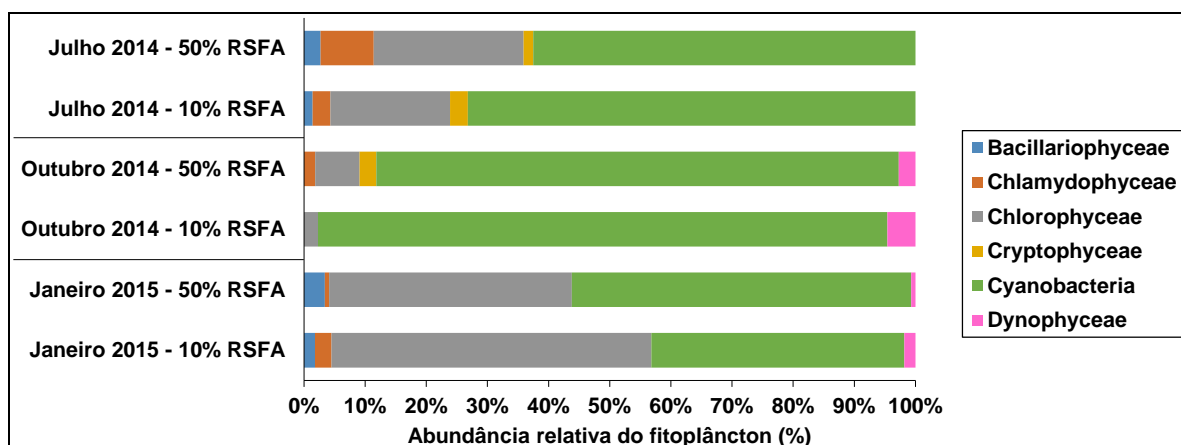


Figura 6: Abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos no reservatório de Itupararanga em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

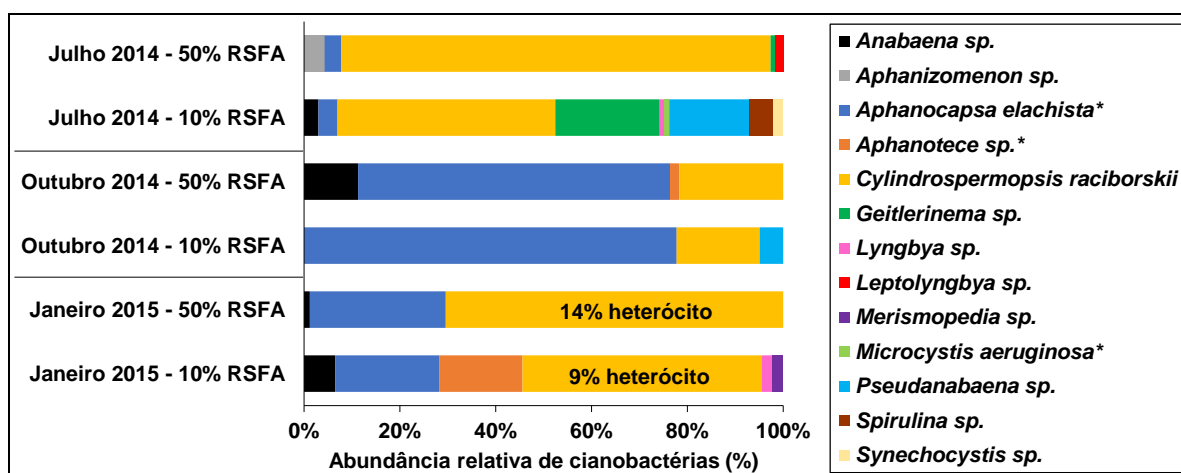


Figura 7: Abundância relativa de cianobactérias no reservatório de Itupararanga em julho de 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015. O símbolo (*) denota que foram observadas colônias do organismo.

A fixação de nitrogênio não foi detectada em níveis significativos na amostragem de julho e outubro de 2014 (Figura 8). Entretanto, em janeiro de 2015 as cianobactérias fixaram nitrogênio principalmente após 24 h de incubação, o que inclui o período noturno, com máximo de 0,011 µg/L.h. A ocorrência de fixação coincidiu com a composição da comunidade fitoplanctônica por cianobactérias e, em especial, com a maior frequência de heterócitos nas cianobactérias (9-14%). Além disso, na coleta em que foi detectada a fixação, houve menores concentrações de oxigênio dissolvido (7 a 0 mg/L) e maior condutividade elétrica (110 µS/cm). Com relação ao fitoplâncton, a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* possui muitas vantagens competitivas, como a resistência a herbivoria e o transporte na coluna de água buscando melhores condições de luz. Além disso, ela possui uma alta afinidade com a amônia, que é uma forma energeticamente mais acessível de nitrogênio, e na falta dessa substância ela pode fixar o nitrogênio atmosférico (BITTENCOURT-OLIVEIRA & MOLICA, 2003).

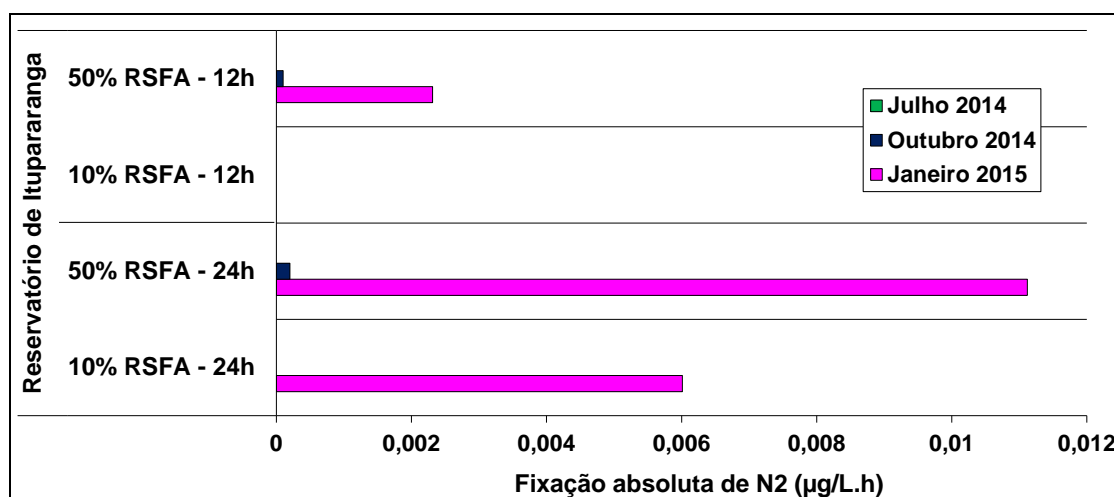


Figura 8: Fixação absoluta de nitrogênio atmosférico pelo fitoplâncton no reservatório de Itapararanga (SP) em julho 2014, outubro de 2014 e janeiro de 2015.

CONCLUSÕES

O elevado estado trófico do reservatório de Itapararanga (eutrofia/hipereutrofia) tem contribuído para a floração de cianobactérias.

O processo de fixação de nitrogênio parece estar associado à composição da comunidade fitoplanctônica, à presença de heterócitos e à disponibilidade de nutrientes. Além disso, foram obtidas diferentes taxas de fixação nos períodos de incubação de 12 e 24 horas, o que sugere que a disponibilidade de luz também influenciou o processo.

São necessárias medidas para redução do nível trófico do sistema aquático, como por exemplo, o controle das fontes de nutrientes ao corpo de água. O presente estudo sugere que a melhoria da qualidade da água decorrente da eventual redução no aporte de nitrogênio poderia ser comprometida pela presença de algumas cianobactérias aptas a fixar o nitrogênio atmosférico no reservatório.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo Processo 2014/02088-5 e ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 25th ed., Washington: APHA, 2005.
2. BERGERSEN, F. J. Measurement of nitrogen fixation by direct means. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. John-Wiley & Sons: New York, p. 65-110, 1980.
3. BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; MOLICA, R. Cianobactéria invasora: Aspectos moleculares e toxicológicos de *Cylindrospermopsis raciborskii* no Brasil. Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, n. 30, 2003.
4. CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Índice do Estado Trófico. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-superficiais/aguas-interiores/documentos/indices/04.pdf>> Acesso: setembro de 2014.
5. CUNHA, D. G. F. Heterogeneidade e variabilidade temporal do reservatório de Itapararanga: uma contribuição ao manejo sustentável dos recursos hídricos da bacia do Rio Sorocaba (SP). Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 235p, 2012.

6. CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C. Variação sazonal dos grupos funcionais fitoplanctônicos em braços de um reservatório tropical de usos múltiplos no estado de São Paulo (Brasil). *Acta Botânica Brasílica*, v. 25, n. 4, p. 822-831, 2011.
7. DOS SANTOS, A. C. A. Heterogeneidade espacial e variabilidade temporal de dois reservatórios com diferentes graus de trofia no estado de São Paulo. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 225p, 2003.
8. GROßKOPF, T.; MOHR, W.; BAUSTIAN, T.; SCHUNCK, H.; GILL, D.; KUYPERS, M.M.M.; LAVIK, G.; SCHMITZ, R.A.; WALLACE, D. W. R.; LAROCHE, J. Doubling of marine dinitrogen-fixation rates based on direct measurements. *Nature*, v. 488, p. 361-364, 2012.
9. HAMME, R. C.; EMERSON S. R. The solubility of neon, nitrogen and argon in distilled water and seawater. *Elsevier*, v. 51, p. 1517-1528, 2004.
10. LAMPARELLI, M.C. 2004. Grau de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: Avaliação dos métodos de monitoramento. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 207 p.
11. MOHR, W.; GROBKOPF, T.; WALLACE, D. W. R.; LAROCHE, J. Methodological underestimation of oceanic nitrogen fixation rates. *PLoS ONE*, v. 5, n. 9, eE12583, 2010.
12. MONTOYA, J. P.; VOSS, M.; KÄHLER, P.; CAPONE, D. G. A simple, high-precision, high-sensitivity tracer assay for N₂ fixation. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, n. 3, p. 986-993, 1996.
13. NUSCH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiologia*, v. 14, p. 14-36, 1980.
14. QUEIROZ, R. P.; IMAI, N. N. Mapeamento das atividades antrópicas na área de entorno do reservatório de Itupararanga – SP: Uma abordagem baseada na diminuição gradativa do grau de complexidade da cena interpretada. *Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Florianópolis, Brasil, 21-26 abril. INPE, p. 1039-1045. 2007.
15. SECCHIN, L. F. Caracterização ambiental e estimativa da produção de cargas difusas da área de drenagem da represa de Itupararanga, SP. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 122p., 2012.