

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ - UNIFEI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

Natália Miranda Goulart

**AVALIAÇÃO METODOLÓGICA POR SONDA  
FLUORIMÉTRICA PARA ANÁLISE DE BIOMASSA DE  
CIANOBACTÉRIAS**

Itajubá – MG  
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ - UNIFEI**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

Natália Miranda Goulart

**AVALIAÇÃO METODOLÓGICA POR SONDA**  
**FLUORIMÉTRICA PARA ANÁLISE DE BIOMASSA DE**  
**CYANOBACTÉRIAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Itajubá, como parte dos pré-requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

**Área de Concentração:** Meio Ambiente e Recursos Hídricos

**Orientadora:** Dra. Ana Lúcia Fonseca

**Coorientador:** Dr. Werner Siegfried Hanisch

Itajubá – MG  
2019

## AGRADECIMENTOS

À professora Ana Lúcia minha orientadora e, ao Professor Werner meu coorientador pela confiança depositada ao me aceitar como aluna. Muito obrigada por serem um exemplo de profissionalismo e dedicação ao seu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À todos os professores do Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos e colegas da turma de 2017-2019.

Aos técnicos de laboratório Elaine e João da Universidade Federal de Itajubá, pelo auxílio durante a realização das análises.

As pesquisadoras do Instituto de Botânica de São Paulo Dra. Célia Leite Sant'Anna e Dra. Andréa Tucci, que abriram as portas do laboratório e se disponibilizaram a me ensinar as técnicas e identificação e contagem de fitoplâncton.

Agradeço principalmente a Dra. Andréa Tucci, que acompanhou de perto o desenvolvimento da pesquisa e a dedicação de suas alunas de doutorado Andréa Sampaio e de iniciação científica Thaís Cahú do Instituto de Botânica de São Paulo, sempre pacientes e dispostas a ensinar, ajudar e ouvir todas as minhas dúvidas.

Agradeço também ao João e a Laura, alunos de iniciação científica da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema (UNIFESP), pela ajuda nas coletas. E ao Sr. Toninho por nos levar até os pontos de amostragem no reservatório Billings-SP e ter em seu barco sempre um café quentinho.

As amigas Jaíne, Gabriela, Thaís, Letícia, pelos trabalhos e disciplinas realizados em conjunto, obrigada pelo convívio, amizade e companhia durante as viagens até Itajubá.

Agradeço a minha mãe Cilma, pela vida, ensinamentos, incentivo e pelo amor incondicional.

Aos meus cunhados Rodrigo e Elisa, Ricardo e Sônia, aos meus queridos sobrinhos Luís Felipe, Theo, Mariane, Enzo, e aos meus sogros Atílio e Lázara, Lucimar e Joviano, agradeço pelo acolhimento e pelo carinho em todos os momentos.

Finalmente ao meu companheiro, melhor amigo e esposo Rafael, agradeço todo o seu amor, carinho, paciência e presença incansável com que me apoia. Amo você!!

*É* na resiliência que nascem as vitórias  
porque todos os caminhos são feitos  
de altos e baixos e é necessário  
persistir para se chegar ao fim.

(Autor desconhecido)

## RESUMO

O aumento na ocorrência de florações de cianobactérias tóxicas em ecossistemas aquáticos levou ao desenvolvimento de novos métodos de detecção para esses organismos, sendo uma das formas o uso da fluorescência de pigmentos de Ficocianina *in vivo*, que tem como vantagem, fornecer informações quantitativas em tempo real.

Assim, o objetivo deste trabalho foi validar medidas fluorescência de Ficocianina obtidas por sonda, visando monitorar as populações de cianobactérias assim como possíveis florações em sistemas aquáticos continentais. O local de estudo foi o reservatório Billings/SP-Brasil, que apresenta constantes florações de cianobactérias e é utilizado para abastecimento público da região metropolitana de São Paulo. As coletas foram realizadas mensalmente entre maio e novembro de 2018, em três pontos de amostragem: Barragem; Corpo central e Taquacetuba. Para análise quantitativa as amostras de água foram coletadas a 20cm da superfície utilizando uma garrafa do tipo Van Dorn e em seguida preservadas com lugol 5%. Para a análise qualitativa do fitoplâncton, as amostras de água foram coletadas utilizando uma rede de nylon de 20 µm de abertura de malha, em arraste horizontal e preservadas com formol a 4%. A contagem do fitoplâncton foi realizada pelo método de sedimentação em câmara de UTERMÖL em um microscópio invertido e, posteriormente realizado o cálculo da densidade (cél/ml). Para a identificação do fitoplâncton, foram montadas no mínimo cinco lâminas, que foram percorridas transversalmente em toda a sua extensão, para registrar o maior número possível de táxons. Utilizou-se a sonda fluorimétrica modelo HACH SS5X, para análise das variáveis: temperatura, amônia, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, clorofila-a, ficocianina e potencial redox. Em laboratório foram realizadas quantificação de Nitrato, Fósforo total e Clorofila-a. Foram registradas 10 classes fitoplanctônica, 15 gêneros de cianobactérias sendo *Planktothrix*, o gênero predominante nos três pontos de amostragem. Qualitativamente foram identificados 89 táxons. Cyanobacteria e Chlorophyceae foram os grupos mais representativos, com 22 e 21 táxons respectivamente. Neste estudo foi observado uma correlação moderada ( $R^2 > 0,332$ ,  $p < 0,05$ ) entre os valores de fluorescência de Ficocianina medidos por sonda e a densidade de cianobactérias analisadas em laboratório. A construção do mapa perceptual bidimensional para as análises de componentes principais, mostrou-se perfeitamente enquadrada para o englobamento da variabilidade dos parâmetros analisados, além de correlacionar positivamente as variáveis condutividade elétrica, fósforo total e nitrato com o ponto de amostragem Barragem. A sonda conseguiu mensurar e relacionar a quantidade de Ficocianina com o ponto amostral Taquacetuba que apresentou a maior densidade de Cianobactérias e Cryptophyceae Assim a utilização de sensores fluorimétricos mostram-se ser uma ferramenta auxiliar promissora para o monitoramento em tempo real da dinâmica da comunidade fitoplanctônica, funcionando como método complementar a contagem microscópica.

**Palavras-chave:** Ficocianina, Cyanobacteria, Monitoramento *in situ*.

## ABSTRACT

The increase in the occurrence of toxic cyanobacterial blooms in aquatic ecosystems has led to the development of new detection methods for these organisms, one way being to use Phycocyanin pigment fluorescence *in vivo*, which has the advantage of providing real-time quantitative information. Thus, the aim of this study was to validate probe-derived fluorescence measurements of Phycocyanin to monitor cyanobacterial populations as well as possible flowering in continental aquatic systems. It is used for public supply in the metropolitan region of São Paulo, SP-Brazil. The collections were performed monthly between May and November 2018, in three sampling points: Barragem; Corpo central and Taquacetuba. For quantitative analysis the water samples were collected at 20cm from the surface using a Van Dorn bottle and then preserved with 5% lugol. For the qualitative analysis of phytoplankton, the water samples were collected using a 20 µm meshed nylon mesh, horizontally dragged and preserved with 4% formaldehyde. Phytoplankton counts were performed by the UTERMÖL chamber sedimentation method in an inverted microscope and then the density calculation (cls.ml<sup>-1</sup>) was performed. For phytoplankton identification, a minimum of five slides were mounted and traversed transversely along their entire length to record as many taxa as possible. The HACH SS5X fluorimetric probe was used to analyze the variables: temperature, ammonia, pH, electrical conductivity, dissolved oxygen, Chlorophyll-a, Phycocyanin and redox potential. In laboratory, Nitrate, Total Phosphorus and Chlorophyll-a were quantified. Ten phytoplankton classes, 15 genera of cyanobacteria were recorded, being *Planktothrix*, the predominant genus in the three sampling points. Qualitatively 89 taxa were identified. Cyanobacteria and Chlorophyceae were the most representative groups, with 22 and 21 taxa respectively. In this study a moderate correlation ( $R^2 > 0.332$ ,  $p < 0,05$ ) was observed between the probe-measured Phycocyanin fluorescence values and the laboratory cyanobacterial density. The construction of the two-dimensional perceptual map for the principal component analysis was perfectly framed to encompass the variability of the analyzed parameters, and positively correlate the electrical conductivity, total phosphorus and nitrate variables with the dam sampling point. The probe was able to measure and relate the amount of Phycocyanin with the Taquacetuba sample point that presented the highest density of Cyanobacteria and Cryptophyceae. Thus, the use of fluorimetric sensors is a promising auxiliary tool for real-time monitoring of the phytoplankton community dynamics. functioning as a complementary method to microscopic counting.

**Keywords:** Phycocyanin, Cyanobacteria, *in situ* monitoring.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma do monitoramento de Cyanobateria, clorofila-a e cianotoxinas, conforme Portaria de Consolidação nº5 de 2017. (S) sim; (N) não; (VMPs) valor máximo permissíveis .....	16
Figura 2: Fluxograma com o padrão de densidade de Cyanobateria para cada classe de água, destinada ao consumo humano com tratamento de acordo com CONAMA 357 de 2005. VMP) valor máximo permissível. ....	17
Figura 3: Absorbância relativa dos pigmentos fotossintéticos em função do comprimento de onda da luz no espectro eletromagnético. ....	19
Figura 4: Ilustração da função tecnológica de medição de fluorescência <i>in situ</i> . ....	20
Figura 5: Localização do estado de São Paulo – Brasil (A); Região Metropolitana de São Paulo (B); Reservatório Billings (C). ....	22
Figura 6: Localização geográfica dos pontos de amostragem no reservatório Billings.....	23
Figura 7: Procedimentos de coleta da comunidade fitoplanctônica realizada no reservatório Billings: rede de plâncton para coleta de água para análise qualitativa (A); garrafa coletora de água tipo “Van Dorn” para análise quantitativa (B). ....	24
Figura 8: Sondas HACH DS5X utilizadas no campo para obter medidas em tempo real (A): sensor de clorofila ( $\mu\text{g/L}$ ) (1); sensor de Cyanobateria para leitura Ficocianina (milivolts) (2); turbidez (NTU), (3); amônia (mg N/L) (4); potencial redox (mV) (5); nitrato mg N/L) (6); pH (7); temperatura $^{\circ}\text{C}$ (8); condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}$ ), (9); oxigênio dissolvido (mg/L) (10). ....	25
Figura 9: Procedimento de coleta de dados em campo utilizando a sonda.....	26
Figura 10: Procedimento da estimativa de transparência utilizando o disco de Secchi.....	27
Figura 11: Valores médios do Índice de estado trófico (IET) dos três pontos de amostragem na Billings, ao longo do período de estudo.....	31
Figura 12: Variação temporal da densidade das comunidades fitoplanctônica nos pontos de amostragem no reservatório Billings durante o período de estudo. Outros: (Dinophyceae, Xanthophyceae, Euglenophyceae, Eustigmatophyceae).....	36
Figura 13: Representação por Box Plot da densidade total de Cyanobateria (cél. $\text{mL}^{-1}$ ) para cada ponto de amostragem. Barragem, Corpo central, Taquacetuba. ....	37

Figura 14: Variação temporal dos gêneros de Cyanobacteria registrados nos pontos de amostragem no reservatório Billings/SP durante o período de estudo.....	39
Figura 15: Variação sazonal da riqueza de espécies no reservatório Billings durante o período de estudo.....	46
Figura 16: Gêneros de Cyanobacteria identificados durante a realização do trabalho no reservatório Billings. <i>Dolichospermum</i> (A); <i>Geitlerinema</i> (B); <i>Planktothrix</i> (C); <i>Pseudanabaena</i> (D); <i>Microcystis</i> (E); <i>Merismopedia</i> (F); <i>Cylindrospermopsis</i> (G).....	47
Figura 17: Regressão linear entre os valores de Ficocianina (milivolts) e a densidade de Cyanobacteria (céls.mL <sup>-1</sup> ).....	48
Figura 18: Correlação entre a leitura do pigmento por fluorescência medido pelo sensor de Ficocianina (céls.mL <sup>-1</sup> ) e (milivolts) e a densidade de Cyanobateria contada em laboratório	49
Figura 19: Mapa perceptual bidimensional dos componentes principais com base em 13 variáveis limnológicas nos 3 pontos de amostragens no reservatório Billings. ....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Métodos de quantificação das variáveis clorofila-a, nitrato e fósforo total e suas respectivas metodologias .....	27
Tabela 2: Classificação do Estado Trófico para reservatórios segundo Índice de Carlson Modificado .....	28
Tabela 3: Valores mensais da transparência da água (m) nos três pontos de amostragens na Billings. ....	32
Tabela 4: Variação sazonal da densidade total de organismos fitoplanctônicos (céls. mL <sup>-1</sup> ) nos pontos de amostragem no reservatório Billings, no período de maio a novembro de 2018. ...	35
Tabela 5: Lista de gêneros das demais classes da comunidade fitoplanctônica (céls.mL <sup>-1</sup> ) encontradas no reservatório Billings-SP .....	41
Tabela 6: Lista de táxons e suas ocorrências nos pontos de amostragem da Barragem, Corpo central e Taquacetuba no reservatório Billings .....	42
Tabela 7: Matriz de correlação linear de Pearson obtida para os parâmetros físicos, químicos e biológicos coletados no reservatório Billings – SP, durante o período de estudo. T = temperatura (°C); pH = potencial hidrogeniônico; CE = condutividade elétrica (µS.cm <sup>-1</sup> ); OD = oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> ); NH <sub>4</sub> = amônia (mg N.L <sup>-1</sup> ); ORP = potencial redox (mV) ; PC= Ficocianina (µg.L <sup>-1</sup> ); Cya+Cry = Cyanobacteria + Cryptophyceae (céls.mL <sup>-1</sup> ); Chl-a = Chlorophyceae (céls.mL <sup>-1</sup> ); Chl-a = clorofila-a (µg.L <sup>-1</sup> ); NO <sub>3</sub> = nitrato (mg N.L <sup>-1</sup> ); PT = fósforo total (µg.L <sup>-1</sup> ); Secchi (m). ....	51
Tabela 8: Tabela de Análise de Componentes Principais (ACP) para os três pontos de amostragem no reservatório Billings .....	52

## SUMÁRIO

RESUMO .....	III
ABSTRACT .....	IV
LISTA DE FIGURAS .....	V
LISTA DE TABELAS .....	VII
1. INTRODUÇÃO .....	9
2. OBJETIVO GERAL .....	11
2.1 Objetivos específicos .....	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1 A comunidade fitoplanctônica .....	12
3.2 Monitoramento de cianobactérias .....	13
3.3 Monitoramento com sonda de fluorescência de Ficocianina .....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
4.1 Área de estudo.....	22
4.2 Procedimentos realizados em campo .....	24
4.2.1 Coleta e preservação do fitoplâncton .....	24
4.2.2 Variáveis física, química e biológica realizadas utilizando a sonda multiparâmetro .....	25
4.2.3 Transparência (m).....	26
4.3 Procedimentos realizados em laboratório .....	27
4.3.1 Análise de Clorofila-a, Nitrato e Fósforo total.....	27
4.3.2 Índice de estado trófico- IET.....	28
4.3.3 Biomassa fitoplanctônica .....	29
4.3.4 Densidade da comunidade fitoplanctônica (cél.s.mL <sup>-1</sup> ).....	30
4.4 Análises estatística .....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
5.1 Índice de Estado Trófico – IET .....	31
5.2 Contribuição dos valores de densidade para cada classe fitoplanctônica no reservatório Billings.....	33
5.3 Composição taxonômica da comunidade fitoplanctônica no reservatório Billings-SP .	42
5.4 Calibração da sonda .....	48
5.5 Correlação entre o sensor de Ficocianina e a contagem de Cyanobacteria por microscopia .....	49
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

## 1. INTRODUÇÃO

Os reservatórios foram criados para suprir as diversas necessidades relacionadas à gestão da água, como geração de energia elétrica, abastecimento público, entre outros. Um dos principais problemas decorrentes de impactos em reservatórios artificiais e lagos naturais em vários países é o processo de enriquecimento de nutrientes, também conhecido como eutrofização. A causa dessa eutrofização, apesar de variar de acordo com a região, tem como principais fatores o desenvolvimento urbano, agrícola e industrial. Devido a efeitos degradantes, este fenômeno se tornou uma das principais questões da qualidade da água em vários sistemas de água doce (KOSTEN; HUSZAR; WARMER, 2012).

Como nutrientes, particularmente nitrogênio e fósforo, são cada vez mais descarregados em sistemas de água doce, florações de cianobactérias tornam-se um problema em reservatórios em todo o mundo, principalmente aos destinados ao abastecimento público (PAERL; HUISMAN, 2009). De acordo com o mesmo autor, florações de cianobactérias ocorrem sob condições favoráveis, como de estratificação térmica em corpos de água eutróficos, e podem ser acompanhadas de potencial liberação de cianotoxinas como as microcistinas, cilindrospermopsinas e saxitoninas as quais afetam a biota aquática e saúde de humana em situações de consumo de organismos contaminados ou ingestão de água contaminada com estas cianotoxinas.

Dependendo da concentração e tipo de cianotoxinas presente na água para consumo humano, os sistemas de tratamentos convencionais não conseguem removê-las, tornando-se necessária a inserção de métodos de remoção/destruição avançados, o que necessariamente eleva o custo deste tratamento. Para tanto, a Portaria de Consolidação nº 5 de 2017 do Ministério da Saúde, estabelece limites para ingestão de água potável contendo microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsina e ausência de anatoxinas. Por essa razão, a atenção pelas companhias de abastecimento de água tem se concentrado em métodos que podem detectar cianobactérias de forma sensível e discriminá-las da comunidade fitoplanctônica, em pontos de captação de água.

O complexo Billings foi construído em 1927, com o objetivo de gerar energia elétrica para a usina Henry Borden, localizada no sopé da Serra do Mar, na Baixada Santista - SP. De forma a ampliar a capacidade de geração de energia da usina hidrelétrica, em 1940, iniciou-se o desvio de parte da água dos rios Tietê e Pinheiros para o reservatório Billings, através das usinas elevatórias de Pedreira e Traição (WHATELY, 2003). Alguns anos depois em 1958, o reservatório passou também a ter fins de abastecimento público (CAPOBIANO; WHATELY, 2002). Atualmente a Represa possui dois pontos de captação de água: o braço Rio Grande e o

braço Taquacetuba. A água do braço Rio Grande é captada pela estação de tratamento de água do rio Grande e, a água do braço Taquacetuba é captada pelo sistema Billings-Guarapiranga para ser transposta à Represa Guarapiranga, atividades essas realizadas pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) (NISHIMURA; CARLOS; POMPÊO, 2015).

De acordo com Alves *et al.* (2011), as águas do reservatório Billings abastecem aproximadamente 2 milhões de pessoas. Por essa razão, qualquer problema nesse manancial afeta todo o sistema integrado de abastecimento da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP). Dada a importância desse reservatório para o abastecimento público da RMSP, é de fundamental importância o conhecimento da composição da comunidade fitoplanctônica, visando tornar o monitoramento de qualidade de água mais efetivo. Para tanto, a descrição taxonômica dos grupos fitoplanctônicos predominantes no complexo da Billings tem sido realizada desde 1960 por Palmer (1960) a 2018 por Sant'Anna *et al.* (2018).

Segundo a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2017), responsáveis pelo monitoramento da qualidade de água interiores em todo Estado de São Paulo, os custos de amostragem da comunidade fitoplanctônica são relativamente altos e o processo de implementação é complexo, em decorrência do Estado possuir maior crescimento econômico, as maiores áreas metropolitanas, industriais e agrícolas do país e por consequência apresentar um avançado processo de eutrofização dos recursos hídricos. Neste contexto, a CETESB realiza amostragens trimestrais e contagens manuais de grupos fitoplanctônicos em 6 pontos na represa Billings. Apesar da precisão dos métodos de coleta e análise, a cobertura espacial e temporal não é suficiente para fornecer uma imagem em tempo real das condições dos diferentes corpos de água

Tradicionalmente, a biomassa fitoplanctônica é monitorada por uma combinação de métodos laboratoriais, com enfoque na quantificação de clorofila-a, pigmento comum nas comunidades fitoplanctônica, indicando a sua biomassa (AWWA, 2010; BASTIEN *et al.*, 2011). A clorofila-a tem sido usada por muitos anos como um indicador da biomassa fitoplanctônica, no entanto não é específica para cianobactérias (AWWA, 2010). Contudo, as cianobactérias possuem como pigmento específico a Ficocianina, pigmento azul que pode ser utilizado como identificador de florações (ZAMYADI *et al.*, 2016).

Assim, em complemento aos métodos de quantificação convencional, sensores de Ficocianina estão se tornando cada vez mais populares, pois oferecem a capacidade de monitorar a biomassa de cianobactérias em tempo real, uma vez que podem ser usados *in situ*,

seja em plataformas ou como dispositivos portáteis (IZYDORCZYK *et al.*, 2009). Espécies como *Microcystis aeruginosa* podem otimizar sua posição na coluna de água para aproveitar a luz nas águas superficiais. Isso aumenta sua variabilidade espacial e temporal. Por essa razão, os sensores de Ficocianina oferecem uma ferramenta de monitoramento econômica para monitorar as alterações nas cianobactérias em tempo real ou para amostragens discretas frequentes (ZAMYADI *et al.*, 2016).

A medição instantânea das florações de cianobactérias é importantíssima para que os gestores dos mananciais da (RMSP), principalmente no complexo Billings, possam tomar decisões rápidas e eficientes. As concessionárias de saneamento, principalmente a Companhia Saneamento Básico de São Paulo (SABESP), que realiza o monitoramento dos mananciais da RMSP, têm interesse no uso desses sensores, pois eles tornam as análises mais rápidas e baratas, diminuem os custos de reagentes e mão-de-obra, e ainda é possível que os recursos humanos necessários a essas atividades sejam destinados a realizar outras tarefas, também essenciais ao monitoramento, garantindo assim sua efetividade (HANISCH; FREIRE-NORDI, 2015). Além disso, um histórico consistente e relativamente preciso que capte a dinâmica da comunidade fitoplanctônica pode ajudar no entendimento dessas proliferações e ainda fornecer uma base de dados consistentes para aplicação de modelos matemáticos.

Em função do exposto, esse trabalho teve como principal objetivo estudar o desempenho de uma sonda fluorimétrica para a determinação indireta de Cyanobacteria pela medida da fluorescência da Ficocianina no reservatório Billings/SP.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Validar medidas obtidas por um sensor de Ficocianina visando monitorar as populações de cianobactérias assim como possíveis florações em sistemas aquáticos continentais.

### **2.1 Objetivos específicos**

- Determinar a composição da comunidade fitoplanctônica com ênfase em Cyanobacteria
- Monitorar por fluorescência *in situ* a Ficocianina da população de Cyanobacteria
- Avaliar a correlação dos resultados de biomassa de cianobactérias pelo sensor de Ficocianina com o método laboratorial de avaliação de biomassa por microscopia.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A comunidade fitoplanctônica

Segundo Reynolds (2006), o termo plâncton se refere ao coletivo de organismos que são adaptados a passar parte ou totalidade de suas vidas em aparente suspensão em águas abertas dos mares, lagos, lagoas e rios. Sabe-se que o plâncton é constituído por uma comunidade de organismos com capacidade restrita de locomoção, sendo ou não transportados passivamente pelas correntes ou movimentos de água e pode ser classificado em diversos critérios como tamanho, habitat, tempo de permanência no ambiente pelágico e outros (PEREIRA e SOARES-GOMES, 2002). Ainda é possível classificar o plâncton quanto ao seu tamanho, sendo denominado de mesoplâncton (de 200  $\mu\text{m}$  a 2.000  $\mu\text{m}$ ), microplâncton, entre 20  $\mu\text{m}$  e 200  $\mu\text{m}$ , nanoplâncton, de 2,0  $\mu\text{m}$  a 20  $\mu\text{m}$  e picoplâncton, entre 0,2  $\mu\text{m}$  a 2,0  $\mu\text{m}$  (SIEBURTH *et al.*, 1978).

O fitoplâncton é um grupo diversificado, polifilético, que aproximadamente 3,5 milhões de anos oxigena a atmosfera terrestre. Trata-se de uma comunidade de plantas e bactérias microscópicas adaptadas à vida em suspensão nos ecossistemas aquático, sujeitas a movimentos passivos provocados por ventos e correntes. Existem cerca de quatro mil espécies para o fitoplâncton de águas continentais. Estes organismos estão presentes em várias formas, tamanhos e podem expressar uma variedade bastante elevada, tanto intra quanto interespecífica em sua morfologia (REYNOLDS, 2006).

Calijuri, Alves, Santos (2006) afirmam que os principais grupos fitoplânctônicos de águas continentais são: cianobactérias, diatomáceas e dinoflagelados e que, dentre esses grupos, as cianobactérias são consideradas as maiores fontes de problemas, devido ao seu potencial tóxico. Na maioria dos reservatórios brasileiros, as classes Chlorophyceae, Cyanophyceae e Bacillariophyta predominam quanto à riqueza de espécies, independentemente do estado trófico (SANT'ANNA *et al.*, 2008; RODRIGUES, SANT'ANNA e TUCCI, 2010).

Segundo Serafim Júnior *et al.* (2010) em reservatórios cujo estado trófico seja caracterizado como oligotrófico e mesotrófico, há dominância das algas palatáveis para maior parte do zooplâncton, como as algas pertencentes as classes Bacillariophyta e Chlorophyceae (RIETZLER *et al.*, 2002; BONECKER e AOYAGUI, 2005). Comumente o zooplâncton controla o crescimento populacional do fitoplâncton (FERNANDES *et al.*, 2005). Contudo, em ambientes eutrofizados a comunidade zooplanctônica é caracterizada por pequenos filtradores de modo que o consumo do fitoplâncton é ineficiente, conseqüentemente, não suprimindo as florações de Cyanobacteria (SERAFIM-JÚNIOR *et al.*, 2005). Estudos que compreendem a

comunidade fitoplanctônica, desde as condições ecológicas, composição e distribuição temporal e espacial, são essenciais para o conhecimento dos principais mecanismos de funcionamento dos ecossistemas aquáticos (PADISÁK *et al.*, 2006).

Vários trabalhos descrevem a estrutura da comunidade fitoplanctônica em reservatórios brasileiros. Dentre eles, destacam-se os trabalhos de DOS SANTOS e CALIJURI, 1998; BOUVY *et al.*, 2000; FIGUEREDO e GIANI, 2001; CALIJURI *et al.*, 2002; FALCO e CALIJURI, 2002; RAMIREZ e BICUDO, 2002; TUCCI e SANT'ANNA, 2003; CARVALHO, 2003; SILVA *et al.*, 2004; TRAIN *et al.*, 2005; MOURA *et al.*, 2007; BORGES *et al.*, 2008; NISHIMURA, 2008; CROSSETTI *et al.*, 2008; DELLAMANO-OLIVEIRA *et al.*, 2008; BECKER *et al.*, 2009, FIGUEREDO e GIANO 2009; GEMELGO; MUCCI; NAVAS-PEREIRA, 2009; RODRIGUES, 2010; SAWATANI; LOPES, 2011; SANT'ANNA *et al.*, 2012, PIRES, 2014; ROSAL, 2014; MOUTINHO, 2016; SANT'ANNA *et al.*, 2018.

É bem reconhecido que, os padrões de mistura e a disponibilidade de luz e nutrientes atuam em conjunto, fornecendo o modelo de habitat favorável para diferentes assembleias de algas (Reynolds, 1994). A comunidade fitoplanctônica pode funcionar como um “sensor” de mudanças em ambientes aquáticos e responde rapidamente a tais mudanças. De acordo com a frequência e intensidade dessas mudanças, os aspectos qualitativos e quantitativos da biota podem ser modificados, selecionando espécies por meio de mecanismos de competição que permitam a sobrevivência de espécies favorecidas por suas estratégias adaptativas (MARGALEF, 1983; REYNOLDS, 1988).

Uma maneira de se reconhecer o nível de degradação e qualificar o estado trófico de um corpo hídrico é através do monitoramento físico, químico e biológico da água. Neste sentido, o estudo das características biológicas da água por meio da comunidade fitoplanctônica, têm contribuído cada vez mais no monitoramento dos ecossistemas aquáticos, devido à elevada sensibilidade desses organismos em relação às variações das condições ambientais (BRASIL e HUSZAR, 2011). Devido à esta sensibilidade, estes organismos podem ser utilizados como bioindicadores da qualidade da água, já que sua composição e distribuição podem variar de acordo com o grau de trofia do ambiente (SANTOS *et al.*, 2016).

### **3.2 Monitoramento de cianobactérias**

Entre os microrganismos, a Cyanobacteria é considerada um dos mais antigos, versáteis e ecologicamente bem-sucedidos do grupo, habitando várias condições extremas (ABED *et al.*, 2009). São microrganismos procariotos capazes de realizar fotossíntese e podem ser

unicelulares, coloniais ou filamentosas. Há cerca de 150 gêneros e 2000 espécies, segundo Carvalho (2006), e são encontradas em diversos habitats como: águas doce, salobra e oceânica, com grandes amplitudes térmicas (APELDOORN *et al.*, 2007). Além disso, por possuírem estratégias adaptativas, tornam-se preponderantes em relação aos outros grupos de fitoplâncton, principalmente pela busca do posicionamento ideal dentro da coluna d'água (OLIVER *et al.*, 2012).

Sob condições apropriadas como, grande quantidade de nutrientes, particularmente nitrogênio e fósforo, temperaturas acima de 25°C e luminosidade adequada, as cianobactérias podem multiplicar-se rapidamente e desenvolver florações (COLES; JONES, 2000). As principais razões por trás dessa expansão, são apontadas para as mudanças climáticas e os insumos de nutrientes antropogênicos causando assim, as florações de cianobactérias (CHORUS e BARTRAM, 1999; CODD *et al.*, 2005; ANDERSON *et al.*, 2012 O'NEIL *et al.*, 2012; PAERL e PAUL, 2012).

Um aumento global na frequência, intensidade e duração das florações de cianobactérias causam preocupações, já que muitas espécies produzem compostos nocivos que representam um risco para a saúde humana e animal (CODD *et al.*, 2005; HARKE *et al.*, 2016). As cianobactérias podem produzir e liberar toxinas. Esta liberação ocorre somente na água se a parede celular for rompida, e esta ação é potencializada com a utilização de algicidas, os quais eram usados para controlar florações de cianobactérias, mas podem promover a lise celular e, consequentemente a liberação de toxinas na água (SIVONEN e JONES, 1999).

Segundo Sant'Anna *et al.* (2006), em regiões tropicais e subtropicais, os principais gêneros responsáveis pela produção de toxinas são *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Planktothrix* e *Radiocystis*. De acordo com Carmichael, (1994), Chorus e Bartram, (1999), cianotoxinas podem ser classificadas em três grupos, de acordo com a estrutura química: peptídeos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos. As microcistinas, possuem efeito hepatotóxico, e pertencem ao grupo dos peptídeos cíclicos e são produzidas pelos gêneros planctônicos *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Planktothrix*. A nodularina foi caracterizada pela espécie *Nodularia spumigena*. Do grupo alcalóides, as neurotoxinas são: anatoxina-a, encontrada nos gêneros *Dolichospermum*, *Oscillatoria* e *Aphanizomenon*, *homoanatoxina-a* no gênero *Oscillatoria*; anatoxina-a (s) em *Dolichospermum* e a saxitoxina produzidas pelos gêneros *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, e *Cylindrospermopsis*, que podem provocar problemas cardiorespiratórios. As cianobactérias do

gênero *Merismopedia* produzem lipopolissacarídeos (dermatotoxina), que são conhecidos por irritarem a pele e também causar distúrbios gastrointestinais.

De fato, muitos dados sobre cianobactérias tóxicas brasileiras foram obtidos após a tragédia de Caruaru – Brasil em 1996, 52 pacientes morreram devido a presença de microcistinas e cilindrospermospsina nos tecidos do fígado, bem como na resina do sistema de tratamento de água do centro de hemodiálise onde pacientes faziam tratamento (AZEVEDO *et al.*, 2002).

No Brasil, as florações de cianobactérias tóxicas com maior potencial e que tem maiores ambientes aquáticos são formadas pelos gêneros *Microcystis* e *Dolichospermum*, nas quais o gênero *Microcystis* apresentam uma maior tolerância à diferentes climas e qualidades da água, comparada ao gênero *Dolichospermum* (SANT'ANNA *et al.*, 2008).

Florações de cianobactérias em reservatórios de água para abastecimento, apresentam alguns desafios significativos durante os processos de tratamento de água e, se tóxicas, constituem um perigo potencial para a saúde do consumidor (FALCONER, 1994; FALCONE e HUMPAGE, 2005; CODD, 2000; MANKIEWICZ *et al.*, 2003). Em regiões abastecidas por mananciais que apresentam florações, facilmente podem colmatar filtros em estações de tratamento de água e acarretar maiores gastos relativos ao tratamento com produtos químicos (SOBRAL *et al.*, 2017). Para evitar este cenário, estratégias de prevenção e controle devem ser realizadas e, isso só pode ser conseguido com uma abordagem de monitoramento integrada capaz de detectar ambos os aumentos na densidade de cianobactérias e nas condições do ambiente aquático (CICERELLI *et al.*, 2017). Como os processos convencionais de tratamento de água potável não são totalmente eficazes na eliminação do sabor, odor ou remoção de cianotoxinas, os seres humanos podem ser expostos. Dessa forma, a detecção e quantificação da biomassa de cianobactérias é fundamental para fornecer um alerta precoce do desenvolvimento de florações (TUNDISI *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2015; SHI *et al.*, 2015).

No Brasil, a importância de monitorar o crescimento de cianobactérias levou à criação de uma Lei específica, a Portaria de Consolidação nº5 de 2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017), que estabelece os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, bem como regulamenta que em mananciais superficiais utilizados para abastecimento público, o mesmo deverá ser monitorado conforme o fluxograma apresentado na Figura 1. O Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA, Resolução 357 de 2005 (BRASIL, 2005), prioriza que a saúde, o bem-estar e o equilíbrio ecológico, não devem ser afetados pela degradação da qualidade das águas. Está

resolução dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e o padrão de densidade de cianobactérias para cada classe de água, destinada ao consumo humano com tratamento (Figura 2). Tais condições e os padrões de qualidade da água são necessários para atender aos usos atuais e futuros das diferentes classes de água.

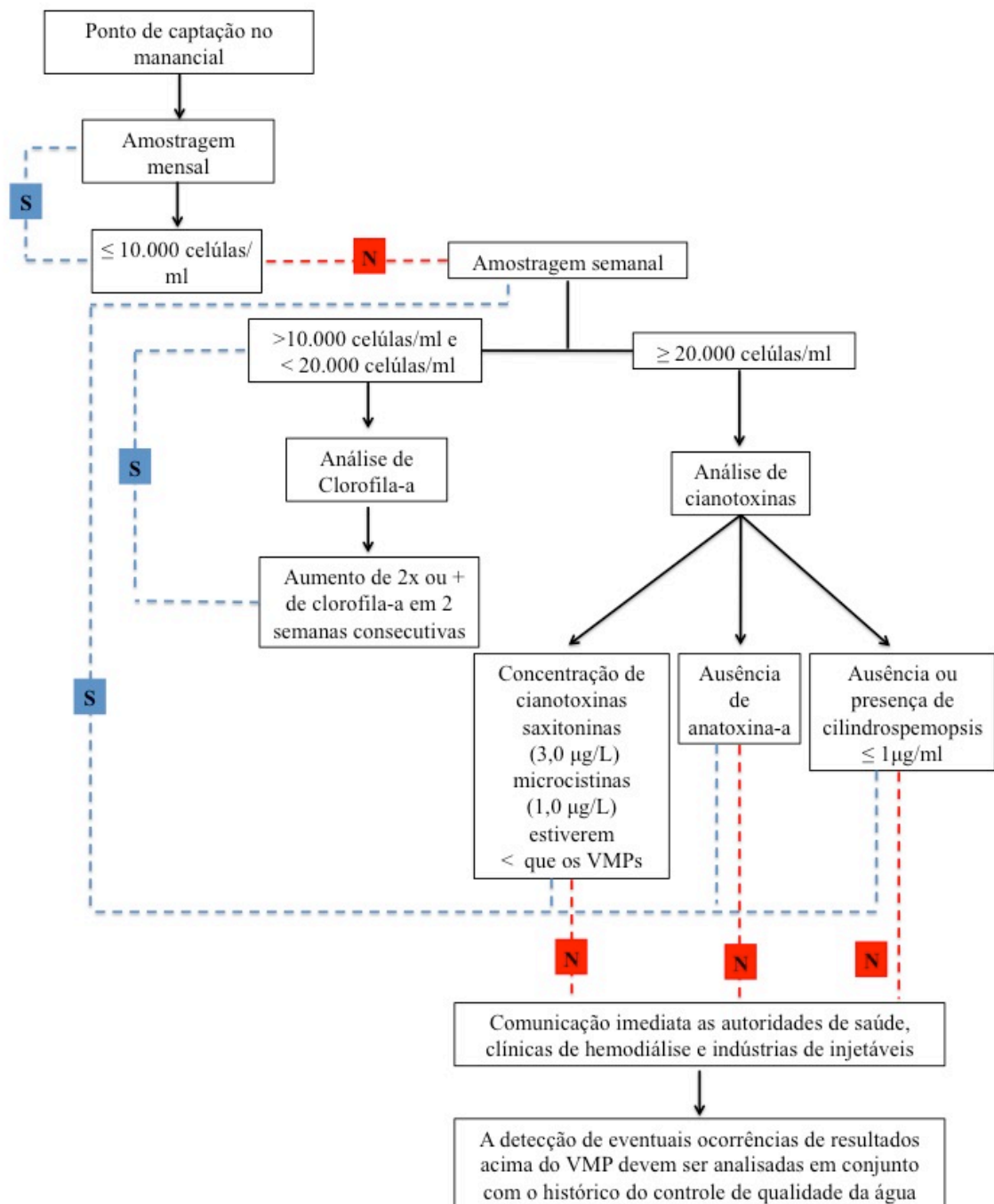


Figura 1: Fluxograma do monitoramento de Cyanobacteria, clorofila-a e cianotoxinas, conforme Portaria de Consolidação nº5 de 2017. (S) sim; (N) não; (VMPs) valor máximo permissíveis

Fonte: Adaptado (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006).

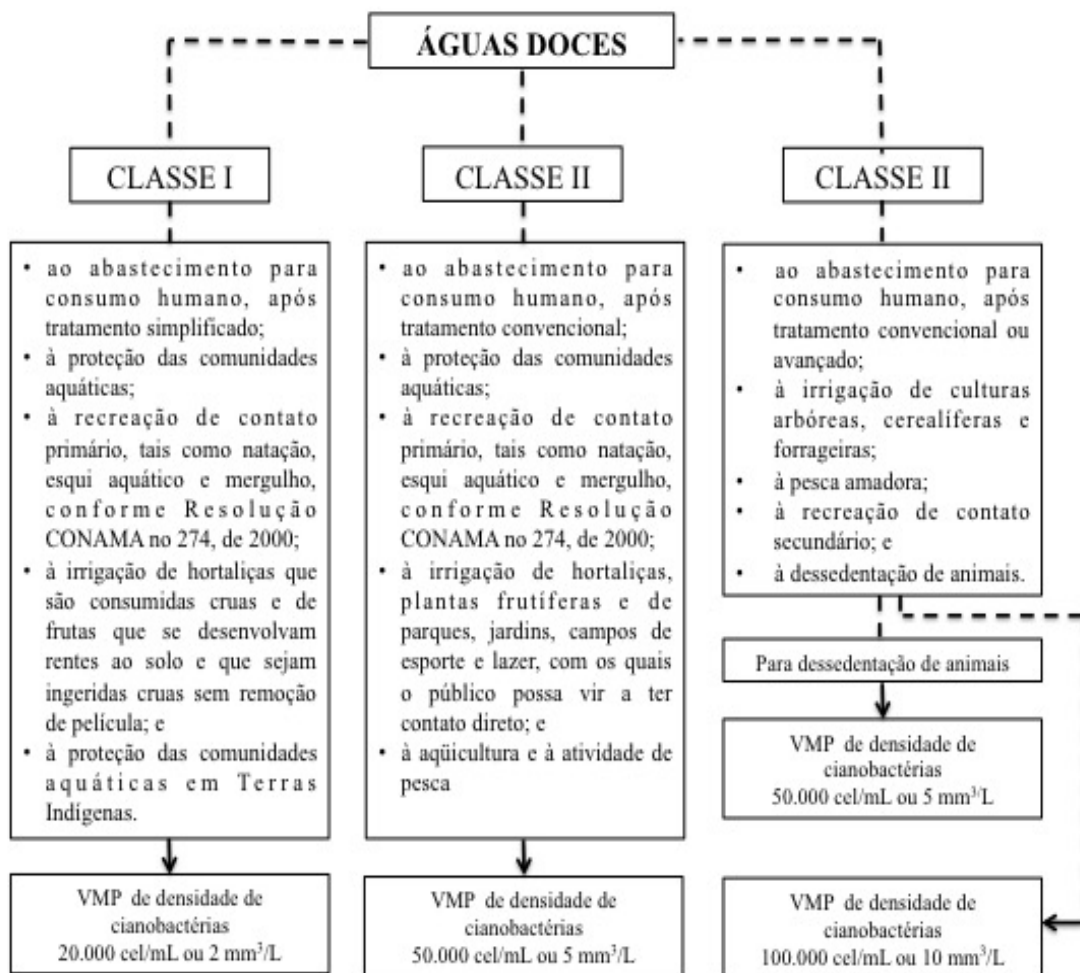


Figura 2: Fluxograma com o padrão de densidade de Cyanobacteria para cada classe de água, destinada ao consumo humano com tratamento de acordo com CONAMA 357 de 2005. VMP) valor máximo permissível.

Fonte: Baseado em (BRASIL, 2005).

A abundância de cianobactérias é um importante indicador da qualidade das águas sendo o seu monitoramento necessário para sistemas de alertas, visando a segurança da saúde humana e animal (HUNTER *et al.*, 2010). Realizar o monitoramento, principalmente em reservatórios de abastecimento público, cria percepções sobre os motivos da presença de cianobactérias potencialmente tóxicas, dão alternativas para a mitigação dos impactos causados no ecossistema e o mais importante, garante a saúde da população (FILHO, 2009).

### 3.3 Monitoramento com sonda de fluorescência de Ficocianina

O monitoramento de cianobactérias e outros organismos fitoplanctônicos tem recebido muita atenção ao longo dos anos. Uma importante questão de monitoramento tem sido a necessidade de técnicas rápidas de detecção e quantificação (LEE *et al.*, 2016). Portanto, é

importante ter um eficiente sistema de alerta precoce para cianobactérias em água bruta que possa fornecer informações rápidas aplicáveis ao tratamento de água (IZYDORCZYK, 2005).

Existem diversas tecnologias que auxiliam no monitoramento de cianobactérias, todas baseadas em fluorescência. Alguns exemplos são: sensores ópticos, sensoriamento remoto, espectrofotometria, fluorimetria e citometria de fluxo. As duas primeiras são métodos adequados para avaliações de campo. Os sensores ópticos podem funcionar efetivamente na "microescala" (cm<sup>3</sup> da amostra de água) e sensoriamento remoto na "macroescala" (até muitos km<sup>2</sup> da superfície da água) (GHOLIZADEH *et al.*, 2016). Os sensores ópticos podem ler os comprimentos de onda do pigmento *in situ*, dentro da água. Isto fornece uma estimativa da concentração de pigmento *in vivo* que pode ser relacionada à biomassa de cianobactérias (ZAMYADI *et al.*, 2012).

O método de fluorescência tornou-se muito mais avançado nos últimos anos com diodos emissores de luz (LED) e filtros ópticos específicos, oferecendo a oportunidade de melhorar significativamente a tecnologia das sondas fluorescentes existentes (AWWA, 2010; BUI; HAUSER, 2015; IZYDORCZYK *et al.*, 2005). Cada sonda comercialmente disponível emite e mede comprimentos de onda diferentes; algumas sondas concentram-se exclusivamente na fluorescência de cianobactérias, enquanto outras medem toda a comunidade fitoplanctônica (ZAMYADI *et al.*, 2012).

Todos os organismos fotossintéticos contêm chlorofila-a (Chla) e pigmentos auxiliares como os carotenóides e ficobiliproteínas tais como as ficoeritrobins que produzem o pigmento ficoeritrina e as ficocianobilinas que produzem os pigmentos Altofíocianina e Ficocianina. Além destas, a maioria dos grupos de algas contém uma das clorofilas acessório, a clorofila-b (Chlb) ou clorofila-c (Chlc). No entanto, a (Chla) não é um pigmento específico de cianobactérias, o que a torna pouco informativa em relação à presença e abundância delas (GREGOR *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 1995; ZAMYADI *et al.*, 2012).

Existem estudos que indicam que todos os tipos de ficobiliproteínas encontrados nas criptofíceas são originalmente derivados de ficoeritrina, visto que a Aloficocianina e Ficocianina foram perdidas ao longo do processo evolutivo. O tipo de ficobiliproteína tem sido utilizado para auxiliar a taxonomia das criptofíceas e existe correlação entre o tipo do pigmento e a filogenia molecular. Nos grupos vermelhos de criptofíceas, as Ficobiliproteínas são mais conservadas. Por exemplo, a Ficoeritrina 545nm é encontrada nos gêneros *Rhodomonas*, *Rhinomonas*, *Storeatula*, *Teleaulax*, *Hanusia*, *Guillardia*, *Proteomonas* *Plagioselmis* e

*Geminigera*. A Ficoeritrina 566nm é exclusiva do *Cryptomonas*, assim como a Ficocianina 569nm do gênero *Falcomonas* (MAGALHÃES, 2018).

O pigmento de Ficocianina está presente e é característico das cianobactérias e assim é considerado um indicador eficaz para detecção, quantificação, e monitoramento dos níveis de cianobactérias (DUAN; MA; HU, 2012). A Ficocianina possui cor azul clara característica, absorvendo luz laranja e vermelha, particularmente perto de 620 nm, e emite fluorescência a cerca de 650 nm, como ilustra a Figura 3. Os pigmentos dessas células absorvem a energia da luz com certa eficiência e reemitem a luz em diferentes comprimentos de onda conforme absorvida. A transferência de energia de uma célula com fluorescência de um determinado comprimento de onda permite a quantificação de diferentes grupos fitoplanctônicos, geralmente cianobactérias, algas verdes e diatomáceas (LEE *et al.*, 2016).

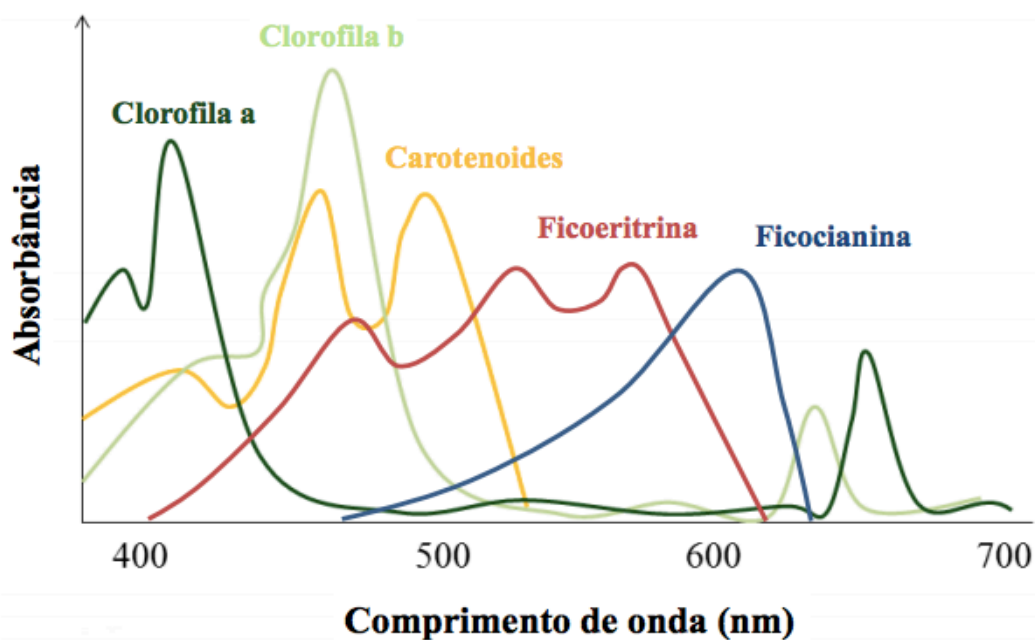


Figura 3: Absorbância relativa dos pigmentos fotossintéticos em função do comprimento de onda da luz no espectro eletromagnético.

Fonte: DELLA *et al.*, (2018)

Para Seppälä *et al.* (2007) o espectro de excitação descreve os comprimentos de onda onde a energia é absorvida para causar fluorescência das moléculas de pigmento. Especificamente, os fótons de energia luminosa são absorvidos por elétrons fracamente ligados, fazendo com que saltem para níveis mais altos de energia. Como a fluorescência é um tipo de luminescência, isso é seguido pela emissão de um fóton de energia mais baixa que ocorre com um atraso de tempo quando os elétrons retornam a um estado de energia mais baixo. Como a

energia é inversamente proporcional ao comprimento de onda, a emissão resultante é sempre maior que o da luz incidente.

A fluorescência do fitoplâncton pode ser medida *in situ*, sem extração de pigmento, quantificando os organismos fotossintéticos em seu ambiente natural, fornecendo uma estimativa da biomassa. Como já foi mencionado, é possível detectar a presença de classes específicas de fitoplâncton por meio da sinalização espectral da sua fluorescência de pigmento (BEUTLER *et al.*, 2002, 2004). Da mesma forma, os espectros de diferentes fluorescências oferecem a oportunidade de diferenciar cianobactérias de outras algas (SEPPÄLÄ *et al.*, 2007). O sensor de medição de fluorescência submersível consiste de 5 componentes ópticos principais (Figura 4), uma fonte de luz, um sistema de lente para transmitir a luz excitante ao volume de amostra, um segundo sistema de lente para reunir a fluorescência emitida, um ou mais filtros ópticos para separar a excitação e emissão de comprimentos de onda e um detector de fluorescência (LEE *et al.*, 2016).

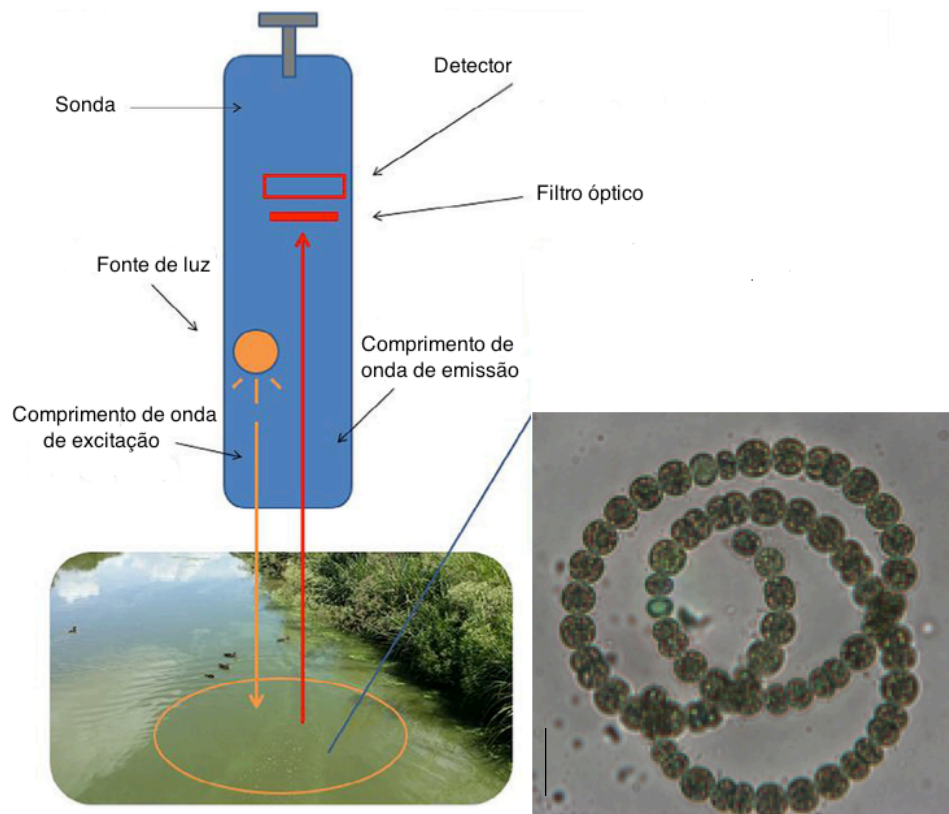


Figura 4: Ilustração da função tecnológica de medição de fluorescência *in situ*.

Fonte: Adaptado de (AWWA, 2010; CAGNARD *et al.*, 2006; GREGOR; MARSÁLEK, 2004; GREGOR; MARSÁLEK; SÍPKOVÁ, 2007).

Estudos mostraram que os sensores se correlacionam bem com as medidas de biomassa de algas e cianobactérias e, portanto, têm sido recomendadas como ferramentas sensíveis para o gerenciamento de água *in-situ* em tempo real, (Beutler *et al.*, 2002 ; Leboulanger *et al.*, 2002; Gregor, Marsálek, 2004; Parésys *et al.*, 2005; ;Simis, Peters, Gons, 2005; Izydorczyk *et al.*, 2005,2009; Cagnard *et al.*, 2006; Gregor *et al.*, 2007; Ahn *et al.*, 2007) Seppala *et al.*, 2007; Brient *et al.*, 2008; Richardson *et al.*, 2010; Bastien *et al.*, 2011; McQuaid *et al.*, 2011;Wlodarczyk, Moldaenke, Fiedor (2012); Zamyadi *et al.*, 2012; 2012; Kong *et al.*, 2014, 2014; Song *et al.*, 2013; Kring *et al.*, 2014; Macário *et al.*, 2015; Loisa (2015); Lee *et al.*,2016; Silva *et al.*, 2016;Harison *et al.*, 2016; Cicerelli *et al.*, 2017; Cotterill, 2017; Cremella, 2017; Choo *et al.*, 2018; Bertone, Burford, Hamilton (2018); Hodges *et al.*, 2018; Shin *et al.*,(2018); Cotterill *et al.*, 2019).

Deve-se atentar que nem todas as cianobactérias produzem toxinas, portanto, a detecção remota de florações de cianobactérias serve como um alerta do florescimento de cianobactérias, mas não avalia as espécies ou a toxicidade diretamente (BECK *et al.*, 2017). Para isso, são necessárias ainda as análises laboratoriais às vezes até mesmo em nível celular (CULLEN, 2008). Assim essa técnica não informa quais são os grupos dominantes, apenas representa uma análise quantitativa e não qualitativa das espécies, fornecendo uma inferência da concentração.

Entretanto, os benefícios da fluorimetria *in vivo* incluem facilidade, velocidade e capacidade de obtenção de grandes quantidades de dados. Não é necessário nenhum tratamento especial ou processamento de amostras, tornando a fluorimetria *in vivo* ideal para a coleta de dados em tempo real (LEE *et al.*, 2016). Portanto, essa técnica vem se mostrando uma ferramenta promissora (BEUTLER *et al.*, 2002; GREGOR; MARSÁLEK; SÍPKOVÁ, 2007), sem extração de pigmento fornecendo a oportunidade de monitoramento em tempo real do fitoplâncton na água (AWWA, 2010; MCQUAID *et al.*, 2011). Podem fornecer informações de episódios de pré-florescimento para a gestão e operação de reservatórios de água potável por empresas de tratamento de água (CHANG *et al.*, 2012).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

O reservatório Billings está localizada a sudeste da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), (23°47' S e 46° 40' W), na bacia hidrográfica do Rio Tietê (

Figura 5), numa altitude de 746 metros, ocupando uma área de aproximadamente 120 Km<sup>2</sup>, com volume de 1,20x10<sup>9</sup> m<sup>3</sup> e profundidade média de 10 metros (LAMPARELLI *et al.*, 2014). É o maior reservatório de água da RMSP, com formas irregulares. Está subdividida em oito unidades, chamadas de braços, os quais correspondem às sub-regiões da Bacia Hidrográfica braço Rio Grande ou Jurubatuba, separado do Corpo Central pela barragem da Rodovia Anchieta; braço Rio Pequeno; braço Capivari; braço Pedra Branca; braço Taquacetuba; braço Bororé; braço Cocaia e braço Alvarenga (NISHIMURA; CARLOS; POMPÊO, 2015). Este reservatório foi escolhido no presente estudo por apresentar constantes florações de cianobactérias e ser utilizado como fonte de abastecimento público pela SABESP para RMSP.

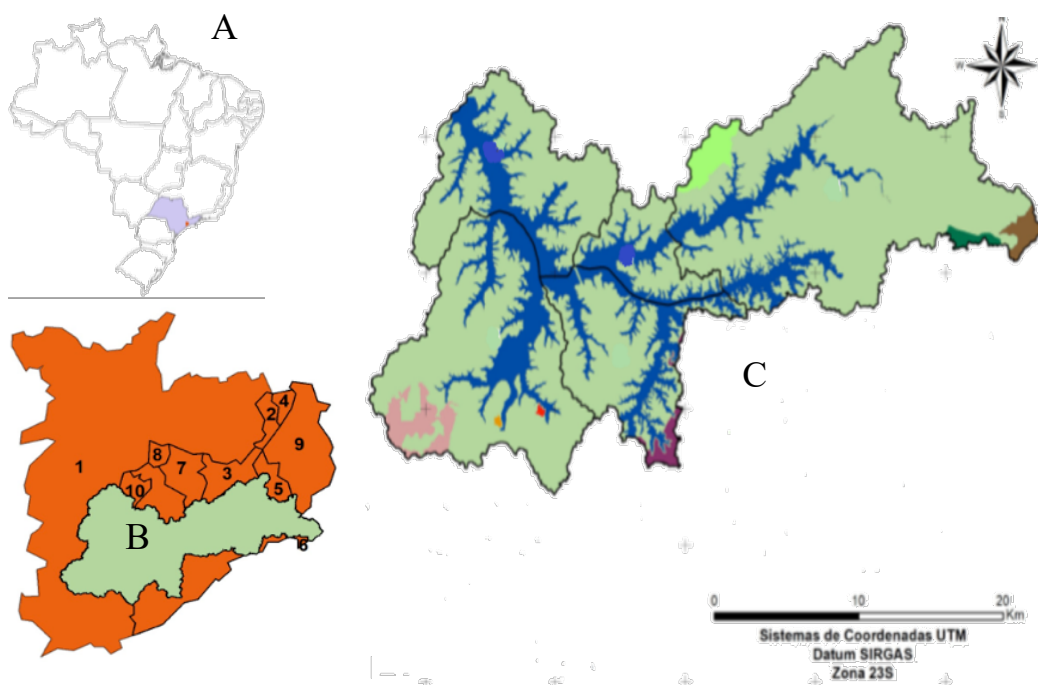


Figura 5: Localização do estado de São Paulo – Brasil (A); Região Metropolitana de São Paulo (B); Reservatório Billings (C).

Fonte: Base de Dados da Coordenadoria de Planejamento Ambiental, SP (2017), Base de Dados do IBGE (2017), Base de Dados do IBAMA (2018).

Os pontos selecionados para amostragem no reservatório Billings foram os seguintes: Barragem (23°43'24"S e 46°39'43"W); Corpo central (23°45'52"S e 46°38'33"W) e Braço Taquacetuba (23°49'45"S e 46°38'26"W). Para o estudo, mensalmente foram coletadas amostras na subsuperfície da coluna d'água entre 9h e 12h, no período de maio a novembro de 2018. A Figura 6 ilustra esses pontos no reservatório Billings.



Figura 6: Localização geográfica dos pontos de amostragem no reservatório Billings

Fonte: Google Earth Pro (2019).

A escolha dos pontos foi devido a barragem receber a transposição do rio Pinheiros para a represa Billings, o corpo central ser as águas originárias da barragem de Pedreira e o braço Taquacetuba por fazer a reversão da represa Billings, para o reservatório Guarapiranga, considerado segundo maior manancial do sistema de abastecimento da RMSP.

## 4.2 Procedimentos realizados em campo

### 4.2.1 Coleta e preservação do fitoplâncton

Para análise qualitativa da comunidade fitoplanctônica, as amostras foram coletadas com rede de nylon de 20  $\mu\text{m}$  de abertura de malha, em arraste horizontal e preservadas com formol a 4%. Para as análises quantitativas, as amostras foram coletadas 20 cm abaixo da superfície com auxílio de uma garrafa de Van Dorn e preservadas com lugol 5%, na proporção de 1ml de lugol/100ml de amostra. As amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar com tampa (CETESB, 2012). A Figura 7 ilustra os equipamentos utilizados na coleta do fitoplâncton.



A



B

Figura 7: Procedimentos de coleta da comunidade fitoplanctônica realizada no reservatório Billings: rede de plâncton para coleta de água para análise qualitativa (A); garrafa coletora de água tipo “Van Dorn” para análise quantitativa (B).

Fonte: Autor.

#### 4.2.2 Variáveis física, química e biológica realizadas utilizando a sonda multiparâmetro

As variáveis temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $\text{mg/L}$ ), condutividade ( $\mu\text{S/cm}$ ), Ficocianina ( $\text{cél.s.mL}^{-1}$ ), clorofila-a ( $\mu\text{g/L}$ ), pH, amônia ( $\text{mg N/L}$ ), nitrato ( $\text{mg N/L}$ ) e potencial redox ( $\text{mV}$ ) foram obtidas em campo com auxílio de sondas multiparâmetros do modelo HACH HYDROLAB DS5X nos três pontos de amostragem no período de maio a novembro de 2018. A Figura 8 ilustra as sondas e seus respectivos sensores.

Operar a sonda significa colocá-la na água enquanto conectada a um notebook ou equipamento capaz de captar suas leituras. A função *Online Monitoring* possibilita a escolha do intervalo de tempo entre as medidas dos sensores bem como permitir escolher quais sensores instalados na sonda irão operar.



Figura 8: Sondas HACH DS5X utilizadas no campo para obter medidas em tempo real (A): sensor de clorofila ( $\mu\text{g/L}$ ) (1); sensor de Cyanobacteria para leitura Ficocianina (milivolts) (2); turbidez (NTU), (3); amônia ( $\text{mg N/L}$ ) (4); potencial redox ( $\text{mV}$ ) (5); nitrato  $\text{mg N/L}$  (6); pH (7); temperatura  $^{\circ}\text{C}$  (8); condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}$ ), (9); oxigênio dissolvido ( $\text{mg/L}$ ) (10).

Fonte: Autor

Durante a coleta das amostras de água na represa Billings, a sonda foi operada pela sua imersão na profundidade estabelecida (20cm), durante três minutos e com medidas em

intervalos de cinco segundo, como mostra a Figura 9. Os dados quantificados foram então exportados e salvos em planilhas do Microsoft Excel pelo próprio HYDRAS3 LT.

Para converter as leituras em unidades de Ficocianina, foi utilizada uma curva de calibração. Para a calibração do sensor de Ficocianina, foi feita a correlação entre os níveis de fluorescência de Ficocianina (milivolts) e a quantificação fitoplanctônica realizada em laboratório ( $\text{cél.mL}^{-1}$ ).



Figura 9: Procedimento de coleta de dados em campo utilizando a sonda

Fonte: Autor

#### 4.2.3 *Transparência (m)*

Para estimar os valores de transparência no corpo d'água, utilizou-se o disco de Secchi (Figura 10). A leitura da profundidade da transparência, foi realizada pela estimativa da profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (SISTE; GIRÃO; DUNCAN, 2011).



Figura 10: Procedimento da estimativa de transparência utilizando o disco de Secchi

Fonte: Autor

### 4.3 Procedimentos realizados em laboratório

#### 4.3.1 *Análise de Clorofila-a, Nitrato e Fósforo total*

As amostras processadas em laboratório foram clorofila-a, nitrato, fósforo total e oxigênio dissolvido. Foram realizadas no laboratório da Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema e na Universidade Federal de Itajubá. A Tabela 1 mostra o princípio e o métodos adotados para realização das análises

Tabela 1: Métodos de quantificação das variáveis clorofila -a, nitrato e fósforo total e suas respectivas metodologias

Parâmetro	Método	Princípio do método	Fonte
Clorofila-a	Monocromático	Espectrofotométrico	Cetesb (2014)
Nitrato	Digestão com persulfato	Espectrofotométrico	Crumpton (1992)
Fósforo total	Ácido ascórbico	Espectrofotométrico	Standard Methods (2005)

Fonte: Autor

### 4.3.2 Índice de estado trófico- IET

O Índice do Estado Trófico (IET), classifica os corpos d'água em diferentes níveis de trofia, avaliando a qualidade da água quanto ao enriquecimento por nutrientes. O IET de Carlson (1977) modificado por Toledo *et al.* (1983) para ambientes tropicais e posteriormente por Lamparelli (2004) para reservatórios, conforme utilizado pela CETESB (2018).

Reservatórios

$$\text{IET (CL)} = 10x (6 - ((0,92 - 0,34x (\ln \text{CL})) / \ln 2))$$

$$\text{IET (PT)} = 10x (6 - (1,77 - 0,42x (\ln \text{PT}) / \ln 2))$$

onde:

PT: concentração de fósforo total medida à superfície da água, em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ;

CL: concentração de clorofila a medida à superfície da água, em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ;

ln: logaritmo natural.

O resultado dos valores mensais apresentados nas tabelas do IET será a média aritmética simples, com arredondamento da primeira casa decimal, dos índices relativos ao fósforo total e a clorofila a, segundo a equação:

$$\text{IET} = [\text{IET (PT)} + \text{IET (CL)}] / 2$$

No monitoramento da qualidade da água no Estado de São Paulo, é composto pelos IET para a as variáveis transparência - IET (S), para o fósforo - IET (PT) e para a clorofila-a - IET (CL), Tabela 2.

Tabela 2: Classificação do Estado Trófico para reservatórios segundo Índice de Carlson Modificado

Categorias (Estado Trófico)	Classificação do Estado Trófico- Reservatórios			
	Ponderação	Secchi -S (m)	P- total P(mg.m <sup>3</sup> )	Clorofila-a (mg.m <sup>3</sup> )
Ultraoligotrófico	IET ≤ 47	S ≥ 2,4	P ≤ 8	CL ≤ 1,17
Oligotrófico	47 < IET ≤ 52	2,4 > S ≥ 1,7	< P ≤ 19	1,17 < CL ≤ 3,24
Mesotrófico	52 < IET ≤ 59	1,7 > S ≥ 1,1	< P ≤ 52	3,24 < CL ≤ 11,03
Eutrófico	59 < IET ≤ 63	1,1 > S ≥ 0,8	< P ≤ 120	11,03 < CL ≤ 30,55
Supereutrófico	63 < IET ≤ 67	0,8 > S ≥ 0,6	< P ≤ 233	30,55 < CL ≤ 69,05
Hipereutrófico	IET > 67	0,6 > S	233 < P	69,05 < CL

Fonte: CETESB (2017).

### 4.3.3 Biomassa fitoplanctônica

Esta etapa do trabalho foi realizada mediante colaboração científica entre o Núcleo de Pesquisa em Ficologia do Instituto de Botânica de São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, Campus Diadema (UNIFESP) e a Universidade Federal de Itajubá, Instituto de Recursos Naturais.

Para a identificação da comunidade fitoplanctônica nas amostras, foram realizadas preparação de lâmina e lamínula para serem observadas em microscopia óptica. Foram examinadas no mínimo cinco lâminas para cada ponto de amostragem em microscópio óptico binocular Zeiss, modelo Axioplan-2, nos aumentos de 400x. A lâmina foi percorrida transversalmente em toda a sua extensão para registrar o maior número possível de táxons. Foram realizadas fotografias por meio de captura das imagens com auxílio de uma câmera digital Sony Modelo W-30 adaptada à ocular micrométrica do microscópio.

O sistema de classificação adotado para a cianobactérias foi o de HOFFMANN; KOMÁREK; KASTOVSKY, (2005). Para a identificação dos demais táxons dos outros grupos fitoplanctônicos foi utilizado os trabalhos de BICUDO; MENEZES, (2017), KOMÁREK *et al.*, (2014), (SANT'ANNA *et al.*, 2018). Sistemas de classificação e bibliografia utilizada para identificação: Os sistemas de classificações adotados foram: HOFFMANN; KOMÁREK; KASTOVSKY (2005) para Cyanobacteria; Krienitz e Bock (2012) para as algas verdes; Round *et al.* (1990) para as classes Bacillariophyta, Fragilariophyceae e Coscinodiscophyceae; van den Hoek *et al.* (1995) para as demais classes fitoplanctônicas.

Foram utilizados trabalhos especializados para identificação de gêneros e espécies tais como: Azevedo & Sant'Anna (1999, 2003), Komárek *Anagnostidis* (1999, 2005), Komárek (2013), Komárek & Azevedo (2000), Komárková-Legnerová & Cronberg (1994), e Rosini *et al.* (2013b), e Sant'Anna *et al.* (2004) para Cyanobacteria; Alves *et al.* (2014), Comas (1996), Rodrigues *et al.* (2010) e Sant'Anna (1984), Komárek & Fott (1983), Rosini *et al.* (2012 e 2013a), Ramos *et al.* (2012) para algas verdes; Bicudo *et al.* (2013), para Chrysophyceae; Castro *et al.* (1991) para Cryptophyceae; dentre outros.

Atualizações taxonômicas foram realizadas com base nos trabalhos de An *et al.* (1999), Buchheim *et al.* (2005), Hegewald (1997, 2000), Hegewald & Hanagata (2000), Hegewald & Wolf (2003), Krienitz *et al.* (2003), Komárek *et al.* (2011), Kostikov *et al.* (2002), Wacklin *et al.* (2009).

#### 4.3.4 Densidade da comunidade fitoplanctônica (célis.mL<sup>-1</sup>)

A contagem do fitoplâncton foi realizada pelo método de sedimentação em câmara descrito por UTERMÖL, (1958). No presente estudo, utilizou-se cubeta com volume de 10ml. Para tanto, após homogeneização da amostra e com auxílio de uma pipeta pasteur, retirou-se uma alíquota e cuidadosamente preencheu-se o volume da câmara de Utermöhl. Uma lamínula foi usada para recobrir a câmara, evitando a formação de bolhas. Em seguida a amostra foi levada à câmara úmida onde permaneceu por no mínimo 4 horas, para a sedimentação dos organismos. A contagem foi realizada por transectos longitudinais ou verticais, de tal forma que dois campos não foram analisados de forma repetida.

O número mínimo de campos contados em cada contagem foi definido considerando-se a curva de estabilização de riqueza de espécies, obtidos a partir de novas espécies adicionadas pela contagem de campos. Considerou-se também a contagem de até 100 indivíduos da espécie mais comum; no caso de florações, a contagem de 100 indivíduos da segunda espécie mais comum. As cubetas foram analisadas em microscópio óptico binocular invertido Carl Zeiss do, modelo AxioVert, no aumento de 400x. Considerou-se como indivíduo cada célula, colônia ou filamento e ao mesmo tempo foi estimada o número de células para cada espécie encontrada. A densidade da comunidade fitoplanctônica foi calculada segundo a fórmula descrita por WEBER (1973), conforme Equação 1

$$\frac{\text{organismos}}{\text{mL}} = \frac{n}{s \cdot c} \frac{1}{h} F \quad 1$$

Em que: n = número de indivíduos contados  
s = área do campo em mm<sup>2</sup> no aumento de 400x  
c = número de campos contados  
h = altura da câmara de sedimentação em mm  
F = fator de correção para mL (10<sup>3</sup>mm<sup>3</sup>/ 1mL)

#### 4.4 Análises estatística

Para a análise dos dados, realizou-se o teste de correlação de Pearson para verificar as relações entre as variáveis físicas, químicas e biológicas. Foi aplicada uma análise de componentes principais (ACP) com o objetivo de avaliar como se comporta o conjunto de dados e o quanto estes dados explicam a variação dos parâmetros químico, físico e biológico nos diferentes locais amostrais. Para as análises estatísticas foi utilizado o *software* Past.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Índice de Estado Trófico – IET

Com o intuito de classificar os corpos d'água em seu grau de trofia, foi calculado o Índice do Estado Trófico (IET), utilizando as variáveis fósforo total (PT) ( $\text{mg.m}^{-3}$ ), clorofila-a (CL) ( $\text{mg.m}^{-3}$ ) e transparência (m). As análises desses índices nas três regiões de monitoramento, mostraram que durante o estudo (outono, inverno e primavera), os pontos da Barragem, Corpo central e Taquacetuba no reservatório Billings, foram classificados como hipereutrófico, com valores de IET acima de 67, Figura 11.

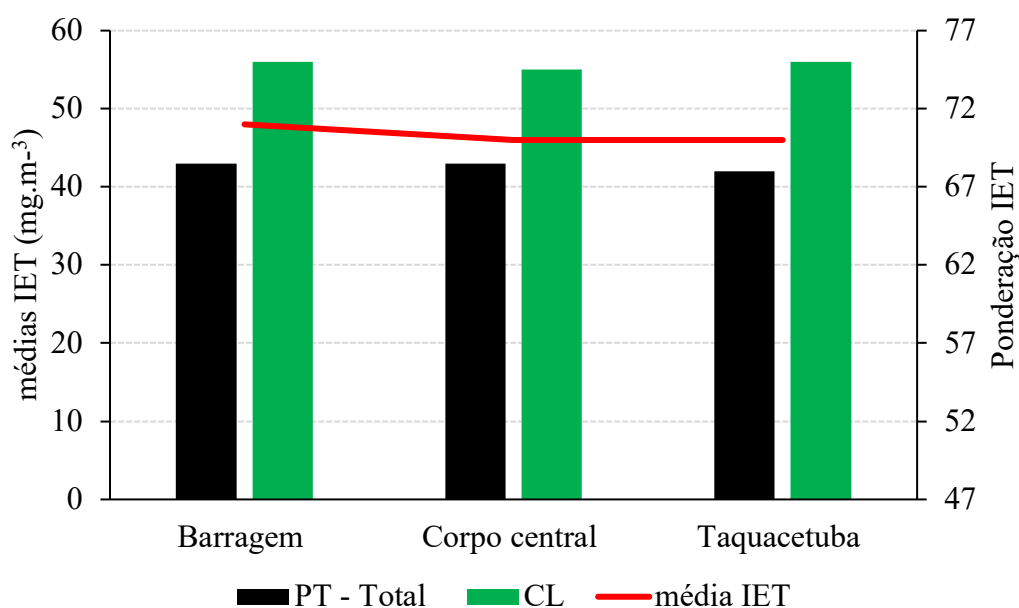


Figura 11: Valores médios do Índice de estado trófico (IET) dos três pontos de amostragem na Billings, ao longo do período de estudo.

Fonte: Autor

A média dos valores de transparência abaixo de (0,6m) (CETESB 2017), a Tabela 1, reforçam essa condição de ambiente hipereutrófico.

Tabela 1: Valores mensais da transparência da água (m) nos três pontos de amostragens na Billings.

<b>Coletas</b>	<b>Barragem</b>	<b>Corpo central</b>	<b>Taquacetuba</b>
Maio/18	1,10	1,20	1,20
Junho/18	1,38	1,75	1,13
Julho/18	0,75	0,75	0,75
Agosto/18	0,90	1,13	0,88
Setembro/18	0,38	0,83	0,65
novembro /18	0,30	1,00	0,80
<b>Média</b>	<b>0,80</b>	<b>1,11</b>	<b>0,90</b>

Fonte: Autor

A condição hipereutrófica encontrada no reservatório Billings-SP, evidencia a baixa qualidade da água, durante o período de estudo. As altas concentrações de nutrientes provavelmente provêm da população que vive às margens da bacia hidrográfica, a qual recebe efluentes domésticos sem tratamento prévio.

De acordo com a Cetesb (2017), os resultados obtidos com a variável fósforo, IET(P), devem ser compreendidos como uma medida do potencial de eutrofização, uma vez que este nutriente atua como um dos principais causadores do processo de enriquecimento dos corpos aquáticos. A fim de se obter uma resposta do corpo hídrico ao agente causador, considera-se o valor da clorofila-*a* IET(CL), que indica de forma adequada o nível de crescimento de algas que tem lugar em suas águas (potencial fotossintético). Dessa forma o índice médio engloba, de forma satisfatória, a causa e o efeito do processo.

Para Carvalho (2003), o reservatório Billings/SP, passa por intensa degradação, ocasionada pelo bombeamento do rio Pinheiros e a ocupação desordenada da bacia hidrográfica. Neste contexto, a autora encontrou o estado eutrófico, no outono e inverno para o IET (CL) e oligotrófico na primavera e inverno para IET (P).

Nishimura (2008) classificou o corpo d'água como oligotrófico nos meses de fevereiro, maio, agosto e novembro, utilizando o IET para transparência, mesotrófico no verão e eutrófico no inverno e primavera com o IET (CL). Moutinho (2016), assim como neste trabalho, encontrou o reservatório em estado hipereutrófico, com exceção da primavera, em que o reservatório foi classificado como eutrófico.

Outros estudos também realizaram o cálculo de IET em outros pontos no reservatório Billings-SP (MOSCHINI-CARLOS *et al.*, 2010; WENGRAT e BICUDO (2011); CUNHA *et al.* (2013) CORTEZ, 2013; CARDOSO-SILVA *et al.*, 2015; ROSAL (2014); PIRES, 2014),

além dos relatórios realizados e publicados anualmente pela CETESB (2017). Essa diferença dos resultados obtidos entre os trabalhos pode estar relacionada, ao formato dendrítico do reservatório, além da direção dos fluxos de água, o que possibilita uma maior oscilação espacial de alguns parâmetros (HENRY *et al.*, 1998).

O relatório apresentado pela CETESB 2017, indicou uma piora no grau de trofia do Reservatório Billings/SP ao avaliar os períodos de 2011 a 2016. Tal fato pode ser justificado pela menor diluição dos efluentes, com menor vazão e volume, em decorrência dos eventos de estiagem ocorridos em 2014 e 2015. Deve-se ressaltar que o aumento excessivo de (PT) leva à eutrofização do sistema aquático, o que contribui para a dominância de um único grupo de organismos, os de Cyanobacteria, afetando a riqueza de espécies do corpo aquático (WETZEL, 2001; TUNDISI E MATSUMURA-TUNDISI, 2008; ESTEVES, 2011).

## **5.2 Contribuição dos valores de densidade para cada classe fitoplanctônica no reservatório Billings**

Foram registradas dez classes fitoplanctônicas: Cyanobacteria, Chlorophyceae, Cryptophyceae, Bacillariophyta, Zygnemaphyceae, Euglenophyceae, Eustigmatophyceae, Trebouxiophyceae, Dinophyceae e Xanthophyceae.

A composição taxonômica encontrada neste trabalho foi similar ao de outros estudos realizados no reservatório Billings/SP como os de Carvalho (2003), Nishimura (2008), Gemelgo; Mucci; Navas-Pereira (2009), Tucci; Sawatani; Lopes (2011), Rodrigues (2010), Sant'Anna *et al.*(2012), Pires (2014), Rosal (2014); Moutinho (2016) e Sant'Anna *et al.*, (2018).

Em relação à densidade total das classes, durante todo o período de estudo (outono, inverno e primavera) e nos três pontos de amostragem, a classe que mais contribuiu em termos de céls. mL<sup>-1</sup> foi a Cyanobacteria (Figura 12). Carvalho (2003), Nishimura (2008), Gemelgo; Mucci; Navas-Pereira (2009), Tucci, Sawatani, Lopes (2011), Pires (2014) e Moutinho (2016), analisando a comunidade fitoplanctônica no reservatório Billings descreveram como grupo dominante a Cyanobacteria durante o período de estudo (verão, outono, inverno e primavera). Cyanobacteria podem ser o principal componente da comunidade fitoplanctônica em diferentes períodos do ano. Isso é evidente principalmente em sistemas tropicais que não tem períodos do ano tão bem definidos (Figueredo, Giani, 2009; Soares *et al.*, 2009).

Cyanobacteria demonstra ser mais representativa em ambientes eutrofizados, com possíveis episódios de florações, principalmente em corpos d'água próximos a centros urbanos (AZEVEDO *et al.*, 1994). De acordo com Sant'Anna *et al.*, (2006), esta grande representação em ambientes eutrofizados deve-se aos vários mecanismos de adaptação da classe dos organismos de Cyanobacteria, tais como: fixação de nitrogênio atmosférico por algumas espécies, por meio de estruturas especializadas denominadas heterocistos. Tal processo favorece seu desenvolvimento em ambientes com baixa concentração de compostos nitrogenados; capacidade de produzir células diferenciadas (acinetos) que funcionam como esporos de resistência em condições adversas, permitindo a sobrevivência da célula por longos períodos; a capacidade de formação de vacúolos gasosos (aerótopos), que permitem migração vertical na coluna d'água, podendo buscar a profundidade em que tanto a intensidade luminosa quanto a concentração de nutrientes são favoráveis; toleram grandes variações de temperatura; são capazes de armazenar fósforo na forma de grãos de polifosfatos em seu citoplasma; e podem ser tóxicas a outros organismos. Segundo Padisak (1997), a dominância de Cyanobacteria pode ser considerada como a última fase da eutrofização, ocorrendo no mundo inteiro.

Cryptophyceae também foi bastante representativa quanto ao número de (céls. mL<sup>-1</sup>) nos três pontos de amostragem no reservatório Billings, ao contrário dos trabalhos realizados por Cortez (2013) e Moutinho (2016), que encontraram pouca representatividade deste grupo em análise da comunidade fitoplanctônica presente no reservatório Billings. Nishimura (2008) mostrou que o grupo apresentou maior abundância no outono e em maiores profundidades. Segundo Reynolds (1994), a Cryptophyceae é um grupo que resiste a altas condições nutricionais, dada sua permanência durante todo o ano, dessa forma não é viável usá-lo como indicador de estado trófico do ambiente. Rojo e Alvarez – Cobelas (1993), descrevem que estes tipos de fitoflagelados produzem altas biomassas em ambientes hipereutróficos e esta resistência se relaciona a sua capacidade de mobilidade, obtendo nutrientes em outros níveis de profundidade. Esses fatores podem ter contribuído para os resultados apresentados no presente trabalho, pois o mesmo se manteve hipereutrófico nos três pontos de coleta Barragem, Corpo central e Taquacetuba, em todo o período de estudo. No entanto, em estudo desenvolvido por Carvalho (2003), o reservatório Billings foi classificado como mesotrófico para IET (CL) na primavera e verão e oligotrófico para IET (PT) na primavera e inverno e apresentou baixas densidades destes tipos de flagelados.

Zygnemaphyceae apresentou variação sazonal, com uma elevada contribuição em número de (céls. mL<sup>-1</sup>) no outono e principalmente no ponto Taquacetuba. A classe é típica de

ambientes com epilímnio meso-eutróficos (CRUZ, 2018). Nishimura (2008) ainda indica que a densidade dos organismos desta classe aumentou quando as concentrações de nutriente diminuíram, possivelmente devido à assimilação deste nutriente (nitrogênio e fósforo). Neste trabalho, o valor de IET (PT) no ponto Taquacetuba, foi o ponto que apresentou menor média 42 (mg.m<sup>-3</sup>), e conseqüentemente maior densidade de (céls. mL<sup>-1</sup>), para a classe Zygnemaphyceae. Já a menor contribuição desta classe nos demais períodos de coleta, pode estar relacionada ao estado hipeurotrófico do reservatório.

Tabela 2: Variação sazonal da densidade total de organismos fitoplanctônicos (céls. mL<sup>-1</sup>) nos pontos de amostragem no reservatório Billings, no período de maio a novembro de 2018.

	CYAN	CHLO	CRYP	BACI	ZYGN	TREUB	OUTROS
<b>BARRAGEM</b>							
23/maio	92.045	664	815	326	47	5.241	23
20/junho	11.561	259	1.147	129	37	18	129
11/julho	16.929	105	210	273	42	0	126
17/agosto	92.705	135	1.617	180	90	45	135
25/setembro	66.487	829	829	86	57	2.973	343
09/novembro	91.075	183	445	105	52	26	79
<b>TOTAL</b>	<b>370.803</b>	<b>2.175</b>	<b>5.064</b>	<b>1.098</b>	<b>325</b>	<b>8.304</b>	<b>835</b>
<b>CORPO CENTRAL</b>							
23/maio	42.369	943	514	514	63	1.981	136
20/junho	23.662	99	778	298	33	662	249
11/julho	27.638	87	472	122	0	17	69
17/agosto	39.826	203	721	166	0	0	129
25/setembro	65.701	247	1.235	67	22	0	270
09/novembro	37.624	131	262	105	52	786	70
<b>TOTAL</b>	<b>236.890</b>	<b>1.720</b>	<b>3.982</b>	<b>1.273</b>	<b>171</b>	<b>3.447</b>	<b>923</b>
<b>TAQUACETUBA</b>							
23/maio	34.988	2.483	778	331	7.307	430	99
20/junho	40.571	519	1.761	204	8.614	31	299
11/julho	52.156	262	105	262	0	786	26
17/agosto	89.497	377	755	294	42	126	63
25/setembro	116.712	247	1.078	112	22	0	90
09/novembro	43.809	177	59	118	39	0	59
<b>TOTAL</b>	<b>377.733</b>	<b>4.065</b>	<b>4.536</b>	<b>1.321</b>	<b>16.025</b>	<b>1.374</b>	<b>636</b>

CYAN= Cyanobacteria, CHLO=Chlorophyceae, CRYP=Cryptophyceae BACI=Bacillariophyta  
 ZYGN=Zygnemaphyceae, TREUB=Trebouxioiphyceae, OUTROS (Dinophyceae, Xanthophyceae,  
 Euglenophyceae, Eustigmatophyceae)

Fonte: Autor

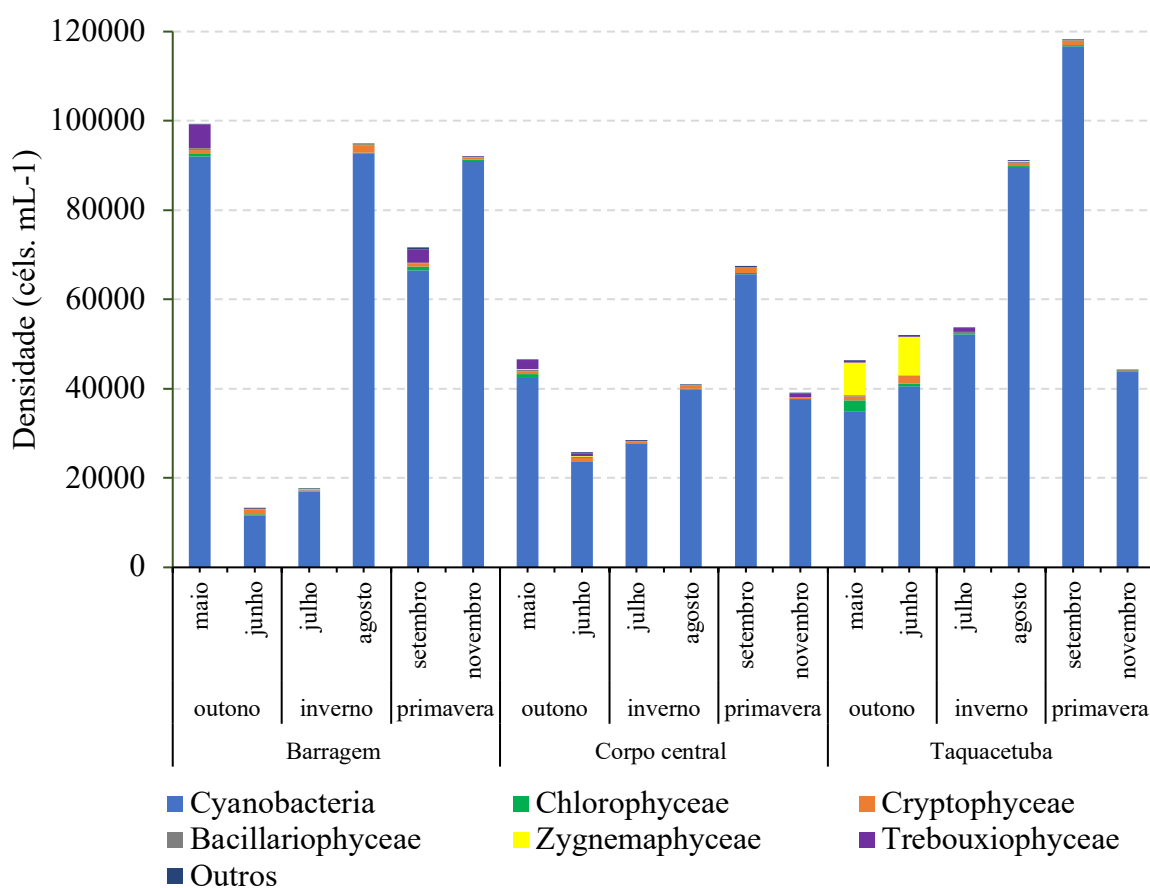


Figura 12: Variação temporal da densidade das comunidades fitoplanctônica nos pontos de amostragem no reservatório Billings durante o período de estudo. Outros: (Dinophyceae, Xanthophyceae, Euglenophyceae, Eustigmatophyceae)

Fonte: Autor

O valor máximo registrado para densidade de Cyanobacteria foi observado no ponto Taquacetuba, um total de 377.773 (células mL<sup>-1</sup>), seguido pela Barragem e Corpo central. De acordo com relatório de qualidades de águas interiores do Estado de São Paulo, elaborado pela CETESB (2017) no ponto Taquacetuba (BITQ 00100), a média anual da composição fitoplanctônica para o grupo Cyanobacteria dos anos de 2005 a 2017 variou de 20.000 a 600.000 células.mL<sup>-1</sup>, com menores contribuições nos anos de 2008 e 2009 e maiores nos anos 2005 e 2012, com cerca de 600.00 células.mL<sup>-1</sup>.

A Figura 13, representa um box plot da comparação entre as densidades de Cyanobacteria (células.mL<sup>-1</sup>), nos três pontos de amostragem Barragem, Corpo central e Taquacetuba. O ponto da Barragem, possui alta amplitude interquartil, a mais alta entre eles, o que indica alta variabilidade dos valores de densidade. O terceiro quartil está próximo do valor máximo da mostra. Como a linha da mediana está muito longe da metade do retângulo, isso indica um alto grau de assimetria dos valores amostrais. O ponto do Corpo central, possui a

menor amplitude interquartil dentre os três pontos de amostragem, o que indica baixa variabilidade das densidades. Como a linha mediana está muito longe da medida do retângulo, isso indica um alto grau de assimetria dos valores amostrais. O ponto Taquacetuba, possui alta amplitude interquartil (a segunda mais alta dentre os três pontos), o que indica alta variabilidade dos valores amostrais. O primeiro quartil está razoavelmente próximo do valor mínimo da amostra. Como a linha da medida está muito longe da metade do retângulo, isso indica um alto grau de assimetria dos valores de densidade, durante o período de estudo.

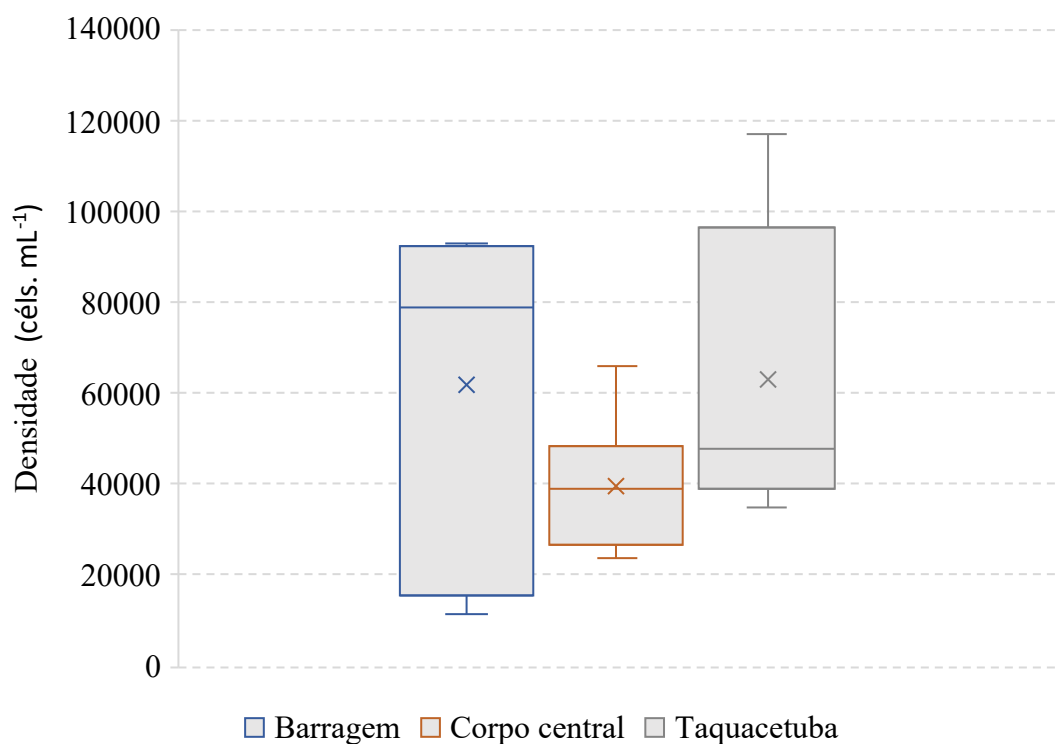


Figura 13: Representação por Box Plot da densidade total de Cyanobacteria (céls. mL<sup>-1</sup>) para cada ponto de amostragem. Barragem, Corpo central, Taquacetuba.

Fonte: Autor

Foram identificados 48 táxons distribuídos entre as dez classes da comunidade fitoplanctônica encontrada nos três pontos de amostragem do reservatório Billings/ SP. Para a classe Cyanobacteria 16 gêneros foram listados ao longo dos meses, são eles, *Aphanocapsa*, *Chroococcus*, *Cilindrospermopsis*, *Dictyosphaerium*, *Dolichospermum*, *Geitlerinema*, *Limnococcus*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Phormidium*, *Planktothix*, *Pseudanabena*, *Radiocystis*, *Synechocystis*, *Woronichinia*. *Planktothix*, foi o gênero que prevaleceu nos três pontos de amostragem Barragem, Corpo central e Taquacetuba.

No mês de maio (primavera) os gêneros de maior densidade celular foram *Planktothrix*, *Merismopedia* e *Cylindrospermopsis*, em junho (primavera) os gêneros *Planktothrix*, *Limnococcus*, *Cylindrospermopsis*, em julho (inverno) os gêneros *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Limnococcus*, no mês de agosto (inverno) os gêneros *Planktothrix*, *Microcystis*, *Aphanocapsa*, em setembro (primavera) os gêneros foram *Planktothrix*, *Microcystis*, *Limnococcus* e no mês de novembro (primavera) os gêneros *Limnococcus*, *Microcystis* e *Planktothrix*, esses dados estão representados na Figura 14.

Neste trabalho foram observadas maiores densidades de *Planktothrix* na primavera, assim como (GEMELGO *et al.*, 2009; NISHIMURA, 2008) em suas pesquisas no reservatório Billings. No entanto, Moschini-Carlos *et al.* (2010) encontraram no reservatório Billings, maiores densidades das populações de *Planktothrix* no inverno. *Planktothrix* é um organismo filamentosos, possui aerótopos e baixa taxa de crescimento. Essas características morfológicas permitem que esses organismos tolerem ambientes com baixa disponibilidade de luz (NASELLI-FLORES E BARONE, 2007). Outro fator associado ao gênero é a ausência de heterócitos. Por não possuírem essas estruturas, o *Planktothrix* se torna dependente das formas nitrogenadas dissolvidas na água (REYNOLDS, 2006).

*Microcystis* apresentaram maiores densidades na primavera. É um gênero muito representativo da Represa Billings, principalmente as espécies *Microcystis aeruginosa* e *Microcystis panniformis* (MOUTINHO, 2016). Carvalho (2003) descreveu episódios de florações de *Microcystis* durante todo o período de estudo, justificando como motivo o longo tempo de residência, transparência da água e os altos valores de pH no reservatório Billings. Moschini-Carlos *et al.* (2010) observaram maiores densidades de *Microcystis aeruginosa* em fevereiro/07, contrastando as maiores densidades de *Microcystis panniformis* encontradas em julho/07, no reservatório Billings. Florações de *Microcystis*, cujas colônias com ampla mucilagem proporcionam grande sombreamento sobre as demais espécies fitoplanctônicas, dificultando seu desenvolvimento. Como consequência, a diversidade e riqueza diminuem significativamente (RAMÍREZ, 1996).

Uma contribuição importante na densidade de organismos fitoplanctônicos neste estudo, deve-se a Cyanobacteria pertencentes ao picoplâncton e facilmente desprezadas em projetos de biomonitoramento, como o *Synechocystis* e *Limnococcus*. Tais gêneros merecem atenção especial, sobretudo quando ocorrem em reservatórios destinados ao abastecimento público, como é o caso do reservatório Billings SANT'ANNA *et al.* (2007).

*Cylindrospermopsis* apresentou maior contribuição em número de céls.mL<sup>-1</sup> no outono. Ao acompanharem a variação sazonal de *Cylindrospermopsis raciborskii* no Rio Pequeno, braço da Represa Billing, Souza *et al.* (1998) concluíram que o desenvolvimento da espécie foi favorecido por valores elevados de temperatura da água, do pH e da concentração de oxigênio dissolvido. Sua alta competitividade em ambientes eutrofizados, aliada à sua capacidade de formar florações e produzir toxinas, fazem desta espécie uma das cianobactérias mais estudadas tanto do ponto de vista ecológico como de saúde pública (TUCCI e SANT'ANNA, 2003).

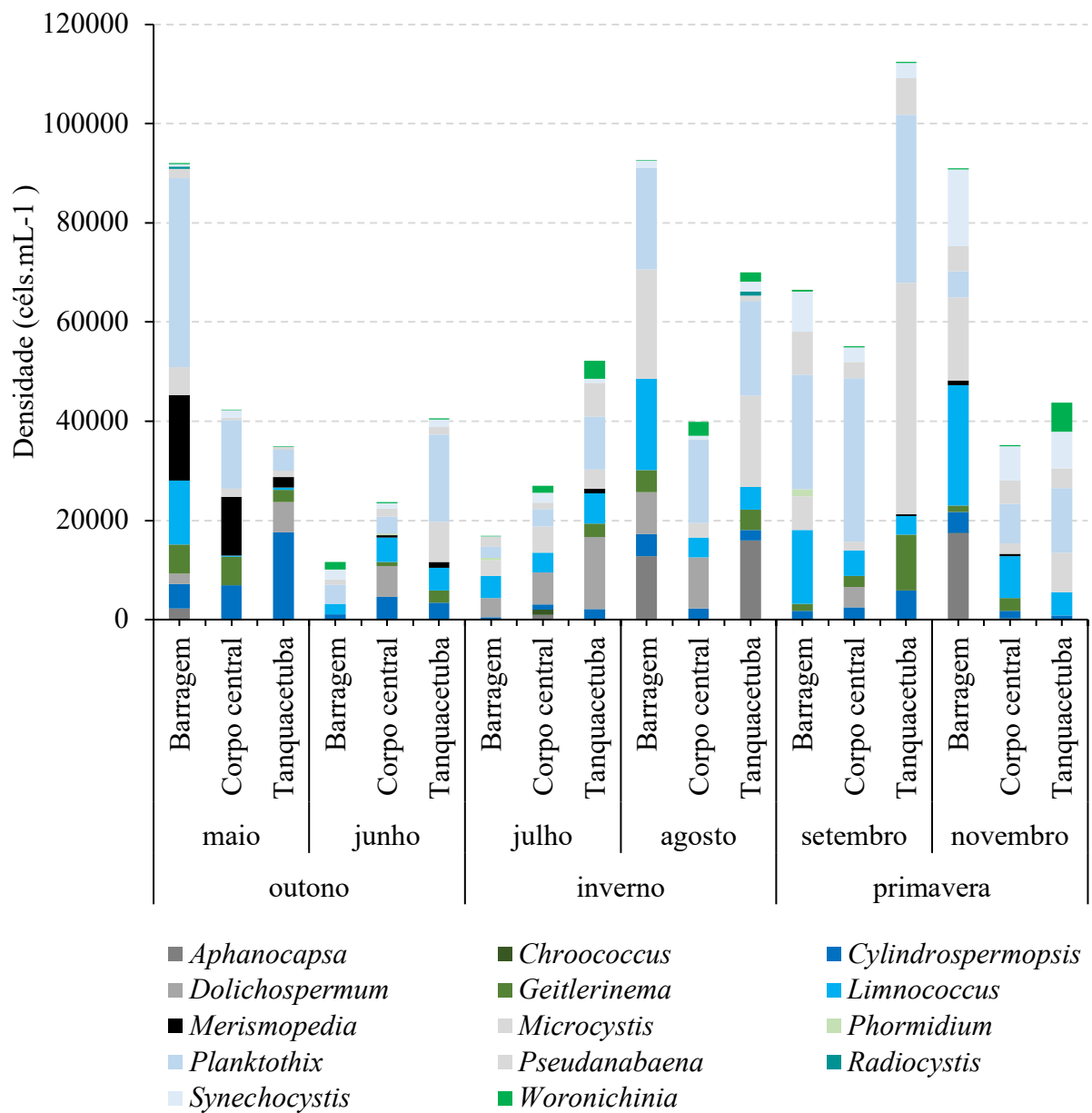


Figura 14: Variação temporal dos gêneros de Cyanobacteria registrados nos pontos de amostragem no reservatório Billings/SP durante o período de estudo

Fonte: Autor

Em termos de número de táxons a classe Chlorophyceae foi a segunda mais importante, como mostra a Tabela 3. Geralmente esse grupo apresenta maior diversidade de táxons, como verificado por Xavier (1981), Xavier *et al.* (1985) e Beyruth e Pereira (2002), no braço Rio Grande, Carvalho (2003); Nishimura (2008); Rodrigues (2008); Pires (2014), em estudos no reservatório Billings. Essa característica é comum em ambientes lênticos, independente do nível de trofia e concentração de nutrientes (Sant`Anna *et al.*, 1997), uma vez que esse grupo é favorecido por apresentar alta variabilidade morfométrica e fisiológica, o que permite que se adaptem a uma grande variedade de habitats (HAPPEY-WOOD, 1998).

Tabela 3: Lista de gêneros das demais classes da comunidade fitoplanctônica (céls.mL<sup>-1</sup>) encontradas no reservatório Billings-SP

GRUPOS	GÊNERO	Barragem	Corpo central	Taquacetuba
Chlorophyceae	1. <i>Ankistrodesmus</i>	44,92	0,00	62,89
	2. <i>Ankyra</i>	85,76	0,00	64,58
	3. <i>Coelastrum</i>	0,00	36,69	36,69
	4. <i>Desmodesmus</i>	617,50	325,56	198,61
	5. <i>Enalax</i>	0,00	20,96	99,30
	6. <i>Kirchneriella</i>	26,21	0,00	0,00
	7. <i>Monoraphidium</i>	1.260,10	1.120,00	3.088,70
	8. <i>Pectinodesmus</i>	11,65	10,48	16,55
	9. <i>Pediastrum</i>	26,21	17,47	20,96
	10. <i>Scenedesmus</i>	84,08	117,58	324,20
	11. <i>Tetarstrum</i>	0,00	20,96	64,55
	12. <i>Tetraedron</i>	18,50	20,96	0,00
Cryptophyceae	13. <i>Chilomonas</i>	73,99	0,00	0,00
	14. <i>Crypyomonas</i>	2.635,86	1.036,58	1.429,01
	15. <i>Rhodomonas</i>	2.353,74	2.945,51	3.106,55
Bacillariophyta	16. <i>Achnantheidium</i>	307,59	134,25	0,00
	17. <i>Aulacoseira</i>	225,31	273,94	453,92
	18. <i>Cyclostephanos</i>	94,48	49,49	16,55
	19. <i>Cyclotella</i>	52,41	113,45	73,38
	20. <i>Fragilaria</i>	406,97	701,39	745,09
Zygnemaphyceae	21. <i>Staurastrum</i>	294,80	160,39	16.025,09
	22. <i>Staurodesmus</i>	30,14	10,48	0,00
Euglenophyceae	23. <i>Euglena</i>	23,29	10,48	0,00
	24. <i>Trachelomas</i>	528,51	615,33	406,93
	25. <i>Lepocicles</i>	0,00	0,00	16,55
	26. <i>Phacus</i>	26,21	66,14	36,20
Eustigmatophyceae	27. <i>Pseudostaurastrum</i>	20,96	10,48	0,00
Trebouxiophyceae	28. <i>Actinastrum</i>	2.723,25	1.677,15	523,01
	29. <i>Micractinium</i>	2.858,78	1.448,20	786,16
	30. <i>Tetraplektron</i>	101,27	69,88	64,55
Dinophyceae	31. <i>Peridinium</i>	151,65	123,71	144,82
	32. <i>Cerastrum</i>	20,96	88,44	31,45
Xanthophyceae	33. <i>Isthmochloron</i>	63,42	17,47	0,00

Fonte: Autor

### 5.3 Composição taxonômica da comunidade fitoplanctônica no reservatório Billings-SP

Foram identificados 89 táxons no total. A lista geral dos táxons por ponto e período de coleta consta na Tabela 4. Qualitativamente, Cyanobacteria e Chlorophyceae foram os grupos mais representativos, com 22 e 21 táxons respectivamente, seguidas por Trebouxiophyceae com 13; Zygnemaphyceae com nove; Euglenophyceae com sete; Bacillariophyta, Coscinodiscophyceae, Eustigmatophyceae com quatro táxons cada, Xanthophyceae, com três e Dinophyceae com dois táxons.

Tabela 4: Lista de táxons e suas ocorrências nos pontos de amostragem da Barragem, Corpo central e Taquacetuba no reservatório Billings

	mai			jun			jul			ago			set			nov		
	Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<b>CYANOBACTERIA</b>																		
<i>Aphanocapsa delicatissima</i> West & G.S.West		x			x		x		x	x		x			x	x		x
<i>Aphanocapsa</i> sp1			x															
<i>Cuspidothrix</i> sp1	x											x						
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Dolichospermum circinale</i> (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x
<i>Dolichospermum crassum</i> (Lemmermann) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Geitlerinema</i> sp1	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x		x		x
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann	x	x																
<i>Microcystis brasiliensis</i> (De Azevedo & C.L.Sant'Anna) Rigonato <i>et al.</i>	x	x	x				x			x			x			x		x
<i>Microcystis novacekii</i> (Komárek) Compère		x																
<i>Microcystis panniformis</i> Komárek <i>et al.</i>		x	x						x	x	x		x			x		x
<i>Microcystis protocystis</i> W.B.Crow	x	x				x	x					x	x	x		x	x	
<i>Phormidium</i> sp1	x	x					x			x	x							
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek	x			x	x	x				x	x				x	x	x	x
<i>Planktothrix isothrix</i> (Skuja) Komárek & Komárková Komárková	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

	mai			jun			jul			ago			set			nov		
	Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Pseudanabaena catenata</i> Lauterborn	x	x			x				x									x
<i>Pseudanabaena mucicola</i> (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Radiocystis fernandoi</i> Komárek & Komárková - Legnerová			x	x	x	x		x		x		x		x	x	x	x	x
<i>Raphidiopsis</i> sp1	x								x									
<i>Synechocystis</i> sp1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Snowella litoralis</i> (Häyrén) Komárek & Hindák	x	x																
<i>Woronichinia naegeliana</i> (Unger) Elenkin	x	x	x				x	x	x	x	x	x				x	x	x
<b>CHLOROPHYCEAE</b>																		
<i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Reinsch) Korshikov			x															
<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris		x																x
<i>Coelastrum pseudomicroporum</i> Korshikov						x												x
<i>Coelastrum reticulatum</i> (P.A.Dangeard) Senn			x															
<i>Coenococcus planctonicus</i> Korshikov		x																
<i>Desmodesmus armatus</i> var. <i>armatus</i> (Chodat) E.Hegewald						x												x
<i>Desmodesmus spinosus</i> (R. Chodat) Hegewald									x									
<i>Hariotina reticulata</i> P.A.Dangeard		x	x		x						x							x
<i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda		x	x	x	x	x			x		x	x					x	x
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová			x						x									x
<i>Pectinodesmus javanensis</i> (Chodat) E.Hegewald, C.Bock & Krienitz		x	x															
<i>Pectinodesmus javanensis</i> (Chodat) E.Hegewald, C.Bock & Krienitz		x				x						x						
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Pseudokirchneriella</i> sp1												x						
<i>Radiococcus piscinalis</i> I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová, & L.Hoffmann		x				x						x						
<i>Radiococcus</i> sp1			x												x			x
<i>Scenedesmus dimorphus</i> (Turpin) Kützing		x																
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turpin) Brébisson						x			x									
<i>Tetraëdron regulare</i> Kützing		x																
<i>Tetrastrum elegans</i> Playfair		x																
<i>Westella botryoides</i> (West) De Wildeman		x																

	mai			jun			jul			ago			set			nov		
	Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<b>EUSTIGMATOPHYCEAE</b>																		
<i>Goniochloris</i> sp1												x						
<i>Pseudostaurastrum</i> sp1																		
<i>Tetraëdriella limbata</i> Pascher																		
<i>Tetraëdriella spinigera</i> Skuja																		
<b>DINOPHYCEAE</b>																		
<i>Ceratium lineatum</i> (Ehrenberg) Cleve																		
<i>Peridinium</i> sp1																		
<b>XANTHOPHYCEAE</b>																		
<i>Isthmochloron lobulatum</i> (Nägeli) Skuja																		
<i>Isthmochloron</i> sp1																		
<i>Tetraplektron tribulus</i> (Pascher) Lobelich, III																		
<b>TREBOUXIOPHYCEAE</b>																		
<i>Actinastrum aciculare</i> Playfair																		
<i>Actinastrum gracillimum</i> G.M.Smith																		
<i>Actinastrum hantzschii</i> Lagerheim																		
<i>Actinastrum raphidioides</i> (Reinsch) Brunnthaler																		
<i>Botryococcus braunii</i> Kützing																		
<i>Botryococcus</i> sp1																		
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i> Nägeli																		
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> H.C.Wood																		
<i>Dictyosphaerium tetrachotomum</i> Printz																		
<i>Micractinium bornhemiense</i> (W.Conrad) Korshikov																		
<i>Micractinium pusillum</i> Fresenius																		
<i>Oocystis lacustris</i> Chodat																		
<b>MEDIOPHYCEAE</b>																		
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing																		
<b>ZYGNEMAPHYCEAE</b>																		
<i>Staurastrum</i> sp5																		
<i>Staurastrum</i> sp1																		
<i>Staurastrum</i> sp2																		
<i>Staurastrum</i> sp3																		
<i>Staurastrum</i> sp4																		

	mai			jun			jul			ago			set			nov		
	Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto			Ponto		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Staurodesmus</i> sp1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Staurodesmus</i> sp2	x						x											
<i>Staurodesmus</i> sp3	x									x	x							
<i>Staurodesmus</i> sp4				x			x	x										
<b>BACILLARIOPHYTA</b>																		
<i>Achnantheidium</i> sp1				x			x	x					x	x	x	x	x	x
<i>Fragilaria</i> sp1	x	x	x		x					x	x		x	x	x	x	x	x
<i>Fragilaria</i> sp2	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Fragilaria</i> sp3	x	x							x									
<b>COSCINODISCOPHYCEAE</b>																		
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Aulacoseira</i> sp2	x																	x
<i>Aulacoseira</i> sp3										x	x		x	x		x	x	x
<i>Urosolenia</i> sp1				x			x											
<b>EUGLENOPHYCEAE</b>																		
<i>Lepocinclis salina</i> F.E.Fritsch	x			x														
<i>Phacus longicauda</i> (Ehrenberg) Dujardin	x	x		x	x					x			x					x
<i>Phacus pleuronectes</i> (O.F.Müller) Nitzsch ex Dujardin				x						x								
<i>Phacus</i> sp2					x													
<i>Trachelomona hispida</i> (Perty) F. Stein																		x
<i>Trachelomonas</i> sp1										x	x	x				x		x
<i>Trachelomonas</i> sp2				x						x			x			x	x	x

Fonte: Autor

A diversidade de espécies por ponto e por período representada pela Figura 15, mostram que a menor riqueza de espécies foi registrada no Taquacetuba. E os maiores valores registrados foram nos pontos da Barragem e Corpo central, respectivamente. Sendo o mês de maio o que apresentou maior diversidade de espécies.

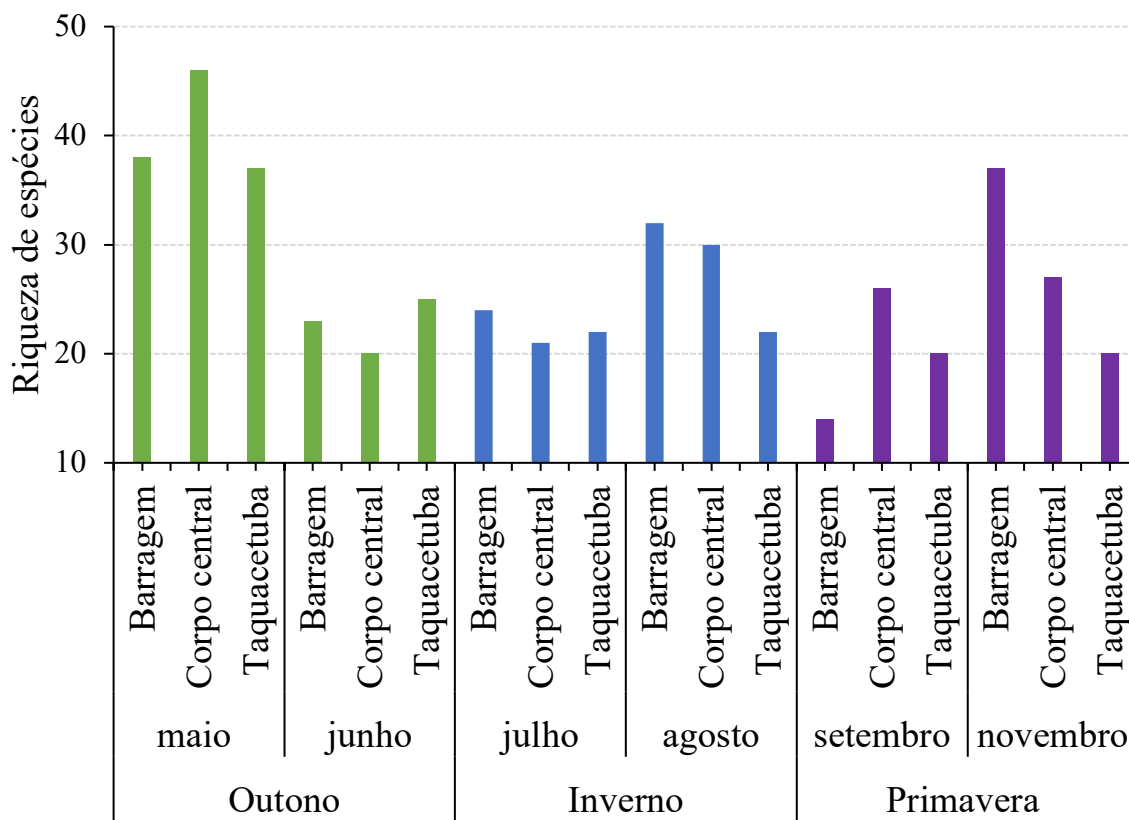


Figura 15: Variação sazonal da riqueza de espécies no reservatório Billings durante o período de estudo.

Fonte: Autor

Na Figura 16, pode-se observar alguns gêneros de Cyanobacteria, identificados durante a realização do trabalho no reservatório Billings.

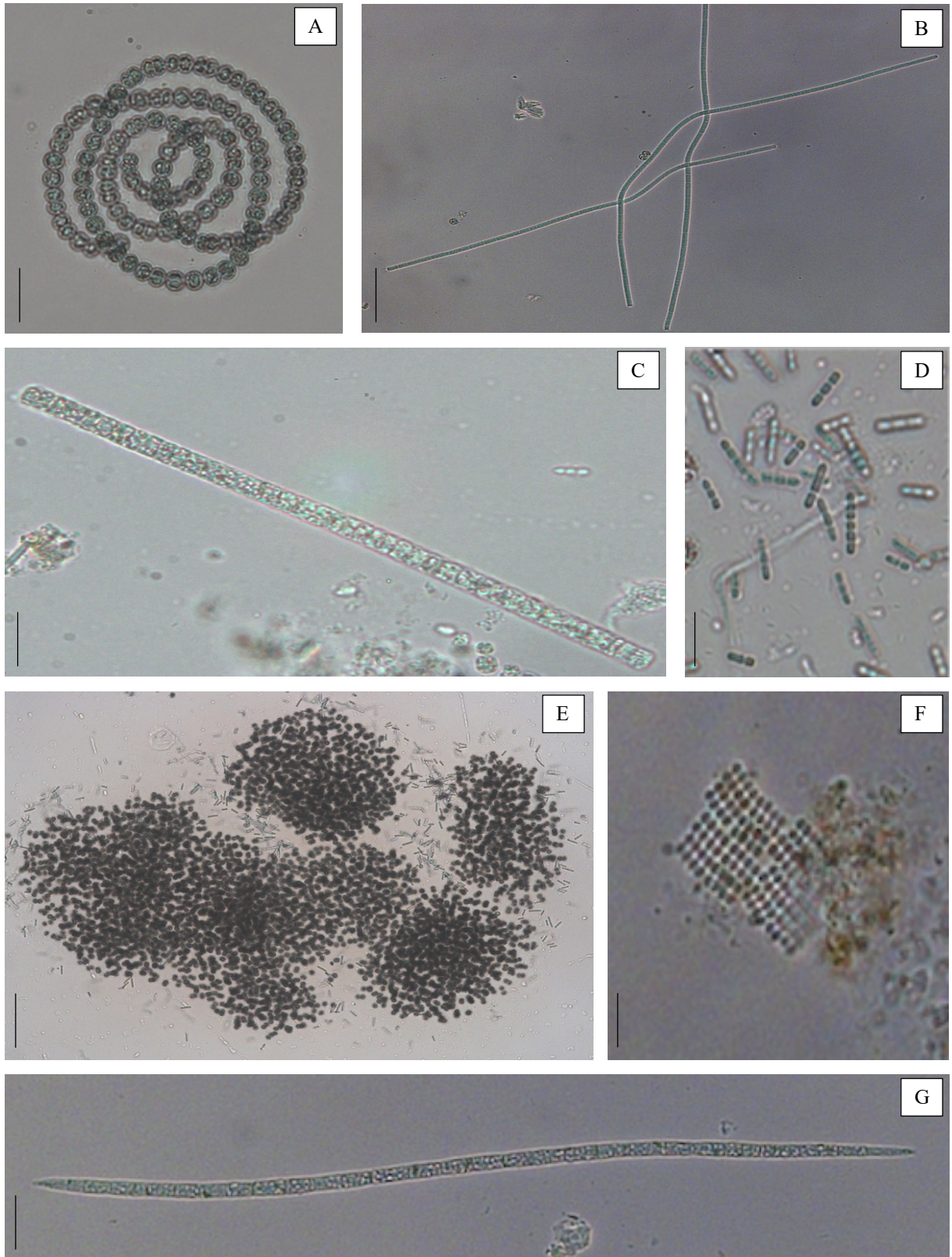


Figura 16: Gêneros de Cyanobacteria identificados durante a realização do trabalho no reservatório Billings. *Dolichospermum* (A); *Geitlerinema* (B); *Planktothrix* (C); *Pseudanabaena* (D); *Microcystis* (E); *Merismopedia* (F); *Cylandrospermopsis* (G).

Fonte: Autor

#### 5.4 Calibração da sonda

Para a calibração do sensor de Ficocianina, foi feita a correlação entre os níveis de fluorescência de Ficocianina (milivolts) e a quantificação da densidade fitoplanctônica (céls.ml<sup>-1</sup>) realizada em laboratório. Foi escolhido o ponto do braço Taquacetuba no dia 23/05/2018. A média das leituras da sonda pelo sensor de Ficocianina foi de 0,013403 (milivolts) foi correlacionada com contagem realizada em laboratório que neste ponto foi de 34.988 (céls.ml<sup>-1</sup>). Os valores de densidade e Ficocianina foram transformados para log<sub>10</sub>, para melhorar a normalidade e homogeneidade para fins de análise estatística. A relação entre a densidade de Cyanobacteria e Ficocianina foi analisada por meio de regressão linear, como mostra a Figura 17.

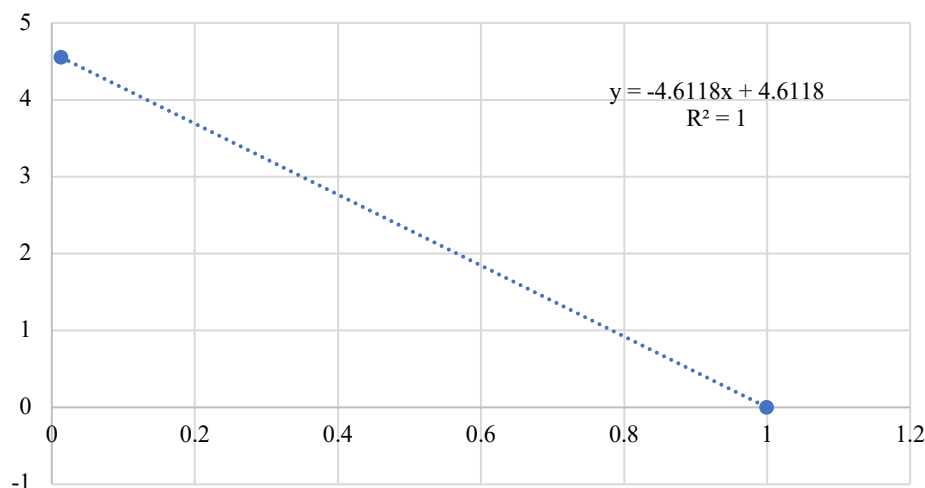


Figura 17: Regressão linear entre os valores de Ficocianina (milivolts) e a densidade de Cyanobacteria (céls.mL<sup>-1</sup>)

Fonte: Autor

Após a calibração do sensor de Ficocianina e da conversão das leituras em (milivolts) para (céls.mL<sup>-1</sup>), foi realizada uma correlação entre a leitura do pigmento por fluorescência medido pela sensor de Ficocianina e a densidade de Cyanobacteria (céls.mL<sup>-1</sup>), contada em laboratório Figura 18. Os valores de densidade de Cyanobacteria foram somadas a densidade do grupo de Cryptophyceae já que, o pigmento Ficocianina é encontrada em ambos os grupos fitoplanctônicos. As maiores diferenças entre os métodos, foi observada no ponto da Barragem, seguida pelo Taquacetuba e Corpo central. Vale destacar que, o ponto da Barragem o ponto que apresentou maior densidade de Cryptophyceae (5.063 céls.mL<sup>-1</sup>), esse picoplâncton, foi identificado e contado nas amostras analisadas em laboratório e pode não ter sido detectado pelo sensor durante as medições. O que poderia justificar a diferença entre os métodos também

no ponto Taquacetuba, que apresentou a segunda maior densidade de Cryptophyceae (4.536 céls.mL<sup>-1</sup>),

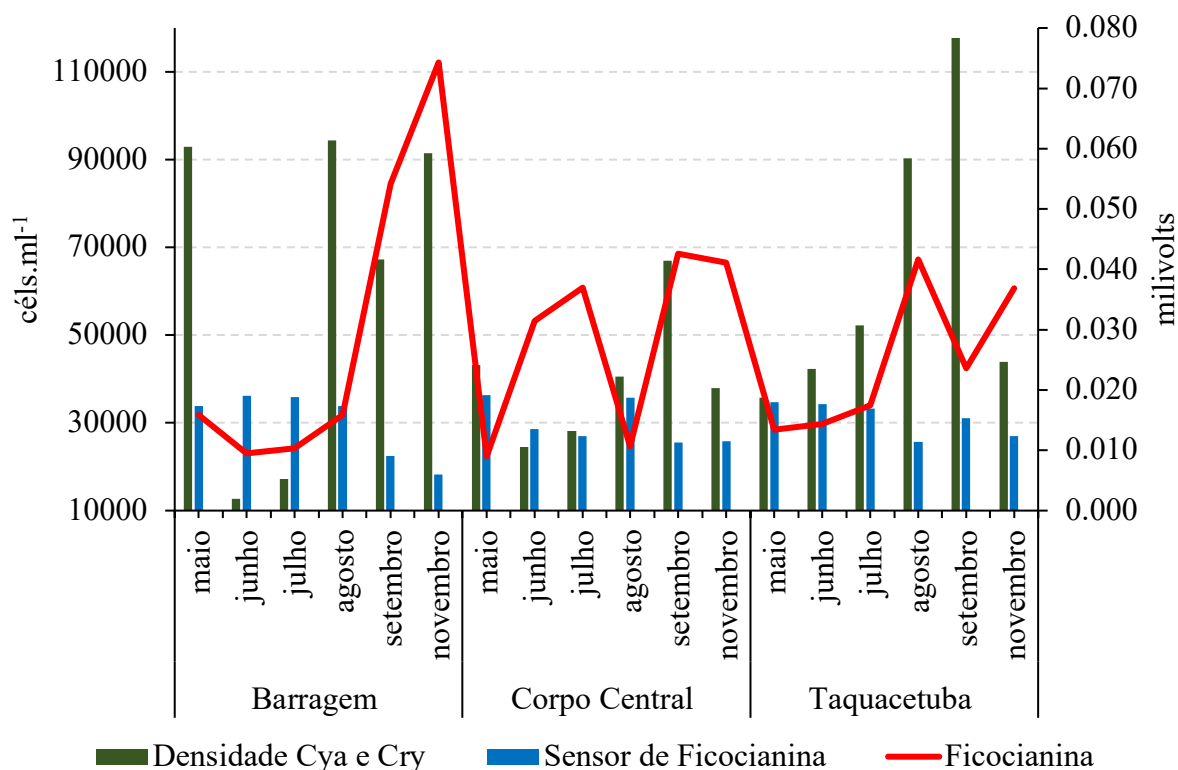


Figura 18 Correlação entre a leitura do pigmento por fluorescência medido pelo sensor de Ficocianina (céls.mL<sup>-1</sup>) e (milivolts) e a densidade de Cyanobacteria contada em laboratório

Fonte: Autor

### 5.5 Correlação entre o sensor de Ficocianina e a contagem de Cyanobacteria por microscopia

Para avaliar a correlação dos resultados de biomassa de Cyanobacteria pelo sensor de Ficocianina com o método laboratorial de avaliação de biomassa por microscopia, foi realizado a análise de correlação de Pearson, como mostra a Tabela 5. Segundo a classificação de Hopkins (2000), a correlação entre a medida de Ficocianina medida com o sensor e a densidade de Cyanobacteria mais Cryptophyceae contadas em laboratório, apresentou uma correlação moderada ( $R^2 > 0,332$ ,  $p < 0,05$ ).

Resultados similares para medições com sensores de Ficocianina foram encontrados, como o trabalho de Hodges *et al.* (2018) analisando cinco sensores fluorimétrico em amostras de campo, mostrou uma forte relação entre a fluorescência de Ficocianina *in situ* e Ficocianina medida espectrofotometricamente ( $R^2 > 0,7$ ,  $P < 0,001$ ). No entanto, houve apenas uma fraca

relação entre a fluorescência da Ficocianina e o biovolume de Cyanobacteria para dois sensores ( $R^2 = 0,22-0,29$ ,  $P < 0,001$ ) e uma relação não significativa para o terceiro sensor ( $R^2 = 0,29$ ,  $P > 0,4$ ). Cotterill *et al.*, 2019, investigou em laboratório as relações entre a Ficocianina medida com sensor e os biovolumes para quatro espécies de Cyanobacteria para investigar os limites de precisão e detecção. A relação entre Ficocianina e biovolume foi geralmente fraca ( $R^2 = 0,4$ ) e variou entre lagos e anos, exceto em altos volumes biológicos. Os limites de precisão e detecção diferiram entre as espécies. Contudo o trabalho destaca que o sensor é útil para a confirmação no local de excedência de limiares de nível de alerta correspondentes a quando as autoridades devem emitir imediatamente advertências de saúde.

Silva (2006), realizou correlações entre as medidas de Ficocianina com sonda e os biovolumes de Cyanobacteria ( $R^2 = 0,60$ ,  $p = 0,002$ ,  $n = 23$ ) e encontrou uma fraca correlação entre as análises. No entanto, melhores medidas de Ficocianina foram observadas especialmente quando uma única espécie, *Planktothrix isothrix*, era altamente dominante. A autora ainda relata que em corpos d'água altamente eutróficos, é necessária uma análise laboratorial adicional para validar as medidas do fluorimétricas *in situ*, mais do que em ambientes oligotróficos e mesotróficos.

Zamyadi (2012), observou correlações significativas entre o extrato extraído de Chl-a, Ficocianina e o biovolume de Cyanobacteria, com os parâmetros medidos pelos sensores, como as variáveis turbidez e pH. Esta forte correlação também foi observada neste presente trabalho, para o valor medido pelo sensor de ficocianina e a variável pH ( $R^2 0,868$   $p < 0,05$ ) e para os pigmentos extraído de Chl-a ( $R^2 0,740$   $p < 0,05$ ) Tabela 5.

Uma forte correlação foi descrita no trabalho de Bastien (2011), entre as variáveis fluorescência *in vivo* e o biovolume total de Cyanobacteria para o sensor YSI ( $R^2 0,82$ ) e TriOS ( $R^2 0,83$ ). Ainda segundo o autor, diferenças entre as densidades celulares determinadas pela microscopia e medidas de Ficocianina podem ser muito grandes e tem sido associada à variabilidade do volume celular entre a Cyanobacteria.

Estes estudos indicam que, embora existam problemas inerentes aos fluorômetros, a extensão do impacto das fontes de interferência pode ser caracterizada e potencialmente corrigida para permitir a detecção bem-sucedida de Cyanobacteria no campo. A utilização de sondas fluorimétricas *in situ* tem implicações promissoras para os gestores de recursos hídricos obterem informações para a detecção precoce de florações de Cyanobacteria através da associação próxima entre valores de Ficocianina medidos por sonda e o biovolume de Cyanobacteria por meio de análise microscópica em laboratório.

Tabela 5: Matriz de correlação linear de Pearson obtida para os parâmetros físicos, químicos e biológicos coletados no reservatório Billings – SP, durante o período de estudo. T = temperatura (°C); pH = potencial hidrogeniônico; CE = condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ); OD = oxigênio dissolvido ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $\text{NH}_4$  = amônia ( $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ ); ORP = potencial redox (mV); PC = Ficocianina ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); Cya+Cry = Cyanobacteria + Cryptophyceae (cél. $\cdot\text{mL}^{-1}$ ); Chl-a = Chlorophyceae (cél. $\cdot\text{mL}^{-1}$ ); Chl-a = clorofila-a ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $\text{NO}_3$  = nitrato ( $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ ); PT = fósforo total ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); Secchi (m).

	T	pH	CE	OD	$\text{NH}_4$	ORP	PC	Cya+Cry	Chl-a	Chl-a	$\text{NO}_3$	PT	Secchi
T		0,757	0,426	0,425	0,074	0,303	0,131	0,384	0,393	0,514	0,239	0,902	0,420
pH	0,081		0,328	0,925	0,765	0,144	0,868	0,465	0,939	0,403	0,973	0,502	0,009
CE	0,200	0,252		0,014	0,003	0,154	0,070	0,526	0,068	0,022	0,021	0,029	0,061
OD	0,207	0,026	0,582		0,027	0,068	0,807	0,143	0,253	0,967	0,051	0,002	0,360
$\text{NH}_4$	0,431	0,078	0,664	0,534		0,460	0,738	0,998	0,890	0,361	0,952	0,080	0,595
ORP	0,297	0,411	0,402	0,520	0,215		0,389	0,132	0,971	0,163	0,037	0,147	0,654
PC	0,370	0,044	0,437	0,064	0,085	0,250		0,179	0,242	0,0004	0,320	0,479	0,014
Cya+Cry	0,218	0,190	0,160	0,371	0,001	0,423	0,332		0,739	0,019	0,348	0,837	0,034
Chl-a (cél. $\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0,214	0,020	0,439	0,294	0,035	0,011	0,291	0,085		0,480	0,144	0,213	0,317
Chl-a ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0,165	0,217	0,535	0,011	0,229	0,394	0,740	0,548	0,178		0,032	0,090	0,002
$\text{NO}_3$	0,292	0,009	0,539	0,480	0,015	0,561	0,249	0,235	0,359	0,507		0,00005	0,546
PT	0,031	0,175	0,822	0,684	0,423	0,408	0,178	0,052	0,308	0,411	0,806		0,486
Secchi	0,203	0,609	0,450	0,237	0,134	0,131	0,568	0,502	0,250	0,687	0,152	0,176	

Hopkins (2000) aponta para uma classificação:  $r = 0,0$  a  $0,10$  (muito baixa);  $0,1$  a  $0,30$  (baixa);  $0,3$  a  $0,50$  (moderada);  $0,5$  a  $0,70$  (alta);  $0,7$  a  $0,90$  (muito alta);  $0,9$  a  $1,0$  (quase perfeita).

Fonte: Autor

A partir do mapa perceptual (Figura 19), pode-se notar que a componente 1 explica 65,51% da variabilidade dos dados, enquanto que a componente 2 explica 34,48 % Tabela 8. Sendo assim, o mapa perceptual bidimensional apresentado está perfeitamente adequado para avaliar as relações entre as variáveis, uma vez que explica praticamente 100% da variabilidade dos dados. A ACP mostrou uma nítida separação entre os pontos amostrais no reservatório, de modo que cada um deles foi explicado pelas diferentes variáveis, demonstrando assim, a existência de heterogeneidade espacial no reservatório Billings.

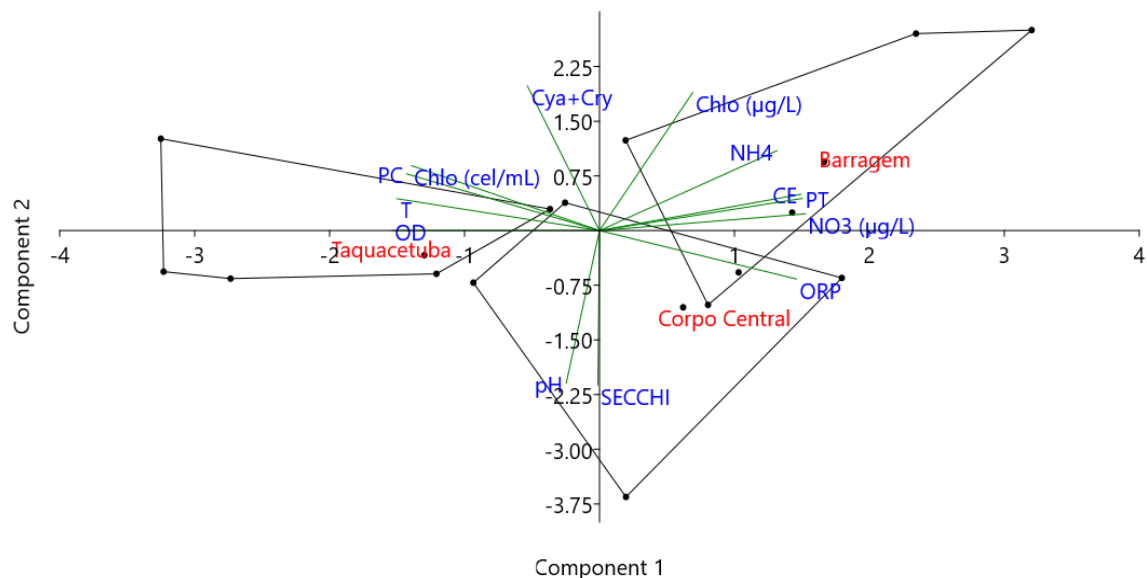
As variáveis que apresentaram forte correlação positiva foram, condutividade elétrica (CE), fósforo total (PT), nitrato (NO<sub>3</sub>). Os elevados valores de nutrientes e de condutividade elétrica podem estar associados a uma maior disponibilidade de eletrólitos na água e, demonstram uma característica de ambiente impactado por ações antrópicas. Esta condição pode estar relacionada ao bombeamento do poluído rio Pinheiros, o qual atravessa a cidade de São Paulo. A correlação destas variáveis de acordo com Calijuri (2009), pode ser explicada devido o aumento das concentrações Clorofila-a, indicando assim uma maior produtividade primária no ponto da Barragem (P1).

As variáveis Ficocianina, Temperatura (T), densidade de Clorofila (Chlo) e Oxigênio dissolvido (OD), também demonstraram ser, variáveis fortemente correlacionadas. Sendo explicadas pelos maiores valores encontrados na contagem do ponto Taquacetuba, para Cyanobacteria e Cryptophyceae, as quais emitem o pigmento Ficocianina, conforme representado na Tabela 2. Uma melhor adaptação destes organismos pode ser explicada segundo Whitton e Potts (2000), pela alta capacidade de capturar a luz em comprimento de onda não utilizado por algas verdes, e pela possibilidade de se desenvolverem em condições de baixa relação N/P, como pode ser observado na Figura 19, a baixa correlação de PT e NO<sub>3</sub> com a presença de densidades de Chlorophyceae (Chlo) e do pigmento de Ficocianina, além disso podemos observar uma baixa correlação da densidade de Cyanobacteria somada a Cryptophyceae com a transparência mensurada pelo disco de Secchi, reforçando a alta capacidade destes organismos em sobreviver com baixa luminosidade.

Tabela 8: Tabela de Análise de Componentes Principais (ACP) para os três pontos de amostragem no reservatório Billings

Componente	Eigenvalue	% variance
1	8,51734	65,518
2	4,48266	34,482

Fonte: Autor



Legenda - T = temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ); pH = potencial hidrogeniônico; CE = condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ); OD = oxigênio dissolvido ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $\text{NH}_4$  = amônia ( $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ ); ORP = potencial redox (mV); PC= Ficocianina ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); Cya+Cry = densidade de Cyanobacteria + Cryptophyceae (cél. $\cdot\text{mL}^{-1}$ ); Chlo = densidade de Chlorophyceae (cél. $\cdot\text{mL}^{-1}$ ); Chlo = clorofila-a ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $\text{NO}_3$  = nitrato ( $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ ); PT = fósforo total ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); Secchi (m).

Figura 19: Mapa perceptual bidimensional dos componentes principais com base em 13 variáveis limnológicas nos 3 pontos de amostragens no reservatório Billings.

Fonte: Autor

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os três pontos amostrais analisados do reservatório Billings apresentaram características similares para as condições do estado trófico, sendo todas as análises caracterizadas com hipereutrófico. O ponto Barragem apresentou a pior condição de eutrofização, quanto a biomassa fitoplanctônica e a disponibilidade de nutrientes que são preocupantes, de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005 e a Portaria de Consolidação nº 5 de 2017.

Foram registradas dez classes fitoplanctônicas: Cyanobacteria, Chlorophyceae, Cryptophyceae, Bacillariophyta, Zygnemaphyceae, Euglenophyceae, Eustigmatophyceae, Trebouxiophyceae, Dinophyceae e Xanthophyceae. Em relação à densidade total das classes, durante todo o período de estudo e nos três pontos de amostragem Barragem, Corpo central e Taquacetuba a classe que mais contribuiu em termos de células  $\cdot\text{mL}^{-1}$  foi a Cyanobacteria. O valor máximo registrado para densidade de Cyanobacteria foi observada no ponto Taquacetuba, um total de 377.773 (cél.  $\cdot\text{mL}^{-1}$ ), seguido pela Barragem e Corpo central.

Foram identificados 48 táxons, para a classe Cyanobacteria 15 gêneros foram listados ao longo dos meses, são eles, *Aphanocapsa*, *Chroococcus*, *Cilindrospermopsis*, *Dictyosphaerium*, *Dolichospermum*, *Geitlerinema*, *Limnococcus*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Phormidium*, *Planktothix*, *Pseudanabena*, *Radiocystis*, *Synechocystis*, *Woronichinia*. *Planktothix*, foi o gênero que prevaleceu nos três pontos de amostragem Barragem, Corpo central e Taquacetuba. A presença de gêneros de Cyanobacteria potencialmente tóxicas, com densidades acima do permitido pela legislação pertinente, de forma a comprometer os usos múltiplos do reservatório Billings, principalmente o de abastecimento público, demonstram a importância do reservatório ser constantemente monitorado.

Qualitativamente foram identificados 89 táxons. Cyanobacteria e Chlorophyceae foram os grupos mais representativos, com 22 e 21 táxons respectivamente, seguidas por Trebouxiophyceae com 13; Zygnemaphyceae com nove; Euglenophyceae com sete; Bacillariophyta, Coscinodiscophyceae, Eustigmatophyceae com quatro táxons cada, Xanthophyceae, com três e Dinophyceae com dois táxons.

Neste estudo foi observado uma moderada correlação entre as medidas do sensor de Ficocianina medidos por sonda e a densidade de Cyanobacteria analisadas em laboratório, de amostras coletadas no reservatório Billings. Outros autores, relatam alguns fatores que podem atrapalhar a leitura da sonda *in situ*, como o ambiente hipeurotrófico, ou com muita diversidade de organismos.

A construção do mapa perceptual bidimensional para as análises de ACP, mostrou-se perfeitamente enquadrada para o englobamento da variabilidade dos parâmetros analisados, além de correlacionar positivamente as variáveis CE, PT e NO<sub>3</sub> com o ponto de amostragem Barragem. A sonda conseguiu mensurar e relacionar a quantidade de Ficocianina com o ponto amostral com maior densidade de Cyanobacteria somada a Cryptophyceae.

Contudo, a utilização de sensores fluorimétricos mostram-se ser uma ferramenta auxiliar promissora para o monitoramento em tempo real da dinâmica da comunidade fitoplanctônica. A análise utilizando o sensor de Ficocianina não permite avaliar a toxicidade da espécie, convém apenas como um sistema de alerta para a ocorrência de Cyanobacteria e, para atender a esse propósito, são necessárias análises laboratoriais, mesmo em nível celular.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABED, R.M.M., DOBRETSOV, S., SUDESH, K., Applications of cyanobacteria in biotechnology. **Journal Appl. Microbiol.** v. 106, p. 1-12, 2009.
- AHN, C. Y.; JOUNG, S. H.; YOON, S. K. OH, H. M. Alternative alert system for cyanobacterial bloom, using phycocyanin as a level determinant, **J. Microbiol.**, 45(2), 98–104, 2007.
- ALVES, B. T. *et al.* Cadernos de Educação Ambiental – edição especial Billings. São Paulo (Estado). **Secretaria do Meio Ambiente / Coordenadoria de Educação Ambiental. Billings. São Paulo: SMA/CEA, 2010.**
- APELDOORN, M. E. V. *et al.* Toxins of cyanobacteria. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 51, p. 7-60, 2007.
- AWWA. **Algae: Source to Treatment: manual of water supply practices - M57, first edition, 2010.**
- AZEVEDO, S. M. F. O., CARMICHAEL, W. W., JOCHIMSEN, E. M., RINEHART, K. L., LAU, S., SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. (2002): Human intoxication by microcystins during renal dialysed treatment in Caruaru-Brazil. – **Toxicology** 181–182: 441– 446.
- BASTIEN, C. *et al.* Performance evaluation of phycocyanin probes for the monitoring of cyanobacteria. **Journal Environmental Monitoring**, v. 13, n. 1, p. 110–118, 2011.
- BECK, R. *et al.* Comparison of satellite reflectance algorithms for estimating phycocyanin values and cyanobacterial total biovolume in a temperate reservoir using coincident hyperspectral aircraft imagery and dense coincident surface observations. **Remote Sensing**, v. 9, p. 538, 2017.
- BECKER, V., L. CAPUTO, J. ORDOÑEZ, R. MARCÉ, J. ARMENGOL, L. O. CROSSETTI & V. L. M. HUSZAR, 2010. Driving factors of the phytoplankton functional groups in a deep Mediterranean reservoir. **Water Research**. 44: 3345–3354.
- BERTONE, E.; BURFORD, M.A.; HAMILTON, D. Fluorescence probes for real-time remote cyanobacteria monitoring: A review of challenges and opportunities. **Water Research** v.141, p.152-162, 2018. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 262, p. 938-946, 2018.
- BEUTLER, M. *et al.* A fluorometric method for the differentiation of algal populations in vivo and in situ. **Photosynthesis Research**, v. 72, n. 1, p. 39–53, 2002.
- BEUTLER, M. *et al.* Algorithms and practical fluorescence models of the photosynthetic apparatus of red cyanobacteria and Cryptophyta designed for the fluorescence detection of red cyanobacteria and cryptophytes. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 35, n. 2, p. 115–129, 2004.
- BEYRUTH, Z.; PEREIRA, H. A. D. S. L. The isolation of Rio Grande from Billings reservoir, São Paulo, Brazil: effects on the phytoplankton. **Boletim de Instituto de Pesca**, v. 28, n. 2, p. 111–123, 2002.

BICUDO, C. E. DE M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de águas continentais do Brasil**. 3 ed. São Carlos, SP, Brasil, 2017.

BONECKER, C. C. & AOYAGUI, A. S. M. Relationships between rotifers, phytoplankton and bacterioplankton in the Corumbá reservoir, Goiás State, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 546, p. 415- 421, 2005

BOUVY, M., FALCÃO, D., MARINHO, M., PAGANO, M. & MOURA, A. (2000): Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. – **Aquatic Microbial Ecology**, v. 23, p. 13–27, 2000.

BRASIL, J.; HUSZAR, V. L. M. O papel dos traços funcionais na ecologia do fitoplâncton continental. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 4, p.799- 834, 2011.

BRASIL. **Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de Setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde**. Brasília, 2017.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União**, 2005.

BRIENT, L.; LENGRONNE, M.; BERTRAND, E. ROLLAND, D.; SIPEL, A.; STEINMANN, D. BAUDIN, I.; M. LEGEAS, M.; B. ROUZIC, LE.; M. BORMANS, A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies, **J. Environ. Monit.** 10(2), 248–255, 2008.

BUI, D. A.; HAUSER, P. C. Analytical devices based on light-emitting diodes - A review of the state-of-the-art. **Analytica Chimica Acta**, v. 853, n. 1, p. 46–58, 2015.

CAGNARD, O. *et al.* Assessment of emerging optic sensors (fluoroprobes) for algae on-line monitoring. **Water Quality Technology Conference and Exposition 2006: Taking Water Quality to New Heights**, n. November, p. 322–331, 2006.

CALIJURI, M. C.; SANTOS, A. C. A. D.; JATI, S. Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, SP – Brazil). *Journal of Plankton Research*, v. 24, n. 7, p. 617-634, 2002.

CALIJURI, M. DO C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. DOS. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos, SP, Brasil, 2006. .

CAPOBIANO, J. P. R.; WHATELY, M. **Billings 2000: Ameaças e perspectivas para o maior reservatório de água da região metropolitana de São Paulo**. São Paulo, SP, Brasil, 2002.

CARDOSO-SILVA, S.; MARIANI, C. F. ; POMPEO, M. L. M. . Análise crítica da resolução CONAMA n 357 à luz da Diretiva Quadro da Água da comunidade europeia: estudo de caso (represa do Guarapiranga - São Paulo, Brasil). In: Marcelo Pompêo; Viviane Moschini-Carlos; Paula Y. Nishimura; Sheila Cardoso-Silva; Júlio L. Doval. (Org.). **Ecologia de reservatórios e interfaces**. 1ed.São Paulo: Universidade de São Paulo, v. 1, p. 367-375. 2015.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific America**, v. 270, p. 64–72, 1994.

CARVALHO, L. R. Cianotoxinas. In: SANT'ANNA, C. L., *et al.* **Manual ilustrado para identificação e contagem de Cianobactérias de água Continentais Brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência - Sociedade Brasileira de Ficologia, p. 9-19, 2006.

CARVALHO, M.C. **Comunidade Fitoplanctônica como instrumento de biomonitoramento de reservatórios no Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Saúde Pública) Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. São Paulo-SP, 2003.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (São Paulo). 2017. **Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo**. 2018.

CHANG, D.-W. *et al.* Measurement of cyanobacteria using in-vivo fluoroscopy - Effect of cyanobacterial species, pigments, and colonies. **Water Research**, v. 46, n. 16, p. 5037–5048, 2012.

CHOO, F.; ZAMYADY, A.; NEWTON, K.; NEWCOMBE, G.; BOWLING, L.; STUETZ, R. HENDERSON, R. Performance evaluation of in situ fluorometers for real-time cyanobacterial monitoring. **H2 Open Journal**. v.1, n. 1, 2018.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: 1999.

CICERELLI, R. E.; GALO, M. DE LOURDES, B. T.; ROING, H. L. Multisource data for seasonal variability analysis of cyanobacteria in a tropical inland aquatic environment. **Marine and Freshwater Research**. v. 68, 2344–2354, 2017.

CODD, G. A., L. F.; MORRISON, J. S. METCALF. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 203, p. 264–272, 2005.

COLES, J. F., JONES, R. C. Effect of temperature on photosynthesis–light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. **Journal of Phycology**, v. 36, p. 7–16, 2000.

CORTEZ, M. P. T. **Aspectos ecológicos e sua relação com o polimorfismo genético e taxonomia convencional de cianobactérias da Represa Billings**. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

COTTERILL, V.; HAMILTON, D. P. PUDDICK, J.; SUREN, A.; WOOD, S. A. Phycocyanin sensors as an early warning system for cyanobacteria blooms concentrations: a case study in the Rotorua lakes. 2019.

CREMELLA, B. **Puesta a punto y validación de un método basado en la fluorescencia in vivo de pigmentos como indicador de biomasa de fitoplancton y cianobacterias en cuerpos de agua de Uruguay**. (Dissertação de mestrado). Facultad de Ciencias - Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 2017.

CRUZ, P. S. *et al.* Dinâmica do fitoplâncton e evolução trófica de reservatório no Semiárido brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.13, n 4, p. 495-500, 2018.

CULLEN, J.J. Observation and prediction of harmful algal blooms. In: Real-time Coastal Observing Systems for Marine Ecosystem Dynamics and Harmful Algal Blooms: Theory, Instrumentation and Modelling. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, place de Fontenoy, Paris, France. 866 p., 2008.

CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C.; LAMPARELLI, M. C.; MENEGONI JR., N. Resolução CONAMA 357/2005: análise espacial e temporal de não conformidades em rios e reservatórios do Estado de São Paulo de acordo com seus enquadramentos (2005-2009). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 159-168, 2013.

DELLA, A. P., *et al.* VIII Botânica no Inverno 2018 São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2018. 275 p : il.

DELLAMANO-OLIVEIRA, M. J.; VIEIRA, A.H.; ROCHA, O.; COLOMBO, V.; SANT'ANNA, C. L. Phytoplankton taxonomic composition and temporal changes in a tropical reservoir. **Archiv für Hydrobiologie** 171: 27-38, 2008.

Departamento de Água e Esgoto. v. 21, p. 11-15, 1960.

DUAN, H.; MA, R.; HU, C. Evaluation of remote sensing algorithms for cyanobacterial pigment retrievals during spring bloom formation in several lakes of East China. **Remote Sensing of Environment**, v. 126, p. 126–135, 2012.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, p. 826, 2011.

FALCO, P.B.; CALIJURI, M.C. Longitudinal phytoplanktonic community distribution in a tropical reservoir (Americana, São Paulo, Brasil). **Acta Limnologica Brasiliensia**. v.14, p. 27-37, 2002.

FALCONER I. R.; Health implications of Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In: Steffensen DA, Nicholson BC, editors. Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management - **Proceedings of an International Workshop**. Adelaide; 1994.

FALCONER, I. R.; HUMPAGE, A. R. Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algal) toxins in drinking water. *International Journal of Environmental Research in Public Health*. Vol. 2. p. 43 – 50. 2005.

FERNANDES, L. F.; WOSIACK, A. C; PACHECO, C. V.; DOMINGUES, L. & LAGOS, P. D. Cianobactérias e Cianotoxinas. In: ANDREOLI, C. V. & CARNEIRO, C. eds. **Gestão integrada de mananciais de abastecimento eutrofizados**. Curitiba, Editora Gráfica Capital. p.367-388, 2005.

FIGUEREDO, C. C.; A. GIANI. Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): conditions favoring a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Limnologia** 39: 264–272, 2009.

FILHO, A. D. S. F. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 2, p. 272–312, 2009.

GEMELGO, M.C.P.; MUCCI, J.L.N.; NAVAS-PEREIRA, D. Population dynamics: seasonal variation of phytoplankton functional groups in Brazilian reservoirs (Billings and Guarapiranga, São Paulo). **Brazilian Journal of Biology** 69: 1001-1013, 2009.

GHOLIZADEH, M. H., MELESSE, A. M., REDDI, L. A comprehensive review on water quality parameters estimation using remote sensing techniques. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 8, 1298 p, 2016.

GREGOR, J. *et al.* In situ quantification of phytoplankton in reservoirs using a submersible spectrofluorometer. **Hydrobiologia**, v. 548, p. 141–151, out. 2005.

GREGOR, J.; MARSÁLEK, B. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: A comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. **Water Research**, v. 38, n. 3, p. 517–522, 2004.

GREGOR, J.; MARSÁLEK, B.; SÍPKOVÁ, H. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method. **Water Research**, v. 41, p. 228–234, 2007.

HANISCH, W. S.; NORDI, C. S. F. Monitoramento remoto em tempo real de mananciais visando às florações de cianobactérias, p. 190-211. In: Pompêo *et al.* (Orgs.). **Ecologia de reservatórios e interfaces**, São Paulo, 2015. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 460p.

HAPPEY-WOOD, C. M. Ecology of freshwater planktonic green algae. In: Sandgren, C.D. (ed.). Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. **Cambridge University Press**, Cambridge, p. 175-226, 1998.

HARKE, M. J., STEFFEN, M. M., GOBLER, C. J., OTTEN, T. G., WILHELM, S. W., WOOD, S. A., & PAERL, H. W. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. **Harmful Algae**, 54, 4–20, 2016.

HENRY, R. *et al.* Variação espacial e temporal da produtividade primária pelo fitoplâncton na represa de Jurumirim (Rio Paranapanema, SP). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 58, n. 4, p. 571–590, 1998.

HODGES, C. M. *et al.* Sensor manufacturer, temperature, and cyanobacteria morphology affect phycocyanin fluorescence measurements. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 2, p. 1079–1088, 27 jan. 2018.

HOFFMANN, L.; KOMÁREK, J.; KASTOVSKY, J. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state in 2004. **Algological Studies**, v. 117, n. 1, p. 95–115, out. 2005.

HOPKINS, W. G. **Correlation coefficient: a new view of statistics**. 2000. Disponível em: <http://www.sportsci.org/resource/stats/correl.html>. Acesso em: 1 jul. 2019.

HUNTER, P. D. *et al.* Using Remote Sensing to Aid the Assessment of Human Health Risks

from Blooms of Potentially Toxic Cyanobacteria. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 7, p. 2627–2633, 2010.

IZYDORCZYK, K. *et al.* Measurement of phycocyanin fluorescence as an online early warning system for cyanobacteria in reservoir intake water. **Environmental Toxicology**, v. 20, n. 4, p. 425–430, 2005.

IZYDORCZYK, K.; CARPENTIER, C.; MRÓWCZYŃSKI, J.; WAGENVOORT, A.; JURCZAK, T.; TARCZYŃSKA, M. Establishment of an Alert Level Framework for cyanobacteria in drinking water resources by using the Algae Online Analyser for monitoring cyanobacterial chlorophyll a. **Water Research**, v. 43, n. 4, p. 989–996, 2009.

KONG, Y. *et al.* Using an online phycocyanin fluorescence probe for rapid monitoring of cyanobacteria in Macau freshwater reservoir. **Hydrobiologia**, v. 741, n. 1, p. 33–49, 2014.

KONG, Y., ZHU, L., ZOU, P., QI, J., YANG, Q., SONG, L., XU, X. Isolation and characterization of dissolved organic matter fractions from antialgal products of *Microcystis aeruginosa*. **Environ. Sci. Pollut. Control Ser.** 21 (5), 3946e3954, 2014.

KOSTEN, S.; HUSZAR V. WARMER. Climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. GWF Discussion Paper 1213, Global Water Forum, Canberra, Australia. 2012.

KRING, S. A., FIGARY, S. E., BOYER, G. L., WATSON, S. B.; TWISS, M. R. Rapid in situ measures of phytoplankton communities using the bbe FluoroProbe: evaluation of spectral calibration, instrument intercompatibility, and performance range. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 71(7), 1087–1095, 2014.

LAMPARELLI, M. C. *et al.* **Atlas de cianobactérias da bacia do Alto Tiête**. São Paulo, SP, Brasil, 2014.

LEBOULANGER, C.; DORIGO, U.; JACQUET, S.; LE BERRE, B.; PAOLINI, G.; HUMBERT, J. F. Application of a submersible spectrofluorometer for rapid monitoring of freshwater cyanobacterial blooms: a case study, **Aquat. Microb. Ecol.**, 2002, 30, 83–89.

LEE, S. H. *et al.* Design of Optical Biological Sensor for Phycocyanin Parameters Measurement using Fluorescence Technique. **International Journal of Advanced Smart Convergence**, v. 5, n. 2, p. 73–79, 2016.

LEE, T. Y. *et al.* Quantitative determination of cyanobacteria in mixed phytoplankton assemblages by an in vivo fluorimetric method. **Analytica Chimica Acta**, v. 302, p. 81–87, 1995.

LIU, HONGBO.; PAN, DING.; CHEN, PIAO. A two-year field study and evaluation of water quality and trophic state of a large shallow drinking water reservoir in Shanghai, China. **Desalination and Water Treatment**, p. 1-10, 2015.

LOISA, O., KÄÄRIÄ, J., LAAKSONLAITA, J., NIEMI, J., SARVALA, J.; SAARIO, J. From phycocyanin fluorescence to absolute cyanobacteria biomass: an application using in-

situ fluorometer probes in the monitoring of potentially harmful cyanobacteria blooms. **Water Practice and Technology** 10(4), 695–698, 2015.

MACÁRIO, I. P. E., B. B. CASTRO, M. I. S. NUNES, S. C. ANTUNES, C. PIZARRO, C. COELHO, F. GONÇALVES, AND D. R. DE FIGUEIREDO. New insights towards the establishment of phycocyanin concentration thresholds considering species-specific variability of bloom-forming cyanobacteria. **Hydrobiologia** 757: 155–165, 2015.

MAGALHÃES, K. Criptofíceas: um grupo pequeno de grande importância. In: DELLA, A. P., et al. VIII Botânica no Inverno 2018. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2018. 275 p.: il.

MANKIEWICZ J, TARCZYNSKA M, WALTER Z, ZALEWSKI M. Natural toxins from cyanobacteria. **Act Biol Cracov Bot** 45(2):9–20, 2003.

MARGALEF, R. **Ecología**. Omega, Barcelona. 768 p.1983.

MCQUAID, N. *et al.* Use of in vivo phycocyanin fluorescence to monitor potential microcystin-producing cyanobacterial biovolume in a drinkingwater source. **Journal Environmental Monitoring**, v. 13, n. 2, p. 455–463, 2011.

MOSCHINI-CARLOS; PAULA Y. NISHIMURA; SHEILA CARDOSO-SILVA; JÚLIO L. Doval. (Org.). **Avaliação de Políticas Públicas em áreas de mananciais**. 1ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, v. 1, 376-395p, 2015.

MOSCHINI-CARLOS.; FREITAS, L. G. POMPÊO, M. Limnological evaluation of water in the Rio Grande and Taquacetuba branches of the Billings Complex (São Paulo, Brazil) and management implications. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 5, n. 3, p. 47-59, 2010.

MOUTINHO, F. H. M. **O fitoplâncton como ferramenta para o monitoramento das águas no reservatório Billings (Diadema, SP)**. Universidade Federal de São Paulo. 2016.

NASELLI-FLORES L. BARONE R. Pluriannual morphological variability of phytoplankton in a highly productive Mediterranean reservoir (Lake Arancio, Southwestern Sicily). **Hydrobiologia**, 578, 87–95, 2007.

NISHIMURA, P. Y.; CARLOS, V. M.; POMPÊO, M. A comunidade fitoplanctônica como discriminador da qualidade da água na represa Billings (São Paulo, SP). **Ecologia de reservatórios e interfaces**, n.3, p. 49–58, 2015.

NISHIMURA, P. Y.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M. L. M.; GIANESELLA, S. M. F.; SALDANHA-CORRÊA, F. M. P. Phytoplankton primary productivity in Rio Grande and Taquacetuba branches (Billings Reservoir, São Paulo, Brazil). **Verh Internat Verein Limnol**, v. 30, n. 1, p. 50-52, 2008.

O'NEIL, J. M., DAVIS, T.W., BURFORD, M.A., GOBLER, C.J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae** 14, 313e334, 2012

OLIVER, R. L., HAMILTON, D. P., BROOKES, J. D., GANF, G. G. (2012). Physiology, blooms and prediction of planktonic cyanobacteria. In B.A. **Whitton (Ed.), Ecology of Cyanobacteria II: their Diversity in Space and Time.** (pp. 155-194). Netherlands: Springer-Verlag.

PADISÁK, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. **Archiv Hydrobiologie Supplement**, v. 7, n. 4, p. 563-593, 2006.

PAERL, H. W.; HUISMAN, J. Climate change: A catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 1, p. 27–37, 2009.

PALMER, C. M. Algas e Suprimento de Água na Área de São Paulo. Revista do

PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. **Biologia Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002.

PIRES, D. A. **Diversidade (alfa, beta e gama) da comunidade fitoplanctônica de quatro reservatórios do Alto Tiête, Estado de São Paulo, com diferentes graus de trofia.** (Dissertação de mestrado). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. 2014

RAMÍREZ R., J.J. & BICUDO, C.E.M. Variation of climatic and physical co- determinants of phytoplankton community in four nictemeral sampling days in a shallow tropical reservoir, southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. v. 62, p. 1-14, 2002.

REYNOLDS, C. S. **Ecology of phytoplankton.** Cambridge: Cambridge University Press 2006. 535 p.

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

REYNOLDS, C. S.; HUSZAR, V.; KRUK, C.; NASELLI-FLORES, L.; MELO, S. Towards a functional classification of freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, v. 24, n. 5, p. 417-428, 2002.

REYNOLDS, C. S. The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers. **Hydrobiologia**, v. 289, p. 9-21, 1984.

REYNOLDS, C. S. Vegetation process in the pelagic: a model for ecosystem theory. *In*: Kinne (ed.), **Excellence in Ecology 9**. Oldendorf, Ecology Institute, 371 p. 1997.

RICHARDSON, T. L., LAWRENZ, E., PINCKNEY, J. L., GUAJARDO, R. C., WALKER, E. A., PAERL, H. W., & MACINTYRE, H. L. Spectral fluorometric characterization of phytoplankton community composition using the Algae Online Analyser. **Water Research**, 44(8), 2461–2472, 2010.

RIETZLER, A. C.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; TUNDISI, J. G. Life cycle, feeding and adaptive strategy implications on the co-occurrence of *Argyrodiaptomus furcatus* and *Notodiaptomus iheringi* in Lobo-Broa Reservoir (SP, Brazil). **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 93-105, 2002.

RODRIGUES, L. L. Biodiversidade de Cianobactérias e Algas das Represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil. (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

RODRIGUES, L. L.; SANT'ANNA, C. L.; TUCCI, A. Chlorophyceae das Represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n. 2, p. 247-264, abr.-jun. 2010.

ROSAL, C. **Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica de quatro reservatórios com diferentes graus de trofia da Bacia do Alto Tietê, SP, Brasil**. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. 2014.

SANT'ANNA *et al.* **Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras**. 2018.

SANT'ANNA, C. L. *et al.* Lista de Cyanobacteria do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 455–495, 2012.

SANT'ANNA, C. L. *et al.* **Manual ilustrado para Identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Editora In ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2006.

SANT'ANNA, C.L., TUCCI, A., AZEVEDO, M.T.P., MELCHER, S.S., WERNER, V.R., MALONE, C.F.S., ROSSINI, E.F., JACINAVICIUS, F.R., HENTSCHKE, G.S., OSTI, J.A.S., SANTOS, K.R.S., GAMA JUNIOR, W.A., ROSAL, C., ADAME, G. **Atlas de Cianobactérias e Microalgas de águas continentais Brasileiras**. Instituto de Botânica de São Paulo, 2012.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; AGUJARO, L.F.; CARVALHO, M.C.; CARVALHO, L.R. SOUZA, R.C.R. Identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Ed. Interciência, Rio de Janeiro. 58p, 2006.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; WERNER, V.R.; DOGO, C.R.; RIOS, F.R. & CARVALHO, L.R. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. **Algological Studies** 126: 249-263, 2008.

SANTOS, L. G. **O fitoplâncton como discriminador ambiental dos reservatórios do sistema canteira (SP)**. (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista. Sorocaba, São Paulo.

SEPPÄLÄ, J. *et al.* Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic Sea. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 73, n. 3–4, p. 489–500, 2007.

SERAFIM-JÚNIOR, M.; PERBICHE-NEVES, G., BRITO, L.; GHIDINI, A. R.; CASANOVA, S. M. C. Variação espaço-temporal de Rotifera em um reservatório eutrofizado no sul do Brasil. **Iheringia, Série Zoolologia**, v. 100, n. p. 233-241, 2010.

SHI, K.; ZHANG, Y.; LI, YUNMEI.; LI, LIN.; LV, HENG. Remote estimation of cyanobacteria-dominance in inland waters. **Water research**, v. 68, p. 217- 226 - 2015.

SIEBURTH, J. MCN.; SMETACEK, V.; LENZ, J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of plankton and their relationship to plankton size Fractions. **Limnology Oceanography**, v. 23, p. 256 – 1263, 1978.

SILVA, L.H.S. 2004. **Fitoplâncton de um pequeno reservatório eutrófico (lago Monte Alegre, Ribeirão Preto, SP): dinâmica temporal e respostas à ação do zooplâncton e peixes**. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 217 p

SILVA, T., GIANI, A., FIGUEREDO, C., VIANA, P., KHAC, V. T., LEMAIRE, B. J., TASSIN, B., NASCIMENTO, N., & VINÇON-LEITE, B. (2016). Comparison of cyanobacteria monitoring methods in a tropical reservoir by in vivo and in situ spectrofluorometry. **Ecological Engineering**, 97, 79–87.

SIMIS, S. G. H.; PETERS, S. W. M.; GONS, H. J. Remote sensing of the cyanobacterial pigment phycocyanin in turbid inland water. **Limnology and Oceanography**, v. 50, n. 1, p. 237–245, 2005.

SISTE, C. E.; GIRÃO, E. G.; DUNCAN, B. L. Manual para Formação e Capacitação de Grupos Comunitários em Metodologias Participativas de Monitoramento da Qualidade da Água. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 1–50, abr. 2011.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In ‘Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management’. (Eds I. Chorus and J. Bartram.) pp. 290–307. (E & FN Spon: London, UK.), 1999.

SOARES, M. C. S., M. I. A.; ROCHA, M. M.; MARINHO, S. M. F. O.; AZEVEDO, C. W. C. BRANCO.; V. L. M. HUSZAR. Changes in species composition during annual cyanobacterial dominance in a tropical reservoir: physical factors, nutrients and grazing effects. **Aquatic Microbial Ecology** 57: 137–149, 2009.

SOBRAL, M. D. C. *et al.* Geotecnologias na gestão de reservatórios: uma revisão e uma proposta de integração. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 5, p. 841–852, 2017.

SONG, K., et al. Remote estimation of phycocyanin (PC) for inland waters coupled with YSI PC fluorescence probe. **Environmental Science and Pollution Research**, p.1-11, 2013.

TUCCI, A.; SANT’ANNA, C.L. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszýnska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 26, n. 1, p. 97-112, 2003.

TUCCI, A.; SAWATANI, M.; LOPES, R. I. Espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica das represas Billings (braço Taquacetuba) e Guarapiranga. In: **REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO DE BOTÂNICA**, 18, 21-25 nov. 2011, São Paulo. Anais18RAIBt. São Paulo: Instituto de Botânica, 2011. 3 p.

TUNDISI, J. G. **A crise da água: eutrofização e suas consequências. água no século XXI:**

**enfrentando a escassez.** São Carlos, SP, Brasil, 2010.

TUNDISI, J.G.; MATSUMURA-TUNDISI, T.M. 2008. *Limnologia*. Oficina de textos, São Paulo 631p.

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton-methodik. Mitt. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol., v. 9, p. 1-38, 1958.

WENGRAT, S.; BICUDO, D.C. Spatiol evaluation of water quality in an urban reservoir (Billings Complex, southeastern Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensis**. v. 23, n. 2, p. 200-216, Rio Claro.

WETZEL, R.G. 2001. *Limnology. Lakes and river ecosystems*. Academic Press, san Diego. 1066p.

WHATELY, M. **Seminário Billings 2002: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação , recuperação e uso sustentável da Bacia Hidrográfica da Billings**. São Paulo, SP, Brasil, 2003.

WHITTON, B. A. & POTTS, M. (2000). The ecology of cyanobacteria, (Eds),. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. pp. 1-11

WLODARCZYK, L. M.; MOLDAENKE, C.; FIEDOR, L. Fluorescence as a probe for physiological integrity of freshwater cyanobacteria. **Hydrobiologia**, 695:73–81, 2012.

ZAMYADI, A. *et al.* Cyanobacterial detection using *in vivo* fluorescence probes: Managing interferences for improved decision-making. **Journal - American Water Works Association**, v. 104, n. 8, p. 466–479, 2012.

ZAMYADI, A.; CHOO, F.; NEWCOMBE, G.; STUETZ, R. HENDERSON, R. K. A review of monitoring technologies for real-time management of cyanobacteria: recent advances and future direction. **Trends Anal Chem**, v. 85, p. 83–96, 2016.