UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E SANEAMENTO

						~
_						. –
-	$\Delta R_{\rm B}$	21 - 1	Δ ΔΙ	RINIO	$M\Delta P$	$\Delta \vdash \Delta \cap$
•	\sim	\sim	\neg	BINO		\neg i \neg \bigcirc

Estudo *in situ* da fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais (SP)

VERSÃO CORRIGIDA São Carlos (SP) 2016

GABRIELA ALBINO MARAFÃO

Estudo *in situ* da fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais (SP)

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha

VERSÃO CORRIGIDA São Carlos (SP) 2016 AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FIM DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Marafão, Gabriela Albino

M298e

Estudo in situ da fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais (SP) / Gabriela Albino Marafão; orientador Davi Gasparini Fernandes Cunha. São Carlos, 2016.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2016.

1. cianobactérias. 2. eutrofização artificial. 3. fixação de nitrogênio. 4. gerenciamento dos recursos hídricos. 5. isótopo $^{15}N_2$. 6. reservatórios subtropicais. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharela GABRIELA ALBINO MARAFÃO.

Título da dissertação: "Estudo in situ da fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais (SP) ".

Data da defesa: 19/05/2016

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha (Orientador)

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Profa. Dra. **Analu Egydio dos Santos** (UNISEB COC)

Profa, Dra. Marcela Bianchessi da Cunha Santino (Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada Maria Bernadete A. Varesche Silva

Presidente da Comissão de Pós-Graduação: Prof. Associado Paulo César Lima Segantine

Com muito carinho, dedico este trabalho aos meus familiares, professores e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me dado perseverança e força para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha, por toda a dedicação, respeito, amizade e liderança, que sempre ouviu as minhas dúvidas e dividiu comigo suas experiências de uma forma brilhante. É um profissional em quem pretendo me espelhar.

Às agências de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de mestrado, e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro (Processo FAPESP nº 2014/2088-5).

À Andréia, Amanda e Carol, minhas amigas-irmãs que o mestrado me presenteou, pelas vivências destes dois anos. Agradeço o companheirismo, os conselhos, as ajudas, as palavras de estímulo e as comemorações.

À técnica do laboratório BIOTACE Adriana Cristina Poli Miwa por me apoiar nas análises laboratoriais de nutrientes, pelo atendimento dos infinitos pedidos de socorro e pelos momentos de descontração, também no whatsapp.

Ao técnico Waldomiro Antônio Filho e ao motorista Benedito Patracon por todo o apoio, colaboração e bom humor nas coletas de campo. Sem eles, nada seria possível.

Aos queridos integrantes de 2014/2015 do laboratório BIOTACE (SHS/EESC/USP): Adilson Chaves, Andréia Ortolan, Amanda Néri, Carolina Ferreira, Laís Giraldi, Larissa Sene, Paulo Santos, Paulo H. Pereira, Sarah Vargas, Vitória Lima e Wesley Saltarelli, pelo ambiente de trabalho agradável e bate-papo na hora do café. Agradeço também à professora Maria do Carmo Calijuri, pela infra-estrutura do laboratório.

Ao aluno de iniciação científica Vinicius Diniz que acompanhou as coletas de campo na represa do Lobo.

Aos funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS): Maria Auxiliadora C. Altieri Pin (Sá), Priscila Carla Toselli de Almeida (Pri), Rosemeire A. de Jesus, Flávia G. Canova, Fernanda M. Struzziatto e André Canale Garcia, pela prontidão e ajuda.

Aos professores André Cordeiro Alves dos Santos e Maria do Carmo Calijuri por terem participado e contribuído no meu exame de qualificação.

Aos examinadores: Marcela B. da Cunha-Santino e Analu Egydio dos Santos pela disponibilidade e pelas sugestões que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Professor José Albertino Bendassoli e aos técnicos Miguel Luís Baldessin e Hugo Batagello do Laboratório de Isótopos Estáveis (CENA/USP) pelo apoio nas análises de espectrometria de massa do ¹⁵N₂.

Ao Professor Igor Renato Bertoni Olivares e ao doutorando Ricardo Camargo (IQSC/USP) pela parceria nas análises de cromatografia para quantificação da produção de etileno.

Ao Professor André Cordeiro dos Santos pelas informações climatológicas e hidráulicas do reservatório de Itupararanga.

Ao Fernando de Faria Vilela (Gerência de Meio Ambiente – AES Tietê) por autorizar e Dona Marli por facilitar a entrada no reservatório de Itupararanga.

Ao coordenador de gestão de operações da AES Tietê Wagner de Freitas Ciarelli, por disponibilizar os dados operacionais da barragem de Barra Bonita.

Ao Grupo Raízen pela autorização de acesso ao Clube de Campo de Barra Bonita para a realização das coletas.

Ao gerente operacional da Usina Lobo Marco Catalano, por disponibilizar as vazões da barragem do Lobo.

Ao técnico José Roberto Maramarque (Betão) pelos dados da estação climatológica do CHREA/USP localizada próxima ao reservatório do Lobo.

Agradeço eternamente a minha família. Aos meus pais, Solange e João, pela confiança e incentivo. A minha querida avó Clarice e irmã Cinthia, que de uma forma especial sempre me apoiaram. E também: Amélia, Antônio, Renata, Matheus, Fábio, Kátia, Edson, Gabriel, Isabela, Camila, Heitor... Amo vocês!

A todos os amigos da pós-graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento de 2014-2015.

As minhas amigas (Anna, Bruna L., Bruna G., Gabis, Guta, Ísis, Ligia, Laura, Marina, Thaís F., Thaís V....), que contribuíram indiretamente e diretamente para minha pesquisa, pelos momentos de distração, aceitando minhas negativas na hora de sair por conta do cansaço.

Aos amigos e ex-colegas de trabalho do Departamento de Águas e Energia Elétrica (DAEE) de Ribeirão Preto e da Câmara Técnica da Agenda 21 e Educação Ambiental do CBH-Pardo, pela consideração e estímulo. Em especial, aos queridos Rita, Rosana, Dani, Édia e Jean.

E, finalmente, agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte do meu mestrado e contribuíram para meu amadurecimento profissional, muito obrigada.

"Em minhas preces de todo dia, sempre peço coragem e paciência. Coragem para continuar superando as dificuldades do caminho naqueles que não me compreendem. E paciência, para não me entregar ao desânimo diante das minhas fraquezas."

Chico Xavier

RESUMO

MARAFÃO, G. A. Estudo *in situ* da fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais (SP). 2016. 137 f. Dissertação (mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

A eutrofização artificial é um dos maiores desafios da sociedade moderna em relação à manutenção dos usos múltiplos da água, portanto, é preciso estudar os mecanismos que influenciam a variação das características bióticas e abióticas dos reservatórios em resposta às interferências antrópicas, sobretudo ao incremento excessivo de nutrientes, nitrogênio e fósforo. Estes nutrientes afetam a produção da biomassa aquática e favorecem florações de cianobactérias. Diante dessa problemática, a presente pesquisa quantificou as taxas de fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton, considerando que algumas cianobactérias se beneficiam dessa habilidade competitiva para dominarem muitos ecossistemas aquáticos. Para isso, foram estudados três reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia no estado de São Paulo, totalizando oito amostragens entre 2013 e 2015. Além de variáveis abióticas e bióticas da água, foram utilizados dois métodos, um indireto e outro direto, para estimar as taxas de fixação: redução do acetileno e traçador isótopo 15N2. Os reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo foram classificados como eutrófico, hipereutrófico e supereutrófico, respectivamente. As maiores concentrações de nutrientes (nitrogênio total Kjeldahl: 5.930 μg/L e fósforo total: 466 μg/L) foram observadas no reservatório de Barra Bonita, no qual não foi detectada fixação significativa pela predominância de Microcystis aeruginosa, não fixadora de N2, que atingiu biovolume máximo de 110 mm³/L. Em Itupararanga, nas coletas de outubro de 2013 e fevereiro de 2014, Cylindrospermopsis raciborskii e Anabaena sp. foram responsáveis pelas taxas de fixação, sendo que essa última apresentou maior frequência de heterócitos (75%). No Lobo, Aphanizomenon sp. (durante o inverno), C. raciborskii (durante o verão) e Lyngbya sp. (fixadora noturna de N₂) realizaram a fixação em todas as amostragens, com exceção de fevereiro de 2014. Nos reservatórios de Itupararanga e no Lobo, mesmo em condições de excesso de nutrientes e elevadas relações N:P (máximo de 564:1), as taxas de fixação atingiram 0,22 e 0,95 µg/L.h, que são consideradas elevadas quando comparadas a outros estudos em ambientes temperados. A comparação entre as metodologias sugeriu que o método direto, com o traçador ¹⁵N₂, foi mais sensível que o indireto, da redução do acetileno. Entre as variáveis analisadas, a que mais influenciou a fixação foi a estrutura da comunidade fitoplanctônica (e.g., características qualitativas, capacidade de fixação e presença de heterócito). As variáveis climatológicas (precipitação e temperatura) e hidrológica (tempo de detenção hidráulico), juntamente com a disponibilidade de nutrientes e a possível competição entre espécies e grupos fitoplanctônicos, regularam a comunidade fitoplanctônica. A análise do processo de fixação no período diurno ou noturno permitiu inferir diferentes estratégias adaptativas das cianobactérias presentes nos ambientes estudados. Para os três reservatórios analisados, concluiu-se que a qualidade da água está comprometida devido à floração de cianobactérias potencialmente tóxicas e isso evidencia a necessidade de medidas de controle de estado trófico para garantir os usos múltiplos da água e a saúde pública. O processo de fixação pode representar uma parcela significativa de nitrogênio nos sistemas aquáticos e não foi inibido pelo excesso de nutrientes.

Palavras-chave: cianobactérias; eutrofização artificial; fixação de nitrogênio; gerenciamento dos recursos hídricos; isótopo ¹⁵N₂; reservatórios subtropicais.

ABSTRACT

MARAFÃO, G. A. Study *in situ* of biological nitrogen fixation by phytoplankton in subtropical reservoirs (SP). 2016. 137 p. Dissertação (mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Artificial eutrophication is one of the greatest challenges of modern society in relation to the maintenance of the multiple uses of water, therefore it is necessary to study the mechanisms that influence the variation of biotic and abiotic characteristics of the reservoirs in response to anthropogenic interference, especially the increase of nutrients, nitrogen and phosphorus. Such nutrients affect the production of aquatic biomass and favor cyanobacteria. This research quantified the biological nitrogen fixation rates by the phytoplankton, considering that some cyanobacteria benefit from this competitive ability to dominate many Brazilian aquatic ecosystems. We studied three subtropical reservoirs with different trophic levels in the São Paulo State, Brazil, performing eight sampling campaigns between 2013 and 2015. In addition to the abiotic and biotic variables of water, two methods were used to estimate the fixation rates: acetylene reduction and tracer isotope ¹⁵N₂. The reservoirs Itupararanga, Barra Bonita and Lobo were classified as eutrophic, hypertrophic and supereutrophic, respectively. The highest concentrations of nutrients (Total Kjeldahl Nitrogen: 5.930 µg/L and total phosphorus = 466 μg/L) were observed in the Barra Bonita Reservoir, where no fixation was detected due to the predominance of Microcystis aeruginosa, non-fixing cyanobacteria, with a maximum biovolume of 110 mm³/L. In Itupararanga, in October 2013 and January 2014, Cylindrospermopsis raciborskii and Anabaena sp. were responsible for nitrogen fixation, the latter with greater frequency of heterocysts (75%). In Lobo, Aphanizomenon sp. (during the winter), C. raciborskii (during the summer) and Lyngbya sp. (night fixing N2) fixation was detected in all samplings, except for February 2014. In the Itupararanga and Lobo Reservoirs, even with excess of nutrients and at high N:P ratios (maximum of 564:1), the fixation rates reached 0.22 and 0.95 µg/L.h, which were high when compared to temperate environments. The comparison between the methodos indicated that the direct method, through the tracer ¹⁵N₂, was more sensitive than the indirect method of the acetylene reduction. Considering the analyzed variables, phytoplankton community structure significantly influenced the nitrogen fixation (e.g., qualitative aspects, N₂ fixation capacity and presence of heterocysts). The climatological (precipitation and temperature) and hydrological (hydraulic retention time) variables, associated with the availability of nutrients and competition among species and phytoplankton groups, regulated the phytoplankton community in the reservoirs. The analysis of the nitrogen fixation during day or night periods allowed inferring different adaptive strategies of cyanobacteria. For the three reservoirs analyzed, it is concluded that the water quality is impaired due to the bloom of potentially toxic cyanobacteria and this highlights the need for trophic state control measures to ensure the multiple uses of water and public health. The fixation process can represent a significant part of nitrogen in aquatic systems and was not inhibited by excess nutrients.

Key-words: Phytoplankton community; Artificial eutrophication; Atmospheric nitrogen fixation; Water resources management; Isotope ¹⁵N₂; Subtropical reservoirs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais rotas do ciclo do nitrogênio, dividindo-se em processos que ocorrem
em condições aeróbias e anóxicas. Fonte: Adaptado de Dodds e Whiles (2010)
Figura 2. Exemplos de processos em um reservatório. Fonte: Tundisi (1999) modificado pela autora
Figura 3. Etapas hipotéticas da redução do nitrogênio: um resumo da atividade da nitrogenase
Figura 4. Adaptações morfológicas, estratégicas e comportamentais que permitem a fixação de nitrogênio por diferentes grupos cianobactérias. Fonte: Bergman-Frank, Lundgren e Falkowski (2003) modificado pela autora. As áreas em azul indicam a localização da nitrogenase, as linhas vermelhas e verdes no gráfico designam as taxas de fixação de nitrogênio e a fotossíntese, respectivamente. Na última coluna à direita, áreas claras denotam o dia e áreas escuras, à noite.
Figura 5. Representação esquemática dos heterócitos das cianobactérias e as principais etapas da fixação de nitrogênio. Fonte: Adaptado de Dodds e Whiles (2010)
Figura 6. Localização aproximada dos três reservatórios no estado de São Paulo: Itupararanga, Barra Bonita e Lobo e suas principais diferenças morfológicas
Figura 7. Mapa do Estado de São Paulo com as 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos e seus principais reservatórios. Destaque para as UGRHIs 10 e 13 onde estão localizados os reservatórios de estudo. Fonte: análise do mapa das Unidades Hidrográficas de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Instituto Geográfico-Cartográfico e Guia do Sistema Paulista de Recursos Hídricos (SSRH, 2011)
Figura 8. Detalhamento da UGRHI 10 onde estão localizados os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita na cor azul. Fonte: Elaborado por Saulo Ribeiro Martins. Secretaria de Recursos Hídricos do Estado de São Paulo (SSRH, 2011)
Figura 9. Detalhamento da UGRHI 13 onde está localizado o reservatório do Lobo na cor azul. Fonte: Elaborado por Saulo Ribeiro Martins. Secretaria de Recursos Hídricos do Estado de São Paulo (SSRH, 2011)
Figura 10. Barragem do reservatório de Itupararanga em janeiro de 2015. Fotografia da autora
Figura 11. Vista da barragem do reservatório de Barra Bonita em outubro de 2014. Fotografia da autora
Figura 12. Barragem do reservatório do Lobo em julho de 2015. Fotografia da autora 49

Figura 13. Esquema da fixação de nitrogênio pelo método indireto de redução do acetileno
acetile 10
Figura 14. Esquema da fixação de nitrogênio pelo método direto com uso do traçador ¹⁵ N ₂
Figura 15. Diagrama da análise dos componentes principais no reservatório de Itupararanga (A) e Lobo (C)
Figura 16. Aspecto do reservatório de Itupararanga na região da barragem em diferentes períodos entre outubro de 2013 e julho de 2015. Destaque para efeitos da estiagem. Fotos da autora
Figura 17. Aspecto do reservatório de Barra Bonita na região da barragem em diferentes períodos entre outubro de 2013 e julho de 2015. Destaque para resíduos sólidos nas margens, ponto de amostragem, presença de macrófitas e floração de cianobactérias (<i>Microcystis aeruginosa</i>). Fotos da autora
Figura 18. Aspecto do reservatório do Lobo na região da barragem em diferentes períodos entre novembro de 2013 e julho de 2015. Destaque para bóia de incubação do experimento e resíduos sólidos na barragem. Fotos da autora
Figura 19. Precipitação total mensal (mm) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Fonte: INMET e CRHEA/USP (2013-2015)
Figura 20. Temperatura do ar média mensal (°C) e radiação solar incidente média mensal (KJ/m²) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Fonte: INMET e CRHEA/USP (2013-2015)
Figura 21. Direção média mensal (°) e velocidade média mensal dos ventos (m/s) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Destaque para rosa dos ventos. Fonte: INMET (2013-2015)
Figura 22. Vazão média mensal efluente (m³/s) e tempo de detenção hidráulico teórico (meses) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C), entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia, AES Tietê e Usina do Lobo

Figura 23. Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática (RSFA, μE/m².s) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015, com suas respectivas radiações e profundidades de incubação a 50% RSFA e 10% RSFA
Figura 24. Perfis de temperatura da água (°C) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 25. Perfis de pH nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 26. Perfis de condutividade elétrica (µS/cm) nos reservatórios de Itupararanga (A). Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 27. Perfis de oxigênio dissolvido (mg/L) nos reservatórios de Itupararanga (A) Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 28. Sólidos suspensos totais (SST, mg/L), sólidos suspensos inorgânicos (SSI, mg/L) e sólidos suspensos orgânicos (SSO, mg/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 29. Concentrações de clorofila a (μg/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 30. Densidades relativas de microrganismos fitoplanctônicos (ind/mL) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 31. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Itupararanga, considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015, com destaque para a porcentagem de heterócitos. Não foi observado heterócitos quando não constam suas respectivas porcentagens 93
Figura 32. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Barra Bonita, considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 33. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Lobo

considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em

duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre
novembro de 2013 e julho de 2015, com destaque para a porcentagem de heterócitos. Não foi
observado heterócitos quando não constam suas respectivas porcentagens
Figura 34. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório de Itupararanga em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 35. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório de Barra Bonita em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 36. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório do Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 37. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico (μg/L.h) pelo método indireto redução do acetileno nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, em 12 e 24h, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 38. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico (μg/L.h) pelo método direto com o traçador isótopo ¹⁵ N ₂ nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, em 12 e 24h, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Figura 39. Porcentagem das concentrações de nitrogênio atmosférico fixado biologicamente (%) pelo método direto com o traçador isótopo ¹⁵ N ₂ nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante o dia e durante a noite, em oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015. As áreas amarelas indicam o período diurno, as áreas azuis o período noturno, e o símbolo "x" que não foi detectada fixação de N ₂ .
Figura 40. Curvas de frequência de heterócitos (%) em função da concentração de nitrogênio fixado pelas cianobactérias C. raciborskii e Anabaena sp
Figura 41. Curva de frequência de heterócitos (%) em função da concentração de nitrogênio fixado pela Aphanizomenon sp

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fatores físicos e químicos que podem inibir ou favorecer a floração de cianobactérias
Tabela 2. Exemplos de grupos funcionais propostos por Reynolds et al. (2002) e revisados por Padisák; Crossetti; Naselli-Flores (2009) e seus habitats, representantes típicos, tolerâncias e vulnerabilidades de cada códon
Tabela 3. Informações sobre os três reservatórios de estudo, incluindo coordenadas geográficas, ano de início da operação da barragem, área (km²), profundidade média (m) e tempo teórico de detenção hidráulica (dias)
Tabela 4. Caracterização das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHIs) em que os reservatórios estudados estão inseridos
Tabela 5. Características morfológicas e hidráulicas da barragem de Itupararanga 47
Tabela 6. Características morfológicas e hidráulicas da barragem de Barra Bonita 48
Tabela 7. Características morfológicas e hidráulicas da barragem do Lobo 49
Tabela 8. Períodos de coletas nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo entre 2013 e 2015
Tabela 9. Variáveis abióticas da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, radiação solar fotossinteticamente ativa, transparência da água, sólidos suspensos totais, nitrogênio total kjeldhal, nitrato, nitrito, amônia, fósforo total, fosfato total dissolvido e ortofosfato) com sua respectiva metodologia, equipamento e referência
Tabela 10. Análise de Variância (ANOVA) para os fatores profundidade e sazonalidade, entre todas as variáveis e somente a fixação de N ₂ nos três reservatórios
Tabela 11. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Itupararanga. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo
Tabela 12. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Barra Bonita. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo
Tabela 13. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório do Lobo. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo
Tabela 14. Coordenadas geográficas, horário, condições climáticas, temperatura do ar (°C), profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), profundidade da zona eufótica (Zeu, m) e profundidade máxima da zona lacustre (m), nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, entre outubro de 2013 e julho de 2015

Tabela 15. Relações molares de nitrogênio total e fósforo total nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 16. Variáveis abióticas da água nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, entre outubro de 2013 e julho de 2015: nitrogênio total Kjeldahl (NTK, μ g/L), amônia (N-NH ₃ , μ g/L), nitrito (N-NO ₂ , μ g/L), nitrato (N-NO ₃ , μ g/L), fósforo total (PT, μ g/L), fósforo dissolvido total (PDT, μ g/L) e ortofosfato (P-PO ₄ , μ g/L).
Tabela 17. Biovolume total do fitoplâncton (mm³/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 18. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório de Itupararanga em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 19. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório de Barra Bonita em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 20. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório do Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 21. Índice de Estado Trófico (IET) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, segundo Lamparelli (2004) e Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013) entre outubro de 2013 e julho de 2015
Tabela 22. Faixas de fixação de nitrogênio pelo fitoplâncton em diversos estudos no mundo, indicando a metodologia utilizada, as faixas descritas e algumas informações complementares

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	25
3. REVISÃO DA LITERATURA	26
3.1 Relevância ambiental do nitrogênio	26
3.2 Características principais dos reservatórios	27
3.3 Eutrofização artificial em reservatórios: ênfase em cianobactérias	29
3.4 Fixação biológica de nitrogênio atmosférico pelas cianobactérias	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1 Área de estudo	42
4.1.1. A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê	44
4.1.2. A Bacia Hidrográfica do Rio Tietê-Jacaré	44
4.1.3 O Reservatório de Itupararanga	47
4.1.4 O Reservatório de Barra Bonita	48
4.1.5 O Reservatório do Lobo	49
4.2 Amostragens	50
4.3 Variáveis climatológicas	51
4.4 Variáveis hidrológicas	51
4.5 Variáveis abióticas da qualidade da água	51
4.6 Variáveis bióticas da qualidade da água	53
4.7 Quantificação da fixação biológica de nitrogênio	54
4.7.1 Método da redução do acetileno	54
4.7.2 Método do traçador (isótopo ¹⁵ N ₂)	55
4.8 Análises estatísticas	58
5. RESULTADOS	59
5.1 Análises estatísticas	59
5.2 Caracterização geral da área de estudo nos períodos de amostragem	68
5.3 Variáveis climatológicas	73

5.3.1 Precipitação pluviométrica73
5.3.2 Temperatura do ar e radiação solar incidente na superfície75
5.3.3 Direção e velocidade dos ventos75
5.4 Variáveis hidrológicas78
5.5 Variáveis abióticas da água80
5.5.1 Radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática, temperatura da água, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e sólidos suspensos totais 80
5.5.2 Nutrientes e relações molares88
5.6 Variáveis bióticas da água90
5.6.1 Clorofila-a e feofitina90
5.6.2 Densidade Fitoplanctônica91
5.6.3 Biovolume fitoplanctônico
5.7 Índice de Estado Trófico102
5.8 Fixação Biológica de Nitrogênio103
6. DISCUSSÃO107
6.1 Reservatório de Itupararanga112
6.2 Reservatório de Barra Bonita116
6.3 Reservatório do Lobo118
7. CONCLUSÃO121
8. RECOMENDAÇÕES123
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS124

1. INTRODUÇÃO

A água é um recurso finito, o que torna imprescindível a criação de um arcabouço legal para seu gerenciamento e a conciliação entre seus diversos usos. Como resultado do populacional, da urbanização não planejada com extensas áreas crescimento impermeabilizadas, do aumento dos processos industriais que demasiadamente e não possuem tratamento eficaz de efluentes, do manejo inadequado do solo na agricultura e pecuária e das crescentes demandas energéticas, a quantidade e a qualidade das águas têm se tornado comprometidas. Sabendo que a água possui usos múltiplos e está vinculada direta e indiretamente a serviços ambientais de suporte, regulação, provisão e culturais (MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT, 2005), é necessário assegurar os seus diferentes usos, principalmente os prioritários, como abastecimento humano e dessedentação de animais. A gestão integrada dos recursos hídricos visa ao seu aproveitamento de forma otimizada e racional, de maneira a minimizar conflitos entre os usuários.

O Homem fixou-se nos territórios mediante a disponibilidade da água, o que gerou progressivo incremento no consumo e resultou no descarte de efluentes e resíduos. O quadro de aumento da demanda pela água tem sido agravado pela poluição de mananciais superficiais e subterrâneos, além de vazamentos nas redes de distribuição. Dessa forma, são gerados conflitos entre os diferentes usuários da água e incompatibilidades entre a qualidade dos sistemas aquáticos e os padrões que definem suas classes de enquadramento legal (CONAMA 357/2005). Além disso, as condições naturais de geologia e morfologia da bacia hidrográfica também influenciam a qualidade da água, bem como as mudanças climáticas e o desmatamento, os quais têm modificado componentes do ciclo hidrológico.

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

A eutrofização artificial, produzida por atividades humanas, remete ao excesso de nutrientes nos corpos d'água, o que pode levar ao crescimento exacerbado de alguns organismos aquáticos, como macrófitas e fitoplâncton, acarretando prejuízos a determinados usos dos recursos hídricos. Os nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo,

são oriundos de efluentes domésticos e industriais, defensivos agrícolas e escoamento superficial.

O grupo fitoplanctônico das cianobactérias podem aparecer em elevadas densidades nos reservatórios como resultado do incremento de nutrientes e decorrentes de formas não planejadas de uso e ocupação do solo. Elas ocorrem em um gradiente significativo de condições em ambientes aquáticos e possuem vantagens estratégicas competitivas em relação a outros organismos. Esses mecanismos incluem o balanço e estoque de nutrientes, a produção de pigmentos que absorvem luz em ambientes diversos (com diferentes temperaturas e pH), produção de toxinas prejudiciais à saúde pública, além de algumas habilidades específicas, como a fixação biológica de nitrogênio atmosférico e a possibilidade de transporte ao longo da coluna d'água (e.g. via vesículas gasosas) em busca de gradientes favoráveis de luz. À fixação biológica de N₂, em especial, tem sido atribuída parcela importante da explicação dos motivos que levam à distribuição ubíqua de algumas espécies de cianobactérias em sistemas aquáticos. O entendimento desse processo e sua possível relação com a dominância de cianobactérias em muitos mananciais brasileiros, para o qual a presente pesquisa pretendeu contribuir, é essencial para o manejo dos reservatórios.

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

2. OBJETIVOS

O objetivo principal da presente pesquisa foi quantificar a fixação biológica de nitrogênio pelo fitoplâncton em três reservatórios subtropicais localizados no estado de São Paulo, por meio de incubações realizadas *in situ*. Para isso, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- i. Com base em variáveis auxiliares (climatológicas, hidrológicas, bióticas e abióticas da água), incluindo a estrutura da comunidade fitoplanctônica (i.e., aspectos quantitativos e qualitativos), estimar os graus de trofia dos três reservatórios e identificar as principais condições ambientais relacionadas com a fixação de N₂;
- ii. Estimar o nutriente limitante ao fitoplâncton com base nas razões entre as formas totais de nitrogênio e fósforo na água, por meio de critérios estabelecidos na literatura, e analisar sua possível influência sobre as taxas de fixação de N_2 ;
- iii. Avaliar a importância da escala temporal (i.e., sazonalidade) na fixação de N₂ por meio de oito amostragens nos reservatórios, em diferentes períodos do ano considerando o ciclo hidrológico;
- iv. Comparar dois métodos para estimativa da fixação (método indireto da redução do acetileno e método direto com traçador ¹⁵N₂), de forma a identificar suas principais vantagens e limitações para os ambientes estudados.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Relevância ambiental do nitrogênio

O nitrogênio, nutriente mais abundante na natureza, é um importante elemento para o metabolismo biológico e a estrutura das moléculas, pois participa da composição de ácidos nucléicos, proteínas e polissacarídeos. O nitrogênio gasoso (N₂) está em uma forma estável que necessita ser transformada para ser assimilada pelos organismos (HOWARD; REES, 1996; PAERL; ZEHR, 2008). A forma mais comum de nitrogênio, o N₂, compõe cerca de 78% da atmosfera, embora o N₂ não seja reativo (BERMAN-FRANK; LUNDGREN; FALKOWSKI, 2003). Na água, o nitrogênio pode estar em formas orgânicas e inorgânicas (dissolvidas: amônio, nitrito e nitrato). A tripla ligação covalente deste elemento dificulta o uso pelos organismos por demandar maior gasto energético (DODDS; WHILES, 2010).

A análise das etapas do ciclo do nitrogênio (Figura 1) é fundamental para entender a influência das atividades humanas sobre os processos naturais, como na eutrofização artificial dos corpos d'água. O ciclo deste nutriente possui etapas com e sem a presença do oxigênio. A conversão da amônia a nitrato é um processo aeróbio, ao passo que a desnitrificação ocorre em condições anóxicas, gerando o nitrogênio gasoso. Em especial, a fixação de nitrogênio atmosférico, que propicia a conversão do N₂ a compostos nitrogenados imprescindíveis para diversos processos biológicos, pode ocorrer como resultado i) de descargas elétricas na atmosfera, que promovem a combinação entre N₂ e O₂ para formar NO₃; ii) da produção e utilização de fertilizantes (fixação *Haber-Bosch*); e iii) da atuação de microrganismos (STAL, 2000). As principais fontes naturais de nitrogênio são resultantes da precipitação, material orgânico e inorgânico de origem alóctone e a fixação de N₂.

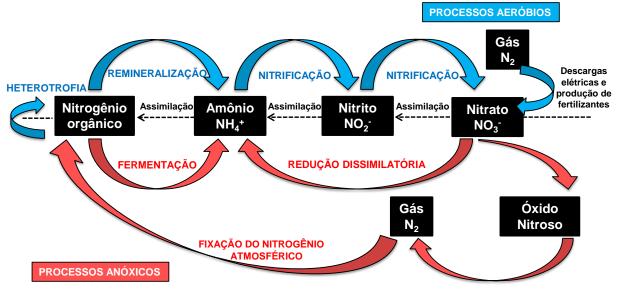


Figura 1. Principais rotas do ciclo do nitrogênio, dividindo-se em processos que ocorrem em condições aeróbias e anóxicas. Fonte: Adaptado de Dodds e Whiles (2010)

Somente alguns organismos procariontes, denominados diazotróficos (bactérias, cianobactérias e Archaea), são capazes de converter o nitrogênio atmosférico em amônia para obtenção de energia para as células (ZEHR, 2011), processo denominado fixação biológica de nitrogênio. Os seres diazotróficos podem ser heterótrofos (e.g., demandam carbono reduzido, necessitam de simbiose com outro organismo ou competem com outros microrganismos por matéria orgânica) ou autótrofos, que reduzem o CO₂ na presença da luz. No caso das cianobactérias diazotróficas, coexistem os processos de fotossíntese intracelular, que produz O₂, e a fixação de N₂ atmosférico (STAL, 2007). A fixação biológica de N₂ é o único processo natural que pode compensar as perdas de nitrogênio por desnitrificação (STAL; ZEHR, 2008).

O processo de fixação pode ser identificado em ambientes marinhos costeiros, sedimentos, recifes, manguezais e água doce (HORIKAWA et al., 2006; ZEHR; CARPENTER; VILLAREAL, 2000), sendo a principal fonte de nitrogênio reativo, totalizando cerca de 90-130 TgN/ano (GALLOWAY, 1998). De acordo com Howarth et al. (1988), a fixação de N₂ representa 5% da demanda de nitrogênio para a produção primária em ambientes eutróficos, nas faixas de 0,2-9,2 gN/m².ano. A fixação de N₂ pode corresponder ao principal fluxo de entrada de nitrogênio: 97% em ecossistemas terrestres e 82% em ecossistemas aquáticos (KUNZA; HALL, 2014).

De acordo com Fowler et al. (2015), o ciclo do nitrogênio global está sendo influenciado negativamente pelos aportes antrópicos de nitrogênio reativo, que estão se igualando às entradas naturais de nitrogênio nos ecossistemas terrestres e marinhos, ou mesmo excedendo-as. Os mesmos autores ainda inferem que as mudanças climáticas e do uso do solo aumentarão ainda mais a fixação biológica de nitrogênio e o aporte deste elemento induzido pelas atividades humanas. O excesso de nitrogênio tem trazido uma série de prejuízos ao funcionamento e à estrutura dos ecossistemas, além de comprometer os serviços ambientais por eles desempenhados, principalmente por despejos de efluentes sem tratamento adequado e pelo uso de agrotóxicos (CANFIELD; GLAZER; FALKOWSKI, 2010; FIELDS, 2004; GALLOWAY; LEVY; KASHIBHATLA, 1994). Cerca de 66% (495 mgN/ano) e 79% (78 mgP/ano) do nitrogênio e fósforo total, respectivamente, são depositados por ano em reservatórios pelas atividades antrópicas, principalmente a agricultura (LE et al., 2014).

3.2 Características principais dos reservatórios

Com vistas ao armazenamento de água para diversos fins, os reservatórios foram construídos pelo Homem recentemente, na escala de tempo antrópica, o que os diferencia dos lagos, que se originaram há muitos anos, segundo a escala de tempo geológica. A

geração de energia merece destaque dentre os usos a que os reservatórios se destinam. Um dos fatores associados a isso é a priorização de usos da água que permitem o desenvolvimento econômico. Atualmente, as outorgas de uso são disputadas e geram conflitos, pois se vive em um período de escassez hídrica que também influencia a hidroeletricidade.

Thornton, Kimmel e Payne (1990) delimitaram três compartimentos teóricos ao longo do eixo longitudinal dos reservatórios: zona de rio, zona de transição e zona de lago. A primeira, caracterizada pela influência dos principais tributários do reservatório, possui maior fluxo de água e turbidez, matéria orgânica alóctone e menor profundidade. Na zona de transição, o fluxo é intermediário e a profundidade é média, com destaque para o aumento da sedimentação. A zona de lago ou lacustre, mais próxima da barragem, possui menor fluxo de água e turbidez, matéria orgânica autóctone e maior profundidade. Esta última possui caráter verdadeiramente lêntico e está mais sujeita a ação dos ventos, estratificação e regime de operação das barragens, sendo frequentemente monitorada por agências ambientais.

A compartimentalização nos reservatórios está associada a vários processos (Figura 2) que podem interferir na qualidade da água. Por exemplo, a anoxia pode ocorrer em compartimentos com circulação reduzida por causa do acúmulo de material biológico em decomposição (TUNDISI; MATSUMURA TUNDISI, 2008).

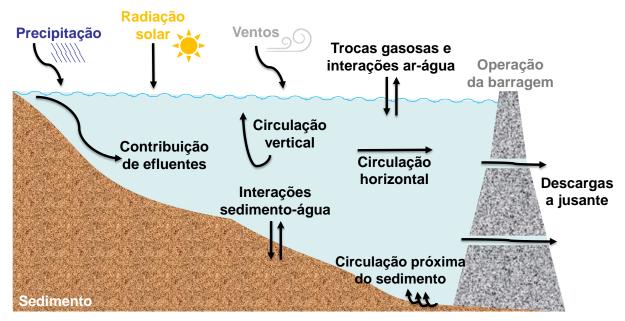


Figura 2. Exemplos de processos em um reservatório. Fonte: Tundisi (1999) modificado pela autora

A magnitude dos impactos da construção dos reservatórios depende de suas características morfométricas (e.g. área inundada, volume de armazenamento, padrões térmicos de estratificação e circulação) e sua localização geográfica. Embora os

reservatórios estejam relacionados a aspectos positivos, como o aumento da água disponível para uso humano, eles também trazem efeitos negativos. Tais consequências decorrem, por exemplo, de alterações na sua capacidade de depuração, que é influenciada pela diminuição da velocidade da água, menor turbulência e reaeração, além de maior retenção de sedimentos. Outros incluem: inundação de áreas agricultáveis, perda/alteração da fauna e flora terrestre e aquática, interferência na migração dos peixes, mudanças hidrológicas, interferência no transporte de sedimentos e possível aumento da capacidade de erosão a jusante, aumento da distribuição geográfica de doenças de veiculação hídrica, problemas geofísicos devido ao acúmulo de água, perdas de heranças históricas e culturais, alterações em atividades econômicas e usos tradicionais do solo (REBOUÇAS; BRAGA; TUNDISI, 2006).

3.3 Eutrofização artificial em reservatórios: ênfase em cianobactérias

A eutrofização artificial decorre do aporte de nutrientes aos sistemas aquáticos, principalmente nitrogênio e fósforo, o que gera uma cadeia de efeitos negativos e prejuízos aos usos múltiplos. Além de contribuir para a degradação da qualidade da água em relação a variáveis físicas e químicas (e.g., aumento da condutividade elétrica e dos eventos de anoxia), a eutrofização gera aumento da biomassa de fitoplâncton e de macrófitas aquáticas, principalmente na zona lacustre dos reservatórios (SOARES et al., 2012).

A comunidade fitoplanctônica é importante para a produção primária, que inclui a liberação de oxigênio molecular no processo fotossintético, e para o equilíbrio das cadeias alimentares dos ecossistemas aquáticos. Além disso, ela é influenciada por fatores físicos, químicos e biológicos relacionados aos processos que ocorrem do sistema aquático (Figura 2), sejam eles de origem natural (vento e precipitação) ou antropogênica (aporte de nutrientes e saída da água decorrente dos usos múltiplos) (STRASKRABA; TUNDISI, 2000). O fitoplâncton pode ainda ser bioindicador pela sua resposta a variáveis naturais e antrópicas, como a dinâmica dos nutrientes (CUNHA, 2012).

De acordo com Esteves (2011), a distribuição vertical da comunidade fitoplanctônica na coluna d'água pode ser influenciada pela composição química do meio, radiação solar, temperatura da água e tempo de detenção hidráulica. Já a distribuição horizontal está associada a fatores pontuais que provocam alterações na taxa de crescimento da comunidade (disponibilidade de nutrientes, herbivoria e diferenças de temperatura), além de fatores responsáveis pela dispersão dos organismos como ventos e correntes.

Rangel et al. (2012) destacaram que a elevada biomassa de fitoplâncton nos reservatórios, uma das consequências da eutrofização artificial, é influenciada pelas variações sazonais hidrológicas e pelo tempo de detenção hidráulica. A estação chuvosa

pode aumentar o biovolume de fitoplâncton e a concentração de clorofila devido ao fluxo de água oriundo da precipitação, aumentando a matéria orgânica e os nutrientes provenientes do escoamento superficial, ou seja, de fontes difusas (MEESUKKO et al., 2007). As fontes pontuais e difusas, relacionadas a atividades industriais, agrícolas ou domésticas, também têm contribuído para o aumento da pressão antrópica e dos níveis de poluição nos reservatórios. Desse modo, a tendência atual é o incremento do estado trófico desses ambientes. Martins et al. (2008) analisaram 18 reservatórios no estado de São Paulo e concluíram que os reservatórios das bacias do rio Tietê possuem elevada biomassa de macrófitas e disponibilidade de nutrientes.

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) ressaltou, em seu Relatório Águas Interiores (ano base 2014), que houve piora, em relação aos anos anteriores, na qualidade da água dos reservatórios Billings, Guarapiranga e Itupararanga (UGRHIs 6 e 10), bem como incremento de nutrientes, com condições que oscilaram entre meso e hipertrofia (CETESB, 2015). Além disso, episódios recentes de estiagem severa aliada ao planejamento inadequado da operação dos reservatórios e de gestão da demanda de água, como a crise do Sistema da Cantareira, responsável pelo abastecimento de milhões de pessoas em São Paulo, reforçam a necessidade de estudos que ofereçam subsídios para o manejo dos reservatórios, de modo que se garanta a perenidade dos recursos hídricos e seus legítimos usos.

Os reservatórios podem propiciar o desenvolvimento das cianobactérias, não só pela disponibilidade de luz e nutrientes, mas também pela menor velocidade da água e pelo maior tempo de detenção hidráulica (BURFORD et al., 2007). Em ambientes temperados, as florações são mais frequentes durante o verão (DAVIS et al., 2009). Jöhnk et al. (2008) observaram que temperaturas elevadas podem aumentar a estabilidade da coluna de água, o que minimiza a turbulência e favorece a colonização de cianobactérias. Portanto, as mudanças climáticas podem estimular o desenvolvimento desses organismos (CAREY et al., 2012; ELLIOTT, 2012).

Esse grupo é um excelente competidor de luz por possuir pigmentos que absorvem a radiação solar mesmo em condições eutróficas (DODDS; WHILES, 2010). Além de significativa tolerância às variações ambientais e climáticas, as cianobactérias dispõem de elevada capacidade adaptativa e competitiva, como a presença, em algumas espécies, de vacúolos gasosos (que possibilitam a flutuação, ou seja, regulam o movimento a posição na coluna d'água) e de estruturas celulares que permitem fixar o nitrogênio atmosférico. O teor de nitrogênio pode elevar-se até 10% do peso seco e é quantitativamente o terceiro elemento mais importante no metabolismo desses organismos, pois sua carência afetará a quantidade de ficobiliproteínas e consequentemente a absorção de luz durante a fotossíntese (STAL, 2000).

Evidências fósseis indicam que as cianobactérias existiam há pelo menos 3,5 bilhões de anos e foram os primeiros organismos a evoluir para uma fotossíntese aeróbia. Consequentemente, esse grupo contribuiu para uma mudança no planeta Terra de anaerobiose para aerobiose (ADAMS, 2000; KNOLL, 2008). Assim, o domínio das cianobactérias em muitos ambientes ao longo do tempo pode ser atribuído a sua versatilidade e flexibilidade metabólica (STAL, 2007), por serem cosmopolitas quanto ao habitat. Na Tabela 1, estão alguns fatores físicos e químicos que podem influenciar positiva ou negativamente as florações desses organismos.

Tabela 1. Fatores físicos e químicos que podem inibir ou favorecer a floração de cianobactérias

	Fatores	Efeitos/Impactos		
FÍSICOS	"Flushing" / Alteração no tempo de detenção hidráulica	Mecanismo potencial de controle das florações		
	Mistura vertical de grande escala	Dispersão de florações próximas à superfície Estímulo à competição por luz e nutrientes com outros grupos fitoplanctônicos.		
	Turbulência em pequena escala	Pode perturbar cianobactérias filamentosas e associações mutualistas com outros organismos.		
	Sombreamento na superfície (diminuição da radiação solar)	Pode alterar a composição do fitoplâncton e afetar negativamente as florações de cianobactérias, pois regula a fotossíntese e também a flutuabilidade.		
	Temperatura	Temperaturas superiores a 20°C em ambiente estratificado com elevada carga de nutrientes podem levar a florações de cianobactérias.		
QUÍMICOS	Alteração no pH	Pode alterar a composição da comunidade fitoplanctônica: pH<6,0 favorece eucariotos e pH>8,0 favorece cianobactérias.		
	Entrada de nutrientes (N e P)	Reduções simultâneas de N e P são eficazes para reduzir as florações de cianobactérias. N:P<20 pode potencializar as florações.		
	Salinidade	Salinidade em excesso, como NaCl, pode ser uma barreira eficaz para o desenvolvimento e persistência de muitas espécies.		
	Metais traço	Sob condições de elevadas cargas de N e P, a disponibilidade restrita de Fe pode controlar o crescimento de fitoplâncton. As cianobactérias competem de forma eficaz sob reduzidos níveis de Fe.		

Fonte: Adaptado de Paerl (1996)

Outros fatores contribuem para a proliferação das cianobactérias em sistemas aquáticos, como: sobrevivência em condições de baixa luminosidade, produção de cianotoxinas e formação de densas escumas (camadas) na superfície da água com efeito deletério de sombreamento sobre outros organismos, dificultando a entrada de radiação solar (e.g., alteração nos processos de fotossíntese e oxigenação do meio). A produção de toxinas pelas cianobactérias configura um risco à saúde pública. Quando a água é utilizada

para consumo humano, a situação é especialmente preocupante, pois as tecnologias convencionais de tratamento não são, em geral, eficazes para sua remoção. Um dos casos mais conhecidos de contaminação da água por cianotoxinas no Brasil foi o do município de Caruaru (PE), em que muitos pacientes que faziam tratamento com hemodiálise faleceram em decorrência da exposição à microcistina (BRANDÃO; DOMINGOS, 2006; CARMICHAEL et al., 2001).

O domínio de cianobactérias também está associado com a relação entre as concentrações nitrogênio e fósforo (N:P) na água, pois mesmo que se controle o aporte externo de nitrogênio, determinadas cianobactérias possuem a capacidade de fixação biológica do N_2 (CONLEY et al., 2009; KOLZAU et al., 2014).

Schindler et al. (2008) testaram a hipótese de que o controle das entradas de nitrogênio poderia controlar a eutrofização, fazendo um lago receber entradas de fósforo e nitrogênio por 21 anos, e por mais 16 anos somente de fósforo. A comunidade fitoplanctônica ficou limitada por nitrogênio, e as cianobactérias fixadoras de N₂ foram capazes de fixá-lo em níveis suficientes para o ambiente continuar com elevado grau de trofia. Portanto, o fósforo deve ser reduzido prioritariamente para atenuar a eutrofização (LIU; CHEN; KIMURA, 2009; NÕGES et al., 2008; VON SPERLING; FERREIRA; GOMES, 2008; WANG; WANG, 2009; WELCH, 2009), sendo que este elemento é disponibilizado por efluentes domésticos e lixiviação de rochas, áreas urbanas e agrícolas.

Xu et al. (2010) estudaram a relação N:P para controle da eutrofização e concluíram que a disponibilidade de nitrogênio (elevado N:P) durante o verão foi um fator limitante para as florações de *Microcystis* sp., que não fixam o nitrogênio atmosférico, ou seja, são dependentes de fontes externas de N para seu crescimento. Os mesmos autores concluíram que a floração de cianobactérias produtoras de toxinas pode estar associada com essa relação. Assim, além da redução de fósforo, que pode influenciar na produção da toxina dessa cianobactéria (JACOBY et al., 2000; JAYATISSA et al., 2006), seria necessário controlar também as entradas de nitrogênio nos corpos d'água.

Ainda não há um consenso científico sobre qual nutriente é limitante ao fitoplâncton (DOWNING; WATSON; MCCAULEY, 2001). O nutriente limitante é aquele que, indispensável para uma determinada população, afeta as taxas de crescimento e as atividades metabólicas vitais de uma comunidade biológica, o que é conjecturado na Lei de Liebig (DOLMAN; WIEDNER, 2015; KOLZAU et al., 2014). De acordo com Redfield (1958), a razão dos principais nutrientes, carbono, nitrogênio e fósforo, é 106:16:1. O nutriente que estiver inferior a esta razão é o limitante. Porém, o elemento carbono pode ser adquirido pelo dióxido de carbono e não influencia significativamente o desenvolvimento do fitoplâncton (SCHIPPERS; LURLING; SCHEFFER, 2004). Outros autores como Guildford e Hecky (2000) propuseram algumas faixas de valores para essas razões: N:P<20 – limitação

por nitrogênio; 20<N:P<50 – co-limitação; N:P>65 – limitação por fósforo, ao passo que Ye e Cai (2011) indicaram a utilização das formas dissolvidas desses nutrientes por estarem mais facilmente disponíveis para o fitoplâncton.

Menores relações N:P podem favorecer a dominância de cianobactérias (GOPHEN et al., 1999), em especial as fixadoras de nitrogênio (FERBER et al., 2004; HAVENS et al., 2003; KUNZA; HALL, 2014; MCGREGOR; FABBRO, 2000; PAERL, 1996), pela menor disponibilidade de formas nitrogenadas. Porém, Dolman et al. (2012) relacionaram elevadas concentrações de nitrogênio nos sistemas aquáticos com o biovolume de cianobactérias fixadoras dos gêneros *Aphanizomenon* e *Cylindrospermopsis*. Lv, Wu e Chen (2011) concluíram que menores relações N:P (<10) nem sempre conduzem a dominância de cianobactérias que fixam N₂ e que as essas relações não são adequadas para avaliar a limitação dos sistemas aquáticos, pois ainda há incertezas que a disponibilidade do nitrogênio possa controlar o desenvolvimento de cianobactérias fixadoras (BRYHN; BLENCKNER, 2007).

Um estudo realizado na área costeira do Golfo da Finlândia concluiu que a elevada disponibilidade de nitrogênio em relação ao fósforo, reduziu a comunidade fixadora de nitrogênio, e que entradas externas de fósforo no ambiente aquático estimularam o processo de fixação (MOISANDER et al., 2003). Outros autores ainda inferiram que a eutrofização pode ser controlada através da gestão de N e P simultaneamente, o que propiciaria a redução da biomassa fitoplanctônica (PAERL et al., 2011; SCOTT; MCCARTHY, 2010). Por exemplo, o domínio de cianobactérias não fixadoras (e.g., *Microcystis* sp.) pode estar relacionada com a limitação por fósforo, enquanto a limitação por nitrogênio pode favorecer espécies fixadoras (e.g., *Anabaena, Aphanizomenon, Gloeotrichia, Nodularia*) (HENSE; BECKMANN, 2006).

Scott e Grantz (2013) analisaram três reservatórios semelhantes nos Estados Unidos e observaram taxas de fixação de nitrogênio pelo fitoplâncton (3,4-16 gN/m².ano). Os autores concluíram que essas taxas podem significar que a acumulação de nitrogênio reativo pela fixação durante anos não foi suficiente para diminuir a deficiência de N₂.

Reynolds et al. (2002) propuseram uma classificação funcional para o fitoplâncton (Tabela 2), posteriormente revisada (PADISÁK; CROSSETTI; NASELLI-FLORES, 2009), em que os organismos foram agrupados de acordo com suas afinidades, morfologias e fisiologias, além de tolerâncias e vulnerabilidades de acordo com características ambientais. Cada grupo funcional é denominado códon. Por exemplo, as espécies do códon S_N são fixadoras de N_2 e toleram o déficit deste nutriente, pois na sua ausência podem utilizar essa habilidade; e os códons H1 e H2 também apresentam espécies fixadoras de N_2 , que possuem vulnerabilidades como a coluna d'água misturada e déficit de luz.

Tabela 2. Exemplos de grupos funcionais propostos por Reynolds et al. (2002) e revisados por Padisák; Crossetti; Naselli-Flores (2009) e seus habitats, representantes típicos, tolerâncias e vulnerabilidades de cada códon

Códon	Habitat	Representantes típicos	Tolerâncias	Vulnerabilidades
В	Ambientes verticalmente misturados, mesotrófico, lagos pequenos e médios	Aulacoseira subarctica Aulacoseira islandica	Déficit de luz	Aumento de pH, escassez de sílica
S 1	Ambientes misturados e com elevada turbidez	Planktothrix agardhii Limnothrix redekei Pseudanabaena	Alto déficit de luz	Aumento da vazão ("flushing")
S 2	Ambientes rasos, misturados com elevada turbidez	Spirulina sp. Arthrospira sp. Raphidiopsis sp.	Déficit de luz	Aumento da vazão ("flushing")
S _N	Ambientes misturados com elevadas temperaturas	Cylindrospermopsis sp. Anabaena minutissima	Déficit de luz e nitrogênio	Aumento da vazão ("flushing")
z	Ambientes misturados com elevada transparência	Synechococcus sp.	Baixas concentrações de nutrientes	Déficit de luz e predação ("grazing")
X 1	Ambientes rasos e misturados, com elevada disponibilidade de nutrientes	Monoraphidium sp.	Estratificação	Déficit de nutrientes
J	Ambientes rasos e com elevada disponibilidade de nutrientes	Pediastrum sp. Coelastrum sp. Scenedesmus sp.	-	Déficit de luz
К	Ambientes rasos e com elevada disponibilidade de nutrientes	Aphanothece sp. Aphanocapsa sp.	-	Mistura profunda
H1	Representantes da ordem Nostocales que fixam nitrogênio	Anabaena fios-aquae Aphanizomenon sp.	Baixas concentrações de nitrogênio e carbono	Mistura, déficit de luz e fósforo
H2	Representantes da ordem Nostocales que fixam nitrogênio em ambientes mesotróficos	Anabaena lemmermanni Gloetrichia echinulata	Baixas concentrações de nitrogênio	Mistura e déficit de luz
LM	Epilímnio de ambientes eutróficos no verão	Ceratium sp. Microcystis sp.	Concentrações muito baixas de carbono	Mistura e déficit de luz em função da estratificação
М	Ambientes eutróficos de baixa latitudes com mistura	Microcystis sp.	Elevada insolação	Aumento da vazão ("flushing"), déficit de luz

Fonte: Adaptado de Reynolds et al. (2002)

Tal classificação pode facilitar a comparação de espécies de fitoplâncton e suas afinidades para estudos relacionados a qualidade da água (DANTAS et al., 2008; PADISÁK et al., 2006; SARMENTO; DESCY, 2008; WILLÉN, 2003). Dantas, Bittencourt-Oliveira e Moura (2012) afirmaram que a classificação funcional é mais adequada a ecossistemas tropicais rasos, pois em sistemas profundos a sazonalidade pode não afetar o comportamento do fitoplâncton.

3.4 Fixação biológica de nitrogênio atmosférico pelas cianobactérias

Além da realização da fotossíntese como fonte de energia (STAL; GROSSBERGER; KRUMBEIN, 1984), algumas cianobactérias possuem células diferenciadas, os heterócitos (BÖHME, 1998), responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio atmosférico. Eles permitem a conversão de N₂ a amônio, que é incorporado a aminoácidos imprescindíveis para o funcionamento celular.

O processo de fixação de N₂ é catalisado por um complexo enzimático denominado nitrogenase, o qual fica alojado no heterócito ou, em alguns casos específicos, em células vegetativas comuns. A nitrogenase consiste em duas proteínas distintas, a *dinitrogenase* e *dinitrogenase redutase*, que é composta de ferro e molibdênio, formando o cofator FeMoco, responsável pela redução do nitrogênio (BURRIS, 1991; HOWARD; REES, 1996). A estabilidade da tripla ligação do nitrogênio molecular demanda elevada energia para ser rompida e, assim, a fixação não é espontânea por exigir um significativo gasto energético (CONLEY et al., 2009; DODDS; WHILES, 2010; PAERL; ZEHR, 2008).

Quando há amônio disponível para ser utilizado, os organismos fixadores de N_2 tendem a não utilizar esse processo, e podem inativar a nitrogenase. Isso ocorre pela modificação da ligação covalente da *dinitrogenase redutase*, por meio de uma enzima denominada DRAT (*dinitrogenase redutase ADP-ribosiltransferase*) (BURRIS, 1991). De acordo com Berman-Frank, Lundgren e Falkowski (2003), o funcionamento da enzima nitrogenase (Figura 3) é inibido pelo oxigênio molecular, devido à rápida e irreversível inativação da *dinitrogenase redutase* pelo O_2 .

$N \equiv N \Longrightarrow HN = NH \Longrightarrow H_2N - NH_2 \Longrightarrow 2NH_3$

Figura 3. Etapas hipotéticas da redução do nitrogênio: um resumo da atividade da nitrogenase

A atividade da nitrogenase está relacionada com a transcrição e pós-tradução de genes, a energia necessária para a fixação de N_2 (16 moléculas de ATP para cada molécula de N_2 fixado) e a sensibilidade da nitrogenase ao O_2 (CHURCH et al., 2005). Os elétrons

necessários à redução do nitrogênio são transferidos à *dinitrogenase redutase* a partir da ferrodoxina ou flavodoxina (proteínas de ferro-enxofre) de ATP (BURRIS, 1991). A enzima nitrogenase também é responsável por reduzir outros componentes de ligações triplas como o acetileno (HC≡CH) a etileno (H₂C=CH₂). Tal redução é amplamente utilizada para medir a atividade da enzima para quantificação indireta da fixação de N₂ por cromatografia gasosa.

Uma metodologia mais precisa é a de enriquecimento com um isótopo do nitrogênio, o $^{15}N_2$, como marcador. Por ser um isótopo estável, ele é detectado por espectrometria de massa (STEWART, 1980). O uso de traçadores isotópicos possibilita entender o metabolismo de nutrientes dos organismos (LIPSCHULTZ, 2008), sendo que o $^{14}N_2$ é o isótopo estável de maior abundância, seguido do $^{15}N_2$ (99,634% e 0,363% do nitrogênio encontrado naturalmente, respectivamente) (BERGLUND; WIESER, 2011). O $^{15}N_2$ é muito utilizado em pesquisas científicas por distinguir-se do $^{14}N_2$ pela maior massa.

Yu et al. (2014) demonstraram que o gradiente de temperatura e a concentração de oxigênio afetam a heterogeneidade das cianobactérias diazotróficas, influenciando assim todo o ciclo de nitrogênio aquático, pois elas possuem vantagens competitivas no ecossistema em episódios de deplecionamento de nitrogênio (PARRISH, 2014). Alguns desses organismos são capazes de utilizar a nitrogenase mesmo desprovidos de células diferenciadas, sendo que a atividade desta enzima para esses casos pode apresentar picos ao amanhecer e ao pôr do sol, o que está relacionado com as menores taxas fotossíntese e de produção de oxigênio, consequentemente (STAL; GROSSBERGER; KRUMBEIN, 1984).

Bergman-Frank, Lundgren e Falkowski (2003) e Stal (2000) estudaram diferentes cianobactérias fixadoras de N₂ e as dividiram em quatro grupos (Figura 4):

- I. O primeiro grupo de organismos filamentosos é o mais conhecido pela separação espacial, já que a fixação de N₂ ocorre somente nas células especializadas, os heterócitos, que abrigam a nitrogenase. Essas células perderam a capacidade de realizar fotossíntese e evoluíram para uma diferenciação. A fixação de N₂ pode se processar em condições aeróbias, ou seja, no período de luz e concomitantemente à fotossíntese, e também no período noturno. Exemplos: Anabaena, Nostoc, Aphanizomenon, Nodularia, Calothrix, Scytonema.
- II. O segundo grupo é formado por cianobactérias filamentosas sem heterócitos, que possuem a nitrogenase restrita a uma fração de 10 a 20% de células diferenciadas, dispostas consecutivamente ao longo do filamento; essas células que possuem a nitrogenase também contêm todos os componentes fotossintéticos, ou seja, elas fixam nitrogênio durante o dia, juntamente com o processo de fotossíntese, e também durante a noite; essa proteção contra o oxigênio no *Trichodesmium* é uma interação complexa entre a segregação espacial e temporal da fotossíntese, respiração e processos de fixação de nitrogênio, que também está relacionada com o ciclo

- circadiano (BERMAN-FRANK et al., 2001; CHEN et al., 1999). Exemplos: *Trichodesmium, Plectonema boryanum.*
- III. Uma separação temporal nos processos de fixação e fotossíntese é observada no terceiro grupo que compreende cianobactérias sem heterócitos filamentosas e unicelulares. Nesse caso, as cianobactérias possuem a enzima nitrogenase em todas as suas células, mesmo desprovidas de heterócitos. Ocorre a fixação de N2 no período noturno e a fotossíntese no período diurno, por questões da inibição do processo de fixação pelo oxigênio. A mais intensa atividade da nitrogenase coincide com elevadas taxas de respiração, para diminuição do oxigênio do meio, o que é controlado pelo ciclo circadiano ou nictemeral. O pico da fixação de N₂ é caracterizado por um declínio na produção bruta fotossintética, ocorrendo um reforço no consumo de oxigênio na célula. A ritmicidade do ciclo circadiano aumenta a habilidade dos organismos sobreviverem às constantes modificações ambientais, possibilitando-os antecipar eficientemente eventos periódicos, tais como disponibilidade de alimento, luz, entre outros (DITTY; WILLIAMS; GOLDEN, 2003; GOLDEN et al., 1997; KONDO; ISHIURA, 2000). Este ciclo garante o armazenamento de proteínas antes da fase de fixação de N₂, para otimizar a atividade da nitrogenase imediatamente após a transição claro-escuro e escuro-claro (STAL; ZEHR, 2008). Exemplos: Gloeothece, Cyanothece, Lyngbya, Microcoleus.
- IV. Por fim, como quarto grupo, de acordo com o processo evolutivo, determinadas cianobactérias perderam ou nunca tiveram a habilidade de fixar N₂. Existem ainda aquelas que fixam nitrogênio em condições extremas (e.g. microaeróbias), como a Synechococcus, Oscillatoria, *Plectonema*, *Pseudoanabaena*.

	Grupo	Gênero	Morfologia	Nitrogenase	Fixação N ₂ e Fotossíntese
1	Células diferenciadas (heterócitos)	Anabaena	000 0 000	0000000	
II	Algumas células diferenciadas	Trichodesmium			M
III	Organismos aeróbios	Cyanothece Lyngbya	0°0°0	0000	
IV	Perderam ou nunca tiveram a habilidade	Synechococcus Oscillatoria	0000	ausente	

Figura 4. Adaptações morfológicas, estratégicas e comportamentais que permitem a fixação de nitrogênio por diferentes grupos cianobactérias. Fonte: Bergman-Frank, Lundgren e Falkowski (2003) modificado pela autora. As áreas em azul indicam a localização da nitrogenase, as linhas vermelhas e verdes no gráfico designam as taxas de fixação de nitrogênio e a fotossíntese, respectivamente. Na última coluna à direita, áreas claras denotam o dia e áreas escuras, à noite.

De acordo com Bergman et al. (1997), as cianobactérias desprovidas de heterócitos e que fixam N₂ (grupo III, Figura 4) podem ser unicelulares (e.g., *Gloeocapsa, Gloeothece, Cyanothece, Chroococcidiopsis, Dermocarpa, Pleurocapsa, Xenococcus*) e filamentosas (*Lyngbya, Phormidium, Microcoleus, Pseudanabaena*).

LaRoche e Breitbarth (2005) estudaram o gênero *Trichodesmium* sp. (grupo II, Figura 4), cianobactéria filamentosa comum em águas oceânicas tropicais com baixas concentrações de nutrientes (N:P = 51), que fixam nitrogênio durante o dia. Eles concluíram que há uma distribuição uniforme da proteína Fe da nitrogenase dentro das células individuais das colônias de *Trichodesmium* sp., juntamente com pigmentos fotossintéticos, o que sugere que essas células podem ter capacidade de realizar fotossíntese e fixar o nitrogênio atmosférico (CHURCH et al., 2005; FREDRIKSSON; BERGMAN, 1997). Outra característica deste organismo é a presença de vacúolos de gás que podem controlar a sua flutuabilidade na coluna d'água (ZEHR, 2011).

Para minimizar a exposição ao oxigênio, os heterócitos, típicos do grupo I (Figura 4), possuem algumas adaptações para criar uma condição anóxica (BERGMAN et al., 1997; CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006; DODDS; WHILES, 2010): i) elevadas taxas respiratórias para consumir o oxigênio excedente; ii) camadas espessas de mucilagem ao seu redor para retardar a difusão de O₂ para o interior da célula; e iii) perda de capacidade fotossintética e interrupção da produção de O₂. Dessa forma, os heterócitos (Figura 5) são células diferenciadas cujo interior se torna anaeróbio, como consequência da respiração, permitindo a ocorrência da fixação de nitrogênio em condições aeróbias (BÖHME, 1998; FAY, 1992). Além disso, uma dupla camada de polissacarídeos e glicolípidos no exterior da membrana do heterócito é formada, diminuindo a difusão do oxigênio (KUMAR; MELLA-HERRERA; GOLDEN, 2010; STAL, 2000).

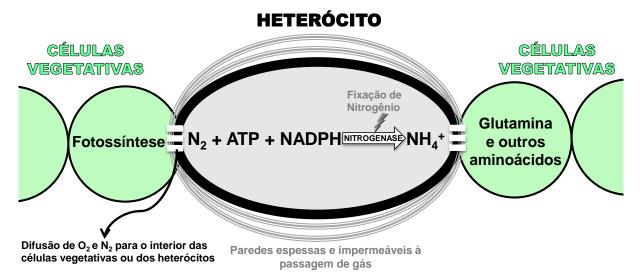


Figura 5. Representação esquemática dos heterócitos das cianobactérias e as principais etapas da fixação de nitrogênio. Fonte: Adaptado de Dodds e Whiles (2010)

Segundo Kumar, Mella-Herrera e Golden (2010), os heterócitos são fáceis de serem distinguidos das células vegetativas por serem maiores, arredondados e com camadas espessas, podendo se adaptar para absorver a luz ideal para a fixação. Outros autores, como Herrero, Picossi, Flores (2013), Adams (2000) e Bergman et al. (1997), reconhecem que o desenvolvimento dos heterócitos é limitado pela presença de formas dissolvidas de nitrogênio, como amônio e nitrato, que também podem afetar a síntese da nitrogenase (MARTÍN-NIETO; HERRERO; FLORES, 1991; PAERL, 1996). Dessa forma, a fixação de N₂ favorece o crescimento de cianobactérias em baixas concentrações de nitrogênio combinado (HAANDE et al., 2011; ZEHR; CARPENTER; VILLAREAL, 2000), sendo que elas possuem genes específicos que podem ser ativados ou reprimidos de acordo com a disponibilidade de nutrientes (MUÑOZ-MARTÍN et al., 2014).

Os heterócitos importam carboidratos que atuam como fonte de energia para o processo de fixação de nitrogênio e exportam aminoácidos fundamentais para o funcionamento celular, como a glutamina. A conexão com as células vegetativas ocorre através de um poro com microplasmodesmata (BÖHME, 1998). As células vegetativas são transformadas em heterócitos, e a parede espessa forma poros que permitem a comunicação com as células vegetativas vizinhas. Essa transformação é induzida pela diminuição das concentrações de oxigênio no meio (SANT'ANNA et al., 2006). A diferenciação da célula está associada à aquisição de três camadas extras na parede celular que reduzem a difusão do O₂ e outros gases. A camada mais interna é a de glicolipídeo, a do meio é a de polissacarídeo e a mais externa é composta por cadeias não compactadas de polissacarídeos (ADAMS, 2000).

Levine e Lewis (1985) avaliaram a heterogeneidade horizontal da fixação de nitrogênio em um lago na Venezuela e concluíram que a densidade e o biovolume de heterócitos em espécies filamentosas influencia diretamente as taxas de fixação. Assim, somente o número de heterócitos pode ser insuficiente para estimar as taxas de fixação de N₂, pois a dimensão dessa célula altera o processo, como no caso do gênero *Anabaena* (GONDWE; GUILDFORD; HECKY, 2008).

Para estimar as taxas de fixação de N₂, existem dois métodos principais descritos na literatura (MOHR et al., 2010; STEWART; FITZGERALD; BURRIS, 1967): redução do acetileno e emprego de traçador (isótopo ¹⁵N₂). As taxas de fixação publicadas são de difícil comparação, pois a maioria dos casos foi determinada pela técnica da redução do acetileno, o que exige uma calibração específica utilizando o ¹⁵N₂ para maior precisão (BERGMAN et al., 1997).

A fixação de N₂ pelo método de redução de acetileno pode variar diariamente por condições de radiação solar, profundidade da incubação, temperatura e estratificação no ambiente (RUSNESS; BURRIS, 1970). De acordo com Mugidde et al. (2003), elevadas

condições de luz aumentam a fixação de nitrogênio. Além disso, as amostras precisam ser agitadas antes da incubação para dissolver o acetileno na água (LEE; WATANABE, 1977).

A sensibilidade e a precisão do traçador ¹⁵N₂ são superiores ao do acetileno, pois o isótopo oferece uma estimativa direta da contribuição de fixação para a biomassa da comunidade fitoplanctônica (MONTOYA et al., 1996).

Gondwe, Guildford e Hecky (2008) aplicaram a técnica do acetileno em um lago na África e concluíram que a maior contribuição do processo de fixação de nitrogênio foi realizada pelo gênero *Anabaena* provida de heterócito em condições de estratificação na primavera e verão.

Moisander et al. (2007) utilizaram o método do acetileno e inferiram que aproximadamente metade das novas entradas anuais de nitrogênio no Mar Báltico estão associadas à fixação de nitrogênio por cianobactérias (*Nodularia* e *Aphanizomenon*), que foram influenciadas pela concentração de fósforo nesse ambiente. Essa fixação aconteceu de 16-61% no período noturno e não houve mudanças consistentes na abundância da enzima nitrogenase em resposta à ausência de luz. Dessa forma, a capacidade elevada de fixar N₂ durante a noite pode maximizar a utilização do fósforo disponível para seu crescimento.

Os experimentos com acetileno de Scott et al. (2009), realizados em três reservatórios norte-americanos, mostraram que a fixação de nitrogênio é dependente da luz e foi de 25 a 60 vezes maior na zona de transição dos ambientes aquáticos, quando comparada com a fixação de nitrogênio na zona de rio e lacustre, variando espacialmente com máximo de 0,35 μ gN/L.h. A hidrodinâmica diferenciada, a disponibilidade de radiação solar e a profundidade pareceram ser decisivos para a ocorrência da fixação de nitrogênio.

Doyle e Fisher (1994) exploraram a fixação de nitrogênio pelo fitoplâncton na planície amazônica a partir do método do acetileno calibrado com ¹⁵N₂ e concluíram que o processo foi dependente da luz, com fixação correspondente de 8% das entradas anuais de nitrogênio. Também na planície de inundação amazônica, Fiore et al. (2005) avaliaram que a entrada de nitrogênio esteve relacionada com o processo de fixação, pois algumas cianobactérias com heterócitos colonizavam a área, principalmente nos períodos de inundação, ligadas a caules subaquáticos, raízes de macrófitas flutuantes e sedimentos. Ainda nesse estudo, observaram-se elevadas taxas de fixação de nitrogênio por algumas cepas com o uso do método da redução do acetileno.

Rejmánková et al. (2011) exploraram um lago na América Central que está enfrentando problemas com floração de cianobactérias, pois o fósforo estava em níveis elevados e a relação N:P estava baixa. Nesse lago, a fixação de nitrogênio, aferida pelo acetileno, foi mínima durante o dia e atingiu seu ápice no período noturno, o que foi atribuído a variações nas atividades enzimáticas da nitrogenase (ELMETRI & BEL, 2004 apud

REJMÁNKOVÁ el al., 2011). Essas variações podem ser explicadas pela dominância do gênero *Lyngbya* no lago. Embora não possua heterócito, esse gênero fixou nitrogênio no período noturno pela ativação da nitrogenase, pois durante o dia o oxigênio liberado pela fotossíntese inibiu tal processo (BURRIS, 1991).

Tõnno e Nõges (2003) investigaram a fixação de nitrogênio por cianobactérias *in situ* pela metodologia da redução do acetileno em um lago, em situação de enriquecimento de ortofosfato. A fração molar em que foi detectada a fixação (0,81 e 2,61 μgN/L.dia) esteve próxima de NT:PT = 20:1, maior que a de Redfield (1958). Além disso, concentrações de ortofosfato superiores a 100 μg/L inibiram o processo de fixação.

Ohlendieck, Stuhr e Siegmund (2000) utilizaram a metodologia do traçador ¹⁵N₂ para calcular a fixação de nitrogênio no Mar Báltico e concluíram a fixação de nitrogênio foi maior na fase de desenvolvimento das cianobactérias, *Aphanizomenon* e *Nodularia*, e menor no final da floração em decorrência da decomposição das células dessas cianobactérias filamentosas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

A pesquisa foi realizada em três reservatórios no estado de São Paulo (Figura 6), que apresentam características morfológicas distintas, como profundidade média e área superficial (Tabela 3), e estão sujeitos a magnitudes diferentes de impacto ambiental.

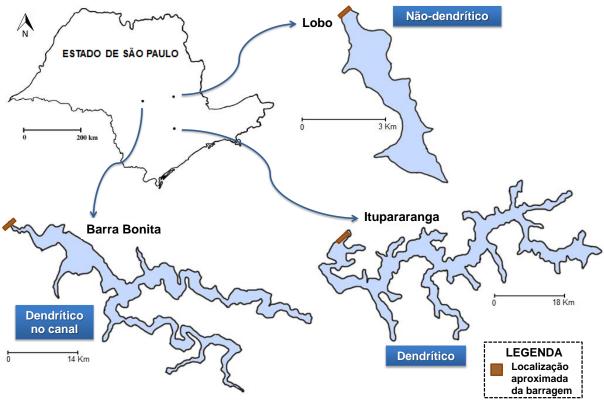


Figura 6. Localização aproximada dos três reservatórios no estado de São Paulo: Itupararanga, Barra Bonita e Lobo e suas principais diferenças morfológicas.

Tabela 3. Informações sobre os três reservatórios de estudo, incluindo coordenadas geográficas, ano de início da operação da barragem, área (km²), profundidade média (m) e tempo teórico de detenção hidráulica (dias)

Reservatório	Coordenadas geográficas aproximadas da barragem	Ano de início de operação	Área (km²)	Profundidade média (m)	Tempo de detenção hidráulica (dias)
Itupararanga	23°36′44"S 47°23′50"O	1912	936	7,8	90-120
Barra Bonita	22°31'15"S 48°31'43"O	1963	310	10,2	30-180
Lobo	22°10′05"S 47°54′09"O	1936	21	3,0	20-60

Fonte: Dados compilados de Calijuri, Dos Santos e Jati (2002); Dos Santos (2003); Rivera et al. (2007); Cunha e Calijuri (2011); Cunha (2012)

O panorama de reservatórios no estado de São Paulo remete a aproximadamente 63 barragens construídas (Figura 7), criadas principalmente para geração de energia e abastecimento de água. A Lei nº 7663/1991 (São Paulo, 1991) estabeleceu 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos no Estado de São Paulo (UGRHI), com base nas bacias hidrográficas. Os reservatórios Itupararanga e Barra Bonita estão localizados na UGRHI 10 e o Lobo, na UGRHI 13 (Tabela 4).

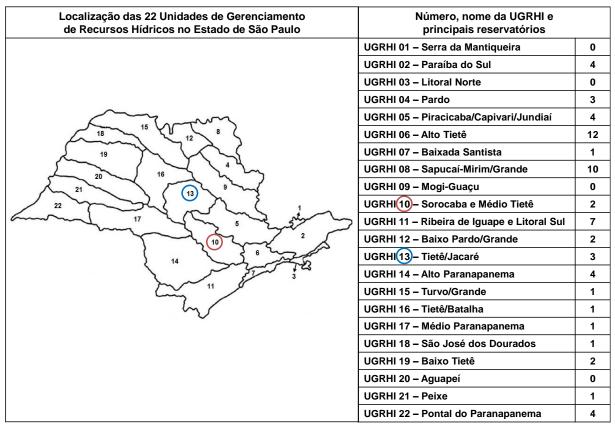


Figura 7. Mapa do Estado de São Paulo com as 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos e seus principais reservatórios. Destaque para as UGRHIs 10 e 13 onde estão localizados os reservatórios de estudo. Fonte: análise do mapa das Unidades Hidrográficas de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Instituto Geográfico-Cartográfico e Guia do Sistema Paulista de Recursos Hídricos (SSRH, 2011)

Tabela 4. Caracterização das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHIs) em que os reservatórios estudados estão inseridos

UGRHI	Área total de drena- gem (km²)	População (hab)	Demanda de água outorgada pela disponibi- lidade (%)	Disposição de resíduo sólido domiciliar em aterro adequado (%)	Redução de carga orgânica poluidora doméstica (%) (*)	Principais atividades econômicas e vocação
Sorocaba e Médio Tietê (UGRHI 10)	11.829	1.811.904	27,9	89,4	51	Indústrias, pecuária, cultivo de cana de açúcar e citrus. Industrial
Tietê- Jacaré (UGRHI 13)	11.779	1.505.014	47,8	22,5	40	Açúcar, álcool e citrus. Nos maiores municípios: indústrias de papel, bebidas, calçados e metal mecânica. Em industrialização

Fonte: SSRH, 2011 (*) Porcentagem de redução de carga orgânica de poluidora doméstica (kg DBO/dia), considerando o tratamento de efluentes

4.1.1. A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê

A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê (UGRHI 10, Figura 8) está localizada no centro-sudeste do estado de São Paulo e abrange 34 municípios com sede na UGRHI, e mais 20 municípios com parte de seu território ou áreas rurais dentro de seus limites. De acordo com o CBH-SMT (2013), essa bacia é impactada pela carga poluidora e resíduos advindos das bacias adjacentes, UGRHI 6 – Alto Tietê e UGRHI 5 – Piracicaba, Capivari e Jundiaí. Estas três bacias juntas, UGRHIs 6, 5 e 10, são as mais industrializadas de SP e concentram quase metade da população paulista. A UGRHI 10 recebe elevadas cargas poluidoras advindas da Região Metropolitana de São Paulo pelo Rio Tietê e da Região Metropolitana de Campinas pelo Rio Capivari.

Sua economia é baseada principalmente na atividade industrial e agroindustrial (Tabela 4) (SSRH/CSAN, 2011). De acordo com a classificação Köppen e Geiger (1928), o clima é úmido quente com inverno seco. A disponibilidade hídrica superficial possui vazão média de 107 m³/s (Tabela 4), sendo que houve uma redução da disponibilidade *per capita* nos últimos cinco anos, decorrente do crescimento populacional e da economia. Assim, a UGRHI se encontra em situação de déficit com muitos municípios com disponibilidade de água abaixo de 1.750 m³/hab/dia. Na UGRHI 10, dos 19 pontos monitorados pela CETESB (2015), 53% encontram-se eutrofizados e 42% exibiram piora neste ano, também por conta da estiagem.

4.1.2. A Bacia Hidrográfica do Rio Tietê-Jacaré

A Bacia Hidrográfica do Rio Tietê-Jacaré (UGRHI 13, Figura 9) está localizada na região central do estado de São Paulo e abrange 34 municípios, com 7% da população do estado e taxa de urbanização de 95%. Sua economia é predominantemente industrial e agrícola (Tabela 4). Segundo o CBH-TJ (2013), os principais rios são: Tietê, Jacaré-Guaçu e Jacaré-Pepira. Nessa UGRHI há um maior uso de água subterrânea em comparação com o de água superficial, o que tem gerado superexploração de poços subterrâneos. Aproximadamente metade da demanda superficial remete a bacia hidrográfica do Rio Jacaré-Guaçú para uso agrícola e irrigação de lavouras de laranja. De acordo com Köppen e Geiger (1928), o clima predominante é quente e úmido, com inverno seco.

A vazão média de disponibilidade superficial da bacia é de 97 m³/s, com disponibilidade per capita de 2.033 m³/hab.ano em 2012 (Tabela 4). Ela apresenta 10 pontos de monitoramento para avaliar o Índice de Qualidade da Água (IQA), sendo que um ponto está regular e um ruim (CBH-TJ, 2013). Essa bacia registrou ocorrências de mortandade de peixes bastante significativa, como a registrada no Reservatório do Lobo (CETESB, 2015).

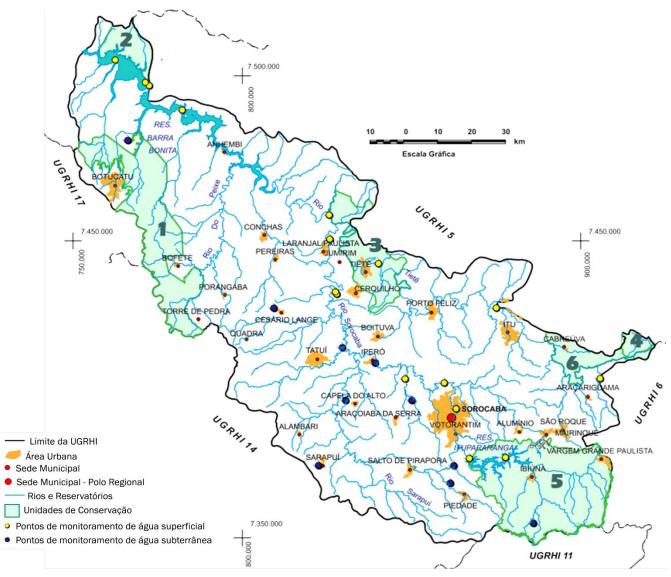


Figura 8. Detalhamento da UGRHI 10 onde estão localizados os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita na cor azul. Fonte: Elaborado por Saulo Ribeiro Martins. Secretaria de Recursos Hídricos do Estado de São Paulo (SSRH, 2011)

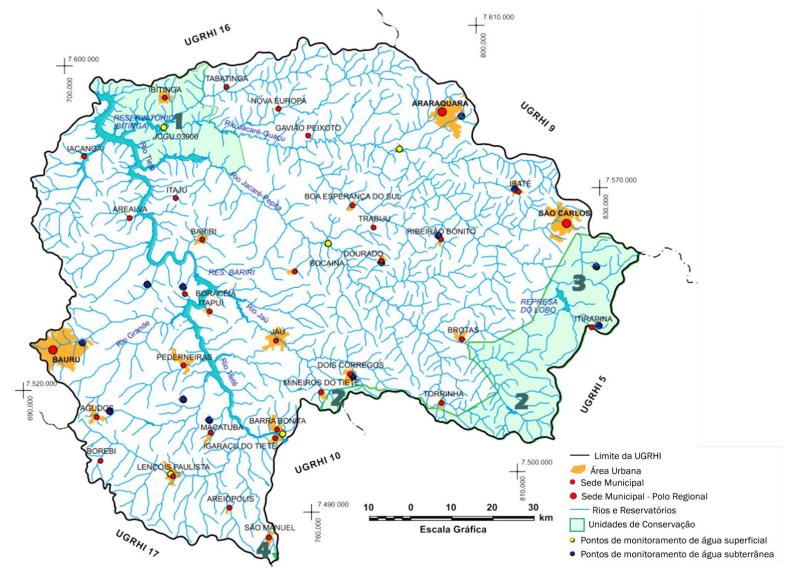


Figura 9. Detalhamento da UGRHI 13 onde está localizado o reservatório do Lobo na cor azul. Fonte: Elaborado por Saulo Ribeiro Martins. Secretaria de Recursos Hídricos do Estado de São Paulo (SSRH, 2011)

4.1.3 O Reservatório de Itupararanga

A barragem que forma o reservatório de Itupararanga (Figura 10) está localizada na sub-bacia do Alto Sorocaba da bacia do SMT, na cabeceira do rio Sorocaba cujos principais afluentes são os rios Sorocamirim, Sorocabuçu e Una, e está situada no município de Votorantim. O rio Sorocaba é um importante manancial da região e banha os municípios de Ibiúna, Mairinque, Alumínio, Piedade e Votorantim. O reservatório foi construído, em 1912, pela empresa *São Paulo Eletric Company*, conhecida como "Light" (ANEEL, 2004), pois o estado de São Paulo passava por uma forte crise na oferta de energia elétrica, entrando em operação em 1914. A partir de 1974, a operação da barragem passou a ser responsabilidade da Companhia Brasileira de Alumínio, do Grupo Votorantim (Tabela 5).



Figura 10. Barragem do reservatório de Itupararanga em janeiro de 2015. Fotografia da autora

Tabela 5. Características morfológicas e hidráulicas da barragem de Itupararanga

Vazão máxima (m³/s)	Volume útil (10 ⁶ m³)	Queda bruta (m)	Altura da barragem (m)	Comprimento da barragem (m)	Produção média anual (GWh)	Potência instalada (MW)
39,12	286	206	38	415	150	55

Fonte: Votorantim Energia (2014)

A represa também é utilizada para abastecimento de água de alguns municípios: Sorocaba (75% do consumo), Votorantim (92% do consumo) e Ibiúna (100% do consumo) (CBH-SMT, 2013). De acordo com Cunha (2012), irrigação, navegação, pesca e recreação compõem os demais usos da água deste sistema aquático. As áreas de preservação de vegetação no entorno da represa estão sendo substituídas por empreendimentos imobiliários e chácaras, causando significativo impacto ambiental. A fim de resguardar a biodiversidade e proteger a qualidade e quantidade das águas de Itupararanga, foi criada uma Área de Proteção Ambiental (APA) de 93.000 hectares (BEU; DOS SANTOS; CASALI, 2011) de acordo com a Lei Estadual 10.100/98 (SÃO PAULO, 1998), retificada pela 11.579/03 (SÃO PAULO, 2003). Porém, 42% do entorno da APA estão ocupados por agricultura (SARDINHA; BONOTTO; CONCEIÇÃO, 2010).

De acordo com Cunha e Calijuri (2011) e CETESB (2015), o reservatório está em condição meso-eutrófica com propensão acelerada à eutrofização, com presença constante de cianobactéria do gênero *Cylindrospermopsis*, potencial produtor de toxinas, principalmente pelo uso e ocupação do entorno da bacia hidrográfica e do impacto negativo de seus tributários. Segundo a CETESB (2015), houve piora no ponto de monitoramento próximo a barragem, principalmente associada ao aumento da densidade total fitoplanctônica e da concentração de células de cianobactérias, que chegou a 128.930 cels/mL no mês de julho de 2014. De acordo com a Portaria MS 2.914/2011, quando a densidade de cianobactérias for superior a 20.000 cels/mL é preciso monitorar as concentrações de cianotoxinas na água semanalmente (BRASIL, 2011).

4.1.4 O Reservatório de Barra Bonita

Entre os municípios de Barra Bonita e Igaraçu do Tietê (SP), está localizado o reservatório de Barra Bonita (Figura 11). Ele é formado pelo represamento dos rios Tietê e Piracicaba, e afluentes menores (PETESSE; PETRERE; SPIGOLON, 2007), sendo uma das regiões mais populosas e desenvolvidas do estado, possuindo aproximadamente 16% da população paulista. A represa foi construída em 1954 pela Companhia Energética de São Paulo (CESP), entrando em operação em 1963 para fornecimento de energia. Em 2000, a barragem passou por um processo de privatização, tornando-se responsabilidade da AES-Tietê (Tabela 6).



Figura 11. Vista da barragem do reservatório de Barra Bonita em outubro de 2014. Fotografia da autora

Tabela 6. Características morfológicas e hidráulicas da barragem de Barra Bonita

Vazão média	Volume útil	Queda	Profundidade	Comprimento da barragem (m)	Potência
(10 ⁶ m³/ano)	(10 ⁶ m³)	bruta (m)	máxima (m)		instalada (MW)
4200	2566	23,5	30,2	287	140

Fonte: AES Tietê (2015)

A represa é utilizada para transporte fluvial (Hidrovia Tietê-Paraná), irrigação, turismo, lazer, pesca, abastecimento urbano e desenvolvimento industrial da região (ANEEL, 2004), abrangendo os municípios de Barra Bonita, Anhembi, Botucatu, Dois Córregos, Piracicaba, Santa Maria da Serra, São Pedro, Igaraçú do Tietê, Mineiros do Tietê e São Manuel (MARTINS, 2000).

O reservatório possui áreas eutrofizadas e sofre pressões de áreas urbanas, industriais e agrícolas (entorno com monocultura de cana de açúcar) (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013). No período de 2007 a 2014, o reservatório apresentou classificação hipereutrófica (CETESB, 2015), com piora nos valores de IET pela dominância de cianobactérias (431.000 cels/mL), a qual ultrapassou a Resolução CONAMA 375/05 para classe 2, com domínio de 74% de *Microcystis* sp.. A piora da qualidade da água está relacionada com as cargas poluidoras provenientes dos rios Tietê e Piracicaba, que recebem efluentes domésticos e industriais das regiões metropolitanas de Campinas e São Paulo (CBH-SMT, 2013).

4.1.5 O Reservatório do Lobo

O reservatório do Lobo (Figura 12) possui dimensões menores e está localizado entre os municípios de Itirapina e Brotas (SP), na região central do estado de São Paulo. Ele foi construído em 1936 pela Central Elétrica de Rio Claro S.A. (SACERC) para produção de energia elétrica às comunidades locais e indústrias que se instalaram na região. Em 1970, o entorno da represa foi loteado e transformou-se em um pólo de lazer e também de pesquisa, pela proximidade do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA/USP). Desde 2007, a barragem pertence à Aratu Geração S.A. (antiga Elektro Geração S.A.) e é controlada pela ESP Agropecuária LTDA (Tabela 7) (MOTHEO, 2005).



Figura 12. Barragem do reservatório do Lobo em julho de 2015. Fotografia da autora

Tabela 7. Características morfológicas e hidráulicas da barragem do Lobo

Volume (10 ⁶ m³)	Área de superfície (km²)	Profundidade máxima (m)	Profundidade média (m)	Cota máxima (m)	Cota mínima (m)	Produção média de energia elétrica (MW)
22	6,8	12	3	704,5	699	2

Fonte: Tundisi (2004)

A barragem é formada pelo represamento dos Rios Itaqueri e Ribeirão do Lobo, e córregos do Geraldo e das Perdizes (DELELLO, 2008; RIVERA et al., 2007). O clima da região, segundo Köppen e Geiger (1928), é o subtropical mesotérmico controlado por massas de ar equatorial e tropical, com períodos de verão úmido (abril a setembro) e inverno seco (outubro a março), devido à influência de frentes frias vindas do sul (MOTHEO, 2005; PASSERINI, 2010). Dos Santos (2003) destacou que esse reservatório sofre impactos de despejos de efluentes domésticos, fertilizantes, atividades turísticas e pesca, sendo que os resultados da análise de variáveis físicas, químicas e biológicas apresentados por Delello (2008) sugerem aumento do estado trófico do reservatório ao longo do tempo.

4.2 Amostragens

Nos três reservatórios, foram realizadas amostragens trimestrais em oito períodos entre outubro de 2013 e julho de 2015 (Tabela 8), de forma a abranger períodos secos, chuvosos e intermediários, facilitando a avaliação da influência da sazonalidade no processo de fixação de N₂. As coletas ocorreram nas proximidades das respectivas barragens, na zona lacustre (THORNTON; KIMMEL; PAYNE, 1990) por maior facilidade de acesso, menor interferência dos afluentes e possibilidade de comparação com dados de outros reservatórios.

Tabela 8. Períodos de coletas nos	reservatórios de Itupararanga,	Barra Bonita e Lobo entre 2013 e 2015

	Períodos	de coletas nos res	ervatórios
	Itupararanga	Barra Bonita	Lobo
1ª coleta	30/10/2013	28/10/2013	01/11/2013
2ª coleta	03/02/2014	05/02/2014	07/02/2014
3ª coleta	05/05/2014	07/05/2014	09/05/2014
4ª coleta	14/07/2014	16/07/2014	18/07/2014
5ª coleta	29/09/2014	01/10/2014	03/10/2014
6ª coleta	26/01/2015	28/01/2015	30/01/2015
7ª coleta	06/04/2015	08/04/2015	10/04/2015
8ª coleta	20/07/2015	22/07/2015	24/07/2015

Para facilitar a padronização dos meses de amostragens deste trabalho e a apresentação gráfica dos dados, foi considerada a 1ª coleta no Lobo como out/13 e a 5ª coleta de Itupararanga, como out/14.

Para a coleta de amostras de água e a realização de incubação para estimativa da fixação biológica de N_2 , foram selecionadas duas profundidades na zona eufótica de cada reservatório, conforme o perfil de Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa (RSFA) determinado a partir de um radiômetro (Quanta-Meter Ly-Cor, faixa de 400 a 700 nm). Essas

duas profundidades (relativas a 50% e 10% da RSFA) foram escolhidas com base em outros estudos similares realizados em ambientes temperados e por refletirem condições intermediárias de disponibilidade de radiação solar. A coleta na profundidade correspondente a 50% da RSFA evita a eventual fotoinibição sobre os processos estudados e a 10% da RSFA representa uma condição de menor disponibilidade de luz, embora ainda na zona eufótica.

4.3 Variáveis climatológicas

Os dados mensais de precipitação pluviométrica (mm), temperatura do ar (°C), radiação solar incidente (KJ/m²), velocidade (m/s) e direção dos ventos (°) do período de outubro de 2013 a julho de 2015 foram obtidos através de postos meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) situados nos municípios de Sorocaba, Barra Bonita e São Carlos (SP) e também da estação climatológica do CHREA/USP/São Carlos, localizada próxima ao reservatório do Lobo.

4.4 Variáveis hidrológicas

A vazão (m³/s) efluente de cada reservatório foi obtida junto às operadoras das respectivas barragens: Itupararanga – Votorantim Energia e UFSCar de Sorocaba; Barra Bonita – AES Tietê; Lobo – Usina do Lobo. O tempo de detenção hidráulico teórico (dias) foi calculado a partir de tais vazões (m³/s) e do volume (m³) de armazenamento de cada reservatório.

4.5 Variáveis abióticas da qualidade da água

A Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa (RSFA, Tabela 9) incidente e subaquática foi mensurada *in situ* com um radiômetro. O perfil de RSFA subaquática foi construído com medições a cada 10 cm da coluna de água até 2 m de profundidade, e em seguida a cada 50 cm. A partir da leitura da profundidade de desaparecimento do Disco de Secchi (m), estimou-se a transparência da água e calculou-se a extensão da zona eufótica de acordo com Esteves (2011). A temperatura do ar foi medida por um termômetro de mercúrio, e o horário e as condições climáticas foram registrados manualmente durante a coleta. Com uma sonda multiparamétrica, foram determinados *in situ* perfis de variáveis físicas e químicas (Tabela 9), como: temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio

dissolvido, a cada 10 cm até 1,5 m da coluna d'água, e em seguida, a cada 0,5 m até o limite do cabo do equipamento (10 m).

Para a quantificação dos nutrientes (Tabela 9), foram coletadas amostras de água das duas profundidades, sendo que essas foram filtradas (membranas GF/C de 0,45 μm) no caso dos nutrientes dissolvidos, acondicionadas em frascos devidamente identificados, congeladas e transportadas até o Laboratório de Biotoxicologia de Águas Continentais e Efluentes (BIOTACE), da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC/USP), onde foram quantificados de acordo com as metodologias descritas no Standard Methods (APHA, 2005). A concentração de amônia foi obtida de acordo com o método colorimétrico de Koroleff (1983). A partir das concentrações de PT e clorofila-a, foram calculados o Índice de Estado Trófico (IET) de Carlson modificado por Lamparelli (2004) e também o IETrs proposto por Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013). Para calcular as relações NT:PT, foram utilizadas as concentrações de PT, P-PO₄, NTK, N-NO₃ e N-NO₂, além das massas molares dos respectivos elementos (P = 31 g/mol; N = 14 g/mol).

Os sólidos suspensos totais (Tabela 9), e suas frações orgânicas e inorgânicas, foram determinados a partir da filtração de água das duas profundidades em membranas pré-calcinadas de fibra de vidro (Whatman® GF/C 47mm de diâmetro e 1,2 µm de porosidade), e analisadas por gravimetria no Laboratório BIOTACE. Todas as análises realizadas neste laboratório foram feitas com duas réplicas.

Tabela 9. Variáveis abióticas da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, radiação solar fotossinteticamente ativa, transparência da água, sólidos suspensos totais, nitrogênio total kjeldhal, nitrato, nitrito, amônia, fósforo total, fosfato total dissolvido e ortofosfato) com sua respectiva metodologia, equipamento e referência.

Variável	Unidade	Método	Equipamento/Referência				
Temperatura	°C						
рН	-	Sensores específicos da	Sonda Multiparâmetros Yellow				
Oxigênio Dissolvido (OD)	mg/L	sonda YSI 556®	Springer 556®				
Condutividade elétrica	μS/cm						
Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa (RSFA)	μE/m².s	Radiometria	Quanta Meter Ly-Cor, LI-1.400, faixas de sensibilidade entre 400 – 700 nm				
Transparência da água (Zds)	m	-	Disco de Secchi				
Sólidos Suspensos Totais (orgânicos e inorgânicos)	mg/L	Gravimetria e combustão; método 2540D e 2540E	APHA (2005)				
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	μg/L	Digestão, Destilação e Titulação 4.500Norg C	Büchi®; APHA (2005)				
Nitrato (N-NO ₃)	μg/L	Espectrofotometria 4.500NO ₃ ⁻ B	Espectrofotômetro Hach® 4.000V APHA (2005)				
Nitrito (N-NO ₂)	μg/L	Espectrofotometria 4.500NO ₂ -B	Espectrofotômetro Hach® 4.000V APHA (2005)				
Amônia (NH ₃)	μg/L	Calorumetria	Koroleff (1983)				
Fósforo total (PT) e fosfato total dissolvido (P-PTD)	μg/L	Espectrofotometria 4.500P E; digestão com persulfato	Espectrofotômetro Hach® 4.000V APHA (2005)				
Ortofosfato (P-PO ₄)	μg/L	Espectrofotometria 4.500P E; ácido ascórbico	Espectrofotômetro Hach® 4.000V APHA (2005)				

4.6 Variáveis bióticas da qualidade da água

Os pigmentos fotossintéticos clorofila-a e feofitina foram determinados nas mesmas profundidades de estudo em cada reservatório e com duas réplicas. As amostras foram filtradas em membranas de fibra de vidro (membrana GF/C de 0,45 µm) e preservadas no freezer até o momento da análise. No Laboratório BIOTACE, foi feita a extração com etanol 80% e choque térmico. Após o armazenamento na geladeira, realizou-se a análise por espectrofotometria (espectofotômetro Hach® 4.000V) segundo APHA (2005), com leitura nos comprimentos de ondas 665 nm e 750 nm. Conforme as fórmulas (Equações 1 e 2) propostas por Nusch (1980) descritas na Norma Holandesa (Nederlandse Norm-NEN 6520, 1981), foram calculadas as concentrações de clorofila-a (µg/L) e feofitina (µg/L):

[Clorofila a] = 29,6
$$\frac{v}{v_a s}$$
 [$(Eu_{665} - Eu_{750})$] - [$(Ea_{665} - Ea_{750})$] Equação 1

[Feofitina] = 29,6
$$\frac{v}{v_a S}$$
 1,7 $[(Ea - Ea_{750})] - [(Eu_{665} - Eu_{750})]$ Equação 2

Em que: [Clorofila a] = concentração de clorofila-a na água (μ g/L); [Feofitina] = concentração de feofitina na água (μ g/L); [Eu] = absorbância da amostra não acidificada; [Ea] = absorbância da amostra acidificada; [V] = volume do estrato (mL); [Va] = volume da amostra filtrada (L); [S] = espessura da cubeta (m); [Va] = coeficiente de absorção específica da clorofila a; [Va] = razão de rendimento da clorofila-a não acidificada para acidificada.

Para análise da comunidade fitoplanctônica, em campo, as amostras foram fixadas com lugol acético e armazenadas em local escuro para serem posteriormente examinadas. Utilizou-se o método das câmaras de sedimentação (UTHERMÖHL, 1958) para a contagem e identificação, com auxílio de microscópio ótico invertido Olympus CK2® com aumento de 400 vezes, considerando como um indivíduo os organismos unicelulares, filamentos e colônias. Foram aferidas as densidades das espécies fitoplanctônicas (ind/mL) e a densidade total da comunidade (ind/mL, Equação 3), além da abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos (%) (APHA, 2005).

$$D_t = \frac{C x At}{Af x F x V}$$
 Equação 3

Em que: $[D_t]$ = densidade total (ind/mL); [C] = número de organismos contados; [At] = área total do fundo da câmera de sedimentação (mm²); [Af] = área total do campo de contagem (mm²); [F] = número de campos contados; [V] = volume de amostra sedimentada (mL).

Os organismos foram identificados por meio de chaves de identificação (ANAGNOSTIDIS & KOMARÉK, 1986, 1989, 1998; BICUDO & MENEZES, 2006; BOURRELY, 1972a, 1972b, 1981; CASTRO et al., 1991; KOMÁREK & FOTT, 1983; PARRA et al., 1980, 1982 1983; SANT'ANNA et al., 2006).

O biovolume foi determinado para cada gênero ou espécie observado com medições de 30 indivíduos por uma régua acoplada ao microscópio. Assim, foi designada uma média das dimensões dos organismos para obtenção do volume celular médio. O volume foi calculado a partir da semelhança das células do organismo às formas geométricas, conforme Wetzel e Likens (1991) e Hillebrand et al. (1999).

As análises quantitativas e qualitativas do fitoplâncton foram realizadas no BIOTACE pelo Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha, como parte do projeto "Fixação biológica e assimilação de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia" (Processo FAPESP nº 2014/2088-5) e os resultados foram incluídos em um banco de dados acessível a todos os integrantes do projeto.

4.7 Quantificação da fixação biológica de nitrogênio

Foram selecionadas duas técnicas, uma indireta e outra direta, para determinação da fixação biológica de nitrogênio.

4.7.1 Método da redução do acetileno

A água coletada das duas profundidades de estudo, 50% e 10% de RSFA (prédeterminadas por um radiômetro), foi distribuída em frascos de 60 mL. Na margem do reservatório, gerou-se acetileno através da dissolução de carbeto de cálcio (CaC₂) em água deionizada (Equação 4).

$$CaC_2 + 2H_2O = Ca(OH)_2 + C_2H_2$$
 Equação 4

Foram adicionados 10 mL de acetileno (C_2H_2) com auxílio de uma seringa aos frascos com 60 mL de amostra de água e devidamente selados. Os frascos foram incubados nos reservatórios, na região lacustre, nas mesmas profundidades de estudo e por dois períodos de tempo distintos, T_1 = 12 h e T_2 = 24 h, sendo que as incubações foram realizadas com duplicatas em cada profundidade e com dois frascos de controle/brancos (T_0 = 0 h). Para encerrar a reação, após T_1 e T_2 , utilizou-se 1 mL da solução H_2SO_4 5N. Os frascos de controle receberam H_2SO_4 5N imediatamente para interromper a reação, ou seja, em T_0 = 0 h (Figura 13).

Por fim, as amostras foram analisadas em um Cromatógrafo Gasoso com Detector de Ionização de Chama (GC/FID, Shimadzu®, modelo 17ª, versão 3) para a quantificação da produção de etileno. Essa análise foi realizada no Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (IQSC-USP), em parceria com o Prof. Dr. Igor Renato Bertoni Olivares.

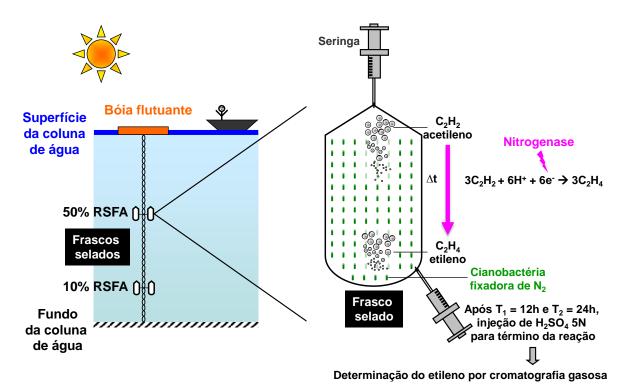


Figura 13. Esquema da fixação de nitrogênio pelo método indireto de redução do acetileno

Stewart el al. (1967) e Hardy et al. (1968) estudaram a reação de redução do acetileno (C_2H_2) a etileno (C_2H_4) pela enzima nitrogenase. Essa enzima é a mesma que processa a fixação biológica de nitrogênio. Flett et al. (1976) estabeleceram a relação C_2H_4 : $N_2 \approx 3$. Assim, cada mol produzido de C_2H_4 equivale, indiretamente, à fixação de três mols de nitrogênio atmosférico.

O principal ponto positivo dessa técnica é a rapidez e simplicidade da metodologia, que pode ser aplicada em campo (MONTOYA et al., 1996). Porém, o método possui menor precisão, pois o acetileno satura rapidamente o sítio ativo da enzima nitrogenase, influenciando na liberação de etileno. Além disso, a relação $C_2H_4:N_2\approx 3$, assumida como verdadeira na maior parte dos estudos, pode não ser válida para todos os sistemas aquáticos (POSTGATE, 1982; SEITZINGER; GABER, 1987) e o ideal seria fazer uma calibração específica para cada ambiente estudado.

4.7.2 Método do traçador (isótopo 15N₂)

Nas mesmas profundidades e região lacustre consideradas para o método da redução do acetileno, foram realizadas as incubações com o isótopo ¹⁵N₂. Frascos de vidro de 250 mL foram completamente preenchidos com amostra e selados (tampa com septo) para que não houvesse contato com a atmosfera. Posteriormente, injetou-se 0,5 mL de ¹⁵N₂ (99% at. %¹⁵N, Cambridge Isotopes®) em cada frasco e eles foram agitados para mistura do gás no líquido. As incubações foram realizadas com duas réplicas. Após os períodos de

incubação (T_1 = 12 h e T_2 = 24 h), as amostras foram filtradas a vácuo em filtros GF/F 25 mm, posteriormente armazenados em freezer a -20°C. Nos frascos de controle (T_0 = 0 h), as amostras foram filtradas imediatamente após a injeção de $^{15}N_2$, para se obter uma estimativa real da concentração natural de $^{15}N_2$ nos reservatórios, evitando superestimar os resultados. No Laboratório BIOTACE, os filtros, secos em estufa a 60°C por 24h, foram acondicionados em local escuro e livre de umidade. Esses filtros, após serem envoltos individualmente em cápsulas de estanho, foram encaminhados para a análise elementar para quantificação do nitrogênio particulado e a espectrometria de massa para determinação da composição isotópica ($^{15}N_2/^{14}N_2$). Tais análises foram efetuadas no Laboratório de Isótopos Estáveis, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP), em parceria com o Prof. Assoc. José Albertino Bendassoli (Figura 14).

As taxas de fixação desse método foram calculadas pelas equações propostas por Montoya et al. (1996).

Primeiramente, foi calculado o número de mols de nitrogênio adicionado ($^{15}N_2$) de acordo com a Equação Geral dos Gases Ideais, que depois foi dividido pelo volume do frasco de incubação (Equações 5 e 6).

$$n(\mu mol) = \left(\frac{P \times V}{R \times T}\right) \times 10^6$$
 Equação 5

Em que: [n] = número de mols de nitrogênio; [P] = pressão no ambiente (Pa); pressão padrão: 101.325 Pa; [V] = volume do gás adicionado (m³); 0,5 mL de nitrogênio por frasco; [R] = constante universal dos gases perfeitos; 8,314472 J/K.mol; [T] = temperatura a bordo do barco onde foi feita a adição do gás nos frascos

$$Na = \frac{n}{Vf}$$
 Equação 6

Em que: [Na] = nitrogênio adicionado por frasco (μ mol/L); [n] = número de mols de nitrogênio (μ mol); [Vf] = volume do frasco (L), volume aproximado do frasco de incubação completamente preenchido: 318 mL

Em seguida, efetuou-se o cálculo do nitrogênio no ambiente (Ne) a partir da densidade do líquido, temperatura, salinidade e os coeficientes de solubilidade do ar propostos por Hamme & Emerson (2004). Finalmente, a taxa de fixação de nitrogênio foi calculada (MONTOYA et al., 1996) (Equações 7 e 8).

$$rN\left(rac{\mu g}{L.h}
ight)=rac{\left(rac{NOP}{V}
ight)x\left(Cp-Co
ight)}{\Delta t\,x\left(Cd-Co
ight)}$$
 Equação 7 $Cd\left(\%\,atom
ight)=\left(rac{Na}{Na+Ne}
ight)x\,100$ Equação 8

Em que: [rN] = taxa absoluta de fixação de nitrogênio (μ g/L.h); $[Co\ (\%\ atom)]$ = % natural de 15 N₂ (Cp) nos brancos, conforme a profundidade; $[Cp\ (\%\ atom)]$ = 15 N₂ particulado no início da incubação; presume-se a % natural de 15 N₂, dado obtido a partir da análise no CENA/USP; $[Cd]\ (\%\ atom)$ = enriquecimento 15 N₂; [NOP/V] = nitrogênio orgânico particulado dividido pelo volume filtrado de cada frasco (μ g/L), sendo NOP a massa da biomassa retida no filtro multiplicada pela % de 15 N₂ cedida pela análise no CENA/USP; $[\Delta t]$ = tempo de incubação (h), considerado do início da incubação até o final da filtração; [Na] = nitrogênio adicionado por frasco (μ mol/L); [Ne] = nitrogênio no ambiente (μ mol/L).

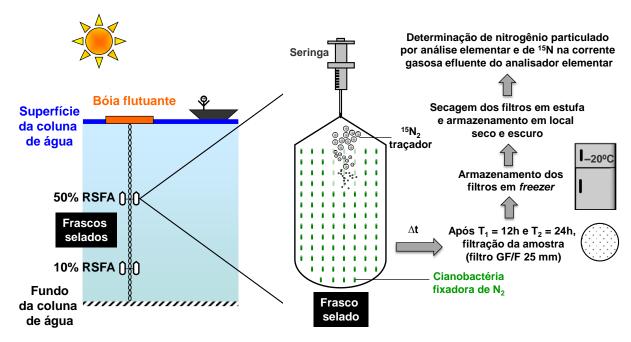


Figura 14. Esquema da fixação de nitrogênio pelo método direto com uso do traçador ¹⁵N₂

De acordo com Bergersen (1980), o método direto remete ao uso de um traçador, o nitrogênio gasoso marcado (isótopo $^{15}N_2$), para determinação da taxa volumétrica de fixação de N_2 . Recentemente, algumas alterações metodológicas foram propostas. O uso de borbulhamento de $^{15}N_2$ nas amostras se mostra relativamente ineficiente porque o gás não se dispersa homogeneamente e não atinge um equilíbrio com a água. Isso resulta em concentrações disponíveis de $^{15}N_2$ menores que as assumidas para calcular as taxas de fixação. Consequentemente, a fixação biológica de nitrogênio pode ser subestimada (GRO β KOPF et al., 2012). No entanto, a técnica para produzir uma solução saturada com $^{15}N_2$, cuja aplicação nas amostras minimizaria os problemas de distribuição não homogênea do traçador, é financeiramente dispendiosa e requer aparato tecnológico (MOHR et al., 2010).

4.8 Análises estatísticas

Inicialmente, os dados foram organizados em gráficos e tabelas no software Excel® para facilitar a sua visualização e interpretação. Com nível de confiança de 95% (p* < 0,05), foi empregada Análise de Variância (ANOVA) para verificar a existência de diferenças significativas ou não entre i) os três reservatórios estudados, ii) os oito períodos de coleta (sazonalidade) e iii) profundidades de radiação (50% RSFA e 10% RSFA), considerando todas as variáveis abióticas e bióticas em função da fixação de N₂.

Foi realizado um teste de Spearman, com coeficiente *r* entre -1,0 e +1,0, para avaliar o grau de correlação entre todas as variáveis (bióticas e abióticas), se positivo ou negativo, como subsídio para a Análise de Componentes Principais (PCA). A PCA contribui para identificar e hierarquizar as variáveis mais importantes para a explicação da variabilidade dos dados.

As análises descritas foram efetuadas no software Statistica 6.0®.

5. RESULTADOS

5.1 Análises estatísticas

Os reservatórios foram diferentes entre si em relação às variáveis estudadas pois para o fator "reservatório", ponderando todas as variáveis, p < 0,05 (ANOVA). Ainda de acordo a ANOVA, todos os reservatórios separadamente não apresentam diferenças significativas entre as profundidades (Tabela 10), mesmo quando testadas todas as variáveis e somente a fixação de N₂. A sazonalidade apresentou diferença significativa apenas para a fixação de N₂ em Itupararanga e para todas as variáveis em Barra Bonita.

Tabela 10. Análise de Variância (ANOVA) para os fatores profundidade e sazonalidade, entre todas as variáveis e somente a fixação de N₂ nos três reservatórios

	Fator Prof	undidade	Fator Sazonalidade				
	Todas as variáveis	Fixação de N ₂	Todas as variáveis	Fixação de N ₂			
Itupararanga	p = 0.336	p = 0.975	p = 0,151	p = 0,034*			
Barra Bonita	p = 0,280	p = 0.869	p = 0,048*	p = 0,255			
Lobo	p = 0,519	p = 0.869	p = 0,431	p = 0,110			

Em que: [sazonalidade] = meses quentes: outubro, janeiro e fevereiro; meses frios: abril, maio e julho. * Significativo considerando nível de confiança de 95% (p < 0,05)

Após a ANOVA, verificou-se a possibilidade de uso de correlação de Spearman e Pearson. Foi escolhida a primeira, pois para Pearson pressupõe-se que todas as variáveis possuam distribuição normal, o que não ocorreu. Além disso, esse teste é mais suscetível aos *outliers* e pode superestimar as correlações. As matrizes de correlação de Spearman foram compostas separadamente para os três reservatórios e suas variáveis (Tabelas 11, 12 e 13), admitindo correlação significativa com p < 0,05.

No reservatório de Itupararanga (Tabela 11), a RSFA apresentou correlação positiva com a porcentagem de cianobactérias (r = 0.65) e negativa com a de clorofíceas (r = -0.59). A densidade de fitoplâncton mostrou-se positivamente vinculada aos sólidos suspensos totais, biovolume de cianobactérias, biovolume de *Cylindrospermopsis raciborskii* e ao N_2 fixado durante o dia. A possibilidade da *C. raciborskii* não ter demonstrado preferência pelo nitrato pode ser deduzida pela correlação negativa com este nutriente (r = -0.61). A frequência de heterócitos na *C. raciborskii* foi associada positivamente com a temperatura, negativamente com RSFA, fosfato total dissolvido e amônia, além das elevadas correlações positivas (r > 0.77) com o N_2 fixado durante o dia, durante a noite e total. A porcentagem de heterócitos na *Anabaena* sp., foi relacionada de forma positiva com temperatura, pH e fixação (dia, noite e total $\rightarrow r > 0.57$) e negativa com o fosfato total dissolvido.

Em Barra Bonita (Tabela 12), a temperatura apresentou correlação positiva com a densidade de fitoplâncton (r = 0,61) e a porcentagem de cianobactérias (r = 0,55), e negativa com a relação NT/PT (r = -0,72). A RFSA foi relacionada positivamente com a porcentagem de clorofíceas (r = 0,50). A densidade de fitoplâncton mostrou-se positivamente vinculada a temperatura, clorofila a e biovolume de cianobactérias, e negativamente a fixação, visto que nesse reservatório a fixação não foi detectada.

No Lobo (Tabela 13), a RSFA não foi relacionada significativamente a nenhuma variável. A porcentagem de cianobactérias apresentou correlação negativa com a temperatura (r = -0.71) e positiva com sólidos suspensos totais (r = 0.85), clorofila (r = 0.67), e porcentagem de *Aphanizomenon* sp. (r = 0.62). O biovolume e a porcentagem de *Aphanizomenon* sp. foram vinculados ao fosfato total dissolvido e a amônia, respectivamente. A frequência de heterócitos na *Aphanizomenon* sp. foi relacionada positivamente com o N_2 fixado durante o dia e o total.

Para a análise de PCA (Figura 15), foram escolhidas as principais variáveis de interesse para os reservatórios que apresentaram fixação biológica de nitrogênio, Itupararanga e Lobo (i.e. aquelas com os maiores *scores* e, portanto, mais responsáveis pela explicação da variância dos dados).

Em Itupararanga (Figura 15a), a porcentagem de variância explicada com dois fatores da PCA foi de 70,7%. O primeiro fator (53%) relacionou, com *scores* positivos: fosfato total dissolvido, amônia e % de cianobactérias; e negativos: temperatura, % de clorofíceas, % de heterócitos na *C. raciborskii*, biovolume de *Anabaena* sp., % de heterócitos na *Anabaena* sp., N₂ fixado durante o dia e N₂ fixado durante a noite. O segundo fator (17,7%) apresentou *score* positivo para nitrato e negativo para o biovolume de *C. raciborskii*.. A fixação esteve positivamente relacionada com à temperatura, % de clorofíceas, biovolume de *Anabaena* sp. e % de heterócitos de *C. raciborskii* e *Anabaena* sp.

No Lobo (Figura 15c), a porcentagem de variância explicada com dois fatores da PCA foi de 59,9%. O primeiro fator (42,7%) relacionou com *scores* positivos: biovolume de *C. raciborskii.* e biovolume de *Anabaena* sp.; e negativos: fosfato total dissolvido, nitrato, biovolume de *Aphanizomenon* sp., % de heterócitos na *Aphanizomenon* sp., biovolume de *Lyngbya* sp., N₂ fixado durante o dia e N₂ fixado durante a noite. O segundo fator (18,2%) apresentou *score* positivo para amônio e % de heterócitos na *C. raciborskii*, e negativo com a temperatura. A fixação esteve positivamente relacionada principalmente com a % de heterócitos na *Aphanizomenon* sp. e o biovolume de *Aphanizomenon* sp. e de *Lyngbya* sp..

Tabela 11. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Itupararanga. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo

<u>Variável</u>	RSFA	Т	рН	Cond	OD	PT	PTD	PO ₄	NT	NO ₃	NH ₄	SST	NT/PT	CI a	Dens fito	% Ciano	% Cloro	% Outros
RSFA	1,00	-0,45	0,24	-0,16	0,60	-0,02	0,30	-0,04	0,23	-0,09	0,25	-0,06	0,21	-0,33	-0,02	0,65	-0,59	0,02
Т	-0,45	1,00	0,22	0,34	-0,37	-0,12	-0,59	0,34	-0,42	-0,18	-0,36	0,22	-0,24	0,40	0,23	-0,59	0,65	-0,59
рН	0,24	0,22	1,00	0,34	-0,15	0,32	-0,25	-0,19	-0,27	-0,33	-0,46	-0,08	-0,40	0,44	0,31	0,02	0,01	-0,19
Cond	-0,16	0,34	0,34	1,00	-0,55	-0,03	0,23	0,35	-0,54	-0,58	-0,33	-0,42	-0,39	0,59	-0,16	-0,04	0,00	-0,06
OD	0,60	-0,37	-0,15	-0,55	1,00	0,18	0,37	0,19	0,51	0,51	0,48	-0,25	0,26	-0,88	-0,32	0,59	-0,56	-0,08
PT	-0,02	-0,12	0,32	-0,03	0,18	1,00	0,15	0,09	0,19	0,26	-0,10	-0,34	-0,62	-0,08	-0,27	0,06	-0,14	-0,07
PTD	0,30	-0,59	-0,25	0,23	0,37	-0,15	1,00	0,34	0,06	0,01	0,43	-0,71	-0,05	-0,46	-0,52	0,61	-0,71	0,35
PO ₄	-0,04	0,34	-0,19	0,35	0,19	0,09	0,34	1,00	-0,19	-0,00	0,42	-0,44	-0,25	-0,27	-0,70	0,11	-0,11	-0,24
NT	0,23	-0,42	-0,27	-0,54	0,51	0,19	0,06	-0,19	1,00	0,85	-0,11	0,16	0,63	-0,45	-0,25	0,11	-0,10	0,27
NO ₃	-0,09	-0,18	-0,33	-0,58	0,51	0,26	0,01	-0,00	0,85	1,00	-0,04	0,09	0,47	-0,60	-0,26	-0,09	0,07	0,22
NH ₄	0,25	-0,36	-0,46	-0,33	0,48	-0,10	0,43	0,42	-0,11	-0,04	1,00	-0,30	-0,04	-0,61	-0,46	0,46	-0,46	0,18
SST	-0,06	0,22	-0,08	-0,42	-0,25	-0,34	-0,71	-0,44	0,16	0,09	-0,30	1,00	0,40	0,30	0,62	-0,65	0,70	-0,01
NT/PT	0,21	-0,24	-0,40	-0,39	0,26	-0,62	-0,05	-0,25	0,63	0,47	-0,04	0,40	1,00	-0,28	0,07	-0,01	0,07	0,33
Cl a	-0,33	0,40	0,44	0,59	-0,88	-0,08	-0,46	-0,27	-0,45	-0,60	-0,61	0,30	-0,28	1,00	0,39	-0,48	0,48	-0,05
Dens fito	-0,02	0,23	0,31	-0,16	-0,32	-0,27	-0,52	-0,70	-0,25	-0,26	-0,46	0,62	0,07	0,39	1,00	-0,40	0,43	-0,16
% Ciano	0,65	-0,59	0,02	-0,04	0,59	0,06	0,61	0,11	0,11	-0,09	0,46	-0,65	-0,01	-0,48	-0,40	1,00	-0,98	-0,06
% Cloro	-0,59	0,65	0,01	0,00	-0,56	-0,14	-0,71	-0,11	-0,10	0,07	-0,46	0,70	0,07	0,48	0,43	-0,98	1,00	-0,04
% Outros	0,02	0,59	-0,19	-0,06	-0,08	-0,07	0,35	-0,24	0,27	0,22	0,18	-0,01	0,33	-0,05	-0,16	-0,06	-0,04	1,00
Bio Cyl % Cyl	0,21 0,14	-0,10	0,24	-0,05	-0,26 -0,13	-0,40 -0,51	-0,18 0,07	-0,59	-0,45	-0,61	0,01	0,30	-0,00 0,02	0,36 0,19	0,74 0,26	0,07	-0,05	0,01
% Cyl	-0,53	-0,19 0,78	-0,11 0,16	0,03	-0,13	0,08	-0,67	-0,26 -0,02	-0,46 -0,05	-0,60 0,15	0,39 -0,58	0,01 0,50	-0,02	0,19	0,26	0,28 -0,82	-0,28 0,86	-0,32
Bio Ana	-0,53	0,78	0,16	0,07	-0,42	0,08	-0,67	0,02	-0,05	0,15	-0,56	0,05	-0,08	0,41	0,41	-0,82	0,35	-0,32
% Ana	-0,12	0,43	0.39	0.05	-0,13	0,50	-0,37	0,05	0,07	0,09	-0,22	0,05	-0,44	0,03	0,13	-0,52	0,50	-0,43
% het <i>Ana</i>	-0,11	0,57	0,58	-0,08	-0,08	0,33	-0,54	-0.13	-0,29	-0,08	-0,33	0,23	-0,46	0,11	0,58	-0.32	0,36	-0,54
Bio Apha	0,28	-0,39	-0,37	-0,34	0,25	0,08	0,36	-0.03	0,20	0,17	0,36	0,20	0,14	-0,31	0,08	0,03	-0,14	0,36
% Apha	0,28	-0,39	-0,37	-0,34	0,25	0,08	0,36	-0,03	0,20	0,17	0,36	0,20	0,14	-0,31	0,08	0,03	-0,14	0,36
Bio Lyn	-0,08	0,03	-0,24	0,20	0,12	0,05	-0,20	0,03	-0,01	-0,06	0,24	0,06	-0,09	-0,06	-0,24	-0,03	0,05	-0,15
% Lyn	-0,10	0,10	-0,24	-0,13	0,10	-0,04	-0,19	0,05	-0,08	-0,10	0,20	0,04	-0,07	-0,04	-0,20	-0,05	0,06	-0,18
Bio Fito	0,24	-0,13	0,35	-0,07	-0,14	-0,20	-0,11	-0,58	-0,50	-0,59	0,06	0,13	-0,19	0,25	0,71	0,15	-0,14	-0,02
Bio Ciano	0,23	-0,08	0,33	-0,09	-0,17	-0,21	-0,19	-0,59	-0,47	-0,58	-0,01	0,19	0,18	0,29	0,74	0,13	-0,11	-0,11
Bio Cloro	-0,49	0,15	-0,24	0,29	-0,32	-0,09	0,03	-0,12	-0,03	0,02	-0,25	-0,17	0,08	0,18	0,01	-0,30	0,25	0,16
Bio Outros	0,04	-0,23	0,26	0,01	0,19	0,38	0,29	0,00	0,34	0,41	-0,21	-0,09	0,06	-0,19	-0,15	-0,16	0,11	0,41
N ₂ fix noite	-0,25	0,67	0,36	0,09	-0,25	0,28	-0,60	0,06	0,11	0,25	-0,68	0,38	-0,13	0,30	0,26	-0,59	0,62	-0,46
N ₂ fix dia	-0,21	0,68	0,01	-0,27	-0,06	-0,35	-0,69	-0,07	0,03	0,23	-0,32	0,63	0,30	0,05	0,54	-0,56	0,65	-0,40
N ₂ fix total	-0,35	0,85	0,09	-0,07	-0,25	-0,15	-0,77	0,09	-0,07	0,12	-0,40	0,64	0,08	0,28	0,40	-0,76	0,83	-0,45

Tabela 11 (continuação). Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Itupararanga. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo

Variável	Bio	% Cyl	% het	Bio	% Ana	% het	Bio	%	Bio	% Lyn	Bio	Bio	Bio	Bio	N ₂ fix	N ₂ fix	N ₂ fix
	Cyl		Cyl	Ana		Ana	Apha	Apha	Lyn	, i	Fito	Ciano	Cloro	Outros	dia	noite	total
RSFA	0,21	0,14	-0,53	-0,12	-0,24	-0,11	0,28	0,28	-0,08	-0,10	0,24	0,23	-0,49	0,04	-0,25	-0,21	-0,35
T	-0,10	-0,19	0,78	0,49	0,43	0,57	-0,39	-0,39	0,03	0,10	-0,13	-0,08	0,15	-0,23	0,67	0,68	0,85
рН	0,24	-0,11	0,16	0,32	0,39	0,58	-0,37	-0,37	-0,24	-0,24	0,35	0,33	-0,24	0,26	0,036	0,01	0,09
Cond	-0,05	0,03	0,07	0,01	0,05	-0,08	-0,34	-0,34	-0,20	-0,13	-0,07	-0,09	0,29	0,01	0,09	-0,27	-0,07
OD	-0,26	-0,13	-0,42	-0,10	-0,13	-0,08	0,25	0,25	0,12	0,10	-0,14	-0,17	-0,32	0,19	-0,25	-0,06	-0,25
PT	-0,40	-0,51	0,08	0,49	0,50	0,33	0,08	0,08	0,05	-0,04	-0,20	-0,21	-0,09	0,38	0,28	-0,35	-0,15
PTD	-0,18	0,07	-0,67	-0,41	-0,37	-0,54	0,36	0,36	-0,20	-0,19	-0,11	-0,19	0,03	0,29	-0,60	-0,69	-0,77
PO ₄	-0,59	-0,26	-0,02	0,17	0,05	-0,13	-0,03	-0,03	0,03	0,05	-0,58	-0,59	-0,12	0,00	0,06	-0,07	0,09
NT	-0,45	-0,46	-0,05	0,07	0,07	-0,29	0,20	0,20	-0,01	-0,08	-0,50	-0,47	-0,03	0,34	0,11	0,03	-0,07
NO ₃	-0,61	-0,60	0,15	0,09	0,26	-0,08	0,17	0,17	-0,06	-0,10	-0,59	-0,58	0,02	0,41	0,25	0,23	0,12
NH ₄	0,01	0,39	-0,58	-0,22	-0,34	-0,33	0,36	0,36	0,24	0,20	0,06	0,01	-0,25	-0,21	-0,68	-0,32	-0,40
SST	0,30	0,01	0,50	0,05	0,05	0,23	0,20	0,20	0,06	0,04	0,13	0,19	-0,17	-0,09	0,38	0,63	0,64
NT/PT	-0,00	0,02	-0,08	-0,44	-0,28	-0,46	0,14	0,14	-0,09	-0,07	-0,19	-0,18	0,08	0,06	-0,13	0,30	0,08
CI a	0,36	0,19	0,41	0,09	0,11	0,21	-0,31	-0,31	-0,06	-0,04	0,25	0,29	0,18	-0,19	0,30	0,05	0,28
Dens fito	0,74	0,26	0,41	0,13	0,08	0,58	0,08	0,08	-0,24	-0,20	0,71	0,74	0,01	-0,15	0,26	0,54	0,4
% Ciano	0,07	0,28	-0,82	-0,32	-0,50	-0,32	0,03	0,03	-0,03	-0,05	0,15	0,13	-0,30	-0,16	-0,59	-0,56	-0,76
% Cloro	-0,05	-0,28	0,86	0,35	0,50	0,36	-0,14	-0,14	0,05	0,06	-0,14	0,11	0,25	0,11	0,62	0,65	0,83
% Outros	0,01	0,16	-0,32	-0,45	-0,09	-0,54	0,36	0,36	-0,15	-0,18	-0,02	-0,11	0,16	0,41	-0,46	-0,40	-0,45
Bio Cyl	1,00	0,78	-0,13	-0,26	-0,39	0,35	0,20	0,20	-0,20	-0,17	0,94	0,95	-0,14	-0,42	-0,34	0,08	-0,09
% Cyl	0,78	1,00	-0,43	-0,53	0,65	-0,16	0,20	0,20	0,06	0,11	0,71	0,71	-0,03	-0,61	-0,70	-0,19	-0,31
% het Cyl	-0,13	-0,43	1,00	0,55	0,62	0,63	-0,22	-0,22	-0,15	-0,15	-0,16	-0,10	0,16	0,05	0,82	0,77	0,87
Bio Ana	-0,26	-0,53	0,55	1,00	0,82	0,63	-0,22	-0,22	-0,06	-0,11	-0,11	-0,06	0,09	0,04	0,67	0,29	0,45
% Ana	-0,39	-0,65	0,62	0,82	1,00	0,50	-0,29	-0,29	0,02	-0,04	-0,21	-0,23	0,29	0,42	0,65	0,27	0,45
% het Ana	0,25	-0,16	0,63	0,63	0,50	1,00	-0,10	-0,10	-0,25	-0,25	0,37	0,42	-0,24	-0,06	0,61	0,57	0,57
Bio Apha	0,20	0,20	-0,22	-0,22	-0,29	-0,10	1,00	1,00	-0,17	-0,17	0,14	0,14	-0,31	-0,03	-0,24	-0,08	-0,14
% Apha	0,20	0,20	-0,22	-0,22	-0,29	-0,10	1,00	1,00	-0,17	-0,17	0,14	0,14	-0,31	-0,03	-0,24	-0,08	-0,14
Bio Lyn	-0,20	0,06	-0,15	-0,06	0,02	-0,25	-0,17	-0,17	1,00	0,98	-0,17	-0,17	0,21	-0,15	-0,13	-0,17	0,05
% Lyn	-0,17	0,11	-0,15	-0,11	-0,04	-0,25	-0,17	-0,17	0,98	1,00	-0,15	-0,15	0,25	-0,18	-0,13	-0,14	0,09
Bio Fito	0,94	0,71	-0,16	-0,11	-0,21	0,37	0,14	0,14	-0,17	-0,15	1,00	0,99	-0,10	-0,31	-0,34	0,00	-0,17
Bio Ciano	0,95	0,71	-0,10	-0,06	-0,23	0,42	0,14	0,14	-0,17	-0,15	0,99	1,00	-0,13	-0,49	-0,27	0,07	-0,10
Bio Cloro	-0,14	-0,03	0,16	0,09	0,29	-0,24	-0,31	-0,31	0,21	0,25	-0,10	-0,13	1,00	0,09	-0,08	-0,11	-0,10
Bio Outros	-0,42	-0,61	0,05	0,04	0,42	-0,06	-0,03	-0,03	-0,15	-,18	-0,31	-0,43	0,09	1,00	0,14	-0,17	-0,12
N ₂ fix noite	-0,34	-0,70	0,82	0,67	0,65	0,61	-0,24	-0,24	-0,13	-0,13	-0,34	-0,27	-0,08	0,14	1,00	0,63	0,78
N ₂ fix dia	0,08	-0,19	0,77	0,29	0,27	0,57	-0,08	-0,08	-0,17	-0,14	0,00	0,07	-0,11	-0,17	0,63	1,00	0,88
N ₂ fix total	-0,09	-0,31	0,87	0,45	0,45	0,57	-0,14	-0,14	0,05	0,09	-0,17	-0,10	-0,01	-0,12	0,78	0,88	1,00

Tabela 12. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Barra Bonita. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo

Variável	RSFA	Т	рН	Cond	OD	PT	PTD	PO ₄	NT	NO ₃	NH ₄	SST	NT/PT	CI a	Dens fito	% Ciano	% Cloro	% Outros
RSFA	1,00	-0,36	0,19	-0,20	0,26	-0,42	-0,24	-0,17	-0,16	-0,44	-0,03	-0,12	0,36	-0,32	-0,30	-0,05	0,50	0,00
Т	-0,36	1,00	-0,14	0,12	-0,25	0,35	0,24	-0,01	-0,35	-0,15	-0,03	0,23	-0,72	0,42	0,61	0,55	-0,19	-0,63
рН	0,19	-0,14	1,00	0,03	0,80	0,20	-0,21	-0,76	-0,22	0,09	0,06	0,40	-0,26	0,43	0,10	0,17	-0,29	-0,03
Cond	-0,20	0,12	0,03	1,00	0,03	0,34	0,64	-0,56	0,03	0,32	-0,11	-0,24	-0,43	0,22	0,06	0,32	-0,15	-0,39
OD	0,26	-0,25	0,80	0,03	1,00	0,23	-0,10	-0,61	-0,01	-0,03	-0,26	0,30	-0,19	0,32	-0,10	-0,17	-0,30	0,27
PT	-0,42	0,35	0,20	0,34	0,23	1,00	0,52	-0,29	0,44	0,52	0,46	0,47	-0,68	0,74	0,27	0,08	-0,65	-0,04
PTD	-0,24	0,24	-0,21	0,64	-0,10	0,52	1,00	-0,08	0,18	0,42	0,20	-0,19	-0,53	0,11	-0,06	0,01	-0,28	-0,13
PO ₄	-0,17	-0,01	-0,76	-0,56	-0,61	-0,29	-0,08	1,00	0,19	-0,08	0,06	-0,22	0,40	-0,51	-0,21	-0,50	0,28	0,43
NT	-0,16	-0,35	-0,22	0,03	-0,10	0,44	0,18	0,19	1,00	0,58	0,50	0,34	0,30	0,27	0,04	-0,39	-0,29	0,42
NO ₃	-0,44	-0,15	0,09	0,32	-0,03	0,52	0,42	-0,08	0,58	1,00	0,56	0,20	-0,13	0,28	-0,02	-0,11	-0,60	0,19
NH ₄	-0,03	-0,03	0,06	-0,11	-0,26	0,46	0,20	0,06	0,50	0,56	1,00	0,27	-0,09	0,26	0,01	-0,05	-0,27	0,01
SST	-0,12	0,23	0,40	-0,24	0,30	0,47	-0,19	-0,22	0,34	0,20	0,27	1,00	-0,19	0,78	0,69	-0,05	-0,49	0,10
NT/PT	0,36	-0,72	-0,26	-0,43	-0,19	-0,68	-0,53	0,40	0,30	-0,13	-0,09	-0,19	1,00	-0,53	-0,33	-0,41	0,51	0,43
CI a	-0,32	0,42	0,43	0,22	0,32	0,74	0,11	-0,51	0,27	0,28	0,26	0,78	-0,53	1,00	0,74	0,33	-0,51	-0,26
Dens fito	-0,30	0,61	0,10	0,06	-0,10	0,27	-0,06	-0,21	0,04	-0,02	0,01	0,69	-0,33	0,74	1,00	0,44	-0,23	-0,45
% Ciano	-0,05	0,55	0,17	0,32	-0,17	0,08	0,01	-0,50	-0,39	-0,11	0,05	-0,05	-0,41	0,33	0,44	1,00	0,00	-0,96
% Cloro	0,50	-0,19	-0,29	-0,15	-0,30	-0,65	-0,28	0,28	0,29	-0,60	-0,27	-0,49	0,51	-0,51	-0,23	0,00	1,00	-0,10
% Outros	0,00	-0,63	-0,03	-0,39	0,27	-0,04	-0,13	0,43	0,42	0,19	0,01	0,10	0,43	-0,26	-0,45	-0,96	-0,10	1,00
Bio <i>Lyn</i>	-0,42	0,28	-0,08	0,42	-0,36	0,25	0,31	-0,03	0,14	0,36	0,31	0,03	-0,25	0,31	0,36	0,25	0,03	-0,31
% Lyn	-0,42	0,28	-0,08	0,42	-0,36	0,25	0,31	-0,03	0,14	0,36	0,31	0,03	-0,25	0,31	0,36	0,25	0,03	-0,31
Bio Fito	-0,46	0,58	0,26	0,12	0,11	0,61	0,13	-0,29	0,23	0,35	0,23	0,79	-0,51	0,89	0,87	0,31	-0,59	-0,27
Bio Ciano	-0,45	0,67	0,10	0,13	-0,02	0,49	0,14	-0,21	0,18	0,22	0,11	0,68	-0,48	0,79	0,91	0,41	-0,52	-0,41
Bio Cloro	0,05	-0,05	-0,58	-0,08	-0,65	-0,58	-0,06	0,45	0,01	-0,19	-0,15	-0,27	0,45	-0,48	0,08	-0,02	0,35	-0,13
Bio Outros	0,03	-0,66	0,15	-0,55	0,32	-0,08	-0,35	0,33	0,46	0,20	0,14	0,23	0,50	-0,16	-0,33	-0,79	-0,20	0,90
N ₂ fix noite	0,24	-0,29	0,02	0,08	0,13	0,22	0,44	0,10	0,11	0,13	0,32	-0,40	-0,15	-0,36	-0,68	-0,34	-0,02	0,34
N ₂ fix dia	0,13	-0,42	-0,22	0,17	-0,01	-0,12	0,33	0,16	0,00	0,05	-0,01	-0,77	0,14	-0,66	-0,91	-0,25	0,12	0,24
N ₂ fix total	0,26	-0,56	-0,10	0,12	0,11	0,08	0,30	0,12	0,13	0,06	0,09	-0,67	0,20	-0,60	-0,90	-0,37	0,16	0,37

Tabela 12 (continuação). Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório de Barra Bonita. Correlações significativas destacadas em amarelo

<u>Variável</u>	Bio <i>Lyn</i>	% Lyn	Bio Fito	Bio Ciano	Bio Cloro	Bio Outros	N ₂ fix dia	N ₂ fix noite	N ₂ fix total
RSFA	-0,42	-0,42	-0,46	-0,45	0,05	0,03	0,24	0,13	0,28
Т	0,28	0,28	0,58	0,67	-0,05	-0,66	-0,29	-0,42	-0,56
рН	-0,08	-0,08	0,26	0,10	-0,58	0,15	0,02	-0,22	-0,10
Cond	0,42	0,42	0,12	0,13	-0,08	-0,55	0,08	0,17	0,12
OD	-0,36	-0,36	0,11	-0,02	-0,65	0,32	0,13	-0,01	0,11
PT	0,25	0,25	0,61	0,49	-0,58	-0,08	0,22	-0,12	-0,08
PTD	0,31	0,31	0,13	0,14	-0,06	-0,35	0,44	0,33	0,30
PO ₄	-0,03	-0,03	-0,29	-0,21	0,45	0,33	0,10	0,16	0,12
NT	0,14	0,14	0,23	0,18	0,01	0,46	0,11	0,00	0,13
NO ₃	0,36	0,36	0,35	0,22	-0,19	0,20	0,13	0,05	0,06
NH4	0,31	0,31	0,23	0,11	-0,15	0,14	0,32	-0,01	0,09
SST	0,03	0,03	0,79	0,68	-0,27	0,23	-0,40	-0,77	-0,67
NT/PT	-0,25	-0,25	-0,51	-0,48	0,45	0,50	-0,15	0,14	0,20
CI a	0,31	0,31	0,89	0,79	-0,48	-0,16	-0,36	-0,66	-0,60
Dens fito	0,36	0,36	0,87	0,91	0,08	-0,33	-0,68	-0,91	-0,90
% Ciano	0,25	0,25	0,31	0,41	-0,02	-0,79	-0,34	-0,25	-0,37
% Cloro	0,03	0,03	-0,59	-0,52	0,35	-0,20	-0,02	0,12	0,16
% Outros	-0,31	-0,31	-0,27	-0,41	-0,13	0,90	0,34	0,24	0,37
Bio <i>Lyn</i>	1,00	1,00	0,36	0,36	0,25	-0,31	-0,19	-0,26	-0,29
% Lyn	1,00	1,00	0,36	0,36	0,25	-0,31	-0,19	-0,26	-0,29
Bio Fito	0,36	0,36	1,00	0,95	-0,24	-0,15	-0,48	-0,78	-0,76
Bio Ciano	0,36	0,36	0,95	1,00	-0,03	-0,26	-0,54	-0,74	0,77
Bio Cloro	0,25	0,25	-0,24	-0,03	1,00	-0,01	-0,29	-0,02	-0,12
Bio outros	-0,31	-0,31	-0,15	-0,26	-0,10	1,00	0,23	0,11	0,27
N ₂ fix noite	-0,19	-0,19	-0,48	-0,54	-0,29	0,23	1,00	0,71	0,84
N ₂ fix dia	-0,26	-0,26	-0,78	-0,74	-0,02	0,11	0,71	1,00	0,94
N ₂ fix total	-0,29	-0,29	-0,76	-0,77	-0,12	0,27	0,84	0,94	1,00

Tabela 13. Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório do Lobo. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo

Variável	RSFA	Т	рН	Cond	OD	PT	PTD	PO ₄	NT	NO ₃	NH ₄	SST	NT/PT	CI a	Dens fito	% Ciano	% Cloro	% Outros
RSFA	1,00	0,15	0,22	0,19	0,34	0,08	-0,18	-0,09	-0,24	0,02	-0,28	-0,06	-0,23	-0,09	-0,15	-0,13	-0,21	0,31
Т	0,15	1,00	-0,20	0,60	-0,09	-0,19	-0,41	0,21	-0,59	0,21	-0,57	-0,87	-0,41	-0,69	-0,70	-0,71	0,61	0,55
pH	0,22	-0,20	1,00	0,28	0,32	0,32	0,71	0,16	0,33	0,58	0,10	0,27	0,01	0,58	0,43	0,14	-0,12	-0,40
Cond	0,19	0,60	0,28	1,00	-0,35	0,06	0,19	0,12	-0,35	0,36	-0,13	-0,42	-0,32	0,01	-0,10	-0,45	0,54	0,21
OD	0,34	-0,09	0,32	-0,35	1,00	0,06	0,05	0,27	-0,03	-0,11	-0,32	0,23	-0,15	0,03	-0,24	0,38	-0,63	-0,10
PT	0,08	-0,19	0,32	0,06	0,06	1,00	0,45	0,26	-0,23	0,25	0,47	0,43	-0,62	0,50	0,15	0,49	-0,10	-0,41
PTD	-0,18	-0,41	0,71	0,19	0,05	0,45	1,00	0,41	0,15	0,35	0,53	0,52	-0,17	0,79	0,63	0,44	-0,05	-0,63
PO ₄	-0,09	0,21	0,16	0,12	0,27	0,26	0,41	1,00	-0,43	0,17	0,34	0,07	-0,49	0,07	-0,09	0,18	0,06	-0,06
NT	-0,24	-0,59	0,33	-0,35	-0,03	-0,23	0,15	-0,43	1,00	0,06	0,13	0,31	0,86	0,31	0,46	0,01	-0,25	-0,08
NO ₃	0,02	0,21	0,58	0,36	-0,11	0,25	0,35	0,17	0,06	1,00	-0,04	-0,28	-0,05	0,11	0,27	-0,20	0,44	-0,36
NH ₄	-0,28	-0,57	0,10	-0,13	-0,32	0,47	0,53	0,34	0,13	-0,04	1,00	0,64	-0,03	0,62	0,61	0,47	-0,12	-0,31
SST	-0,06	-0,87	0,27	-0,42	0,23	0,43	0,52	0,07	0,31	-0,28	0,64	1,00	0,09	0,79	0,53	0,85	-0,63	-0,54
NT/PT	-0,23	-0,41	0,01	-0,32	-0,15	-0,62	-0,17	-0,49	0,86	-0,05	-0,03	0,09	1,00	0,02	0,32	-0,18	-0,12	0,10
CI a	-0,09	-0,69	0,58	0,01	0,03	0,50	0,79	0,07	0,31	0,11	0,62	0,79	0,02	1,00	0,74	0,67	-0,40	-0,62
Dens fito	-0,15	-0,70	0,43	-0,10	-0,24	0,15	0,63	-0,09	0,46	0,27	0,61	0,53	0,32	0,74	1,00	0,40	-0,25	-0,59
% Ciano	-0,13	-0,71	0,14	-0,45	0,38	0,49	0,44	0,18	0,01	-0,20	0,47	0,85	-0,18	0,67	0,40	1,00	-0,68	-0,71
% Cloro	-0,21	0,61	-0,12	0,54	-0,63	-0,10	-0,05	0,06	-0,25	0,44	-0,12	-0,63	-0,12	-0,40	-0,25	-0,68	1,00	0,19
% Outros	0,31	0,55	-0,40	0,21	-0,10	-0,41	-0,63	-0,06	-0,08	-0,36	-0,31	-0,54	0,10	-0,62	-0,59	-0,71	0,19	1,00
Bio Cyl	0,35	0,49	-0,20	0,45	0,10	0,28	-0,21	0,30	-0,59	-0,37	-0,06	-0,10	-0,59	-0,16	-0,60	-0,08	0,01	0,53
% Cyl	0,35	0,49	-0,20	0,45	0,10	0,28	-0,21	0,30	-0,59	-0,37	-0,06	-0,10	-0,59	-0,16	-0,60	-0,08	0,01	0,53
% het Cyl	0,31	-0,08	0,07	-0,04	0,57	0,25	0,00	0,08	-0,10	-0,57	-0,12	0,41	-0,28	0,16	-0,37	0,36	-0,58	0,17
Bio Ana	0,35	0,55	-0,09	0,27	0,08	0,26	-0,45	-0,08	-0,28	0,04	-0,35	-0,46	-0,39	-0,43	-0,54	-0,33	0,02	0,47
% Ana	0,27	0,58	-0,17	0,18	0,07	0,09	-0,56	-0,23	-0,18	-0,03	-0,52	-0,55	-0,25	-0,61	-0,72	-0,49	0,21	0,55
% het Ana	-0,48	-0,56	0,41	-0,02	-0,22	0,06	0,72	0,02	0,33	0,32	0,45	0,45	0,25	0,68	0,83	0,44	-0,05	-0,80
Bio Apha	-0,44	-0,76	0,09	-0,42	-0,18	0,11	0,49	0,04	0,33	0,08	0,67	0,63	0,29	0,59	0,80	0,62	-0,23	-0,72
% Apha	-0,38	-0,55	0,11	-0,34	-0,06	-0,10	0,43	0,10	0,27	0,21	0,30	0,38	0,27	0,31	0,64	0,44	-0,18	-0,71
Bio <i>Lyn</i>	-0,13	0,02	0,59	0,28	0,03	-0,17	0,40	-0,06	0,29	0,56	-0,27	-0,07	0,24	0,13	0,16	-0,17	0,33	-0,40
% Lyn	-0,13	0,02	0,59	0,28	0,03	-0,17	0,40	-0,06	0,29	0,56	-0,27	-0,07	0,24	0,13	0,16	-0,17	0,33	-0,40
Bio Fito	-0,36	-0,75	0,43	-0,11	-0,13	0,14	0,74	-0,01	0,47	0,14	0,57	0,69	0,32	0,82	0,88	0,56	-0,27	-0,71
Bio Ciano	-0,34	-0,68	0,41	0,00	-0,20	0,24	0,72	0,03	0,33	0,22	0,60	0,67	0,21	0,82	0,86	0,59	-0,21	-0,77
Bio Cloro	0,07	0,11	0,14	0,54	-0,61	0,32	0,07	-0,18	-0,08	0,42	0,31	-0,06	-0,05	0,17	0,17	-0,19	0,54	-0,05
Bio Outros	0,11	-0,49	-0,16	-0,33	-0,01	-0,26	-0,08	-0,44	0,54	-0,54	0,05	0,35	0,51	0,18	0,28	0,10	-0,50	0,21
N ₂ fix noite	-0,03	-0,17	0,52	0,18	0,05	0,22	0,68	0,51	0,07	0,30	0,50	0,32	-0,09	0,34	0,43	0,11	0,12	-0,29
N ₂ fix dia	-0,17	-0,37	0,25	-0,41	0,33	-0,06	0,27	0,11	0,22	0,31	-0,05	0,32	0,21	0,12	0,28	0,38	-0,17	-0,66
N ₂ fix total	-0,21	-0,18	0,37	-0,09	0,15	0,20	0,57	0,67	0,03	0,42	0,43	0,28	-0,08	0,19	0,32	0,23	0,09	-0,44

Tabela 13 (continuação). Correlações de Spearman (r) entre todas as variáveis para o Reservatório do Lobo. Correlações significativas (p < 0,05) em amarelo

Variável	Bio	% Cyl	% het	Bio	% Ana	Bio	%	% het	Bio	% Lyn	Bio	Bio	Bio	Bio	N ₂ fix	N ₂ fix	N ₂ fix
	Cyl		Cyl	Ana		Apha	Apha	Apha	Lyn	_	Fito	Ciano	Cloro	Outros	dia	noite	total
RSFA	0,35	0,35	0,31	0,35	0,27	-0,48	-0,44	-0,38	-0,13	-0,13	-0,36	-0,34	0,07	0,11	-0,03	-0,17	-0,21
T	0,49	0,49	-0,08	0,55	0,58	-0,56	-0,76	-0,55	0,02	0,02	-0,75	-0,68	0,11	-0,49	-0,17	-0,37	-0,18
pН	-0,20	-0,20	0,07	-0,09	-0,17	0,41	0,09	0,11	0,59	0,59	0,43	0,41	0,14	-0,16	0,52	0,25	0,37
Cond	0,45	0,45	-0,04	0,27	0,18	-0,02	-0,42	-0,34	0,28	0,28	-0,11	0,00	0,54	-0,33	0,18	-0,41	-0,09
OD	0,10	0,10	0,57	0,08	0,07	-0,22	-0,18	-0,06	0,03	0,03	-0,13	-0,20	-0,61	-0,01	0,05	0,33	0,15
PT	0,28	0,28	0,25	0,26	0,09	0,06	0,11	-0,10	-0,17	-0,17	0,14	0,24	0,32	-0,26	0,22	-0,06	0,20
PTD	-0,21	-0,21	0,00	-0,45	-0,56	0,72	0,49	0,43	0,40	0,40	0,74	0,72	0,07	-0,08	0,68	0,27	0,57
PO ₄	0,30	0,30	0,08	-0,08	-0,23	0,02	0,04	0,10	-0,06	-0,06	-0,01	0,03	-0,18	-0,44	0,51	0,11	0,67
NT	-0,59	-0,59	-0,10	-0,28	-0,18	0,33	0,33	0,27	0,29	0,29	0,47	0,33	-0,08	0,54	0,07	0,22	0,03
NO ₃	-0,37	-0,37	-0,57	0,04	-0,03	0,32	0,08	0,21	0,56	0,56	0,14	0,22	0,42	-0,54	0,30	0,31	0,42
NH ₄	-0,06	-0,06	-0,12	-0,35	-0,52	0,45	0,67	0,30	-0,27	-0,27	0,57	0,60	0,31	0,05	0,50	-0,05	0,43
SST	-0,10	-0,10	0,41	-0,46	-0,55	0,45	0,63	0,38	-0,07	-0,07	0,69	0,67	-0,06	0,35	0,32	0,32	0,28
NT/PT	-0,59	-0,59	-0,28	-0,39	-0,25	0,25	0,29	0,27	0,24	0,24	0,32	0,21	-0,05	0,51	-0,09	0,21	-0,08
CI a	-0,16	-0,16	0,16	-0,43	-0,61	0,68	0,59	0,31	0,13	0,13	0,82	0,82	0,17	0,18	0,34	0,12	0,19
Dens fito	-0,60	-0,60	-0,37	-0,54	-0,72	0,83	0,80	0,64	0,16	0,16	0,88	0,86	0,17	0,28	0,43	0,28	0,32
% Ciano	-0,08	-0,08	0,36	-0,33	-0,49	0,44	0,62	0,44	-0,17	-0,17	0,56	0,59	-0,19	0,10	0,11	0,38	0,23
% Cloro	0,01	0,01	-0,58	0,02	0,21	-0,05	-0,23	-0,18	0,33	0,33	-0,27	-0,21	0,54	-0,50	0,12	-0,17	0,09
% Outros	0,53	0,53	0,17	0,47	0,55	-0,80	-0,72	-0,71	-0,40	-0,40	-0,71	-0,77	-0,05	0,21	-0,29	-0,66	-0,44
Bio Cyl	1,00	1,00	0,66	0,53	0,43	-0,64	-0,64	-0,69	-0,43	-0,43	-0,51	-0,44	0,10	-0,09	-0,11	-0,58	-0,27
% Cyl	1,00	1,00	0,66	0,53	0,43	-0,64	-0,64	-0,69	-0,43	-0,43	-0,51	-0,44	0,10	-0,09	-0,11	-0,58	-0,27
% het Cyl	0,66	0,66	1,00	0,28	0,24	-0,38	-0,38	-0,35	-0,21	-0,21	-0,13	-0,17	-0,36	0,32	-0,08	-0,13	-0,20
Bio Ana	0,53	0,53	0,28	1,00	0,89	-0,67	-0,67	-0,61	-0,38	-0,38	-0,70	-0,62	0,09	-0,16	-0,36	-0,51	-0,39
% Ana	0,43	0,43	0,24	0,89	1,00	-0,76	-0,76	-0,69	-0,21	-0,21	-0,82	-0,78	0,09	-0,18	-0,43	-0,46	-0,45
% het Ana	-0,64	-0,64	-0,38	-0,67	-0,76	1,00	0,83	0,78	0,45	0,45	0,92	0,92	0,12	0,01	0,44	0,49	0,43
Bio Apha	-0,64	-0,64	-0,38	-0,67	-0,76	0,83	1,00	0,77	0,03	0,03	0,81	0,82	0,08	0,12	0,33	0,45	0,42
% Apha	-0,69	-0,69	-0,35	-0,61	-0,69	0,78	0,77	1,00	0,36	0,36	0,72	0,71	-0,23	0,14	0,37	0,78	0,60
Bio <i>Lyn</i>	-0,43	-0,43	-0,21	-0,38	-0,21	0,45	0,03	0,36	1,00	1,00	0,34	0,32	0,10	-0,25	0,36	0,59	0,38
% Lyn	-0,43	-0,43	-0,21	-0,38	-0,21	0,45	0,03	0,36	1,00	1,00	0,34	0,32	0,10	-0,25	0,36	0,59	0,38
Bio Fito	-0,51	-0,51	-0,13	-0,70	-0,82	0,92	0,81	0,72	0,34	0,34	1,00	0,97	0,05	0,29	0,48	0,45	0,41
Bio Ciano	-0,44	-0,44	-0,17	-0,62	-0,78	0,92	0,82	0,71	0,32	0,32	0,97	1,00	0,21	0,14	0,45	0,44	0,41
Bio Cloro	0,10	0,10	-0,36	0,09	0,09	0,12	0,08	-0,23	0,10	0,10	0,05	0,21	1,00	-0,39	0,11	-0,29	-0,07
Bio Outros	-0,09	-0,09	0,32	-0,16	-0,18	0,01	0,12	0,14	-0,25	-0,25	0,29	0,14	-0,39	1,00	-0,12	-0,05	-0,28
N ₂ fix noite	-0,11	-0,11	-0,08	-0,36	-0,43	0,44	0,33	0,37	0,36	0,36	0,48	0,45	0,11	-0,12	1,00	0,36	0,83
N ₂ fix dia	-0,58	-0,58	-0,13	-0,51	-0,46	0,49	0,45	0,78	0,59	0,59	0,45	0,44	-0,29	-0,05	0,36	1,00	0,65
N ₂ fix total	-0,27	-0,27	-0,20	-0,39	-0,45	0,43	0,42	0,60	0,38	0,38	0,41	0,41	-0,07	-0,28	0,83	0,65	1,00

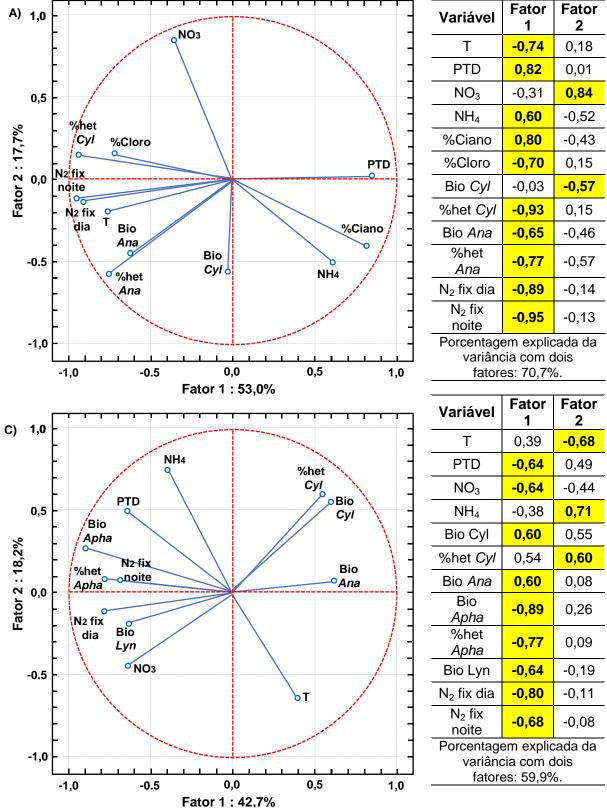


Figura 15. Diagrama da análise dos componentes principais no reservatório de Itupararanga (A) e Lobo (C) Em que: [T]: temperatura; [PTD]: fosfato total dissolvido; [NO₃]: nitrato; [NH₄]: amônia; [%Ciano]: % de cianobactérias; [%Cloro]: % de clorofíceas; [Bio *Cyl*]: biovolume de *Cylindrospermopsis raciborskii*; [%het *Cyl*]: % de heterócito na *C. raciborskii*; [Bio *Ana*]: biovolume de *Anabaena* sp.; [%het *Ana*]: % de heterócito na *A. elachista*; [%lo Lyn]: biovolume de *Lyngbia* sp.; [N₂ fix dia]: nitrogênio fixado durante o dia; [N₂ fix noite]: nitrogênio fixado a noite.

5.2 Caracterização geral da área de estudo nos períodos de amostragem

Foram observadas variações temporais nas características limnológicas dos reservatórios durante as oito amostragens. Na Tabela 14, são apresentadas as condições meteorológicas, temperatura do ar, profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), e profundidade da zona eufótica (Zeu, m) em cada reservatório nos instantes em que ocorreram as coletas.

A temperatura foi diretamente afetada pelas condições climatológicas e estações do ano. Nas coletas de mai/14, jul/14 e jul/15, as temperaturas foram inferiores às demais, nas faixas de 15,0-19,5°C.

As variáveis relacionadas a Zds e Zeu podem ter sido influenciadas pela comunidade fitoplanctônica. Na amostragem de fev/14, foram obtidas as menores Zeu em Itupararanga e Barra Bonita (3,3 e 1,8 m, respectivamente), indicando um possível sombreamento da coluna de água gerado pelo fitoplâncton. No Lobo, isso provavelmente ocorreu em jul/14, abr/15 e jul/15, com Zeu na faixa de 2,1 m.

As condições locais de amostragem no momento exato das coletas foram retratadas nas Figuras 16, 17 e 18. O efeito da estiagem foi mais evidente no reservatório de Itupararanga (Figura 16), com formação de bancos de areia pela diminuição do nível de água, principalmente em out/14, além da área de acesso estar pouco florestada. Em Barra Bonita (Figura 17), foi evidente a presença da floração de cianobactérias, principalmente *Microcystis aeruginosa*, em fev/14 e jan/15. No Lobo (Figura 18), muitos resíduos sólidos foram verificados na zona lacustre, sendo que o incremento acelerado do estado trófico dessa represa está contribuindo para a proliferação de cianobactérias potencialmente tóxicas.

Tabela 14. Coordenadas geográficas, horário, condições climáticas, temperatura do ar (°C), profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), profundidade da zona eufótica (Zeu, m) e profundidade máxima da zona lacustre (m), nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, entre outubro de 2013 e julho de 2015

2015													
			Reserva	tório de It	upararan	ga		.					
Amostragens	ı	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	set/14	jan/15	abr/15	jul/15				
Coordenadas geográficas W		23°36'49,4"											
		47°23'27,1"											
Horário		9h10	9h30	11h00	9h50	8h50	8h30	9h07	9h35				
Condições climátic	as												
Temperatura do ar (°C)	18,0	27,0	18,0	15,0	26,0	22,0	22,0	18,0				
Zds (m)		1,8	1,1	1,3	1,6	1,5	1,4	1,5	1,2				
Zeu (m)		5,4	3,3	3,9	4,8	4,5	4,2	4,5	3,6				
Profundidade máxii (m)	ma				1	2							
			Reserva	tório de B	arra Boni	ta							
Amostragens		out/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15				
Coordenadas	S		22°31'44,2"										
geográficas	W	48°31'11,6"											
Horário		7h50	7h35	7h24	9h00	8h12	8h27	8h48	8h45				
Condições climátic	as												
Temperatura do ar (°C)	22,0	26,0	18,0	15,9	25,0	25,0	24,5	15,0				
Zds (m)		2,0	0,6	2,0	1,7	1,5	1,3	1,4	2,5				
Zeu (m)		6,0	1,8	6,0	5,1	4,5	3,9	4,2	7,5				
Profundidade máxii (m)	ma	20											
,			Rese	ervatório d	do Lobo								
Amostragens		nov/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15				
Coordenadas	S				22º1	0'09''							
geográficas	W				47º5	4'12"							
Horário		8h57	7h00	7h13	7h27	8h10	8h03	8h10	7h40				
Condições climátic													
Temperatura do ar (22,0	22,6	18,0	17,0	22,2	23,3	25,0	19,5					
Zds (m)		2,5	2,1	1,0	0,7	-	1,2	0,7	0,7				
Zeu (m)		7,5	6,3	3,0	2,1	-	3,6	2,1	2,1				
Profundidade máxii (m)	ma	12											

Legenda das condições climáticas: laranja – ensolarado, amarelo – sol entre nuvens, cinza – nublado, azul – chuva, preto – neblina e vento



Figura 16. Aspecto do reservatório de Itupararanga na região da barragem em diferentes períodos entre outubro de 2013 e julho de 2015. Destaque para efeitos da estiagem. Fotos da autora



Figura 17. Aspecto do reservatório de Barra Bonita na região da barragem em diferentes períodos entre outubro de 2013 e julho de 2015. Destaque para resíduos sólidos nas margens, ponto de amostragem, presença de macrófitas e floração de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*). Fotos da autora



Figura 18. Aspecto do reservatório do Lobo na região da barragem em diferentes períodos entre novembro de 2013 e julho de 2015. Destaque para bóia de incubação do experimento e resíduos sólidos na barragem. Fotos da autora

5.3 Variáveis climatológicas

5.3.1 Precipitação pluviométrica

O período de amostragem mostrou-se atípico pela estiagem de 2014 no estado de São Paulo, o que ocasionou estresse hídrico pela baixa pluviosidade, pois, avaliando a série histórica dos últimos trinta anos:

- Em Itupararanga, a série histórica da precipitação total mensal de 1983-1990, 1998-1999, e 2002-2013, totalizou a média (mm) de 280 (jan), 161 (fev), 141 (mar), 73 (abr), 80 (mai), 61 (jun), 56 (jul), 32 (ago), 65 (set), 101 (out), 121 (nov) e 182 (dez).
- Em Barra Bonita, não foi possível comparar a série considerando os trinta anos anteriores, pois a série da precipitação total mensal disponível foi de 2008-2013, o que totalizou a média (mm) de 352 (jan), 180 (fev), 171 (mar), 83 (abr), 46 (mai), 43 (jun), 35 (jul), 26 (ago), 72 (set), 135 (out), 129 (nov) e 187 (dez).
- No Lobo, a série histórica da precipitação total mensal de 1983-1984 e 1986-2013, totalizou a média (mm) de 310 (jan), 221 (fev), 181 (mar), 88 (abr), 68 (mai), 35 (jun), 31 (jul), 33 (ago), 71 (set), 119 (out), 154 (nov) e 247 (dez).

As precipitações mensais no período de out/13 a ago/15 nos três reservatórios estão representadas na Figura 19. No período hidrológico de out/13 a jun/14, a precipitação foi significativamente inferior ao mesmo período de 2014-2015, o que está relacionado à precipitação abaixo da média no período chuvoso (outubro a março). Em Itupararanga, a precipitação máxima foi em fev/15 (242 mm), 53% superior a fev/14 (158 mm). Em Barra Bonita, a máxima também foi em fev/15 (256 mm), 73% superior ao ano anterior (94 mm). No Lobo, a máxima foi em dez/14 (252 mm), 96% superior a dez/13 (129 mm). Isso demonstra a estiagem entre 2013 e 2014, com começo de recuperação nos meses de nov e dez/14. Os meses mais secos dos três reservatórios foram jun/14 e jun/15 (precipitações inferiores a 15 mm), e também ago/14 no reservatório do Lobo (6,1 mm).

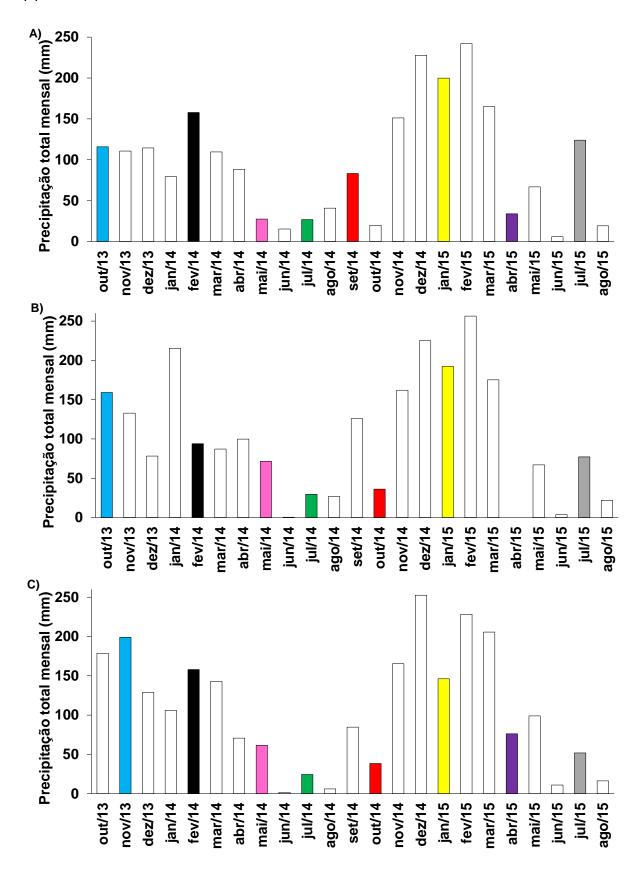


Figura 19. Precipitação total mensal (mm) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Fonte: INMET e CRHEA/USP (2013-2015)

5.3.2 Temperatura do ar e radiação solar incidente na superfície

As temperaturas médias do ar (Figura 20) mais elevadas foram registradas em Barra Bonita e no Lobo na amostragem de jan/15 (cerca de 27°C), em comparação com Itupararanga em jan/14 e jan/15 (máxima de 25°C). Comparando as oito coletas, todas as temperaturas mínimas foram observadas em jul/14, sendo 17°C em Itupararanga e aproximadamente 18°C em Barra Bonita e Lobo.

As variações da radiação solar incidente (RSI, Figura 20) estiveram associadas com as condições meteorológicas e foram similares às variações de temperatura. As RSI máximas e mínimas dos meses de coleta dos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo foram, respectivamente, 1.779 e 1.085, 1.765 e 810, 1.777 e 950 KJ/m².

Uma associação pôde ser observada entre precipitação, temperatura e RSI, em que puderam ser reconhecidos dois períodos com características marcantes de acordo com a sazonalidade:

- Período de chuva e quente (out/13, fev/14, out/14, jan/15): Precipitações intensas, lâminas mensais acumuladas acima de 100 mm (com exceção de set/14 e out/14, faixas de 36 a 83 mm, em função do momento de baixas precipitações no estado de São Paulo). Temperaturas elevadas, acima de 20°C e RSI maior que 1.400 KJ/m², podendo chegar a aproximadamente 1.800 KJ/m².
- Período de estiagem e frio (mai/14, jul/14, abr/15, jul/15): Precipitação escassa a moderada, geralmente abaixo dos 80 mm (com exceção de jul/15 em Itupararanga, 124 mm). Temperaturas abaixo de 20°C (com exceção de abr/15 em Itupararanga e no Lobo) e RSI menor que 1.400 KJ/m², atingindo mínimo de 810 KJ/m².

5.3.3 Direção e velocidade dos ventos

Foram observadas mudanças na direção dos ventos nos meses de coleta. A direção dos ventos variou de 170 a 200º em Itupararanga (Figura 21a), de 130 a 180º em Barra Bonita (Figura 21b) e de 110 a 170º no Lobo (Figura 21c), portanto, neste último foram observadas as maiores mudanças na direção. Em geral, os ventos sopraram predominantemente nas direções sul e sudoeste.

A velocidade média dos ventos (Figura 21) nas oito coletas foi de 2,3, 2,5 e 2,0 m/s em Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, respectivamente.

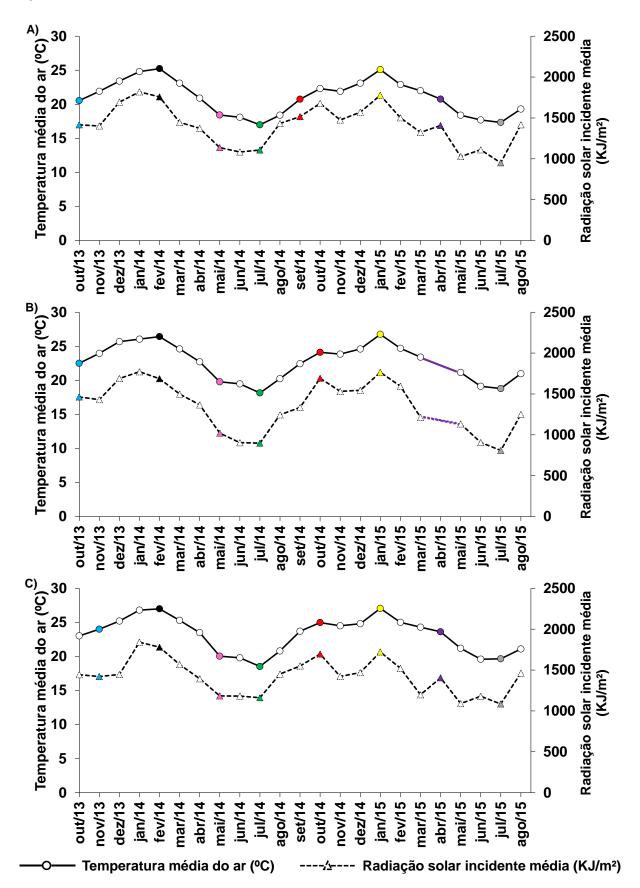


Figura 20. Temperatura do ar média mensal (°C) e radiação solar incidente média mensal (KJ/m²) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Fonte: INMET e CRHEA/USP (2013-2015)

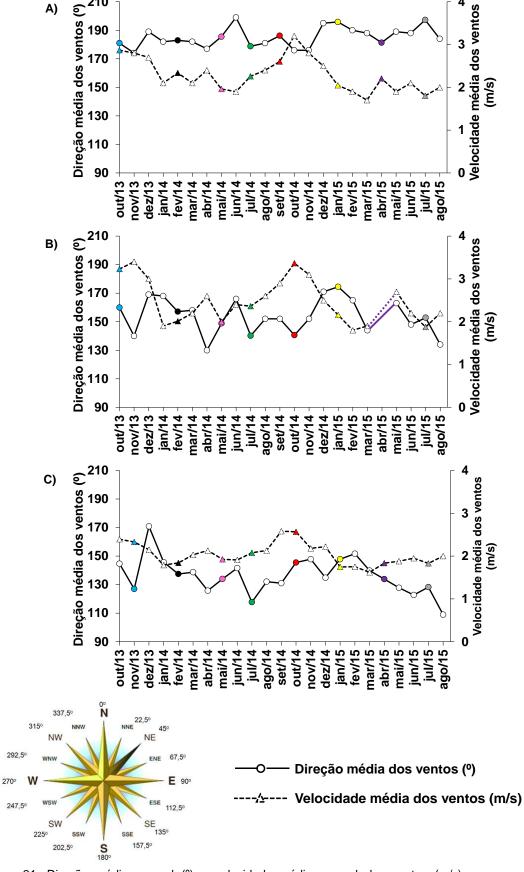


Figura 21. Direção média mensal (°) e velocidade média mensal dos ventos (m/s) nos reservatórios de ltupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Observação: em abril de 2015 houve problema na estação de coleta de dados de Barra Bonita. Destaque para rosa dos ventos. Fonte: INMET (2013-2015)

5.4 Variáveis hidrológicas

A estiagem no estado de São Paulo causada por precipitações abaixo da média entre 2013 e 2014 refletiu nas variáveis hidrológicas, vazão efluente média e tempo de detenção hidráulico (TDH) teórico (Figura 22) nos três reservatórios. As vazões médias efluentes de Barra Bonita foram aproximadamente 23 vezes superiores a Itupararanga e 100 vezes superiores ao Lobo.

Vazões médias mais elevadas foram observadas no mês de jan/14 em Itupararanga (Figura 22a, 18,2 m³/s), mar/15 em Barra Bonita (Figura 22b, 467,3 m³/s) e no Lobo (Figura 22c, 3,6 m³/s), o que coincidiu com o período chuvoso. As menores vazões foram registradas nos meses de nov/14 (Figura 22a, 7,3 m³/s), mai/15 (Figura 22b, 127,5 m³/s) e out/14 (Figura 22c, 1,5 m³/s), em Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, respectivamente. As maiores vazões efluentes das represas geralmente estiveram associadas aos meses mais quentes (de outubro a março), pois o consumo de água e energia elétrica normalmente são maiores.

De acordo com a Figura 22, foi possível perceber que o TDH teórico, durante o período out/13 a ago/15, foi menor durante os meses chuvosos e maior na estiagem, o que demonstra o efeito acumulado da falta de precipitação ao final de 2014. De modo geral, o TDH teórico variou entre 6 e 15 meses para Itupararanga, de 2 a 8 meses em Barra Bonita e 2 a 4 meses no Lobo. Especificamente nos meses em que foram realizadas amostragens, os TDH teóricos para Itupararanga (Figura 22a), em meses, foram de 8 (out/13), 10 (fev/14, jul/15), 11 (mai/14), 13 (jul/14, set/14), 14 (jan/15), 12 (abr/15). Em Barra Bonita (Figura 22b), os TDH teóricos foram de 3 (out/13, jan/15), 6 (fev/14, mai/14), 5 (jul/14, abr/15) e 4 (out/14, jul/15). E no Lobo (Figura 22c), foram de 4 (nov/13, fev/14, mai/14, jul/14, jan/15), 6 (out/14) e 3 (abr/15, jul/15). Ao se considerar uma média do TDH teórico no período, Itupararanga apresentou valor superior (11,6 meses) em comparação a Barra Bonita (4,7) e Lobo (4,0).

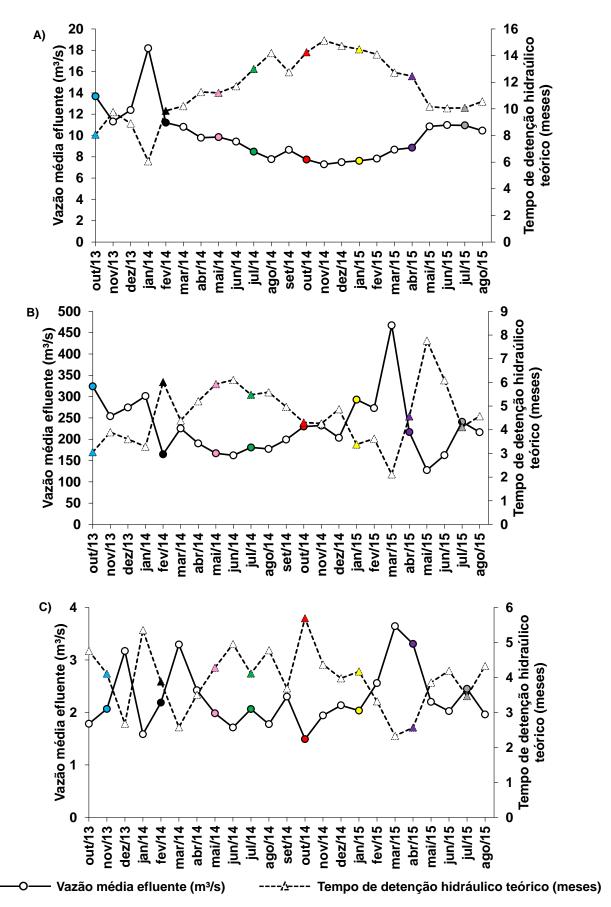


Figura 22. Vazão média mensal efluente (m³/s) e tempo de detenção hidráulico teórico (meses) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C), entre outubro de 2013 e julho de 2015. As cores indicam os meses em que as coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia, AES Tietê e Usina do Lobo.

5.5 Variáveis abióticas da água

5.5.1 Radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática, temperatura da água, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e sólidos suspensos totais

Os perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática (RSFA) e de temperatura da água dos reservatórios (Figuras 23 e 24) oscilaram com as estações do ano, condições climáticas locais e horário das coletas.

No reservatório de Itupararanga (Figura 23a), a RSFA na subsuperfície (100% RSFA, μ E/m².s) variou de 823 (out/14) a 82 (abr/15), sendo que esse menor valor foi obtido quando o sol estava encoberto por nuvens. Em Barra Bonita (Figura 23b), a RSFA (100%, μ E/m².s) variou de 717 (jul/15) a 91 (jan/15), este último relacionado ao tempo nublado e a chuva durante a coleta, além disso, as variações estão associadas ao movimento das nuvens no decorrer da medição. No Lobo (Figura 23c), a RSFA (100% RSFA μ E/m².s) variou de 960 (out/14) a 157 (mai/14, momento em que o sol também estava encoberto por nuvens). De modo geral, nas oito amostragens e para os três reservatórios, pôde-se constatar que a RSFA se atenuou significativamente (< 10% RSFA) a partir da profundidade de 4 m, chegando a valores próximos de zero (zona afótica).

As profundidades de incubação, correspondentes a 50% e 10% da RSFA, foram definidas para cada amostragem em todos os reservatórios (Figura 23). As atenuações na RSFA relacionaram-se à comunidade fitoplanctônica (e.g. densidade, biovolume e florações de cianobactérias). Por exemplo, no reservatório de Barra Bonita, em fev/14, out/14 e abr/15, a profundidade correspondente a 50% da RSFA foi de apenas 0,2 m.

No reservatório de Itupararanga (Figura 24a), a temperatura da água na subsuperfície variou de 17-28°C, enquanto em Barra Bonita (Figura 24b), a variação ficou entre 20-30°C e no Lobo (Figura 24c) de 19-29°C. Em geral, todos os reservatórios apresentaram comportamento polimítico (e.g. estratificação térmica no período chuvoso e circulação completa da coluna d'água no período seco). Com relação a diferença entre a temperatura da superfície e do fundo, em Itupararanga houve maiores diferenças nas amostragens de fev/14 (5 °C) e jan/15 (3 °C), em Barra Bonita no mês de fev/14 com 1,6 °C e no Lobo em fev/14 e mai/14 com 3 °C.

Os perfis de pH (Figura 25) e oxigênio dissolvido (OD, Figura 27) dos três reservatórios trazem variações similares ao perfil de temperatura, não sendo observada estratificação química, com exceção de fev/14 (Itupararanga e Barra Bonita) e jul/14 (Lobo). As faixas de pH registradas foram 6,2-8,6 (Itupararanga, Figura 25a), 6,9-7,5 (Barra Bonita, Figura 25b) e 4,3-8,7 (Lobo, Figura 25c).

A variação na condutividade elétrica no Lobo (Figura 26c) ocorreu nas faixas de 10-39 μ S/cm, e estiveram relacionadas com as correntes de vento e a estratificação. Em Barra Bonita (Figura 26b), foram detectados valores superiores (223-390 μ S/cm), e em Itupararanga (Figura 26a) de 61-129 μ S/cm.

As maiores variações verticais na concentração de oxigênio dissolvido de Itupararanga (Figura 27a) foram identificadas em fev/14 (8,6-0,5 mg/L) e jan/15 (7,2-6,8 mg/L), enquanto em Barra Bonita (Figura 27b) as maiores variações foram em fev/14 (11,0-0,4 mg/L) e out/14 (10,4-0,2 mg/L), e no Lobo (Figura 27c) em fev/14 (8,5-0,3 mg/L), jul/14 (8,3-0,1 mg/L) e jan/15 (5,6-0,2 mg/L). Uma diminuição progressiva do OD em função da profundidade e zona anóxica a partir de 8-9 m foram constatadas nas amostragens de fev/14, out/14 e jan/15 nos três reservatórios, com exceção de out/14 em Itupararanga.

Com relação aos sólidos suspensos totais (SST, Figura 28), em todas as amostragens, as contribuições orgânicas (SSO) foram predominantes, podendo ser associadas à biomassa de fitoplâncton. O regime lêntico dos locais de amostragem (zona lacustre dos reservatórios) propiciou menores porcentagens inorgânicas (SSI). As maiores concentrações de SSO foram em Barra Bonita (17-23 mg/L), enquanto no Lobo e em Itupararanga, as concentrações atingiram 9 e 7 mg/L, respectivamente. De modo geral, a concentração de sólidos (SST) foi maior na profundidade de 50% do que 10% RSFA, com destaque para Barra Bonita.

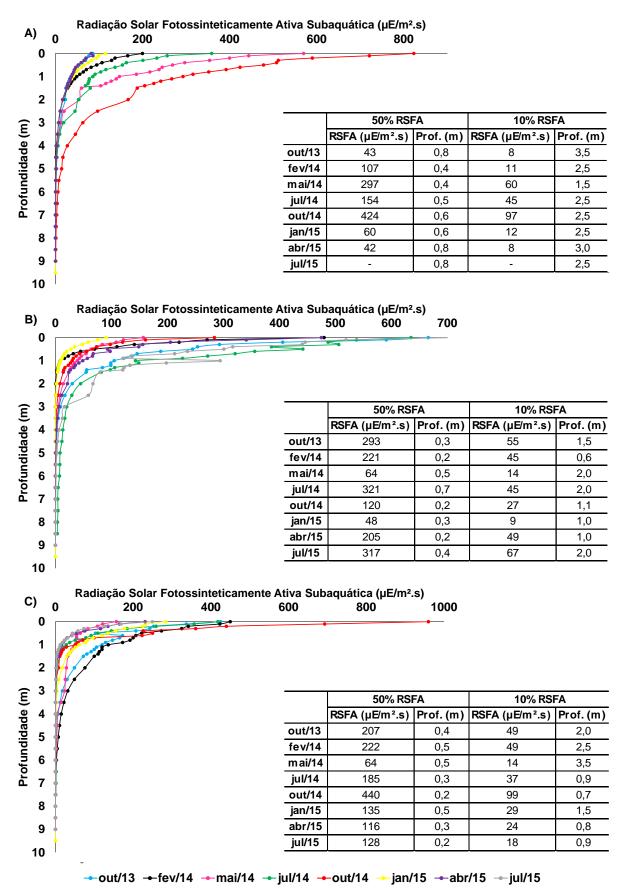


Figura 23. Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática (RSFA, μE/m².s) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015, com suas respectivas radiações e profundidades de incubação a 50% RSFA e 10% RSFA

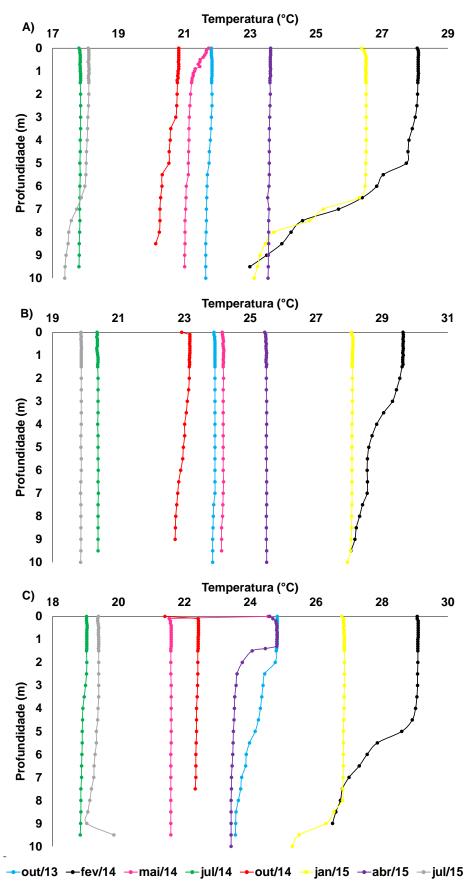


Figura 24. Perfis de temperatura da água (°C) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

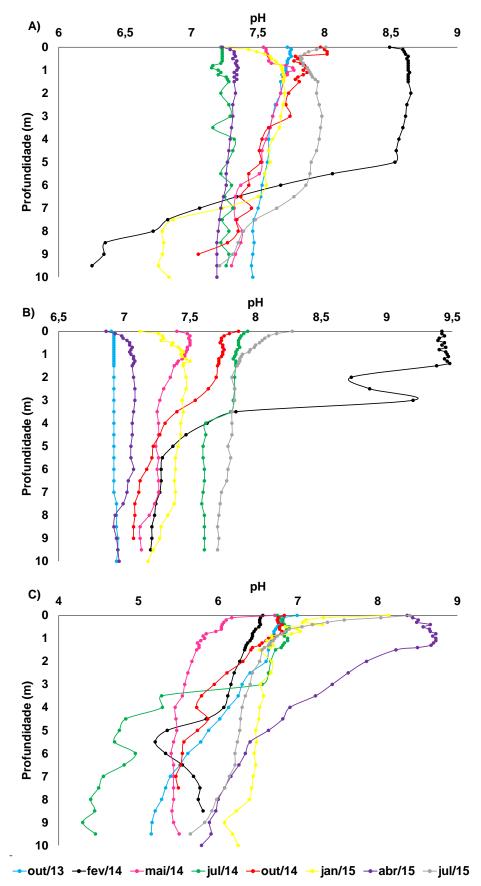


Figura 25. Perfis de pH nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

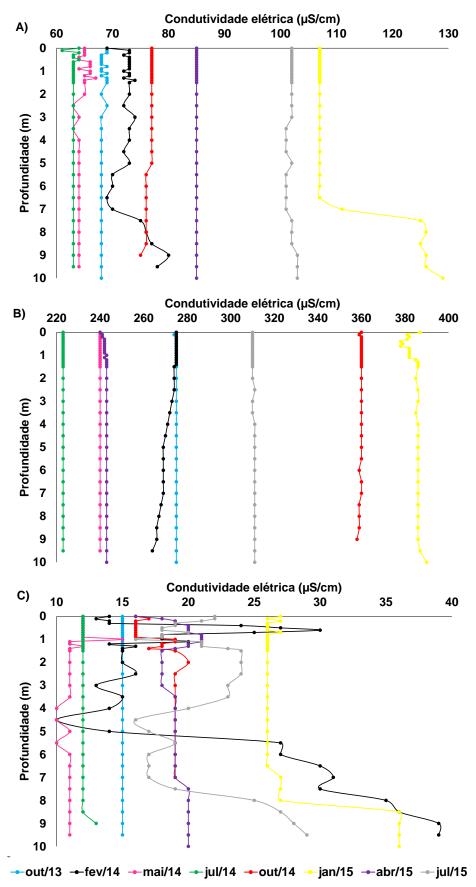


Figura 26. Perfis de condutividade elétrica (μ S/cm) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

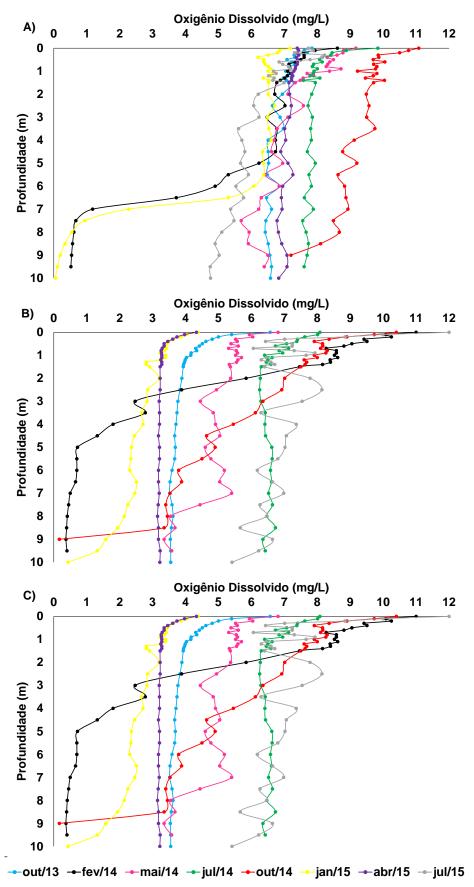


Figura 27. Perfis de oxigênio dissolvido (mg/L) nos reservatórios de Itupararanga (A), Barra Bonita (B) e Lobo (C) durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

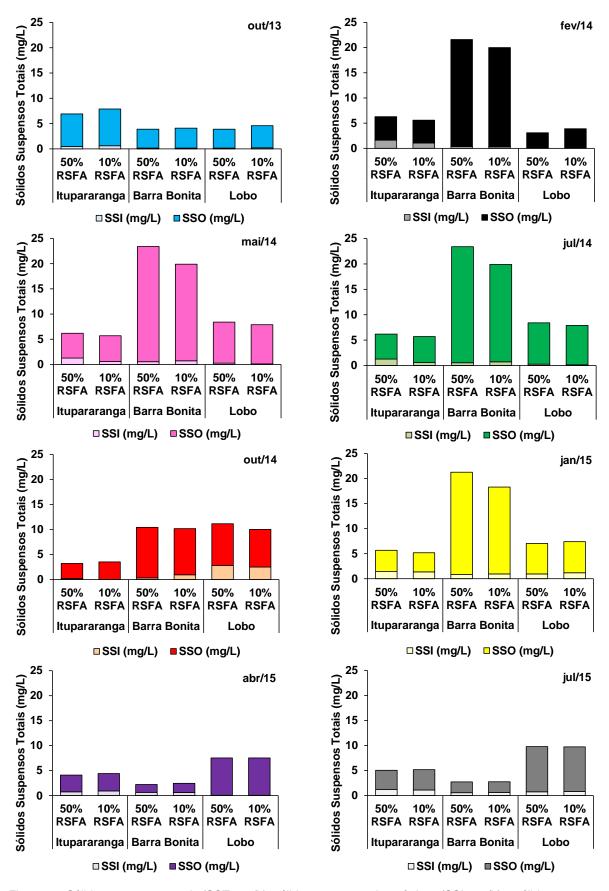


Figura 28. Sólidos suspensos totais (SST, mg/L), sólidos suspensos inorgânicos (SSI, mg/L) e sólidos suspensos orgânicos (SSO, mg/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

5.5.2 Nutrientes e relações molares

As relações molares nitrogênio total : fósforo total (Tabela 15) variaram de 26-564 em Itupararanga, 19-106 em Barra Bonita e 22-249 no Lobo. As maiores relações foram observadas em out/13 e as menores, em fev/14.

	coes moiares de r								
Lobo em duas pr	ofundidades de co	oleta, 50%	RSFAe	10% RSF	A. entre oi	utubro de	2013 e jul	ho de 201	5
_000 0 ааао р.		J. J. La, J. J.		,	.,		_0.00,00		

Reservatório	Profundidade	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15
ltunororongo	50% RSFA	492	50	207	120	173	94	74	118
Itupararanga	10% RSFA	564	27	190	44	87	26	118	54
Barra Bonita	50% RSFA	74	19	69	88	43	34	65	70
Barra Bornia	10% RSFA	106	21	67	78	27	32	56	95
Labo	50% RSFA	236	46	98	32	31	28	60	249
Lobo	10% RSFA	179	22	100	112	49	76	46	78

As concentrações das formas nitrogenadas (Tabela 16), especialmente a amônia (N-NH₃), foram as que apresentaram maiores variações entre as coletas, porém, não houve um padrão entre as profundidades. A N-NH₃ mostrou uma progressiva tendência temporal ao incremento, principalmente na amostragem de jul/14, atingindo 8 mg/L em Itupararanga, 2,4 mg/L em Barra Bonita e 0,8 mg/L no Lobo.

O nitrogênio total Kjeldahl (NTK, μ g/L) variou de 166 (abr/15) a 1.736 (out/13) em Itupararanga, de 257 (fev/14) a 5.930 (out/13) em Barra Bonita, e de 164 (fev/14) a 3.657 (jul/15) no Lobo. As maiores concentrações de nitrito (N-NO₂) foram observadas nas amostragens de out/14, jan/15 e abr/15 em Barra Bonita (210-490 μ g/L), enquanto em Itupararanga e no Lobo foram em set/14 (2,3 μ g/L) e nov/13 (12,5 μ g/L), respectivamente. Concentrações elevadas de nitrato (N-NO₃) foram encontradas em Barra Bonita, nas faixas de 1.500-7.300 μ g/L, com exceção de out/13 (380 μ g/L). Em Itupararanga e no Lobo, as variações de N-NO₃ foram 320-3.000 μ g/L e 210-700 μ g/L, respectivamente.

As concentrações de fósforo total (PT) foram maiores em Barra Bonita, nas faixas de 97-466 µg/L, em comparação com o Lobo (20-68 µg/L) e Itupararanga (12-69 µg/L). O fosfato total dissolvido (P-PTD) de Barra Bonita (75-369 µg/L) foi superior ao Lobo (2-39 µg/L) e Itupararanga (4-29 µg/L). O ortofosfato (P-PO₄) representou máximo de 71% da concentração de PT em jan/15 em Itupararanga, ao passo que nos outros reservatórios essa porcentagem foi de 67% (Barra Bonita - jul/15) e 42% (Lobo - jan/15) (Tabela 16).

Tabela 16. Variáveis abióticas da água nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, entre outubro de 2013 e julho de 2015: nitrogênio total Kjeldahl (NTK, μ g/L), amônia (N-NH₃, μ g/L), nitrito (N-NO₂, μ g/L), nitrato (N-NO₃, μ g/L), fósforo total (PT, μ g/L), fósforo dissolvido total (PDT, μ g/L) e ortofosfato (P-PO₄, μ g/L)

			It	upararan	ga				
Variáveis	RSFA (%)	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	set/14	jan/15	abr/15	jul/15
NITIC (/L)	50	1.736,0	346,7	731,6	941,9	1.698,1	210,2	166,5	1.022,0
NTK (µg/L)	10	1.327,2	191,1	802,6	911,8	1.411,4	286,7	548,7	137,2
N-NH ₃	50	nd	47,4	664,2	6.534,8	224,2	139,8	446,7	31,6
(µg/L)	10	nd	38,4	735,7	8.011,0	111,2	117,2	517,5	73,8
N-NO ₂	50	1,1	0,1	0,5	1,2	2,3	0,6	1,2	0,7
(µg/L)	10	0,8	0,1	0,1	1,1	2,1	1,2	0,8	1,0
N-NO ₃	50	3.000,0	386,7	350,0	450,0	680,0	330,0	370,0	335,0
(µg/L)	10	3.000,0	386,7	390,0	450,0	655,0	350,0	390,0	320,0
PT	50	21,3	32,2	11,6	25,6	30,4	12,8	16,1	25,4
(µg/L)	10	17,0	48,1	13,9	68,8	52,9	54,1	17,6	18,8
P-PTD	50	5,5	5,6	8,4	21,5	19,5	10,3	13,5	11,4
(µg/L)	10	6,9	4,5	8,2	11,3	28,7	10,4	16,7	15,6
P-PO₄	50	1,6	4,6	3,5	4,3	7,3	9,1	7,1	0,7
(µg/L)	10	2,6	3,1	6,6	4,2	7,9	9,5	7,6	0,8
		•	Е	arra Bon	ita				
Variáveis	RSFA (%)	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15
NTK (µg/L)	50	4026,4	406,8	819,0	2.852,1	1.583,4	1.261,3	412,2	417,2
NTK (μg/L)	10	5930,4	256,6	737,1	2.896,5	1719,9	887,3	324,9	470,4
N-NH ₃	50	49,5	136,5	147,1	2.412,6	158,9	950,8	222,8	119,9
(µg/L)	10	44,2	46,8	102,2	2.060,2	142,8	1.199,9	293,3	109,4
$N-NO_2$	50	4,7	13,4	19,4	87,2	211,0	426,5	222,5	3,2
(µg/L)	10	1,8	15,5	20,1	87,6	211,0	488,0	187,0	3,9
$N-NO_3$	50	380,0	1.486,7	3.590,0	3.580,0	7.300,0	4.630,0	3.195,0	2.660,0
(µg/L)	10	380,0	1.516,7	3.655,0	3.690,0	3.600,0	4.660,0	3.305,0	3.920,0
PT	50	131,6	223,2	141,3	164,6	465,9	414,1	131,3	96,9
(µg/L)	10	131,3	186,5	146,5	189,0	454,4	412,4	151,3	103,0
P-PTD	50	95,7	135,6	96,2	94,8	369,1	199,0	117,4	103,1
(µg/L)	10	104,2	74,9	105,6	82,7	349,3	200,5	127,2	100,6
P-PO ₄	50	84,8	13,4	86,9	79,1	63,2	37,0	88,4	27,5
(µg/L)	10	87,3	27,7	95,6	78,7	65,9	72,2	93,3	38,5
				Lobo					
Variáveis	RSFA (%)	nov/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15
NTK (µg/L)	50	1.730,4	242,9	742,6	439,5	491,4	253,9	281,2	3.656,8
ттт (ру/ш/	10	1.276,8	163,8	824,5	2.852,9	911,8	434,1	243,0	1.005,2
N-NH ₃	50	nd	nd	188,9	467,6	29,8	460,2	24,8	163,2
(µg/L)	10	nd	18,2	94,7	885,9	59,1	416,9	32,4	219,1
N-NO ₂	50	11,9	5,1	1,0	3,0	0,3	1,4	1,2	1,1
(µg/L)	10	12,5	2,0	2,2	1,3	1,6	1,4	1,4	0,6
N-NO ₃	50	410,0	413,3	330,0	390,0	210,0	620,0	700,0	595,0
(µg/L)	10	370,0	413,3	370,0	420,0	305,0	365,0	700,0	365,0
PT	50	20,2	31,6	24,3	57,2	49,8	68,4	36,2	37,9
(µg/L)	10	20,5	57,6	26,4	64,8	55,2	23,4	45,9	38,9
P-PTD	50	6,7	2,1	9,4	16,6	14,3	20,3	34,9	16,0
(µg/L)	10	8,4	5,2	9,1	16,0	14,2	12,6	38,9	22,5
P-PO ₄	50	3,7	3,0	6,3	8,1	7,0	10,1	8,7	1,0
(µg/L)	10	2,7	5,6	8,2	6,4	6,5	9,9	8,6	1,3

*nd: não detectado

5.6 Variáveis bióticas da água

5.6.1 Clorofila-a e feofitina

As concentrações de clorofila-a não apresentaram padrão de variação vertical nos três reservatórios (Figura 29). O pigmento feofitina não foi detectado em nenhuma amostra, indicando que a biomassa estava em bom estado fisiológico no momento das coletas.

Em Itupararanga, as concentrações de clorofila-a foram relativamente mais estáveis, entre 18-43 μ g/L, em comparação aos reservatórios Barra Bonita (9-212 μ g/L) e Lobo (14-104 μ g/L). Elevadas concentrações desse pigmento indicam a ocorrência de florações, o que foi visível em Barra Bonita nas amostragens de fev/14, μ g/l/14 e μ g/l/15.

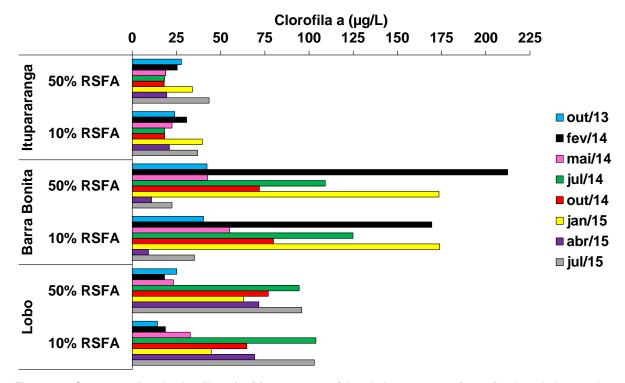


Figura 29. Concentrações de clorofila a (μ g/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

5.6.2 Densidade Fitoplanctônica

Na maior parte das amostragens, as densidades fitoplanctônicas (Figura 30) foram maiores na profundidade de 50% em comparação com 10% RSFA. Em Itupararanga, foram observadas as maiores densidades, com valores próximos de 40.000 ind/mL (fev/14), enquanto em Barra Bonita e no Lobo, a variação foi de 1.800-24.000 ind/mL e 7.700-36.600 ind/mL, respectivamente. Ressalta-se que, frequentemente, foram observadas colônias de *Microcystis aeruginosa* em Barra Bonita, porém, cada colônia foi contada como um organismo, o que justifica as densidades relativamente baixas neste reservatório.

A análise da abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos revelou a dominância de cianobactérias para a maioria das amostragens nos três reservatórios (Figuras 31, 32 e 33).

Em Itupararanga (Figura 31), os grupos fitoplanctônicos predominantes foram Chlorophyceae (51-60%) em out/13, fev/14 e jan/15, e Cyanobacteria (52-93%) nas demais amostragens. Em out/13, por exemplo, as clorofíceas superaram as cianobactérias (55-60% versus 33-24%). Considerando somente as cianobactérias, as espécies preponderantes foram *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Aphanocapsa elachista* (colônias). Aproximadamente 100% de *C. raciborskii* foram observados na amostragem de jul/15, porém, sem heterócitos. Em out/14, a dominância foi da não fixadora *A. elachista* com 65-78%. Foram observados heterócitos na *C. raciborskii* em out/13 (frequência: 17-19%), fev/14 (12-22%), jan/15 (14-9%) e abr/15 (16%). Apenas na amostragem de fev/14 a *Anabaena* sp. apresentou heterócitos (54-75%).

Em Barra Bonita (Figura 32), houve florações intensas em fev/14 e jan/15 chegando a 99% de cianobactérias. Nas demais amostragens, as abundâncias relativas desse grupo atingiram 15-71%. As elevadas porcentagens de cianobactérias relacionaram-se com a espécie *Microcystis aeruginosa* que representou de 96-98% do grupo. Nas demais amostragens, os grupos Chlorophyceae, Cryptophyceae e Dynophyceae também integraram o fitoplâncton, com 29-19%, 58-48% e 55-34%, respectivamente. As cianobactérias mais frequentes, além da *M. aeruginosa*, foram *A. elachista* (colônias), *Phormidium* sp. e *Rhabdoderma* sp. (colônias).

No Lobo (Figura 33), as porcentagens de Cyanobacteria foram preponderantes (56-87%) na maioria das amostragens, apresentando mínimos apenas em jan/15 (45%) e out/13 (29%). Foi observada uma variação sazonal na composição da comunidade fitoplanctônica com progressivo aumento das cianobactérias e diminuição na diversidade de espécies. Houve presença de cianobactérias fixadoras de N₂ como *Aphanizomenon* sp. (89-98%) nos períodos de frio-estiagem, *Anabaena* sp. (2-9%) nos períodos quente-chuvoso e *C. raciborskii* (54-89%) em out/14 e jan/15. Além disso, foram visualizadas colônias de

Aphanocapsa elachista em fev/14 (71-81%). A frequência de heterócitos variou de 11-86% na Aphanizomenon sp., 25-100% na Anabaena sp. e 3-4% na C. raciborskii.

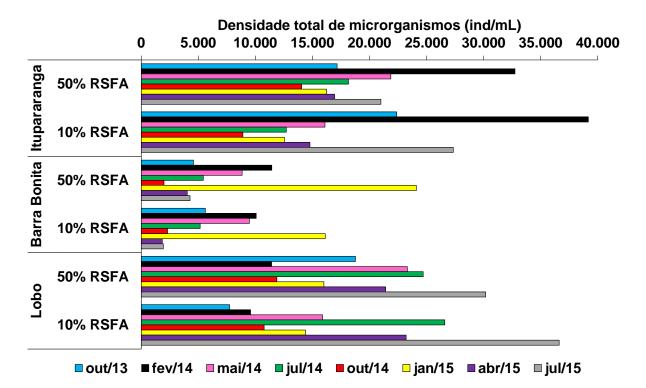
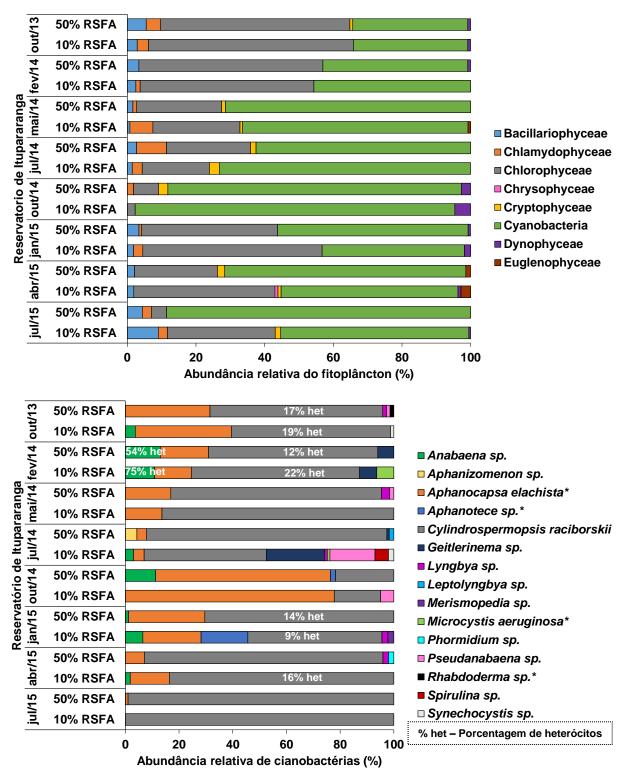
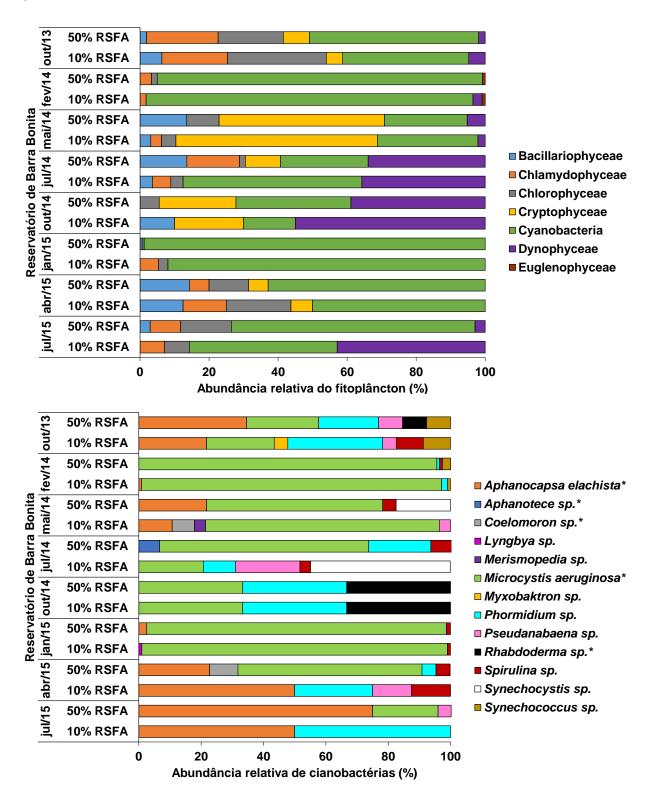


Figura 30. Densidades relativas de microrganismos fitoplanctônicos (ind/mL) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015



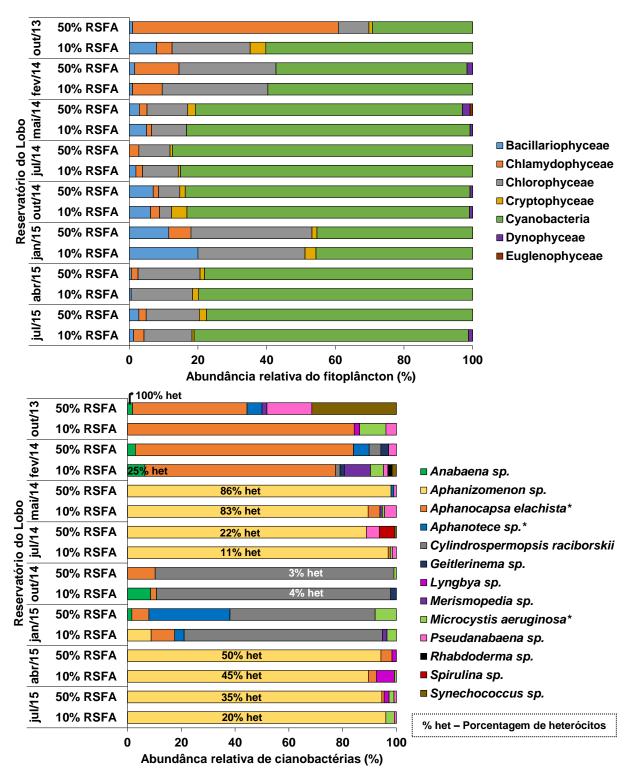
(*) foram observadas colônias da espécie

Figura 31. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Itupararanga, considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015, com destaque para a porcentagem de heterócitos. Não foram observados heterócitos quando não constam suas respectivas porcentagens



(*) foram observadas colônias da espécie

Figura 32. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Barra Bonita, considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015



(*) foram observadas colônias da espécie

Figura 33. Abundâncias relativas (%) das classes de fitoplâncton no reservatório de Lobo, considerando também a abundância de cianobactérias com a porcentagem de espécies, em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre novembro de 2013 e julho de 2015, com destaque para a porcentagem de heterócitos. Não foram observados heterócitos quando não constam suas respectivas porcentagens

5.6.3 Biovolume fitoplanctônico

Os maiores biovolumes foram observados em Barra Bonita em fev/14 e jan/15, chegando a 110 mm³/L, em comparação com o Lobo (17 mm³/L) e Itupararanga (8 mm³/L), ambos em jul/15 (Tabela 17).

Tabela 17. Biovolume total do fitoplâncton (mm³/L) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

Reservatório	Profundidade	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15
Itupororongo	50% RSFA	2,6	6,0	6,2	5,7	3,4	3,4	5,1	8,2
Itupararanga	10% RSFA	3,3	6,8	4,6	4,5	2,0	2,3	4,0	8,5
Barra Bonita	50% RSFA	2,9	53,6	14,3	10,3	7,1	110,1	5,1	2,9
Darra Dornia	10% RSFA	5,9	44,2	21,0	13,2	6,7	94,9	1,0	4,6
Lobo	50% RSFA	2,1	1,6	11,7	10,7	7,5	3,4	12,8	17,4
Lobo	10% RSFA	1,6	0,7	7,8	16,0	5,9	7,0	14,1	17,4

Em Itupararanga (Figura 34), o grupo Cyanobacteria também foi dominante em relação ao biovolume (62-97%), com exceção de out/14 (46%), enquanto em Barra Bonita (Figura 35) houve contribuição de Bacillariophyceae (46%), Dinophyceae (50-57%) e Cyanobacteria (55-100%). No Lobo (Figura 36), foi verificado um aumento de Cyanobacteria no período de coleta, com destaque em abr/15 e jul/15 nas faixas de 87-98% (12-15 mm³/L), pois nas primeiras amostragens (out/13 e fev/14) a participação dos grupos Bacillariophyceae, Chlamydophyceae e Chlophyceae, em termos de biovolume, foi mais significativa.

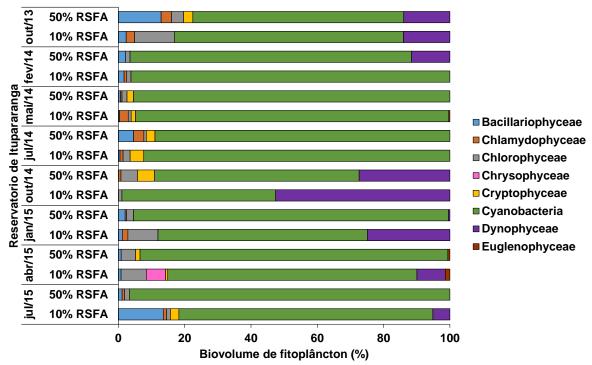


Figura 34. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório de Itupararanga em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

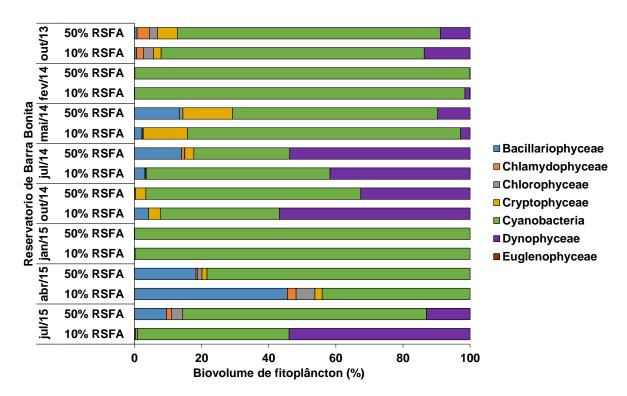


Figura 35. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório de Barra Bonita em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

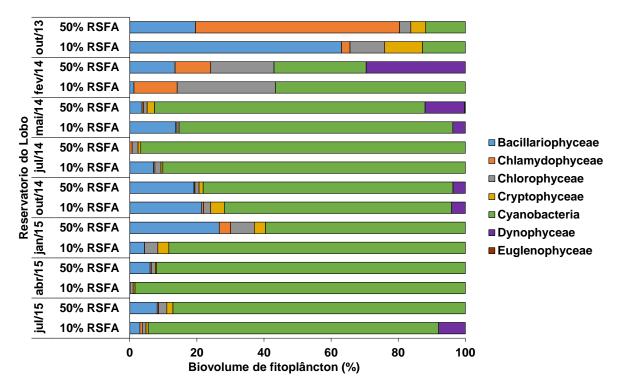


Figura 36. Biovolume do fitoplâncton (%) no reservatório do Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

Considerando apenas o biovolume de cianobactérias no reservatório de Itupararanga (Tabela 18), a *C. raciborskii* chegou a aproximadamente 6-8 mm³/L em mai/14 e jul/15. O biovolume atingiu valores mais elevados na profundidade de 50% em comparação com a de 10% RSFA na maioria das amostragens. Outras cianobactérias fixadoras, *Anabaena* sp. e *Lyngbya* sp., foram detectadas em algumas amostragens com 0,050-0781 e 0,003-0,034 mm³/L, respectivamente.

Tabela 18. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório de Itupararanga em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

	out	1/13	fev	/14	ma	i/14	jul	/14	out	/14	jan	/15	abı	/15	jul	/15
Cyanobacteria	50% RSFA	10% RSFA														
Anabaena sp.		0,119	0,772	0,839				0,119	0,594		0,050	0,149		0,781		
Aphanizomenon sp.					0,079		0,262									
Aphanocapsa elachista*	0,050	0,080	0,075	0,073		0,043	0,012	0,011	0,238	0,193	0,079	0,035	0,025	0,033	0,006	
Aphanotece sp.*									0,007			0,028				
Cylindrospermopsis raciborskii	1,607	2,078	4,092	5,272	5,761	4,292	4,779	1,992	1,245	0,674	3,085	1,245	3,931	2,229	7,901	6,527
Geitlerinema sp.			0,166	0,228			0,020	0,405								
Lyngbya sp.	0,005				0,034			0,006				0,008	0,003			
Leptolyngbya sp.							0,014									
Merismopedia sp.												0,003				
Microcystis aeruginosa*				0,159				1,437								
Phormidium sp.													0,774			
Pseudanabaena sp.	0,007				0,024			0,157		0,041						
Rhabdoderma sp.*	0,002															
Spirulina sp.								0,013								
Synechocystis sp.		0,003						0,006								

^(*) foram observadas colônias da espécie

O biovolume de cianobactérias em Barra Bonita (Tabela 19) indicou a dominância de *M. aeruginosa* em todas as amostragens, com exceção da profundidade de 10% RSFA em abr/15 e jul/15. A floração mais evidente foi detectada em jan/15, atingindo a 110 mm³/L. De modo geral, não houve padrão significativo entre as profundidades. O gênero *Phormidium* também foi relevante, pois foi observado em praticamente todas as coletas nas faixas de 0,220-3,120 mm³/L.

Tabela 19. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório de Barra Bonita em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

	out	:/13	fev	/14	ma	i/14	jul	/14	out	:/14	jan/	/15	abı	r/15	jul	/15
Cyanobacteria	50% RSFA	10% RSFA														
Aphanocapsa elachista*	0,023	0,013		0,003	0,014	0,009					0,018		0,000	0,000	0,068	0,012
Aphanotece sp.*							0,003									
Coelomoron sp.*						0,010							0,001			
Lyngbya sp.												0,011				
Merismopedia sp.						0,003										
Microcystis aeruginosa*	0,073	1,441	53,007	42,634	8,713	17,076	1,553	5,774	3,449	1,796	110,041	94,724	3,736		2,030	
Myxobaktron sp.		0,009														
Phormidium sp.	2,159	3,120	0,477	0,892			1,382	1,382	1,106	0,576			0,220	0,440		2,073
Pseudanabaena sp.	0,017	0,009				0,010		0,055						0,000	0,013	
Rhabdoderma sp.*	0,005								0,007	0,003						
Spirulina sp.		0,005	0,003		0,003		0,003	0,003			0,009	0,004	0,003	0,000		
Synechocystis sp.					0,011			0,036								
Synechococcus sp.	0,005	0,005	0,009	0,003												

^(*) foram observadas colônias da espécie

No Lobo, intensas florações da fixadora de N₂ *Aphanizomenon* sp. (6,237-14,909 mm³/L) nos períodos de estiagem-frio foram comprovadas pelo elevado biovolume. Foram identificadas outras cianobactérias: *A. elachista* (0,001-0,155 mm³/L), *M. aeruginosa* (0,016-3,593 mm³/L), *Pseudanabaena* sp. (0,009-0,104 mm³/L) e *Lyngbya* sp. (0,006-0,042 mm³/L). De modo geral, não foi observado padrão entre o biovolume e as profundidades (Tabela 20).

Tabela 20. Biovolume de cianobactérias (mm³/L) no reservatório do Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

	out	:/13	fev	/14	ma	i/14	jul	/14	out	:/14	jan	/15	abı	·/15	jul	/15
Cyanobacteria	50% RSFA	10% RSFA														
Anabaena sp.	0,041		0,079	0,158					0,328		0,050					
Aphanizomenon sp.					9,448	6,237	10,182	11,649				0,306	11,799	12,420	11,747	14,909
Aphanocapsa elachista*	0,066	0,119	0,155	0,122				0,005	0,006	0,030	0,014	0,017	0,001	0,000	0,006	
Aphanotece sp.*	0,009		0,011		0,005	0,017					0,066	0,007				
Cylindrospermopsis raciborskii			0,130	0,043					3,628	4,114	1,840	2,273				
Geitlerinema sp.			0,037	0,018					0,038							
Lyngbya sp.		0,006											0,013	0,042	0,030	
Merismopedia sp.	0,003			0,017		0,003						0,003				
Microcystis aeruginosa*		0,064		0,039		0,016		2,695		1,437	0,081	3,593		1,382	3,346	0,129
Pseudanabaena sp.	0,086	0,018	0,018	0,009	0,017	0,058	0,104	0,035							0,021	0,023
Rhabdoderma sp.*				0,003												
Spirulina sp.							0,034									
Synechococcus sp.	0,049			0,003			0,005									

^(*) foram observadas colônias da espécie

5.7 Índice de Estado Trófico

Não houve variação significativa no Índice de Estado Trófico (IET) para as profundidades a 50% RSFA e 10% RSFA. Portanto, realizou-se uma média destes valores, segundo a Tabela 21.

Segundo as ponderações de IET propostas por Lamparelli (2004), Itupararanga foi classificado como eutrófico, atingindo a supereutrofia na maioria das amostragens. O Lobo esteve supereutrófico-hipereutrófico e Barra Bonita apresentou hipereutrofia em todas as coletas. De acordo com o IETrs (CUNHA; CALIJURI; LAMPARELLI, 2013), os reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo foram classificados como eutrófico, hipereutrófico e supereutrófico, respectivamente.

Tabela 21. Índice de Estado Trófico (IET) nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, segundo Lamparelli (2004) e Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013) entre outubro de 2013 e julho de 2015

Índice de	Estado Trófico	out/13	fev/14	mai/14	jul/14	out/14	jan/15	abr/15	jul/15			
	Lamparelli (2004)	63	66	62	65	65	65	62	65			
Itupararanga	Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013)		57									
	Lamparelli (2004)	70	76	71	74	76	77	67	69			
Barra Bonita	Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013)	62										
	Lamparelli (2004)	63	65	64	70	69	67	68	69			
Lobo	Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013)				5	9						

Ponderação para o IET segundo Lamparelli (2004): [ultraoligotrófico]: IET \leq 47; [oligotrófico]: 47 \leq IET \leq 52; [mesotrófico]: 52 \leq IET \leq 59; [eutrófico]: 59 \leq IET \leq 63; [supereutrófico]: 63 \leq IET \leq 67; [hipereutrófico]: IET > 67. Ponderação para o IETrs segundo Cunha, Calijuri e Lamparelli (2013): [ultraoligotrófico]: IET \leq 51,1; [oligotrófico]: 51,2 \leq IET \leq 53,1; [mesotrófico]: 53,2 \leq IET \leq 55,7; [eutrófico]: 55,8 \leq IET \leq 58,1; [supereutrófico]: 58,2 \leq IET \leq 59; [hipereutrófico]: IET > 59,1.

5.8 Fixação Biológica de Nitrogênio

O método da redução do acetileno (método indireto, Figura 37) mostrou-se pouco sensível para a quantificação das taxas de fixação biológica de nitrogênio. Por meio deste método, a fixação, quando detectada, foi cerca de 10 vezes inferior em comparação com a metodologia do traçador isótopo $^{15}N_2$. Houve um problema no cromatógrafo na primeira análise de out/13. Neste método, as maiores taxas de fixação foram observadas em jan/15 (1,8 μ g/L.h em Itupararanga e 0,9 μ g/L.h no Lobo). Em Barra Bonita, as taxas de fixação foram sempre inferiores a 0,3 μ g/L.h.

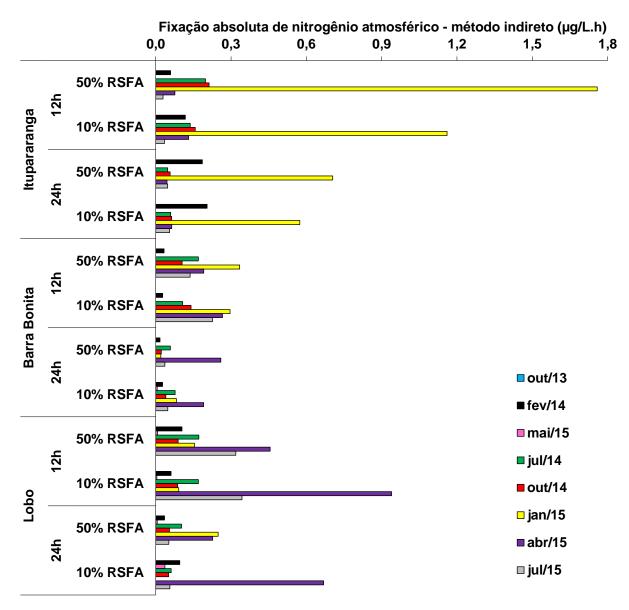


Figura 37. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico (μg/L.h) pelo método indireto redução do acetileno nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, em 12 e 24h, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

Considerando o método direto pelo traçador ¹⁵N₂ (Figura 38), as maiores taxas de fixação foram detectadas no Lobo, principalmente em mai/14 e abr/15, atingindo quase 1,0 μg/L.h. Em Itupararanga, foi detectada a fixação de N₂ apenas nas duas primeiras coletas (out/13 e fev/14), nas faixas de 0,05-0,20 μg/L.h. Já em Barra Bonita, não houve taxas significativas visto que a cianobactéria *M. aeruginosa* predominante nessa represa não é fixadora, com exceção de outubro de 2014, com taxas entre 0,003-0,020 μg/L.h.

Para a construção dos gráficos da fixação diurna e noturna (Figura 39), foi considerada a concentração de nitrogênio fixado durante o dia (12h) e a noite (24h), multiplicando a taxa de fixação (μg/L.h) pelo tempo (h).

Não houve padrão único para os reservatórios considerando as porcentagens de fixação de N_2 diurna e noturna (Figura 39), provavelmente, pela dependência da composição da comunidade fitoplanctônica e habilidade das cianobactérias em realizar tal processo. No reservatório de Itupararanga, em fev/14, houve maior fixação diurna na profundidade de 50% RSFA e noturna na profundidade de 10% RSFA. No Lobo, em mai/15, o total de N_2 fixado na profundidade de 10% RSFA ocorreu no período diurno com dominância de *Aphanizomenon* sp.. Ainda nesse reservatório, na amostragem de abr/15, 9-39% do N_2 fixado esteve no período noturno, provavelmente pela presença da cianobactéria *Lyngbya* sp. que fixa N_2 somente nesse período.

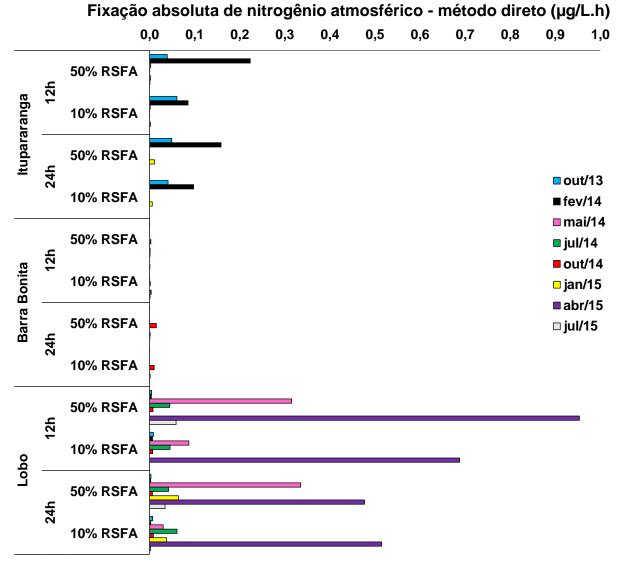


Figura 38. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico (μ g/L.h) pelo método direto com o traçador isótopo 15 N₂ nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, em 12 e 24h, durante as oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015

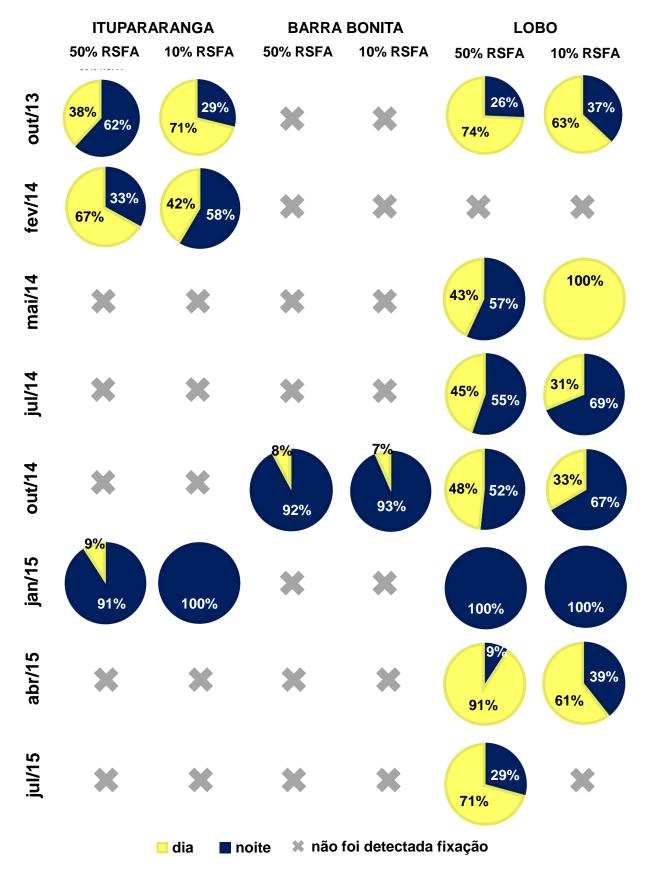


Figura 39. Porcentagem das concentrações de nitrogênio atmosférico fixado biologicamente (%) pelo método direto com o traçador isótopo $^{15}N_2$ nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo em duas profundidades de coleta, 50% RSFA e 10% RSFA, durante o dia e durante a noite, em oito coletas realizadas entre outubro de 2013 e julho de 2015. As áreas amarelas indicam o período diurno, as áreas azuis o período noturno, e o símbolo "x" que não foi detectada fixação de N_2 .

6. DISCUSSÃO

Reservatórios são ecossistemas aquáticos com características físico-químicas e biológicas reguladas por variáveis climatológicas e hidrológicas (THORNTON; KIMMEL; PAYNE, 1990). Os sistemas estudados foram construídos para geração de energia e o acúmulo dos usos múltiplos, juntamente com o crescimento populacional e a expansão agrícola, ocasionaram a degradação na qualidade da água.

As variáveis climatológicas e hidrológicas foram relativamente atípicas durante os períodos de amostragem (out/13 a jul/15), o que resultou, em geral, na redução da vazão média efluente e aumento do TDH teórico em função da estiagem mais severa. Esses fatores podem ter modificado os ciclos de nutrientes e a comunidade fitoplanctônica nos reservatórios, pois ambientes eutrofizados com elevados TDH e abundância de nutrientes são propícios para o desenvolvimento do fitoplâncton, especialmente das cianobactérias (CARVALHO et al., 2011; BURFORD et al., 2007).

Os TDH elevados podem favorecer cianobactérias fixadoras pelo seu crescimento ser mais lento, pois em ambientes de turbulência ("flushing": coluna d' água misturada) elas estariam em desvantagem (BURFORD et al., 2007; JÖHNK et al., 2008). O reservatório de Itupararanga apresentou um maior TDH (de 6 a 15 meses), enquanto o Lobo de 2 a 6 meses. Já Barra Bonita manifestou TDH inferior visto que sua vazão é elevada, o que pode ter influenciado as baixas taxas de fixação e desenvolvimento de cianobactérias não fixadoras, como a colonização por *Microcystis aeruginosa*, pois menores valores de TDH podem intervir de forma negativa na comunidade fitoplanctônica (RANGEL et. al. 2012). Dessa forma, o TDH pode intensificar os processos de florações e suas durações, pois quanto maior o TDH, maior é a retenção de nutrientes e de fitoplâncton, pois a água é renovada mais lentamente.

Diversos fatores como a disponibilidade de luz (HENRY et al., 2006; CUNHA; CALIJURI, 2011), o TDH, a temperatura e transparência da água (MCCARTHY et al., 2009), períodos de estratificação e de mistura da coluna de água (CALIJURI; DOS SANTOS; JATI, 2002), herbivoria (CHISLOCK; SHARP; WILSON; 2014), percentual de cobertura florestal da bacia (BURFORD et al., 2007), podem regular a comunidade fitoplanctônica em sistemas intermediários. Além disso, a profundidade pode afetar a distribuição de nutrientes na coluna d'água (FORBES et al., 2008), e o aumento do fósforo podem estimular o crescimento do fitoplâncton e o incremento das condições tróficas (NOGUEIRA et al., 2010), o que influenciará na densidade e biovolume de fitoplâncton.

Não foi observada relação entre biovolume de fitoplâncton e a estação chuvosa em todos os reservatórios, somente em Barra Bonita, principalmente em fev/14 e jan/15 pelas

densas florações de *M. aeruginosa*. Meesukko et al. (2007) também associaram o maior biovolume (78%) dessa cianobactéria tóxica ao período chuvoso, juntamente com a elevação nas concentrações de clorofila, matéria orgânica e nutrientes.

A direção e velocidade dos ventos podem interferir na comunidade fitoplanctônica e na ocorrência de floração de cianobactérias (FIGUEREDO; GIANI, 2009). As mudanças bruscas na direção dos ventos podem gerar mudanças repentinas e intensas na coluna d'água, e menores intensidades ou ausência de ventos podem facilitar a estratificação térmica ou química da água. As maiores mudanças na direção dos ventos foram observadas no reservatório do Lobo, provavelmente pelas características morfológicas: tamanho, profundidade e não-dendrítico. Esse reservatório ainda apresentou mistura completa na maioria das amostragens e, ainda assim, florações de cianobactérias.

As concentrações de oxigênio dissolvido superiores a saturação podem caracterizar elevada atividade fotossintética, o que ocorreu principalmente na amostragem de out/14. Quanto maior a fotossíntese, mais baixas podem ser as concentrações de nutrientes dissolvidos, pois maior é a assimilação de formas nitrogenadas pelo fitoplâncton (YE; CAI, 2011).

Ao longo do período, os valores de IET mostraram pouca variação nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, nas faixas de 62-66, 67-77, 63-70, respectivamente. Segundo Lamparelli (2004), Itupararanga foi classificado como eutrófico e supereutrófico em todas as coletas, enquanto Barra Bonita esteve sempre hipereutrófico. O Lobo apresentou um aumento progressivo no IET, com supereutrofia em out/13, fev/14 e mai/14, e hipereutrofia nas amostragens seguintes. Os IETrs (CUNHA; CALIJURI; LAMPARELLI, 2013) atingiram valores inferiores, por considerar a média geométrica dos dados, o que ameniza eventos pontuais de concentrações de fósforo ou clorofila e não superestima condições de enriquecimento.

Todas as relações NT:PT foram superiores a 16 (REDFIELD, 1958), o que indica limitação por fósforo. Uma possível explicação para isso é que a reciclagem do fósforo pode ser mais rápida que a do nitrogênio (NÕGES et al., 2008). Considerando os critérios de Guildford e Hecky (2000), apenas em fev/14 houve co-limitação em todos os reservatórios, com exceção da profundidade de 50% RSFA em Barra Bonita, na qual houve indicação de limitação por nitrogênio.

As frações de nutrientes dissolvidos resultaram ainda maiores que as relações com nutrientes totais, o que reforçou a probabilidade de limitação por fósforo. Ainda com relação aos nutrientes, percebe-se que as cianobactérias não fixadoras podem ser desfavorecidas na ausência de nitrogênio e as cianobactérias potencialmente fixadoras de N₂ são favorecidas em condições de limitação por nitrogênio (TÕNNO; NÕGES, 2003). No entanto, os resultados dessa pesquisa não indicaram relação significativa com a fixação biológica de

nitrogênio, pois houve limitação por fósforo em todos os reservatórios estudados e dominância de cianobactérias fixadoras em Itupararanga e Lobo. Portanto, a relação N:P nesses reservatórios pode não conduzir a essa dominância, impedindo suposições sobre a limitação de nutrientes dos sistemas aquáticos e as cianobactérias (BRYHN; BLENCKNER, 2007; DOLMAN et al., 2012; LV; WU; CHEN, 2011), ou seja, havia excesso de nitrogênio e mesmo assim ocorreu a fixação de N₂. Dessa forma, as cianobactérias fixadoras não se tornam dominantes apenas quando as concentrações de nitrogênio são baixas, mas podem ser controladas por vários fatores, como a disponibilidade de fósforo e radiação solar (MARCARELLI; BAKER; WURTSBAUGH, 2008).

Uma variação significativa entre as profundidades de estudo, 50% RSFA e 10% RSFA, foi observada somente para a própria RSFA e não para outras variáveis, pois o perfil de radiação foi influenciado pelas condições climáticas no local de coleta e a turbidez biogênica oriunda da densidade da comunidade fitoplanctônica.

Apesar das concentrações de nutrientes, em geral, serem maiores em Barra Bonita em relação à Itupararanga e Lobo, os dois últimos reservatórios mostram uma tendência temporal ao aumento nas concentrações de nutrientes no decorrer das coletas, o que aponta uma deterioração da qualidade da água. Além disso, a elevada concentração de N-NH₃ pode estar associada a decomposição da biomassa fitoplanctônica nos reservatórios.

As cianobactérias podem trazer implicações ecológicas e eventuais riscos à saúde pública pela produção de cianotoxinas. Houve predominância desse grupo na comunidade fitoplanctônica dos três reservatórios, com representantes típicos: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa* e *Aphanizomenon* sp., para Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, respectivamente. A *Aphanizomenon* sp. é integrante do códon H1 (abundante em reservatórios rasos com elevada zona eufótica), enquanto a *M. aeruginosa* faz parte do códon M (reservatórios profundos com elevada disponibilidade de nutrientes) e *C. raciborskii* pertencente ao códon S_N (sistemas quentes e rasos com mistura térmica, capazes de tolerar baixa luminosidade e baixas concentrações de nitrogênio) (DANTAS; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOURA, 2012; REYNOLDS et al., 2002).

Mowe et al. (2014) concluíram que as florações de *Cylindrospermopsis* sp. estão mais concentradas no período seco e temperaturas mais elevadas, ao contrário da *Microcystis* sp., que é favorecida pela estação chuvosa. A *M. aeruginosa* está associada a baixa relação N:P, enquanto *Aphanizomenon* sp., a elevada N:P (BEVERSDORF; MILLER; MCMAHON, 2013), o que confirma o que foi observado em Barra Bonita e no Lobo, respectivamente.

Mesmo que, com base nas relações N:P, o nitrogênio não pareça ser limitante nos reservatórios estudados, os resultados desta pesquisa mostraram taxas significativas de fixação de N_2 nos reservatórios de Itupararanga e no Lobo, variando conforme a

amostragem e a estrutura da comunidade fitoplanctônica de cada um. Por exemplo, as maiores taxas de fixação registradas foram relacionadas à dominância de *Aphanizomenon* sp. no Lobo, o qual atingiu aproximadamente 50% de heterócitos e 95% de abundância relativa. Isso demostra que cada espécie possui suas singularidades no processo de fixação, como a preferência e assimilação de determinada forma nitrogenada e fases de desenvolvimento próprias. Por exemplo, a fixação geralmente é superior nas fases iniciais das florações, enquanto nas finais há disponibilidade de nitrogênio proveniente do processo de decomposição destas (OHLENDIECK; STUHR; SIEGMUND, 2000). Portanto, isso impede interpretações gerais em uma pesquisa realizada *in situ*, pois as taxas de fixação de N₂ por espécies isoladas (em laboratório) são provavelmente muito diferentes das taxas obtidas em amostras ambientais, em que coexistem diferentes espécies em diferentes estágios de desenvolvimento.

Para a maioria dos casos, quando a fixação ocorreu, ela foi superior na condição de maior disponibilidade de luz, ou seja, a 50% da RSFA. Os resultados indicaram uma relação positiva entre a fixação biológica de N₂ e a estrutura da comunidade fitoplanctônica, pois a ocorrência de fixação coincidiu com a composição da comunidade fitoplanctônica por cianobactérias e, em especial, com a maior frequência de heterócitos nas espécies fixadoras. Por exemplo, em mai/14, no Lobo, a frequência de heterócitos em indivíduos do gênero *Aphanizomenon* sp. foi de cerca de 85% e em abr/15 foi de 50%. Em fev/2014, em Itupararanga, a respectiva frequência variou entre 22-24% para *C. raciborskii* e entre 54-75% para *Anabaena* sp. Em todos esses casos, houve fixação e as taxas variaram entre 0,022-0,954 µg/L.h.

As taxas de fixação dessa pesquisa podem ser comparadas a outros estudos (Tabela 22), como de um lago eutrófico nos EUA que apresentou domínio de *Aphanizomenon* sp. e excesso de nutrientes dissolvidos (BEVERSDORF; MILLER; MCMAHON, 2013). A taxa máxima de fixação de N_2 observada no Lobo (abr/15) foi similar à deste estudo, inclusive pela floração da própria cianobactéria e a elevada disponibilidade de nutrientes. Isso implica que havia nutrientes dissolvidos para serem assimilados e, mesmo assim, a *Aphanizomenon* sp. fixou N_2 .

Scott et al. (2009) realizaram um estudo em três reservatórios nos EUA e detectaram uma taxa máxima de fixação de N_2 de 0,35 μ gN/L.h, a qual pode ser comparada aos resultados obtidos, em fev/14, no reservatório de Itupararanga. Nessa amostragem, o processo de fixação de N_2 ocorreu quando as concentrações de clorofila foram baixas e as temperaturas foram elevadas, idem ao estudo desses autores.

De acordo com a Tabela 22, é possível compreender a dificuldade na comparação dos estudos já realizados pois nem todos consideraram a comunidade fitoplanctônica e as mesmas unidades nas taxas de fixação de N₂. Além disso, a maioria dos estudos utilizou a

metodologia indireta do acetileno, que possui menor confiabilidade de acordo com o obtido na presente pesquisa e cujos resultados podem variar de acordo com o fator de conversão $(C_2H_4 \rightarrow N_2)$ adotado.

Tabela 22. Faixas de fixação de nitrogênio pelo fitoplâncton em diversos estudos no mundo, indicando a metodologia utilizada, as faixas descritas e algumas informações complementares

LOCAL	ANO	METODOLOGIA	FAIXAS DE FIXAÇÃO	AUTORES	INFORMAÇÕES ADICIONAIS
Lago (centro da Flórida, EUA)	1982 1984	Acetileno	0,00027 μgN/L.h	Dierberg; Scheinkman (1987)	94% do total de N fixado no lago foi encontrado na coluna de água e associado a <i>Anabaena</i> sp.
Lago Victoria (Uganda, África)	1994 1998	Acetileno	0,50 µgN/L.h	Mugidde et al. (2003)	A fixação elevou-se com o aumento na disponibilidade de luz, e as taxas máximas ocorreram quando o lago estava termicamente estratificado.
Mar Báltico	1995 1996	Traçador isótopo	0,00011 μgN/L.h	Ohlendieck, Stuhr e Siegmund (2000)	Domínio de cianobactérias como <i>Aphanizomenon</i> sp. e <i>Nodularia</i> sp.
Lago (Estônia)	2000	Acetileno	0,034-0,109 µgN/L.h	Tõnno e Nõges (2003)	Eles testaram a influência de condições de enriquecimento de P para a fixação de N₂ e concluíram que após a assimilação de P-PO₄, há uma elevação no desenvolvimento de heterócitos. Porém, o fósforo a partir de 200 μg/L inibiu o processo de fixação.
Lago eutrófico (Burlington, EUA)	2004	Acetileno com calibração de ¹⁵ N ₂	269,36 μgN/L.h (máximo)	Ferber et al. (2004)	Limitação por N. Dominância de cianobactérias com formação de escumas na superfície para competir com outros organismos. Frequência de heterócito menor que 3 por 100 células sugeriu baixa dependência para a fixação.
Lago (Hungria)	2009	Traçador isótopo	170 tonN durante julho e agosto para 21 km² de área	Horváth et al. (2013)	Domínio de cianobactérias (Cylindrospermopsis raciborskii, Aphanizomenon sp. e Anabaena sp.) com N:P 2,5-11,5.
Três reservatórios (Texas, EUA)	2009	Acetileno	0,35 μgN/L.h (máximo)	Scott et al. (2009)	Fixação foi dependente da luz, mas não coincidiu com as elevadas concentrações de clorofila. A fixação foi mais significativa no reservatório de profundidade e TDH inferiores.
Lago eutrófico (Wisconsin, EUA)	2010 2011	Acetileno	0,60-0,90 μgN/L.h	Beversdorf, Miller e McMahon (2013)	Domínio alternado de Aphanizomenon e Microcystis. Excesso de nitrato e amônia.

A metodologia do traçador isótopo ¹⁵N₂ é direta por medir o ¹⁵N₂ fixado que é incorporado na biomassa do frasco após a filtração, enquanto a redução do acetileno possui limitações como a dificuldade para retirada da amostra de gás no frasco de incubação que pode necessitar de uma câmara de expansão, além da exigência de um fator de conversão para transformação do etileno em nitrogênio (MONTOYA et al., 1996). Porém, o método do ¹⁵N₂ pode subestimar as taxas de fixação de N₂ quando o marcador é injetado como uma bolha de gás, pois ele não atinge um equilíbrio com a água (MOHR et al., 2010), além de ser de maior custo.

Não parece possível prever a fixação de N₂ somente pela composição de espécies do fitoplâncton e da frequência de heterócitos, pois outros fatores como temperatura e disponibilidade de micronutrientes precisam ser considerados (TÕNNO; NÕGES, 2003). Os estudos de Bryhn e Blenckner (2007) sugerem que o processo de fixação biológica deva ser incluído em modelos de eutrofização nos sistemas aquáticos. Assim, os modelos serão mais realistas e darão importância para a comunidade fitoplanctônica, bem como para o monitoramento dos ambientes. Como os reservatórios estudados foram considerados distintos estatisticamente de acordo com as variáveis avaliadas (abióticas, bióticas e fixação de N₂), eles serão analisados separadamente. Por exemplo, a fixação biológica de nitrogênio pode ser considerada intermediária, não-detectada e elevada nos reservatórios de Itupararanga, Barra Bonita e Lobo, respectivamente.

6.1 Reservatório de Itupararanga

Cunha (2012) classificou o reservatório como eutrófico na região lacustre, porém, Taniwaki et al. (2013) identificaram supereutrofia e relacionaram essas condições às elevadas concentrações de nutrientes oriundas dos afluentes do rio Tietê. No reservatório de Itupararanga, as relações NT:PT foram elevadas e houve dominância da cianobactéria fixadora *Cylindrospermopsis raciborskii* com heterócitos em algumas amostragens, mas a fixação não chegou a taxas elevadas como no reservatório do Lobo.

As maiores concentrações de amônia foram observadas neste reservatório em jul/14 para ambas as profundidades, o que pode estar associado à decomposição da biomassa de cianobactérias das amostragens anteriores. Isso também foi observado por Gomes (2011) na lagoa de Jacarepaguá (Rio de Janeiro/RJ) após o colapso de uma floração de *Cylindrospermopsis raciborskii* que resultou na liberação de nitrogênio para a água.

A cianobactéria dominante na maioria das amostragens, *C. raciborskii*, é capaz de produzir toxinas prejudiciais à saúde. Esta espécie pode dispor de heterócitos e acinetos, desenvolvendo-se principalmente sob elevadas temperaturas, em períodos de baixa

pluviosidade, com vento moderado, coluna d'água estratificada, pH elevado e disponibilidade de matéria orgânica (BOUVY et al., 2006; BRIAND et al., 2004; MCGREGOR; FABBRO, 2000; SAKER; GRIFFITHS, 2001; TUCCI; SANT'ANNA, 2003) e nutrientes (BERGER et al., 2006; BRIAND et al., 2002; DE SOUZA; CARVALHO; TRUZZI, 1998; GOPHEN et al., 1999). Suas principais vantagens competitivas estão associadas à resistência a herbivoria, transporte na coluna de água buscando melhores condições de luz, e ao acúmulo de fosfato que pode permitir seu crescimento em períodos de limitação de nutrientes (BOUVY et al., 2000). Segundo Padisák (1997), a dominância de *C. raciborskii* está diretamente relacionada com sua adaptabilidade metabólica, pois a espécie pode crescer mesmo em períodos em que os nutrientes tenham sido consumidos por outros organismos.

A fixação esteve negativamente relacionada com a amônia, o que pode estar associado com a assimilação de nutrientes pelas cianobactérias que prevaleceram em quase todas as amostragens, *C. raciborskii* e *Anabaena* sp., pois elas fixaram quando houve menos amônio disponível. Essas espécies possuem alta afinidade com amônio, que é uma forma energeticamente mais acessível de nitrogênio, e na carência desse nutrientes, elas podem fixar o nitrogênio atmosférico (BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; SHEHAWY; KLEINER, 1999; SPRÕBER et al., 2003). Isso pode ser confirmado pela amônia não detectada em out/13 e as baixas concentrações em fev/14, justamente nas amostragens em que houve fixação.

Em out/13, a maior porcentagem de fixação noturna está provavelmente associada ao biovolume de *Lyngbya* sp., cianobactéria que restringe a fixação para esse período de ausência de luz. Já em fev/14, a dominância esteve associada a espécies que fixam durante o dia e durante a noite (*C. raciborskii* e *Anabaena* sp.), porém, houve uma tendência de fixação no período diurno na profundidade correspondente a 50% RSFA em comparação com a profundidade de 10% RSFA, onde foi observada também a menor relação N:P (Tabela 15). Plominsky et al. (2013) constataram que a maior atividade da nitrogenase nos heterócitos da *C. raciborskii* ocorre no período diurno.

Ainda na amostragem de fev/14, em que *Anabaena* sp. apresentou maior frequência de heterócitos (54-75%), houve menores concentrações de nitrogênio (Tabela 16). Portanto, o déficit de nitrogênio pode ter favorecido a fixação nessa coleta. Nas demais amostragens, praticamente não houve taxa de fixação detectável, sugerindo que o excesso de nitrogênio disponível (em especial na forma de amônia) foi suficiente para a comunidade fitoplanctônica.

O gênero *Anabaena* é bastante comum nos reservatórios brasileiros (SOTERO-SANTOS et al., 2008) e pode desenvolver heterócitos, produzir toxinas e fixar N₂. Suas florações estão associadas fortemente ao verão pelas temperaturas elevadas e a

estratificação térmica (WOOD et al., 2010). A *Anabaena variabilis* fixa N₂ durante o dia em seus heterócitos de forma aeróbia e a noite nas células vegetativas anaerobiamente. Dessa forma, há evidências de que a nitrogenase está presente também nas células vegetativas (OMOREGIE et al., 2004). Isso reforça a habilidade da *Anabaena* sp. realizar o processo de fixação, pois nas amostragens de out/13 e fev/14, que apresentaram as maiores taxas de fixação, os heterócitos estavam presentes apenas em fev/14.

Houve presença de heterócitos em ambas espécies, *Anabaena* sp. e *C. raciborskii*. Porém, a fixação foi relacionada positivamente com a porcentagem de *Anabaena sp* e de heterócitos nessa espécie, de acordo com a Correlação de Spearman, o que não ocorreu com a *C. raciborskii* por nem sempre ela estar provida de heterócito.

Kenesi et al. (2009) testaram a hipótese de amônia e nitrato afetarem o crescimento, a composição celular e a fixação de N₂ na espécie *C. raciborskii*, em condições de limitação por fósforo. Os autores concluíram que essa espécie pode assimilar formas reduzidas de nitrogênio, especialmente nas camadas mais superficiais dos corpos d'água, mesmo em condições de limitação de fósforo (200 μg/L PO₄). E ainda, que essa competição por nitrogênio dissolvido inibiu a fixação de N₂, a formação de heterócitos e a demanda de fósforo pela *C. raciborskii*. Dessa forma, somente a redução de fósforo pode não ser eficaz para o controle desta cianobactéria (CHISLOCK; SHARP; WILSON; 2014).

Burford e Davis (2011) inferiram que a *C. raciborskii* é predominante por não exigir condição ótima de luz, ter boa tolerância à variação de temperatura e armazenar fosfato, o que confirma o que foi sugerido pelas correlações estatísticas obtidas em Itupararanga. Estas indicaram que a fixação esteve positivamente relacionada com a temperatura e negativamente relacionada com a radiação solar fotossinteticamente ativa e o fosfato total dissolvido. Wu, Shi, Li (2009) concluíram que a tolerância da *C. raciborskii* a baixa luminosidade aumenta a sua dominância nos sistemas aquáticos.

As menores concentrações de clorofila de Itupararanga podem estar vinculadas à dominância da *C. raciborskii* (VARGAS, 2012). Casali (2014) também indicou a predominância dessa espécie principalmente no período seco, e a ausência de limitação por nitrogênio na comunidade fitoplanctônica no período estudado. A média da densidade fitoplanctônica no reservatório de Itupararanga observada por Casali (2014) foi de 41.860 ind/mL na estação chuvosa e 39.310 ind/mL na estação seca, com alternância no domínio de duas espécies fitoplanctônicas, *Monoraphidium contortum* (período chuvoso) e *Cylindrospermopsis raciborskii* (período seco). Tal alternância de espécies pode ter influenciado a distribuição dessas na coluna d'água, e consequentemente, o processo de fixação na *C. raciborskii*.

Esse reservatório possui predominância de grupos funcionais associados a ambientes quentes, não estratificados e mesotróficos, como organismos S_N

(Cylindrospermopsis) e X1 (Monoraphidium) (CUNHA; CALIJURI, 2011; REYNOLDS et al., 2002). Rangel et al. (2009) estudaram um lago no interior de São Paulo e observaram que o grupo X1 (ambiente rasos e misturados com elevada disponibilidade de nutrientes, que possui tolerância a estratificação e é vulnerável a déficit de nutrientes) é maior no verão. Isso pode explicar os maiores biovolumes de *C. raciborskii* serem, em geral, maiores nas amostragens de inverno (mai/14, jul/14, abr/15 e jul/15). Dessa forma, a fixação pode ser um recurso competitivo para a *C. raciborskii* destacar-se sobre o Monoraphidium sp..

O zooplâncton pode suprimir as populações de cianobactérias por pastagem e competição, pois quando reduzido, as cianobactérias são favorecidas. Assim, a estrutura da cadeia alimentar e a disponibilidade de nutrientes podem controlar a abundância de cianobactérias fixadoras (HAMBRIGHT et al., 2007; SMITH; SCHINDLER, 2009).

Certas espécies de cianobactérias ainda são favorecidas devido à sua toxicidade que reduz a herbivoria e à formação de escumas na superfície que promovem o sombreamento, excluindo competidores (HENSE; BECKMANN, 2006). A herbivoria, em especial, pode aumentar as taxas de fixação de N₂ nos sistemas aquáticos, pois os organismos utilizam essa habilidade para a aumentar disponibilidade de recursos (ARANGO et al., 2009).

A comunidade fitoplanctônica parece ter comportamento flexível para a fixação de N_2 , pois neste reservatório a fixação parece ser um recurso competitivo das cianobactérias em relação às clorofíceas. A fixação de N_2 foi relacionada positivamente com a % de Chlorophyceae e negativamente com a % de Cyanobacteria. Nessas condições, as cianobactérias podem ter se beneficiado do heterócito e da fixação de N_2 para competição, o que se sugere principalmente para a *C. raciborskii*.

Sabendo que a frequência de heterócitos nas cianobactérias pode ser utilizada para inferir as taxas de fixação por meio de estudos de modelagem (FINDLAY et al., 1994), as frequências dos heterócitos na *C. raciborskii* e na *Anabaena* sp. foram correlacionadas com as taxas de fixação desse reservatório por meio do ajuste a uma função polinomial (Figura 40). Se for considerada uma fixação de 2 µg/L para ambas espécies, por exemplo, a *Anabaena* sp. e a *C. raciborskii* necessitariam de 47% e 23% de frequência de heterócitos, respectivamente. Isso pode indicar que os heterócitos da segunda possuem um maior rendimento para a fixação de N₂. Porém, essa tendência atribui a fixação total a uma cianobactéria específica sendo que outras também são capazes de fixar.

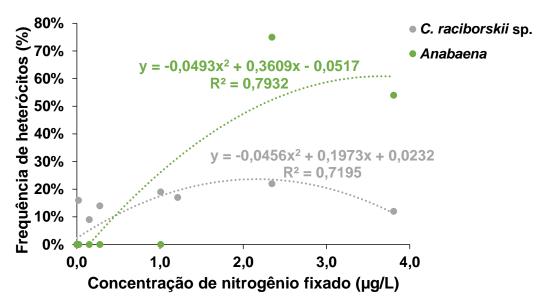


Figura 40. Curvas de frequência de heterócitos (%) em função da concentração de nitrogênio fixado pelas cianobactérias *C. raciborskii* e *Anabaena* sp.

6.2 Reservatório de Barra Bonita

De modo geral, as concentrações de nutrientes, clorofila e biovolume de fitoplâncton foram maiores em Barra Bonita em comparação aos outros reservatórios estudados. Buzelli e Cunha-Santino (2013) também obtiveram concentrações significativas de nutrientes neste reservatório em 2011 e as relacionaram à baixa precipitação pluviométrica do período, que reduziu a diluição.

O entorno agrícola do reservatório de Barra Bonita contribui para a alteração das características físicas e químicas da água, o que influencia negativamente o estado trófico. A influência da agricultura somada ao baixo percentual de cobertura florestal pode elevar as florações de algas e as concentrações de nitrogênio (BURFORD et al., 2007). O reservatório foi caracterizado como eutrófico por Calijuri, Dos Santos e Jati (2002) e hipereutrófico por Buzelli e Cunha-Santino (2013).

As menores relações N:P foram detectadas no verão, com exceção de out/13, o que coincidiu com as florações de *Microcystis aeruginosa* em fev/14 e jan/15 (N:P nas faixas de 20:1 e 30:1). Nessas amostragens, o biovolume atingiu valores superiores a 50 mm³/L.

Em Barra Bonita foram evidenciadas as maiores densidades relativas e biovolume da cianobactéria não fixadora *Microcystis aeruginosa*, que podem ser associada com as baixas relações NT:PT. No entanto, Havens et al., (2003) associaram o domínio de cianobactérias não fixadoras de N₂, clorofíceas e diatomáceas, com elevadas relações NT:PT.

O biovolume de *M. aeruginosa*, em geral, foi maior durante as amostragens no verão, porém, essa espécie foi dominante em todas as coletas, representando até 99% da

comunidade fitoplanctônica. Calijuri e Dos Santos (1996) estudaram o reservatório de Barra Bonita (SP) em períodos de verão e inverno durante 10 dias e também observaram que no verão houve domínio da *M. aeruginosa* e uma baixa diversidade de espécies em comparação com o outro período.

A *M. aeruginosa* pode florescer o ano todo e apresentar maior biovolume durante a estação chuvosa (MEESUKKO et al., 2007; OKOGWU; UGWUMBA, 2009), pois seu crescimento é favorecido pela entrada de nutrientes lixiviados nos sistemas aquáticos. Uma das vantagens competitivas das colônias de *M. aeruginosa* é a capacidade de flutuação na coluna d'água pelas vesículas gasosas para obter melhores gradientes de luz e otimizar o processo fotossintético, causando um sombreamento para as outras espécies localizadas abaixo da superfície (BALDIA et al., 2007; SITOKI; KURMAYER; ROTT, 2012). Além disso, os incrementos na temperatura e nas concentrações de fósforo podem propiciar aumento nas taxas de crescimento da *M. aeruginosa* (DAVIS et al., 2009). Imai, Chang e Nakano (2009) concluíram que as médias de temperatura de 30-35°C favoreceram a dominância de *M. aeruginosa* e as florações mais intensas dessa pesquisa foram no verão (fev/14 e jan/15).

Um estudo desenvolvido em um reservatório no nordeste brasileiro revelou que altas concentrações de nutrientes podem ter resultado em elevada condutividade elétrica e dominância de cianobactérias (CHELLAPPA; COSTA, 2003), o que foi visível em Barra Bonita com condutividade elétrica máxima de 360 µS/cm (Figura 26b) na floração de *M. aeruginosa* em jan/15.

A fixação de N_2 nesse reservatório resultou em taxas não detectáveis ou inferiores a 0,015 µg/L.h, pelo domínio da espécie não fixadora M. aeruginosa. Dessa forma, não foi realizada a análise de PCA pela praticamente inexistência do processo de fixação. No entanto, em out/14 foram observadas taxas de fixação entre 0,002-0,015 µg/L.h que ocorreram majoritariamente no período noturno (92-93%, Figura 39). Isso pode ser explicado pela presença da fixadora Phormidium sp. (WEISSHAAR; BÖGER, 1983) e a menor dominância da M. aeruginosa.

Algumas hipóteses podem ser consideradas para a ausência de fixação nesse reservatório, como as menores relações N/P que são associadas à dominância da *M. aeruginosa* (XIE et al., 2003), mesmo em condições de excesso de ambos nutrientes. O excesso de fósforo (PT, PTD, PO₄) também pode ter favorecido a colonização dessa cianobactéria (BALDIA et al., 2007). A série nitrogenada (NH₃, NO₃, NO₂) em concentrações elevadas pode ter sido assimilada prontamente pela *M. aeruginosa*, pois ela é versátil, capaz de utilizar múltiplas fontes de nitrogênio para o crescimento celular, mas com preferência pelo amônio (MONCHAMP et al., 2014). Lima (2015) inferiu que a forma preferencial assimilada de nitrogênio nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita foi o

amônio, seguido de nitrato e ureia. Em fev/14, as concentrações de amônia em Barra Bonita foram relativamente mais baixas do que nas outras amostragens, porém, houve elevada disponibilidade de nitrato para ser assimilado pelo fitoplâncton. O predomínio de *M. aeruginosa* também é associado a sistemas aquáticos com baixas concentrações de oxigênio dissolvido (OKOGWU; UGWUMBA, 2009), o que foi frequente nas amostragens de florações intensas (Figura 27b). Dessa forma, o reservatório de Barra Bonita é colonizado por uma cianobactéria que não possui habilidade de fixar nitrogênio.

A limitação de nutrientes foi investigada por Moisander, Ochiai e Lincoff (2009) em reservatórios na Califórnia (EUA), nos quais havia predominância de *Microcystis* sp.. A abundância desse gênero aumentou com todas as formas dissolvidas de nitrogênio, principalmente com amônia, o que reforça os resultados obtidos em Barra Bonita. Além disso, a profundidade da coluna de água pode afetar o fitoplâncton, juntamente com a sazonalidade. A *Anabaena* sp. é mais abundante em sistemas eutróficos rasos, enquanto o códon M (*Microcystis* sp.) está relacionado a sistemas profundos com maior disponibilidade de nutrientes (DANTAS; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOURA, 2012; REYNOLDS et al., 2002), que é o caso de Barra Bonita.

6.3 Reservatório do Lobo

Esse reservatório já foi caracterizado como oligotrófico (CALIJURI, 1988), mesotrófico (MOTHEO, 2005; LAMON, 2014) mas, nessa pesquisa, o ponto de amostragem na barragem estava supereutrófico (Tabela 21), o que indica o incremento acelerado do estado trófico ao longo do tempo.

O Lobo também apresentou elevadas frações molares e disponibilidade de nutrientes, com predominância da *Aphanizomenon* sp., muitas vezes com heterócitos. Um estudo desenvolvido por Henry, Tundisi e Curi (1984) testou o enriquecimento com formas dissolvidas de nitrogênio e fósforo no reservatório do Lobo e concluiu que o nitrogênio aumentou consideravelmente o fitoplâncton, sendo o limitante. Porém, os autores afirmaram que isso depende das concentrações de nutrientes na água, das condições fisiológicas do fitoplâncton e da capacidade de algumas espécies armazenarem fósforo. De modo geral, todos os resultados de relações molares do Lobo indicaram limitação por fósforo.

Entre todos os reservatórios estudados, as maiores taxas de fixação foram detectadas no reservatório do Lobo, além de um aumento progressivo nas concentrações de clorofila e nutrientes durante as coletas realizadas, e a dominância da *Aphanizomenon* sp. durante o inverno. A *Aphanizomenon*, gênero importante de cianobactéria fixadora filamentosa e potencial produtor de toxinas, é responsável por densas florações. De acordo

com Walsby et al. (1997), a estratificação vertical pode favorecer esse gênero, pois ele pode regular sua posição na água com as vesículas de gás, e usar de sua habilidade de formar colônias para defesa e competição com os demais grupos, além de possuir heterócitos que permitem a fixação de nitrogênio. Porém, na amostragem em que houve estratificação térmica (fev/14), a taxa de fixação não foi significativa e houve ausência de *Aphanizomenon sp*, o que foi confirmado estatisticamente pela fixação estar negativamente relacionada com a temperatura.

A dominância da *Aphanizomenon* sp. no inverno e *C. raciborskii* no verão justifica as taxas elevadas de fixação por essas cianobactérias providas de heterócitos. As maiores taxas de fixação ocorreram nas amostragens de mai/14 e abr/15, quando o biovolume de *Aphanizomenon* sp. foi elevado e os filamentos apresentavam heterócitos (86-83% e 50%-45%). Dessa forma, a fixação foi positivamente associada com a porcentagem de *Aphanizomenon* sp. e também com a frequência de seus heterócitos. Ploug et al. (2010) estudaram o Mar Báltico e inferiram que a fixação na *Aphanizomenon* sp. pode representar 78% e 16% da massa de N₂ fixado durante o dia e a noite, respectivamente, e os 6% restantes foram atribuídos a outros organismos fixadores durante a noite. Os autores ainda afirmaram que essa espécie é intensamente fixadora, até nos estágios finais da floração.

A presença da cianobactéria *Lyngbya* sp., que restringe sua fixação somente a noite, pode ter sido responsável pelas porcentagens noturnas nas coletas de out/13 (10% RSFA), abr/15 (50 e 10% RSFA) e jul/15 (50% RSFA), o que confirma a relação positiva entre o processo de fixação e a porcentagem dessa cianobactéria. Essa espécie filamentosa pode adquirir nutrientes dos sedimentos e absorver radiação em camadas profundas dos reservatórios, além da fixar N₂ (WATERS et al., 2015), ou seja, em suas florações elas podem monopolizar o meio por essas vantagens competitivas.

De Nobel et al. (1997) analisaram a influência da fixação de N₂ sobre o crescimento dos gêneros *Anabaena* e *Aphanizomenon* com limitação de fósforo. O primeiro gênero atingiu taxas de fixação de N₂ superiores, principalmente pela maior afinidade com fósforo, o que favoreceu seu desenvolvimento. Além disso, os autores deduziram uma preferência por radiação subaquática mais elevada pela *Anabaena* sp..

Como não houve diferença significativa entre as profundidades de estudo (50% e 10% de RSFA foram muito parecidas), de acordo com a ANOVA (todas as variáveis: p = 0,519), a fixação também não foi dependente da RSFA (p = 0,869), o que pode sugerir uma rápida atenuação de luz na coluna de água.

Sabendo que a frequência de heterócitos nas cianobactérias pode ser utilizada para inferir as taxas de fixação por meio de estudos de modelagem (FINDLAY et al., 1994), a frequência de heterócitos na *Aphanizomenon* sp. foram correlacionadas com as taxas de fixação desse reservatório por meio do ajuste a uma função polinomial (Figura 41). A menor

correlação obtida (R²=0,36) sugere uma associação não tão clara entre a porcentagem de heterócitos desse organismo e a fixação de nitrogênio no reservatório. Não se deve descartar, ainda, a contribuição de outras espécies para o processo de fixação (*C. raciborskii* e *Lyngbya* sp.).

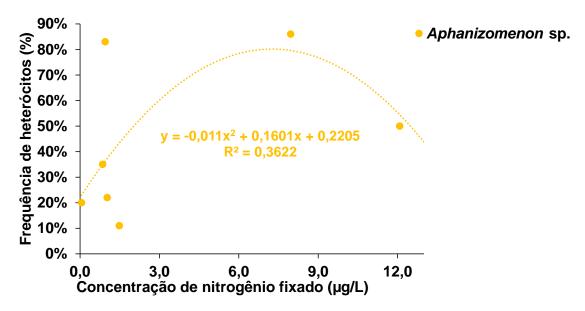


Figura 41. Curva de frequência de heterócitos (%) em função da concentração de nitrogênio fixado pela *Aphanizomenon* sp.

7. CONCLUSÃO

A presente pesquisa abrangeu oito coletas que incluíram situações atípicas de estiagem no estado de São Paulo entre 2013 e 2014, com começo de recuperação em 2015, o que pode ter influenciado a fixação biológica de N₂ pelo fitoplâncton. Partindo-se dessa ressalva, pôde-se concluir que:

- I. Durante o período estudado (out/13 a jul/15), os graus de trofia dos três reservatórios estiveram associados com episódios de floração de cianobactérias, algumas delas potencialmente tóxicas (*Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon* sp., etc). Na região lacustre, Itupararanga foi classificado como eutrófico-supereutrófico, Barra Bonita como hipereutrófico, e o Lobo como supereutrófico-hipereutrófico. Isso evidencia a necessidade de medidas para controle do estado trófico desses ambientes para a garantia dos usos múltiplos e a saúde pública, visto que alguns desses reservatórios são utilizados como mananciais de abastecimento de água para consumo humano;
- II. As condições climáticas, hidrológicas e limnológicas influenciaram a estrutura da comunidade fitoplanctônica nos reservatórios. As modificações sazonais das variáveis climatológicas e hidrológicas, sobretudo a precipitação, a temperatura e o tempo de detenção hidráulica, juntamente com as concentrações de nutrientes, regularam a estrutura da comunidade fitoplanctônica de cada reservatório, com reflexos diretos sobre o processo de fixação biológica de N₂. As taxas de fixação, com máximo próximo a 1,0 μg/L.h, foram relativamente elevadas quando comparadas a estudos similares desenvolvidos em ambientes temperados;
- III. A fixação de N₂ pelo fitoplâncton, embora seja um processo energeticamente dispendioso, não foi inibida pelo excesso de nutrientes, em particular do nitrogênio (e.g., elevadas relações N:P e concentrações de formas nitrogenadas). A estrutura da comunidade fitoplanctônica, regulada pelas condições ambientais e, presumidamente, pela competição entre espécies e grupos fitoplanctônicos, foi decisiva para a observação do processo de fixação de nitrogênio. A biomassa de cianobactérias fixadoras e a porcentagem de heterócitos se mostraram variáveis interessantes, porém não exclusivas, para a predição das taxas de fixação. A fixação biológica de nitrogênio não possui fatores únicos de influência, mas um conjunto de características ambientais que variaram de reservatório para reservatório;

- IV. A detecção do N₂ fixado durante o dia e durante a noite demonstrou as diferentes habilidades estratégicas de adaptação das espécies fitoplanctônicas. A fixação noturna pode estar associada, principalmente, à presença de *Lyngbya* sp. que restringe a fixação para esse período;
- V. Em Itupararanga, houve elevada abundância relativa dos grupos Cyanobacteria e Chlorophyceae, e a fixação pareceu atuar como um recurso competitivo para a Cylindrospermopsis raciborskii e Anabaena sp. As taxas de fixação de N₂ praticamente não foram detectadas em Barra Bonita, principalmente em função da dominância por Microcystis aeruginosa, espécie não fixadora. A fixação de N₂ mostrou-se, aparentemente, como uma vantagem competitiva para a Aphanizomenon sp. no reservatório do Lobo;
- VI. Os resultados sugeriram que o método do traçador ¹⁵N₂ foi mais sensível em comparação ao método da redução do acetileno para aferir as taxas de fixação;
- VII. As cianobactérias são responsáveis pela adição de uma parcela significativa de nitrogênio nos corpos d'água pela capacidade de fixar o N₂ atmosférico, o que foi evidenciado em dois ambientes aquáticos estudados nesta pesquisa. Portanto, as medidas de controle da eutrofização devem considerar não apenas a redução do aporte de fósforo, mas também focar nas diferentes formas de nitrogênio, com vistas à diminuição da magnitude e da frequência das florações desses organismos.

8. RECOMENDAÇÕES

Esta pesquisa esteve entre as primeiras a fixação biológica de nitrogênio em reservatórios subtropicais. A partir das dificuldades encontradas no decorrer deste trabalho, apresentam-se as seguintes recomendações para estudos futuros:

- Calibração da metodologia da redução do acetileno a partir do isótopo ¹⁵N₂ e comparação entre os métodos em situações controladas em laboratório.
- Isolamento das principais espécies fixadoras da comunidade fitoplanctônica dos reservatórios e estudo de seus comportamentos em laboratório no que tange ao processo de fixação de N₂, considerando também o período diurno e noturno.
- A fim de comparar a fixação de N₂ em laboratório poderiam ser testadas diferentes concentrações de nutrientes e condições de temperatura e luminosidade, pois em campo a influência das condições climáticas e hidrológicas pode afetar o processo.

Além disso, algumas implicações para engenharia e manejo dos reservatórios e de sua bacia de contribuição, como medidas de recuperação e prevenção, podem ser consideradas para controle da eutrofização e desenvolvimento de cianobactérias: saneamento ambiental (tratamento terciário que remove nutrientes como nitrogênio de fósforo) e inclusão de novos índices, métricas, modelos matemáticos e ecológicos para gerenciamento da qualidade da água em Planos de Bacia dos Comitês de Bacias Hidrográficas, e assim evitar que haja conflito entre o enquadramento dos corpos d'água e a referente classificação. Outro fator importante é a intensificar a avaliação da densidade e biovolume de cianobactérias (podendo extrapolar para espécies fixadoras de N₂) no monitoramento da qualidade da água dos reservatórios. No Brasil, a única legislação que estabelece limites para densidade de cianobactérias e concentração de cianotoxinas é a Portaria MS 2914 (2011), que estabelece procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano.

A fim de garantir os usos múltiplos desses reservatórios, dentre eles o abastecimento humano, é necessária a implementação de medidas para controlar a eutrofização, garantindo a saúde pública e melhorando a gestão sustentável dos recursos hídricos locais. Por exemplo, de acordo com a Resolução CONAMA 302 (2002), para a implantação de Usinas Hidroelétricas é necessário a aprovação de um Plano Ambiental de Conservação e Uso do Entorno de Reservatório Artificial (PACUERA), o qual estabelece diretrizes para disciplinar a conservação, recuperação e uso e ocupação do entorno dos reservatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D. G. Heterocyst formation in cyanobacteria. Current Opinion in **Microbiology**, v. 3, n. 6, p. 618–624, 2000.
- AES-Tietê. Informações sobre a barragem de Barra Bonita. Disponível em: http://www.aestiete.com.br/geracao/Paginas/nossas-usinas.aspx#conteudo Acesso em 10 de dez de 2015.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 2 Chloroococales. **Algological Studies** 73, 157-226. 1986.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 3 Oscillatoriales. **Algological Studies** 50-53, 327-472. 1988.
- ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 4 Nostocales. **Algological Studies** 82, 247-345. 1989.
- ANEEL. Agência Nacional de Energia Elétrica. **Resolução homologatória nº 45, 22 de março de 2004**. Disponível em: http://www.aneel.gov.br/cedoc/reh2004045.pdf> Acesso: 08 de dez de 2015.
- APHA, American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 25th ed., Washington, 2005.
- ARANGO, C. P. et al. Herbivory by an invasive snail increases nitrogen fixation in a nitrogen-limited stream. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 66, n. 8, p. 1309–1317, 2009.
- BALDIA, S. F. et al. Nitrogen and phosphorus utilization in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* isolated from Laguna de Bay, Philippines. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 6, p. 607–613, 2007.
- BERGER, C. et al. Seasonal dynamics and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Lake Guiers (Senegal, West Africa). **FEMS Microbiology Ecology**, v. 57, n. 3, p. 355–366, 2006.
- BERGERSEN, F. J. Measurement of nitrogen fixation by direct means. **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. John-Willey & Sons: New York, p. 65-110, 1980.
- BERGLUND, M.; WIESER, M. E. Isotopic compositions of the elements 2009 (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 2, p. 397–410, 2011.
- BERGMAN, B. et al. N_2 Fixation by non-heterocystous cyanobacteria. FEMS **Microbiology Reviews**, v. 19, p. 139–185, 1997.
- BERMAN-FRANK, I. et al. Segregation of nitrogen fixation and oxygenic photosynthesis in the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. **Science** (New York, N.Y.), v. 294, n. 5546, p. 1534–1537, 2001.
- BERMAN-FRANK, I.; LUNDGREN, P.; FALKOWSKI, P. Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 157–164, 2003.
- BEU, S. E.; DOS SANTOS, A. C. A. e CASALI, S. P. **Biodiversidade na APA de Itupararanga: condições atuais e perspectivas futuras**. 1ª ed. São Paulo: SMA/FF/UFSCar/CCR- Via Oeste, 2011.

- BEVERSDORF, L. J.; MILLER, T. R.; MCMAHON, K. D. The Role of nitrogen fixation in cyanobacterial bloom toxicity in a temperate, eutrophic lake. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil chave para identificação e descrições. RiMa: São Carlos, 502 f. 2006.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. D. C.; MOLICA, R. Cianobactéria invasora **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 30, n. 7-10, p. 82–90, 2003.
- BÖHME, H. Regulation of nitrogen fixation in heterocyst-forming cyanobacteria. **Trends in Plant Science**, v. 3, n. 9, p. 346–351, 1998.
- BOURRELY, P. Les algues d'eau douce initiation à la systématique les algues vertes, v. 1. Paris: N. Boubee. 1972a.
- BOURRELY, P. Les algues d'eau douce les algues bleues et rouges les eugléniens, péridiniens et cryptomonadines, v. 3. Paris: N. Boubee. 1972b.
- BOURRELY, P. Les algues d'eau douce les algues jaunes et brunes, v. 2. Paris: N. Boubee. 1981.
- BOUVY, M. et al. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 23, n. 1, p. 13–27, 2000.
- BOUVY, M. et al. Phytoplankton community structure and species assemblage succession in a shallow tropical lake (Lake Guiers, Senegal). **Aquatic Microbial Ecology**, v. 45, n. 2, p. 147–161, 2006.
- BRANDAO, L. H.; DOMINGOS, P. Environmental factors for toxics cyanobacteria. **Saúde e Ambiente em revista**, v. 1, p. 40–50, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria MS Nº 2914 de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, DF, 14/12/2011.
- BRIAND, J. F. et al. Environmental context of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) blooms in a shallow pond in France. **Water Research**, v. 36, n. 13, p. 3183–3192, 2002.
- BRIAND, J. F. et al. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at midlatitudes: Selection, wide physiological tolerance, or global warming? **Journal of Phycology**, v. 40, n. 2, p. 231–238, 2004.
- BRYHN, A. C.; BLENCKNER, T. Can nitrogen gas be deficient for nitrogen fixation in lakes? **Ecological Modelling**, v. 202, n. 3-4, p. 362–372, 2007.
- BURFORD, M. A. et al. Correlations between watershed and reservoir characteristics, and algal blooms in subtropical reservoirs. **Water Research**, v. 41, n. 18, p. 4105–4114, 2007.
- BURFORD, M. A.; DAVIS, T. W. Physical and chemical processes promoting dominance of the toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 29, n. 4, p. 883–891, 2011.
 - BURRIS, R. Nitrogenases. J. Biol. Chem, v. 266, n. 15, p. 9339–9342, 1991.
- BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita, SP. **Revista Ambiente e Agua**, v. 8, n. 1, p. 186–205, 2013.

- CALIJURI, M. C. (1988). Respostas fisioecológicas da comunidade fitoplactonica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização. 293p. Tese (Doutorado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 165 f.
- CALIJURI, M. C.; SANTOS, A. C. A. Short-term changes in the Barra Bonita reservoir (São Paulo, Brazil): emphasis on the phytoplankton communities. **Hydrobiologia**, v. 330, n. 3, p. 163–175, 1996.
- CALIJURI, M. C.; DOS SANTOS, A C. A; JATI, S. Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, S.P.—Brazil). **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 7, p. 617–634, 2002.
- CALIJURI, M. C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. A. Cianobactérias e Cianotoxinas em Águas Continentais. São Carlos: Editora Rima, 118 f, 2006.
- CANFIELD, D. E.; GLAZER, A. N.; FALKOWSKI, P. G. Review the evolution and future of Earth's nitrogen cycle. **Science**, v. 330, p. 192–196, 2010.
- CAREY, C. C. et al. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. **Water Research**, v. 46, n. 5, p. 1394–1407, 2012.
- CARMICHAEL, W. W. et al. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health**, v. 109, n. 7, p. 663–668, 2001.
- CARVALHO, L.; MILLER, C.A.; SCOTT,M.E.; CODD, G.A.; DAVIES, P. S.; TYLER, A.N. Cyanobacterial blooms: Statistical models describing risk factors for national-scale lake assessment and lake management. **Science of The Total Environment**, v. 409, n. 24, p. 5353-5358, 2011.
- CASALI, S. P. A comunidade fitoplanctônica no reservatório de Itupararanga (Bacia do Rio Sorocaba, SP). Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Departamento de Hidráulica e Saneamento. 2014. 195 f. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil, 2014.
- CASTRO, A. A. J.; BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. **Algas: 2 Chryptophyceae. Hoehnea** 18, 87-106. 1991.
- CBH-SMT. **Relatório de Situação dos Recursos Hídricos 2013**. Comitê da Bacia Hidrográfica Sorocaba e Médio Tietê. 40p. 2013. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/deliberation/%5C6205/rs-06-01-13.pdf Acesso em 06 de dez de 2015.
- CBH-TJ. **Relatório de Situação dos Recursos Hídricos 2013**. Comitê da Bacia Hidrográfica dos Rios Tietê-Jacaré. 114p. 2013. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents/7476/relatorio-de-situacao-2013-cbh-tj.pdf Acesso em 06 de dez de 2015.
- CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2014**. 371p, 2015.
- CHELLAPPA, N. T.; COSTA, M. A. M. Dominant and co-existing species of Cyanobacteria from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State, Brazil. **Acta Oecologica**, v. 24, n. SUPPL. 1, p. 3–10, 2003.
- CHEN, Y. B. et al. Expression of photosynthesis genes in relation to nitrogen fixation in the diazotrophic filamentous nonheterocystous cyanobacterium *Trichodesmium sp.* IMS 101. **Plant Molecular Biology**, v. 41, n. 1, p. 89–104, 1999.

- CHISLOCK M. F., SHARP K. L., WILSON A. E. *Cylindrospermopsis raciborskii* dominates under very low and high nitrogen-to-phosphorus ratios. **Water Research**, 49, p. 207–214. 2014.
- CHURCH, M. J. et al. Temporal patterns of ntrogenase gene (*nifH*) expression in the oligotrophic North Pacific Ocean. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5362–5370, 2005.
- CONLEY, D. J. et al. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science** (New York, N.Y.), v. 323, n. 5917, p. 1014–1015, 2009.
- CUNHA, D. G. F. Heterogeneidade e variabilidade temporal do reservatório de Itupararanga: uma contribuição ao manejo sustentável dos recursos hídricos da bacia do Rio Sorocaba (SP). Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 235 f, 2012.
- CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. D. C. Variação sazonal dos grupos funcionais fitoplanctônicos em braços de um reservatório tropical de usos múltiplos no estado de São Paulo (Brasil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 822–831, 2011.
- CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. DO C.; LAMPARELLI, M. C. A trophic state index for tropical/subtropical reservoirs (TSI_{TSR}). **Ecological Engineering**, v. 60, p. 126–134, 2013.
- DANTAS, Ê. W. et al. Temporal variation of the phytoplankton community at short sampling intervals in the Mundaú reservoir, Northeastern Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 970–982, 2008.
- DANTAS, Ê. W.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. D. C.; MOURA, A. D. N. Dynamics of phytoplankton associations in three reservoirs in northeastern Brazil assessed using Reynolds' theory. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**, v. 42, n. 1, p. 72–80, 2012.
- DAVIS, T. W. et al. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. **Harmful Algae**, v. 8, n. 5, p. 715–725, 2009.
- DELELLO, D. Composição e distribuição (especial e temporal) de macrófitas aquáticas no reservatório do Lobo (Broa), Itirapina/Brotas-SP. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 160 f, 2008.
- DE NOBEL, W. T. et al. Competition for phosphorus between the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena* and *Aphanizomenon*. **FEMS Microbiology Ecology**, n. 24, p. 259-267, 1997.
- DE SOUZA, R. C. R.; CARVALHO, M. C.; TRUZZI, A. C. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Seenaya and Subba Raju (Cyanophyceae) dominance and a contribution to the knowledge of Rio Pequeno arm, Billings Reservoir, Brazil. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 13, n. 1, p. 73–81, 1998.
- DIERBERG, F. E.; SCHEINKMAN, M. M. Contribution from nitrogen fixation (acetylene reduction) to the nitrogen budget of Lake Tohopekaliga (Florida). **Hydrobiologia**, v. 154, n. 1, p. 61–73, 1987.
- DITTY, J. L.; WILLIAMS, S. B.; GOLDEN, S. S. A cyanobacterial circadian timing mechanism. **Annual Review of Genetics**, v. 37, n. 1, p. 513–543, 2003.
- DODDS, W. K.; WHILES, M. Freshwater Ecology: concepts & environmental applications of limnology. Academic Press, 289p, 2010.
- DOLMAN, A. M. et al. Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phosphorus. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e38757, 2012.

- DOLMAN, A. M.; WIEDNER, C. Predicting phytoplankton biomass and estimating critical N:P ratios with piecewise models that conform to Liebig's law of the minimum. **Freshwater Biology**, v. 60, n. 4, p. 686–697, 2015.
- DOS SANTOS, A. C. A. Heterogeneidade espacial e variabilidade temporal de dois reservatórios com diferentes graus de trofia no estado de São Paulo. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 225 f, 2003.
- DOWNING, J. A; WATSON, S. B.; MCCAULEY, E. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 58, n. 10, p. 1905–1908, 2001.
- DOYLE, R. D.; FISHER, T. R. Nitrogen fixation by periphyton and plankton on the Amazon floodplain at Lake Calado. **Biogeochemistry**, v. 26, p. 41–66, 1994.
- ELLIOTT, J. A. Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. **Water Research**, v. 46, n. 5, p. 1364–1371, 2012.
 - ESTEVES, F. A. Fundamentos de limnologia. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciências, 2011.
- FAY, P. Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 2, p. 340–373, 1992.
- FERBER, L. R. et al. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? **Freshwater Biology**, p. 690–708, 2004.
- FIELDS, S. Cycling out of control. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. 556–563, 2004.
- FIGUEREDO, C. C.; GIANI, A. Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): Conditions favoring a persistente bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**. 39(4), p. 264-272. 2009.
- FINDLAY, D. L. et al. Fixation and heterocyst abundance and its relevance to the nitrogen budget of Lake 227. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 51, n. 10, p. 2254–2266, 1994.
- FIORE, M. D. F. et al. Characterization of nitrogen-fixing cyanobacteria in the Brazilian Amazon floodplain. **Water Research**, v. 39, n. 20, p. 5017–5026, 2005.
- FLETT, R. J.; HAMILTON, R. D.; CAMPBELL, N. E. R. Aquatic acetylene reduction techniques: solutions to several problems. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, p. 43-51, 1976.
- FORBES, M. G. et al. Physical factors control phytoplankton production and nitrogen fixation in eight Texas reservoirs. **Ecosystems**, v. 11, n. 7, p. 1181–1197, 2008.
- FOWLER, D. et al. Effects of global change during the 21st century on the nitrogen cycle. **Atmospheric Chemistry and Physics Discussions**, v. 15, n. 2, p. 1747–1868, 2015.
- FREDRIKSSON, C.; BERGMAN, B. Ultrastructural characterisation of cells specialised for nitrogen fixation in a non-heterocystous cyanobacterium, *Trichodesmium* sp. **Protoplasma**, v. 197, n. 1-2, p. 76–85, 1997.
- GALLOWAY, J. N.; LEVY, H.; KASHIBHATLA, P. S. Year 2020 Consequences of population-growth and development on deposition of oxidized nitrogen. **Ambio**, v. 23, n. 2, p. 120–123, 1994.
- GALLOWAY, J. N. The global nitrogen cycle: changes and consequences. **Environmental Pollution**, v. 102, n. SUPPL. 1, p. 15–24, 1998.

- GOLDEN, S. S. et al. Cyanobacterial Circadian Rhythms. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, n. 1, p. 327–354, 1997.
- GOMES, A. M. A. Estudo ecofisiológico de cianobactérias formadoras de florações na lagoa de Jacarepaguá. Tese (Doutorado). Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). 186 f. 2011.
- GONDWE, M. J.; GUILDFORD, S. J.; HECKY, R. E. Planktonic nitrogen fixation in Lake Malawi/Nyasa. **Hydrobiologia**, v. 596, n. 1, p. 251–267, 2008.
- GOPHEN, M. et al. Nitrogen deficiency, phosphorus sufficiency, and the invasion of Lake Kinneret, Israel, by the N_2 -fixing cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum*. **Aquatic Sciences**, v. 61, n. 4, p. 293–306, 1999.
- GROβKOPF, T.; MOHR, W.; BAUSTIAN, T.; SCHUNCK, H.; GILL, D.; KUYPERS, M. M. M.; LAVIK, G.; SCHMITZ, R. A.; WALLACE, D. W. R.; LAROCHE, J. Doubling of marine dinitrogen-fixation rates based on direct measurements. **Nature**, v. 488, p. 361-364, 2012.
- GUILDFORD, S. J.; HECKY, R. E. Total nitrogen, total phosphorus, and nutrient limitation in lakes and oceans: Is there a common relationship? **Limnology and Oceanography**, v. 45, n. 6, p. 1213–1223, 2000.
- HAANDE, S. et al. Phytoplankton dynamics and cyanobacterial dominance in Murchison Bay of Lake Victoria (Uganda) in relation to environmental conditions. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**, v. 41, n. 1, p. 20–29, 2011.
- HAMBRIGHT, K. D. et al. Grazer control of nitrogen fixation: phytoplankton taxonomic composition and ecosystem functioning. **Fundamental and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie**, v. 170, n. 2, p. 103–124, 2007.
- HAMME, R. C.; EMERSON, S. R. The solubility of neon, nitrogen and argon in distilled water and seawater. **Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 51, n. 11, p. 1517–1528, 2004.
- HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. **Plant Physiol** (Bethesda), v. 43, p. 1185-1207, 1968.
- HAVENS, K. E. et al. N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. **Environmental pollution** (Barking, Essex: 1987), v. 122, n. 3, p. 379–90, 2003.
- HENRY, R.; TUNDISI, J.; CURI, P. R. Effects of phosphorus and nitrogen enrichment on the phytoplankton in a tropical reservoir. **Hydrobiologia**, v. 185, n. 118, p. 2, 1984.
- HENRY, R.; NOGUEIRA, M. G.; POMPEO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. Annual and Short-Term Variability in Primary Productivity by Phytoplankton and Correlated Abiotic Factorsin the Jurumirim Reservoir (São Paulo, Brazil). Brazilian. **Journal of Biology**, v. 66, p. 239-261. 2006.
- HENSE, I.; BECKMANN, A. Towards a model of cyanobacteria life cycle-effects of growing and resting stages on bloom formation of N_2 -fixing species. **Ecological Modelling**, v. 195, n. 3-4, p. 205–218, 2006.
- HERRERO, A.; PICOSSI, S.; FLORES, E. Gene Expression during Heterocyst Differentiation. In: CHAUVAT, F.; CORINNE, C.-C. (Eds.). . **Genomics of Cyanobacteria**. 1. ed. Oxford, UK: Academic Press, Elsevier, 2013. p. 281–329.
- HILLEBRAND, H. et al. Biovolume Calculation for Pelagic and Benthic Microalgae 1. **J. Phycol**, v. 35, p. 403–424, 1999.

- HORIKAWA, K. et al. N_2 Fixation Variability in the Oligotrophic Sulu Sea, Western Equatorial Pacific Region over the Past 83 kyr. **Journal of Oceanography**, v. 62, p. 427–439, 2006.
- HORVÁTH, H. et al. Contribution of nitrogen fixation to the external nitrogen load of a water quality control reservoir (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary). **Hydrobiologia**, v. 702, n. 1, p. 255–265, 2013.
- HOWARD, J. B.; REES, D. C. Structural Basis of Biological Nitrogen Fixation. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 7, p. 2965–2982, 1996.
- HOWARTH, R. W. et al. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. Rates and importance. **Limnology and Oceanography**, v. 33, n. 4_part_2, p. 669–687, 1988.
- IMAI, H.; CHANG, K.; NAKANO, S. Growth Responses of Harmful Algal Species *Microcystis* (Cyanophyceae) under Various Environmental Conditions. **Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry–Environmental Research in Asia**, p. 269–275, 2009.
- JACOBY, J. M. et al. Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,** v. 57, n. 1, p. 231–240, 2000.
- JAYATISSA, L. P. et al. Occurrence of toxigenic cyanobacterial blooms in freshwaters of Sri Lanka. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 156–164, 2006.
- JEPPESEN, E. et al. Ecological impacts of global warming and water abstraction on lake and reservoirs due to changes in water level and related changes in salinity. **Hydrobiologia**, 750:1–4, 2015.
- JÖHNK, K. D. et al. Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. **Global Change Biology**, v. 14, n. 3, p. 495–512, 2008.
- KENESI, G. et al. Effect of nitrogen forms on growth, cell composition and N_2 fixation of *Cylindrospermopsis raciborskii* in phosphorus-limited chemostat cultures. **Hydrobiologia**, v. 623, n. 1, p. 191–202, 2009.
- KNOLL, A. H. Cyanobacteria and Earth History. In: HERRERO, A.; FLORES, E. (Eds.). **The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution.** Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2008. p. 1–20.
- KOLZAU, S. et al. Seasonal patterns of nitrogen and phosphorus limitation in four German Lakes and the predictability of limitation status from ambient nutrient concentrations. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. 1–14, 2014.
- KOMARÉK, J.; FOTT, B. Chlorophyceae (Grünalgen). Ordiniung: Chlorococcales. In: HuberPestalozzi, G. **Das phytoplankton des süsswasers: systematic and biologie.** E. Schwiezerbat'sche Verlagsbuch handlung. Stutgart, 1440p. 1983.
- KONDO, T.; ISHIURA, M. The circadian clock of cyanobacteria. **BioEssays**, v. 22, n. 1, p. 10–15, 2000.
 - KÖPPEN W.; GEIGER, R. Klimate der Erde. Gotha: Verlag Justus Perthes.
- KUMAR, K.; MELLA-HERRERA, R. A.; GOLDEN, J. W. Cyanobacterial heterocysts. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 2, n. 4, 2010.
- KOROLEFF, F., Determination of ammonia-nitrogen. In: **Methods of sea water analysis** (GRASSHOFF, K., EHRHARDT,M AND KREMLING, K. eds.). Verlag chemie, Weinheim, pp 150-157, 1983.

- KUNZA, L. A.; HALL, R. O. Nitrogen fixation can exceed inorganic nitrogen uptake fluxes in oligotrophic streams. **Biogeochemistry**, n. 3, p. 537–549, 2014.
- LAMON, A. W. Aplicação de microssensores no monitoramento de oxigênio dissolvido, potencial redox e temperatura em estudos limnológicos. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 157 f. 2014.
- LAMPARELLI, M. C. **Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo (USP), 238 f, 2004.
- LAROCHE, J.; BREITBARTH, E. Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean. **Journal of Sea Research**, v. 53, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 67–91, 2005.
- LE, T. P. Q. et al. Nutrient budgets (N and P) for the Nui Coc reservoir catchment (North Vietnam). **Agricultural Water Management**, v. 142, p. 152–161, 2014.
- LEE, K. K.; WATANABE, I. Problems of the acetylene reduction technique applied to water-saturated paddy soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 34, n. 6, p. 654–660, 1977.
- LEVINE, S. N.; LEWIS, W. M. J. The horizontal heterogeneity of nitrogen fixation in Lake Valencia, Venezuela. **Limnology and Oceanography**, v. 30, n. 6, p. 1240–1245, 1985.
- LIPSCHULTZ, F. Isotope tracer methods for studies of the marine nitrogen cycle. In: CAPONE, D. G. et al. (Eds.). **Nitrogen in the Marine Environment**. 2.ed. Oxford, UK: Elsevier, 2008. p. 1345–1384.
- LIU, W. C.; CHEN, W. B.; KIMURA, N. Impact of phosphorus load reduction on water quality in a stratified reservoir-eutrophication modeling study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 159, n. 1-4, p. 393–406, 2009.
- LV, J.; WU, H.; CHEN, M. Effects of nitrogen and phosphorus on phytoplankton composition and biomass in 15 subtropical, urban shallow lakes in Wuhan, China. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**, v. 41, n. 1, p. 48–56, 2011.
- MARCARELLI, A. M.; BAKER, M. A.; WURTSBAUGH, W. A. fixation an important N source for benthic communities and stream ecosystems? **Journal of the North American Benthological Society**, v. 27, n. 1, p. 186–211, 2008.
- MARTÍN-NIETO, J.; HERRERO, A; FLORES, E. Control of Nitrogenase *mRNA* Levels by Products of Nitrate Assimilation in the Cyanobacterium *Anabaena* sp. Strain *PCC 7120*. **Plant physiology**, v. 97, n. 2, p. 825–828, 1991.
- MARTINS, D. et al. Caracterização da comunidade de plantas aquáticas de dezoito reservatórios pertencentes a cinco bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 17–32, 2008.
- MARTINS, R. C. Análise dos impactos sócio-ambientais do processo de modernização agrícola das áreas de influência dos reservatórios de Barra Bonita e Jurumirim. 199 f. Tese (Doutorado em Sociologia Política) Centro de Educação e Ciências Humanas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.
- MCCARTHY, M. J. et al. Nutrient ratios and phytoplankton community structure in the large, shallow, eutrophic, subtropical Lakes Okeechobee (Florida, USA) and Taihu (China). **Limnology**, v. 10, n. 3, p. 215–227, 2009.
- MCGREGOR, G. B.; FABBRO, L. D. Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanoprokaryota) in Queensland tropical and subtropical reservoirs: Implications for monitoring and management. **Lakes and Reservoirs: Research and Management**, v. 5, n. 3, p. 195–205, 2000.

- MEESUKKO, C. et al. Relationships between seasonal variation and phytoplankton dynamics in Kaeng Krachan Reservoir, Phetchaburi Province, Thailand. **The Natural History Journal of Chulalongkorn University**, v. 7, n. 2, p. 131–143, 2007.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. **Ecosystems and Human Well-being: Synthesis.** Washington, DC: Island Press, 2005.
- MOHR, W. et al. Methodological underestimation of oceanic nitrogen fixation rates. **PLoS ONE**, v. 5, n. 9, p. e12583, 2010.
- MOISANDER, P. H. et al. Variability in nitrogen and phosphorus limitation for Baltic Sea phytoplankton during nitrogen-fixing cyanobacterial blooms. **Marine Ecology Progress Series**, v. 262, n. Tilman 1982, p. 81–95, 2003.
- MOISANDER, P. et al. Phosphorus limitation and diel control of nitrogen-fixing cyanobacteria in the Baltic Sea. **Marine Ecology Progress Series**, v. 345, p. 41–50, 2007.
- MOISANDER, P. H.; OCHIAI, M.; LINCOFF, A. Nutrient limitation of *Microcystis aeruginosa* in northern California Klamath River reservoirs. **Harmful Algae**, v. 8, n. 6, p. 889–897, 2009.
- MONCHAMP, M. E. et al. Nitrogen forms influence *microcystin* concentration and composition via changes in cyanobacterial community structure. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, 2014.
- MONTOYA, J. P. et al. A Simple, high-precision, high-sensitivity tracer assay for N_2 fixation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 3, p. 986–993, 1996.
- MOTHEO, D. F. Estudo limnológico na represa Carlos Botelho (Itirapina / Brotas SP): uma reavaliação comparativa do sistema Lobo-Broa. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP). 111 f, 2005.
- MOWE, M. A. D. et al. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **Journal of Limnology**, v. 74, n. 2, p. 205–224, 2014.
- MUGIDDE, R. et al. Pelagic nitrogen fixation in Lake Victoria (East Africa). **Journal of Great Lakes Research**, v. 29, n. 2, p. 76–88, 2003.
- MUÑOZ-MARTÍN, M. A. et al. A battery of bioreporters of nitrogen bioavailability in aquatic ecosystems based on cyanobacteria. **Science of The Total Environment**, v. 475, p. 169–179, 2014.
- NEN. **Nederlandse Norm NEN 6520**. Norma holandesa sobre determinação de clorofila a pelo método do etanol. 1981.
- $N\tilde{O}GES$, T. et al. Critical N:P ratio for cyanobacteria and N_2 -fixing species in the large shallow temperate lakes Peipsi and Võrtsjärv, North-East Europe. **Hydrobiologia**, v. 599, n. 1, p. 77–86, 2008.
- NOGUEIRA, M. G. et al. Phytoplankton assemblages in a reservoir cascade of a large tropical subtropical river (SE, Brazil). **Brazilian journal of biology.** v. 70, n. 3 Suppl, p. 781–793, 2010.
- NUSCH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaepigment. **Arch. Hydrobiologia**. 14: 14-36, 1980.
- OHLENDIECK, U.; STUHR, A.; SIEGMUND, H. Nitrogen fixation by diazotrophic cyanobacteria in the Baltic Sea and transfer of the newly fixed nitrogen to picoplankton organisms. **Journal of Marine Systems**, v. 25, n. 3-4, p. 213–219, 2000.

- OKOGWU, O. I.; UGWUMBA, A. O. Cyanobacteria abundance and its relationship to water quality in the Mid-Cross River floodplain, Nigeria. **Revista de Biologia Tropical**, v. 57, n. 1/2, p. 33–43, 2009.
- OMOREGIE, E. O. et al. Determination of nitrogen-fixing phylotypes in *Lyngbya* sp. and *Microcoleus chthonoplastes* cyanobacterial mats from Guerrero Negro, Baja California, Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2119–2128, 2004.
- PADISÁK, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. **Arch. Hydrobiol.** Suppl., 107, p. 563–593. 1997.
- PADISÁK, J. et al. Four consecutive dry years in Lake Balaton (Hungary): consequences for phytoplankton biomass and compositon. **Verh Int Verein Limnol**, v. 29, p. 1153–1159, 2006.
- PADISÁK, J.; CROSSETTI, L. O.; NASELLI-FLORES, L. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. **Hydrobiologia**, v. 621, n. 1, p. 1–19, 2009.
- PAERL, H. W. A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments. **Phycologia**, v. 35, p. 25–35, 1996.
- PAERL, H. W.; ZEHR, J. P. Molecular ecological aspects of nitrogen fixation in the marine environment. In: D. L. KIRCHMAN (Ed.). **Microbial Ecology of the Oceans**. 2.ed. Hoboken, New Jersey: Wiley-Liss, 2008. p. 481–509.
- PAERL, H. W. et al. Controlling harmful cyanobacterial blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China): The need for a dual nutrient (N & P) management strategy. **Water Research**, v. 45, n. 5, p. 1973–1983, 2011.
- PARRA, O. O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V. Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referência al fitoplancton de Chile. Classe Euglenophyceae. Concepcion: Universidad de Concepcion. 98p. 1980.
- PARRA, O. O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V.; RIVERA, P.; ORELLANA, M. Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referência al fitoplancton de Chile. Classe Cyanophyceae. Concepcion: Universidad de Concepcion. 70p. 1982.
- PARRA, O. O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V. Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referência al fitoplancton de Chile. Classe Chlorophyceae. Concepcion: Universidad de Concepcion. 151p. 1983.
- PARRISH, J. The role of nitrogen and phosphorus in the growth, toxicity, and distribution of the toxic cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*. 2014. *Master's Projects*. Paper 8.
- PASSERINI, M. D. Influência das frentes frias nos mecanismos de funcionamento da represa da UHE Carlos Botelho (Lobo/Broa) Itirapina SP dos pontos de vista químico, físico e biológico. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Natuais). Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). 111 f, 2010.
- PETESSE, M. L.; PETRERE, M.; SPIGOLON, R. J. Adaptation of the reservoir fish assemblage index (RFAI) for assessing the Barra Bonita Reservoir (Sao Paulo, Brazil). **River Research and Applications** 23: 595–612. 2007.
- PLOMINSKY, A. M. et al. Dinitrogen fixation is restricted to the terminal heterocysts in the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* CS-505. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. 1–10, 2013.

- PLOUG, H. et al. Carbon and nitrogen fluxes associated with the cyanobacterium *Aphanizomenon* sp. in the Baltic Sea. **The ISME journal**, v. 4, n. 9, p. 1215–1223, 2010.
- POSTGATE, J. R. **The Fundamentals of nitrogen fixation**. Cambridge University Press: London, 1982.
- RANGEL, L. M. et al. Driving forces of the diel distribution of phytoplankton functional groups in a shallow tropical lake. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 1, p. 75–85, 2009.
- RANGEL, L. M. et al. Phytoplankton biomass is mainly controlled by hydrology and phosphorus concentrations in tropical hydroelectric reservoirs. **Hydrobiologia**, v. 693, n. 1, p. 13–28, 2012.
- REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. 3. ed. São Paulo: Escrituras, 748p, 2006.
- REDFIELD, A. The biological control of chemical factors in the environment. **American scientist**, v. 46, n. 3, p. 205–221, 1958.
- REJMÁNKOVÁ, E. et al. Cyanobacterial blooms in Lake Atitlan, Guatemala. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**, v. 41, n. 4, p. 296–302, 2011.
- REYNOLDS, C. S. et al. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 5, p. 417–428, 2002.
- RIVERA, E. C. et al. Systems models to evaluate eutrophication in the Broa Reservoir, São Carlos, Brazil. **Ecological Modelling**, v. 202, n. 3-4, p. 518–526, 2007.
- RUSNESS, D.; BURRIS, R. H. Acetylene Reduction (nitrogen fixation) in Wisconsin Lakes. Department of Biochemistry, University of Wisconsin, Madison. v. 15, n. 5, p. 808–813, 1970.
- SAKER, M. L.; GRIFFITHS, D. J. Occurrence of blooms of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszy´nska) Seenayya and Subba Raju in a north Queensland domestic water supply. **Mar. Freshwater Res.** v. 52, n. June 2015, p. 907-915, 2001.
- SANT'ANNA, C. L. et al. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais**. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciências: Interciências, 58p, 2006.
- SÃO PAULO (Estado). **Lei estadual nº 7.663, de 30 de dezembro de 1991** Estabelece orientação à Política Estadual de Recursos Hídricos bem como ao Sistemas Integrado de Gerenciamento de Recursos Hídricos. 1991.
- SÃO PAULO (Estado). **Lei estadual Nº 10.100, de 1.º de dezembro de 1998** Declara Área de Proteção Ambiental o entorno da represa de Itupararanga. 1998.
- SÃO PAULO (Estado). **Lei estadual Nº 11.579, de 2 de dezembro de 2003** Declara de Área de Proteção Ambiental APA a área da bacia hidrográfica formadora da represa de Itupararanga, com o objetivo de proteger a qualidade e quantidade de suas águas. 2003.
- SARDINHA, D. S.; BONOTTO, D. M.; CONCEIÇÃO, F. T. Weathering rates at Alto Sorocaba basin, Brazil, using U-isotopes and major cations. **Environmental Earth Sciences**, v. 61, p. 1025-1036, 2010.
- SARMENTO, H.; DESCY, J. P. Use of marker pigments and functional groups for assessing the status of phytoplankton assemblages in lakes. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 6, p. 1001–1011, 2008.

- SCHINDLER, D. W. et al. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 32, p. 11254–11258, 2008.
- SCHIPPERS, P.; LURLING, M.; SCHEFFER, M. Increase of atmospheric CO₂ promotes phytoplankton productivity. **Ecology Letters**, v. 7, n. 6, p. 446–451, 2004.
- SCOTT, J. T. et al. River–reservoir transition zones are nitrogen fixation hot spots regardless of ecosystem trophic state. **Hydrobiologia**, v. 625, n. 1, p. 61–68, 2009.
- SCOTT, J. T.; MCCARTHY, M. J. Nitrogen fixation may not balance the nitrogen pool in lakes over timescales relevant to eutrophication management. **Limnology and Oceanography**, v. 55, n. 3, p. 1265–1270, 2010.
- SCOTT, J. T.; GRANTZ, E. M. N₂ fixation exceeds internal nitrogen loading as a phytoplankton nutrient source in perpetually nitrogen-limited reservoirs. **Freshwater Science**, v. 32, n. 3, p. 849–861, 2013.
- SEITZINGER, S. P.; GARBER, J. H. Nitrogen fixation and $^{15}N_2$ calibration of the acetylene reduction assay in coastal marine sediments. **Marine Ecology Progress Series**. v. 37, p 65-73, 1987.
- SHEHAWY, R. M.; KLEINER, D. Ammonium (methylammonium) transport by heterocysts and vegetative cells of *Anabaena variabilis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 181, n. 2, p. 303–306, 1999.
- SITOKI, L.; KURMAYER, R.; ROTT, E. Spatial variation of phytoplankton composition, biovolume, and resulting *microcystin* concentrations in the Nyanza Gulf (Lake Victoria, Kenya). **Hydrobiologia**, v. 691, n. 1, p. 109–122, 2012.
- SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 24, n. 4, p. 201–207, 2009.
- SOARES, M. C. S. et al. Eutrophication and retention time affecting spatial heterogeneity in a tropical reservoir. **Limnologica Ecology and Management of Inland Waters**, v. 42, n. 3, p. 197–203, 2012.
- SOTERO-SANTOS, R. B. et al. Occurrence and toxicity of an *Anabaena* bloom in a tropical reservoir (Southeast Brazil). **Harmful Algae**, v. 7, n. 5, p. 590–598, 2008.
- SPRÖBER, P. et al. Nitrogen uptake and fixation in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* under different nitrogen conditions. **Hydrobiologia**, v. 506-509, p. 169–174, 2003.
- SSRH. Secretaria de Saneamento e Recursos Hídricos. **Guia do sistema paulista de recursos hídricos: comitês de bacia**. CRH, COFEHIDRO, CORHI; coordenação Saulo Ribeiro Martins, Flávia Braga Rodrigues; equipe técnica: Nilcéia Franchi et al. São Paulo: SSRH, 2011.
- SSRH/CSAN. Apoio técnico à elaboração dos planos municipais de saneamento e elaboração do plano regional de saneamento para os municípios da Bacia Hidrográfica dos Rios Sorocaba e Médio Tietê UGRHI 10. Secretaria de Saneamento e Recursos Hídricos do Estado de São Paulo. Plano Regional Integrado de Saneamento Básico Engecorps Corpo de Engenheiros Consultores S.A. 209p, 2011. Disponível em: http://www.saneamento.sp.gov.br/PMS/UGRHI10/PRS_UGRHI10.pdf Acesso em 06 de dez de 2015.
- STAL, L. J.; GROSSBERGER, S.; KRUMBEIN, W. E. Nitrogen fixation associated with the cyanobacterial mat of a marine laminated microbial ecosystem. **Marine Biology**, v. 82, p. 217–224, 1984.

- STAL, L. J. Cyanobacterial mats and stromatolites. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.). **The Ecology Of Cyanobacteria: their diversity in time and space**. 1. ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 61–120.
- STAL, L. J. Cyanobacteria: diversity and versatility, clues to life in extreme environments. In: **Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments**. Springer, 2007.
- STAL, L. J.; ZEHR, J. P. Cyanobacterial Nitrogen Fixation in the Ocean: Diversity, Regulation, and Ecology. In: HERRERO, A.; FLORES, E. (Eds.). **The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution**. 1.ed. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2008. p. 423–446.
- STEWART, W. D.; FITZGERALD, G. P.; BURRIS, R. H. In situ studies on N_2 fixation using the acetylene reduction technique. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 58, n. 5, p. 2071–2078, 1967.
- STEWART, W. D. P. Systems involving blue-green algae. In: BERGERSEN, F. J. (Ed.). **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. Csiro ed. Canberra, Austrália: A Wiley Interscience, p. 583–634. 1980.
- STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G. Gerenciamento da qualidade da água de represas. In: TUNDISI, J. G. (Ed.). **Diretrizes para o gerenciamento de lagos.** 9. ed. São Carlos: ILEC/IEE, 2000. 280p.
- TANIWAKI, R. H. et al. A influência do uso e ocupação do solo na qualidade e genotoxicidade da água do reservatório de Itupararanga, São Paulo, Brasil. **Interciência**, v. 38, n. 3, p. 164–170, 2013.
- THORNTON, K. W.; KIMMEL, B. L.; PAYNE, F. E. **Reservoir limnology: ecological perspectives**. Estados Unidos: Wiley-Interscience Publication, 1990. 246p.
- TÕNNO, I.; NÕGES, T. Nitrogen fixation in a large shallow lake: rates and initiation conditions. **Hydrobiologia**, v. 490, p. 23–30, 2003.
- TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) 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.
- TUNDISI, J. G. Reservatórios como sistemas complexos: teoria, aplicações e perspectivas para usos múltiplos. In: HENRY, R. (Ed.). **Ecologia de reservatórios: Estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FUNDIBIO, p. 19-38, 1999.
- TUNDISI, J. G et al. The response of Carlos Botelho (Lobo, Broa) reservoir to the passage of cold fronts as reflected by physical, chemical, and biological variables. **Brazilian Journal Of Biology**, v. 64, n.1, p. 177-186, 2004.
- TUNDISI, J. G.; MATSUMURA TUNDISI, T. **Limnologia.** São Paulo: Oficina de textos, 2008.
- UTHERMÖHL, H. On the perfecting of quantitative phytoplankton method. **Inst. Ass. Theor. Commum.** Vol 9. 1958.
- VARGAS, S. R. Influência da concentração de nutrientes na interação entre duas espécies fitoplanctônicas isoladas do reservatório de Itupararanga SP. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 148 f. 2012.
- VOTORANTIM ENERGIA. Informações sobre a barragem de Itupararanga. Disponível em: http://www.venergia.com.br/Usinas/Paginas/default.aspx> Acesso em 16 de dez de 2014.

- VON SPERLING, E.; FERREIRA, A. C. DA S.; GOMES, L. N. L. Comparative eutrophication development in two Brazilian water supply reservoirs with respect to nutrient concentrations and bacteria growth. **Desalination**, v. 226, n. 1-3, p. 169–174, 2008.
- WALSBY, A. E. et al. The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. **New Phytologist**, v. 136, p. 407–417, 1997.
- WANG, H.; WANG, H. Mitigation of lake eutrophication: Loosen nitrogen control and focus on phosphorus abatement. **Progress in Natural Science**, v. 19, n. 10, p. 1445–1451, 2009.
- WATERS, M. N. et al. The potential effects of river regulation and watershed land use on sediment characteristics and lake primary producers in a large reservoir. **Hydrobiologia**, v. 749, n. 1, p. 15–30, 2015.
- WEISSHAAR, H.; BÖGER, P. Nitrogenase activity of the non-heterocystous cyanobacterium *Phormidium foveolarum*. **Archives of Microbiology**, v. 136, n. 4, p. 270–274, 1983.
- WELCH, E. B. Should nitrogen be reduced to manage eutrophication if it is growth limiting? Evidence from Moses Lake. **Lake and Reservoir Management**, v. 25, n. 4, p. 401–409, 2009.
- WETZEL, R.G.; LIKENS, G.E. **Limnological analyses.** Springer-Verlag: New York, 391p. 1991.
- WILLÉN, E. Dominance patterns of planktonic algae in Swedish forest lakes. **Hydrobiologia**, v. 502, p. 315–324, 2003.
- WOOD, S. A. et al. Low dissolved inorganic nitrogen and increased heterocyte frequency: Precursors to Anabaena planktonica blooms in a temperate, eutrophic reservoir. **Journal of Plankton Research**, v. 32, n. 9, p. 1315–1325, 2010.
- WU, Z.; SHI, J.; LI, R. Comparative studies on photosynthesis and phosphate metabolism of *Cylindrospermopsis raciborskii* with *Microcystis aeruginosa* and *Aphanizomenon flos-aquae*. **Harmful Algae**, v. 8, n. 6, p. 910–915, 2009.
- XIE, L. et al. The low TN:TP ratio, a cause or a result of *Microcystis* blooms? **Water Research**, v. 37, n. 9, p. 2073–2080, 2003.
- XU, H. et al. Nitrogen and phosphorus inputs control phytoplankton growth in eutrophic Lake Taihu, China. **Limnology and Oceanography**, v. 55, n. 1, p. 420–432, 2010.
- YE, L.; CAI, Q. Spring phytoplankton blooms in Xiangxi Bay of Three-Gorges Reservoir: spatiotemporal dynamics across sharp nutrient gradients. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 26, n. 1, p. 11–18, 2011.
- YU, Z. et al. Vertical distribution of diazotrophic bacterial community associated with temperature and oxygen gradients in a subtropical reservoir. **Hydrobiologia**, v. 741, n. 1, p. 69–77, 2014.
- ZEHR, J. P. Nitrogen fixation by marine cyanobacteria. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 4, p. 162–173, 2011.
- ZEHR, J. P.; CARPENTER, E. J.; VILLAREAL, T. A. New perspectives on nitrogen-fixing microorganisms in tropical and subtropical oceans. **Trends in Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 68–73, 2000.