UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

VITORIA FERNANDES DE MELO LIMA

Dinâmica do fitoplâncton e assimilação de nitrato, amônio e ureia em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS

2015

VITORIA FERNANDES DE MELO LIMA

Dinâmica do fitoplâncton e assimilação de nitrato, amônio e ureia em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia

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

Orientadora: Prof.ª Tit. Maria do Carmo Calijuri

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

L732d Lima, Vitória Fernandes de Melo

Dinâmica do fitoplâncton e assimilação de nitrato, amônio e ureia em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia / Vitória Fernandes de Melo Lima; orientadora Maria do Carmo Calijuri. São Carlos, 2015.

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, 2015.

1. fitoplâncton. 2. nitrogênio. 3. assimilação de nutrientes. 4. reservatórios subtropicais. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharel **VITÓRIA FERNANDES DE MELO LIMA**.

Título da dissertação: "Assimilação de nitrato, amônio e uréia pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia".

Data da defesa: 11/06/2015

Comissão Julgadora:	**Resultado**:
Profa. Titular **Maria do Carmos Calijuri (Orientadora)** (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)	Aprovada.
Prof. Dr. **André Cordeiro Alves dos Santos** (Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)	Aprovada
Profa. Dra. **Ana Teresa Lombardi** (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**

AGRADECIMENTOS

Escrever esta dissertação foi uma experiência por vezes exaustiva, porém, acima de tudo, enriquecedora. A execução deste trabalho certamente não seria possível sem a colaboração de várias pessoas que, de forma desinteressada, se mostraram disponíveis para me ceder um pouco do seu conhecimento e tempo e, a essas pessoas, devo dizer obrigada:

À Professora titular Maria do Carmo Calijuri, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, a orientadora desta dissertação, pela grande oportunidade, por me acolher em seu grupo de pesquisa e pela confiança para a realização deste trabalho.

Ao Professor dr. Davi Gasparini Cunha, pelas análises quantitativas e qualitativas do fitoplâncton, pela fundamental ajuda durante as coletas. Além da generosidade, constante incentivo, conversas bem-humoradas e por sempre estar disposto a me ouvir e ajudar.

Às técnicas Adriana Poli Miwa e Luci Queiroz por me ensinar, (pela paciência em) me auxiliar nas análises de laboratório e pelo esclarecimento de dúvidas no decorrer desta dissertação

Ao técnico Waldomiro Antônio Filho e ao motorista Benedito Patracon, pelo auxílio nas coletas e pelo carinho e conversas divertidas durante a estrada, no barco e em terra firme.

Aos companheiros “biotaceanos” do laboratório Biotace (SHS/EESC/USP) – Adilson, Andréia, Amanda, Gabriela, Laís, Paulo, Sarah e Tácyo por proporcionarem um ambiente de trabalho agradável, pelas discussões esclarecedoras e bate-papos na hora do café.

Aos funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento: Maria Auxiliadora C. Altieri Pin, Priscila C. Toselli de Almeida, Rosemeire A. de Jesus, Flávia G. Canova, Fernanda M. Struzziatto, e André Canale Garcia por toda ajuda e eficiência.

Aos examinadores: Ana Teresa Lombardi e André Cordeiro Alves dos Santos pela disponibilidade e pelas sugestões que contribuiram para o enriquecimento deste trabalho.

À CAPES, pela Bolsa de Estudos fornecida e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, processo 2014/2088-5, pelo auxílio financeiro aos trabalhos de campo.

Á Professora Roxane Maranger da Université de Montréal por todos importantíssimos conhecimentos sobre a assimilação do nitrogênio pelo fitoplâncton compartilhados.

Ao Professor Albertino Bendassoli e aos técnicos Hugo Batagello e *Miguel* Luís Baldessin do Laboratório de Isótopos Estáveis (CENA/USP) pelo suporte na execução da técnica do ^{15}N.

Ao Professor dr. André Cordeiro dos Santos pelas informações climatológicas e hidráulicas do reservatório de Itupararanga e pela disponibilidade e dicas de estatística.

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 Rhodia por conceder espaço no Clube de Campo de Barra Bonita para a realização das coletas.

À Dona Marli por facilitar a entrada no reservatório de Itupararanga e à cadelinha Milu pela adorável recepção.

Aos amigos da turma de pós-graduação de 2013, por todas as horas de estudo e diversão.

A todas as pessoas que tão bem me acolheram em São Carlos, pela agradável convivência diária: Amanda, Maju, Lu, Anne, Júlia, Lê, Leo e Lôide.

A todos os amigos que me ensinaram que amizade independe de presença física.

À minha mãe, meu pai, meus irmãos, a Pedro e ao gatinho Gandalf. Obrigada pelo amor, dedicação, suporte emocional e compreensão pela minha ausência nesses últimos dois anos.

RESUMO

Lima, V. F. M. (2015). Dinâmica do fitoplâncton e assimilação de nitrato, amônio e ureia em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 121p.

As atividades antrópicas desenvolvidas nas ultimas décadas têm alterado o ciclo natural dos nutrientes, o que traz efeitos negativos às aos recursos hídricos. Os crescentes problemas com a eutrofização nesses ambientes têm aumentado os casos de florescimento de cianobactérias, que podem trazer riscos aos ecossistemas e comprometer a saúde da população. Em reservatórios, esses efeitos são ainda mais indesejáveis tendo em vista que acumulam água para múltiplos usos. Em vista desse quadro, torna-se importante o estudo da relação dos nutrientes com a comunidade fitoplanctônica. Geralmente os estudos de controle da eutrofização por restrição de nutrientes se atentam apenas à restrição do fósforo. O conhecimento sobre os efeitos das diferentes fontes nitrogenadas em reservatórios tropicais/subtropicais é praticamente inexistente. Para investigar a importância do amônio, nitrato e ureia como fontes de nitrogênio para o fitoplâncton em reservatórios tropicais com diferentes graus de trofia, foram realizadas 4 coletas nos reservatórios de Itupararanga (supereutrófico) e Barra Bonita (hipereutrófico) em dois pontos na coluna de água (profundidades referentes a 50 e 10% da radiação solar fotossinteticamente ativa na subsuperfície). As taxas de assimilação obtidas nessa pesquisa foram relativamente maiores que em trabalhos semelhantes devido à grande biomassa fitoplanctônica em Itupararanga e em Barra Bonita. As taxas de assimilação foram maiores na estação chuvosa, em Barra Bonita que em Itupararanga e, na primeira profundidade. As estratégias de assimilação de nitrogênio foram relacionadas à composição da comunidade fitoplanctônica. Em Itupararanga a comunidade apresentou domínio da cianobactéria *Cylindrospemospsis raciborskii* e mostrou-se bem adaptada à assimilação de amônio, nitrato e ureia, sendo o amônio a forma nitrogenada preferida, seguido de nitrato e ureia. Em Barra Bonita, a comunidade apresentou domínio da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* durante a estação chuvosa, e ausência de dominância na estação seca. A mudança na composição da comunidade resultou numa maior afinidade pelo nitrato. A intensidade luminosa teve efeito positivo na assimilação da ureia. As cianobactérias parecem bem adaptadas à assimilação de qualquer fonte de nitrogênio disponível, e parte do sucesso desse grupo em reservatórios subtropicais pode ser atribuído a esta característica.

Palavras-chave: fitoplâncton, assimilação de nutrientes, nitrogênio , reservatórios subtropicais

ABSTRACT

Lima, V. F. M. (2015). Phytoplankton dynamics and uptake of ammonium, nitrate and urea in subtropical reservoirs with different trophic states. Dissertation (Master degree). São Carlos School of Engineering, São Carlos. 121p.

Human activities in the last decades are altering the natural nutrient cycles, with damaging repercussions to the water sources. The growing eutrophication problems are increasing cyanobacterial bloom occurrences and the environmental and health risks associated. In reservoirs, those effects are even more undesirable, due to its waters multipurpose. Therefore, understanding the relations between nutrients and phytoplankton community is needed. Overall, eutrophication control efforts are focus on phosphorus restriction. Little is known on the effects the available nitrogen sources on tropical/subtropical reservoirs primary production. To investigate the importance of ammonium, nitrate and urea to the phytoplankton in subtropical reservoirs with different trophic states, four field campaignes were conducted between October/2013 and June/2014. The water was collected in two points (depths corresponded to 50 e 10% of the surface's solar radiation). The uptake rates observed in the work were relatively higher than most similar works, presumably due to the high phytoplanktonic biomass in Itupararanga and Barra Bonita. The uptake rates were higher in the rain season, in the shallower depths and in Barra Bonita than Itupararanga. The uptake also differ among the reservoirs: In Itupararanga, the phytoplankton community was dominated by the cyanobacteria *Cylindrospemospsis raciborskii* dominance, and was well adapted to the use of ammonium, nitrate and urea (with ammonium been the favorite N source). In Barra Bonita, the phytoplankton community was dominated by the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* in the rain season and showed no dominance in the dry season. The shift in the phytoplankton community seamed to increase its affinity to nitrate uptake. The light intensity was correlated with urea uptake only. The cyanobacteria ability to use any given nitrogen source can be a key factor to its success.

Keywords: Nutrients uptake, nitrogen, subtropical reservoir

LISTA DE FIGURAS

Figura 2: Compartimentação em um reservatório segundo Thorton et al. (1990)..... 7

Figura 3: Diagrama com o encadeamento dos principais efeitos físicos (azul), químicos (vermelho) e biológicos (verde) do aumento nas concentrações de nutrientes em um sistema aquático devido à ação antrópica (eutrofização cultural). 8

Figura 4: O ciclo biológico do N. Adaptado de Sparacino-Watkins *et al.* (2013). 15

Figura 5: Esquema simplificado das principais rotas de assimilação do N por uma espécie fitoplanctônica hipotética. Existe significativa variação entre os grupos, já que nem todos possuem capacidade genética de assimilar as diversas formas de N. Adaptado de Flores & Herrero (2005). 16

Figura 6: Localização dos reservatórios Itupararanga e Barra Bonita no Estado de São Paulo; as setas pretas indicam os locais das barragens. 24

Figura 7: Localização das 22 UGRHIs do Estado de São Paulo onde estão distibuídos 64 reservatórios. Destaque para a UGRHI-10 onde se localizam os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita 25

Figura 8: Reservatório de Itupararanga com principais tributários e principais áreas urbanas ao redor destacadas. (Adaptado de PETESSE, 2007) 28

Figura 9: Reservatório de Barra Bonita com principais tributários e áreas urbanas ao redor destacadas. (Adaptado de PETESSE, 2007). 30

Figura 10.: Esquema do experimento de determinação da assimilação do NH_4^+, NO_3^- e ureia pelo uso do traçador ^{15}N. 35

Figura 11: Representação da assimilação de NO_3^- por uma célula. 37

Figura 12 – Aspecto do Reservatório de Itupararanga na região da barragem durante os períodos de amostragem: a) e b) mostram o reservatório no início do ano hidrológico, na estação chuvosa, já c) e d) mostram o reservatório no final
do ano hidrológico, em que se notam os efeitos da estiagem. Fotos da autora. 41

Figura 13 – Aspecto do Reservatório de Barra Bonita durante os períodos de amostragem: a) mostra a região de amostragem, b) mostra a presença de resíduos sólidos nas margens, c) e d) mostram a densa cobertura de macrófitas e a floração da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*. Fotos da autora..... 42

Figura 14: Precipitações mensais em mm, no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014)..... 44

Figura 15 – Precipitação total diária (mm) no Reservatório de Itupararanga durante os meses em que as quatro coletas foram realizadas. A seta vermelha

indica
os dias nos quais as coletas foram efetuadas: a) 30/10/2013, b) 03/02/2014, c) 05/05/2014 e d) 14/07/2014. Fonte: Votorantim Energia (2008-2014). 46

Figura 16 – Precipitação total diária (mm) no Reservatório de Barra Bonita durante os meses em que as quatro coletas foram realizadas. A seta vermelha indica os
dias nos quais as coletas foram efetuadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014)..... 47

Figura 17: Temperaturas mensais em ºC no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014). 49

Figura 18 – Temperatura média horária (mm) no Reservatório de Itupararanga durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 30/10/2013, b) 03/02/2014, c) 05/05/2014 e d) 14/07/2014. Fonte: Votorantim
Energia (2008-2014). 50

Figura 19 – Temperatura média horária (mm) no Reservatório de Barra Bonita durante os dias em as que quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014)..... 51

Figura 20: Velocidades médias mensais em $m.s^{-1}$ no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses
em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014)..... 53

Figura 21 – Velocidade média horária dos ventos ($m.s^{-1}$) no Reservatório de Itupararanga durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: Votorantim
Energia (2008-2014). 54

Figura 22 – Velocidade média horária dos ventos ($m.s^{-1}$) no Reservatório de
Barra Bonita durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014)..... 55

Figura 23: Direção dos ventos (º) em Itupararanga durante os períodos de coleta:
a) 1ªcoleta (30/10/2013); b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ªcoleta (05/05/2014). Fonte: Votorantim energia (2013-2014). Em detalhe uma rosa-dos-ventos
com os pontos cardeais, colaterais e subcolaterais indicados. 56

Figura 24: Direção dos ventos (º) em Barra Bonita durante os períodos de coleta: a) 1ªcoleta (28/10/2013); b) 2ª coleta (05/02/2014); c) 3ªcoleta (07/05/2014) e 4ª coleta (16/07/2014). Fonte: INMET (2013-2014)..... 57

Figura 25: Radiação solar incidente média mensal ($KJ.m^{-2}$) no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014)..... 59

Figura 26: Radiação solar incidente média horária (KJ.m^{-2}) em Itupararanga durante os períodos de coleta: a) 1ª coleta (30/10/2013);
b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ª coleta (05/05/2014); d) 4ª coleta (14/07/2014) 60

Figura 27: Radiação solar incidente média horária (KJ.m^{-2}) em Barra Bonita durante os períodos de coleta: a) 1ª coleta (30/10/2013);
b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ª coleta (05/05/2014); d) 4ª coleta (14/07/2014) 61

Figura 28 – Vazão média mensal (m^3.s^{-1}) afluente aos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. Os meses nos quais as quatro coletas foram efetuadas.
Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014). 63

Figura 29 – Vazão média mensal (m3.s-1) efluente aos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. As setas vermelhas indicam os meses nos quais as quatro coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014). 64

Figura 30 – Tempo de detenção hidráulico teórico (meses) nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. Em vermelho são destacados os meses em que as quatro coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014) 66

Figura 31 – Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática (RSFA, µE.m^{-2}.s^{-1}) nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades em que ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton. 69

Figura 32 – Perfis de temperatura da água (ºC) dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades onde ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton. 70

Figura 33 – Perfis de potencial hidrogeniônico (pH) na água dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades em que ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton. 71

Figura 34 – Perfis de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) na água dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades onde ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton. 72

Figura 35 – Concentrações de clorofila-a (µg.L^{-1}) encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas..... 78

Figura 36 – Densidades relativas fitoplanctônicas (ind.L^{-1}) encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas. 79

Figura 37 - Abundâncias relativas (%) das classes fitoplanctônicas encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas. 80

Figura 38. Assimilação de N (NO_3^- + NH_4^+ + ureia, µg.$L^{-1}h^{-1}$) pela comunidade fitoplanctônica nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas..... 85

Figura 39. Distribuição relativa da assimilação das formas nitrogenadas e (µg.$L^{-1}h^{-1}$) pela comunidade fitoplanctônica nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) nas profundidades correspondentes a 50% e 10% da RSFA nas quatro coletas realizadas. 86

Figura 40 – Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica com a assimilação do NO_3^-, NH_4^+ e ureia e variáveis ambientais (vetores) em Itupararanga. Onde: assimilação NH4 = assimilação do NH_4^+, assimilaçãoNO3 = assimilação do NO_3^-, assimilação (NH2)2CO = assimilação da ureia, t = temperatura, N:P = razão NT:PT, (NH2)2CO = concentração de ureia, OD = oxigênio dissolvido, NO3 = concentração de NO_3^-, PTD = concentração de PTD e NH3 = concentração de NH_3^+. 92

Figura 41 – Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica com a assimilação do NO_3^-, NH_4^+ e ureia e variáveis ambientais (vetores) em Barra Bonita. Onde: assimilação NH4 = assimilação do NH_4, assimilaçãoNO3 = assimilação do NO_3^-, assimilação (NH2)2CO = assimilação da ureia, t = temperatura, N:P = razão NT:PT, (NH2)2CO = concentração de ureia, OD = oxigênio dissolvido, NO3 = concentração de NO_3^-, PTD = concentração de PTD e NH3 = concentração de NH_3. 93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos principais isótopos do N 22

Tabela 2: Datas em que foram realizadas as quatro coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro de 2013 e julho de 2014 31

Tabela 3– Data, horário, condições climáticas, temperatura do ar (°C), profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), profundidade da zona eufótica (Zeu, m) e coeficiente de extinção da luz (η, m^{-1}) e índice de estado trófico (IET) em cada uma das coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita..... 40

Tabela 4 - Variáveis abióticas avaliadas na água dos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro/2013 e julho/2014: sólidos totais (SST) (mg.L^{-1}), sólidos inorgânicos (SSI) (%), sólidos orgânicos (SSO) (%), ortofosfato (P-PO_4) (µg.L^{-1}), fósforo dissolvido total (PDT) (µg.L^{-1}), fósforo total (PT) (µg.L^{-1})..... 75

Tabela 4 (continuação) - Variáveis abióticas avaliadas na água dos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro/2013 e julho/2014: nitrito (NO_2) (µg.L^{-1}), nitrato (NO_3) (µg.L^{-1}), amônia (NH_3) (µg.L^{-1}), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (µg.L^{-1}), nitrogênio orgânico (Namon) (µg.L^{-1}), ureia (µg.L^{-1})..... 76

Tabela 5 - Razão nitrogênio total:fósforo total (NT:PT) durante as quatro coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita 77

Tabela 6 - Densidade relativa (ind.mL^{-1}) de organismos fitoplanctônicos encontrados no reservatórios de Itupararanga 81

Tabela 7 - Densidade relativa (ind.mL^{-1}) de organismos fitoplanctônicos encontrados no reservatórios de Barra Bonita..... 82

Tabela 8 - Enriquecimento na concentração de nutriente nitrogenado na amostra em decorrência do acréscimo do traçador ^{15}N (%) 83

Tabela 9 - Resultados da assimilação absoluta de N- NH_4^+, N- NO_3^- e N-ureia e soma das assimilação dos três compostos nitrogenados durante as quatro coletas 84

Tabela 10: Análise de variância (ANOVA) entre fatores abióticos e entre os diferentes reservatórios, profundidades e coletas..... 88

Tabela 11 - Correlação de Spearman (r) entre as assimilações das formas nitrogenadas (horizontal) e as variáveis abióticas e bióticas (vertical) analisadas no Reservatório de Itupararanga 89

Tabela 12 - Correlação de Spearman (r) entre as assimilações das formas nitrogenadas (horizontal) e as variáveis abióticas e bióticas (vertical) analisadas no reservatório de Barra Bonita 90

Tabela 13 - Resultados da análise de correspondência canônica para as variáveis abióticas e a assimilação de formas nitrogenadas em Itupararanga..... 90

Tabela 14 - Resultados da análise de correspondência canônica para as variáveis abióticas e a assimilação de formas nitrogenadas em Barra Bonita 91

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2 OBJETIVOS 5

2.1 Objetivos específicos: 5

3 REVISÃO DA LITERATURA 6

3.1 Reservatórios: nutrientes e eutrofização 6

3.2 A comunidade fitoplanctônica em reservatórios 10

3.3 Fatores limitantes ao fitoplâncton: ênfase na disponibilidade de fósforo e nitrogênio 11

3.4 Ciclo biológico do nitrogênio no meio aquático 13

3.5 Assimilação de formas de nitrogênio pelo fitoplâncton 15

3.5.1 Amônio 17

3.5.2 Nitrato 18

3.5.3 Ureia 19

3.6 Quantificação da assimilação de formas nitrogenadas 20

4 MATERIAIS E MÉTODOS 24

4.1 Caracterização da área de estudo 24

4.1.1 O Reservatório de Itupararanga 26

4.1.3 O Reservatório de Barra Bonita 28

4.2 Amostragens 30

4.3 Variáveis Climatológicas 31

4.3.1 Precipitação, Temperatura do ar, Direção e Velocidade dos ventos 31

4.3.2 Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa 31

4.4 Variáveis abióticas da água 32

4.4.1 Temperatura da água, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e transparência da água 32

4.4.2 Nutrientes e Sólidos Totais 32

4.5 Variáveis bióticas da água 33

4.5.1 Clorofia-a e feoftina 33

4.5.2 Contagem e identificação da comunidade fitoplanctônica 34

4.6 Quantificação da assimilação de nitrogênio utilizando traçador ^{15}N 35

4.6.1 Cálculo da assimilação das formas nitrogenadas 37

4.7 Análise dos dados 38
5 RESULTADOS 39
5.1 Caracterização dos pontos e períodos de amostragem 39
5.2 Variáveis Climatológicas 43
5.2.1 Precipitação Pluviométrica 43
5.2.2 Temperatura do ar 48
5.2.3 Direção e velocidade dos ventos 52
5.2.4 Radiação solar incidente 58
5.3 Variáveis Hidrológicas 62
5.4 Variáveis abióticas da água 67
5.4.1 Radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática, temperatura da água, pH e oxigênio dissolvido 67
5.3.2 Nutrientes, sólidos em suspensão, condutividade elétrica, e transparência da água 73
5.4 Variáveis bióticas da água 77
5.5 Assimilação do nitrogênio 83
5.6. Análise estatística 87
6. DISCUSSÃO 94
6.1. Condições ambientais 94
6.2. A comunidade fitoplanctônica 95
6.3. Assimilação do nitrogênio 97
7. CONCLUSÕES 105
8. RECOMENDAÇÕES 107
REFERÊNCIAS 108
ANEXO 1 121

1. INTRODUÇÃO

Problemas referentes à disponibilidade de água estão cada vez mais presentes no cotidiano dos brasileiros. Mesmo destacando-se no cenário mundial pela grande abundância de água doce em suas bacias, no Brasil, água não se distribui de maneira homogênea, seja em questão de quantidade, como também quanto a seus usos e conflitos entre esses usos. Esse cenário leva à necessidade de transferências de águas entre bacias e a criação de reservatórios em áreas de onde há maior demanda por água e hidroenergia.

No Estado de São Paulo, a orientação industrial da região naturalmente faz com que maiores volumes de água sejam necessários para suprir o consumo local. A crescente demanda por água em quantidade e qualidade adequadas faz com que reservatórios sejam construídos em locais industrializados e com elevada densidade populacional. O resultado disso são diversos problemas relacionados à manutenção da qualidade de água nesses sistemas.

Reservatórios são ecossistemas artificiais com características físicas, químicas e biológicas entre lagos e rios. Esses sistemas respondem de maneira particular as atividades humanas desenvolvidas em sua bacia de drenagem. A contaminação por substâncias tóxicas, através do lançamento de efluentes e do escoamento superficial de áreas agrícolas tratadas com pesticidas, torna constante a preocupação com relação à saúde dos organismos aquáticos e das populações que consomem essas águas.

Outro problema marcante em relação à qualidade de água que afeta os reservatórios no Brasil e no mundo diz respeito ao aporte excessivo de nutrientes, mais notadamente fósforo e nitrogênio. Esses nutrientes estimulam o desenvolvimento exagerado de plantas, algas e cianobactérias, podendo desencadear uma série de alterações no sistema aquático. Com isso, diversos usos da água são afetados. Este conjunto de alterações no sistema aquático, derivado do aumento de nitrogênio e fósforo, é denominado eutrofização antrópica, ou eutrofização cultural.

A eutrofização cultural é um fenômeno global que atinge lagos, reservatórios, rios e regiões costeiras. Em uma pesquisa realizada pelo *International Lake Environment Committee* (ILEC), todos os 217 lagos

analisados mostram um aumento no nível de eutrofização nos últimos 50 anos (ILEC, 2001). Em mananciais, a eutrofização compromete a qualidade e, consequentemente, a disponibilidade da água. Dentre os diversos impactos causados pela eutrofização uma das consequências mais preocupantes é o aumento da probabilidade de ocorrência de florações tóxicas de cianobactérias.

Como efeito desse processo, muitos reservatórios e lagos já não estão aptos a cumprir a função primária de abastecimento doméstico. Também é colocada em risco a manutenção da vida dos seres aquáticos. Águas eutróficas de reservatórios estão ainda relacionadas a maiores custos do tratamento da água, danos a usinas hidroelétricas e a atividades recreativas e à queda no valor das propriedades próximas a ambientes afetados.

Sistemas tropicais e subtropicais, devido às suas características físicas como precipitação e temperaturas mais elevadas do que ambientes temperados e maiores problemas de poluição, devido à recente e desorganizada expanção da urbanização, aparentam ser relativamente mais vulneráveis à eutrofização (LEWIS, 2002; HUSZAR et al., 2006). Apesar do salto significativo do desenvolvimento nos últimos anos, os países emergentes ainda sofrem com entraves políticos e a falta de investimento em infraestrutura e pesquisa.

A compreensão dos fatores que propiciam a ocorrência da eutrofização artificial e predominância de cianobactérias potencialmente tóxicas é importante não só no tocante à proteção do meio ambiente e saúde humana, mas também para permitir o desenvolvimento econômico. Uma gestão adequada dos reservatórios requer entendimento sobre o funcionamento desses sistemas. Sendo a produtividade primária a base do seu metabolismo, estudos sobre o fluxo de energia e nutrientes na comunidade fitoplanctônica são fundamentais para compreensão dos mecanismos que influenciam a qualidade de água em reservatórios tropicais.

Sendo a maior parte dos estudos sobre a interação entre nutrientes e a microbiota aquática realizada em países desenvolvidos de clima temperado (e.g. VOLLENWEIDER 1968; SCHINDLER, et al. 2008; SCHINDLER, 2012), os processos biológicos em ambientes tropicais e subtropicais são governados por fatores ainda não esclarecidos totalmente.

De acordo com a ideia mais clássica sobre a limitação da produtividade primária, a redução do aporte de fósforo é geralmente apontada como a maneira mais eficiente para o controle da eutrofização em lagos (SMITH & SCHINDLER, 2009). Isso porque algumas cianobactérias filamentosas possuem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico em formas orgânicas, o que contribui continuamente para a reposição desse nutriente.

Porém, mais recentemente, a literatura tem expandido suas opiniões sobre a atuação dos nutrientes no crescimento das algas. Cada vez mais é admitida uma co-limitação ou mesmo limitação pela disponibilidade de nitrogênio em lagos e reservatórios (LEWIS & WURTSBAUGH, 2008; CHAFFIN, et al., 2013; PEARL et al., 2014). Estudos sobre a assimilação do nitrogênio pelo fitoplâncton têm aumentado nos últimos 15 anos. (Figura 1).

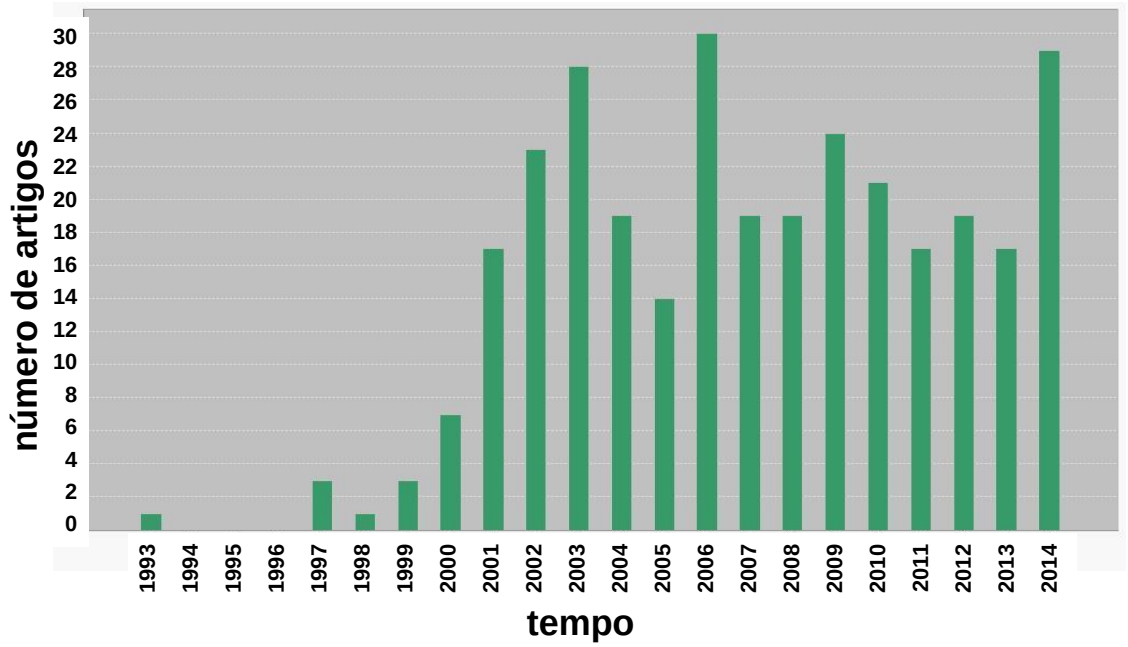


Figura 1: Artigos disponíveis na plataforma *Web of Sciences* que citam a co-limitação/limitação do crescimento fitoplanctônico pelo nitrogênio. Fonte*: Web of Sciences* (2015), palavras-chave: “phytoplankton, nitrogen, limitation, co-limitation”.

Até o momento, poucos são os estudos sobre a assimilação do nitrogênio em lagos e reservatórios tropicais. A falta de conhecimento sobre o assunto é preocupante, uma vez que, a remoção de nitrogênio é tecnicamente mais difícil e mais custosa do que a do fósforo (IETC-UNEP, 2010).

Em corpos de água temperados, foram desenvolvidas algumas pesquisas sobre os fatores intervenientes na assimilação do nitrogênio, tais como a disponibilidade de fósforo e fontes nitrogenadas (GLIBERT et al., 2014, PEARL

et al., 2011), características da população fitoplanctônica (DORCHT, 1990; DONALD et al., 2013) e condições ambientais (PRÉSING et al, 2001). Em regiões neotropicais, tais estudos são ainda mais escassos. Os trabalhos disponíveis foram frequentemente desenvolvidos em lagos, e não em reservatórios.

Entre os poucos exemplos encontrados de pesquisas sobre assimilação do nitrogênio em sistemas subtropicais e tropicais estão os de WURTSBAUGH et al. (1985); GU et al. (1997); MCCARTNEY et al.(2007); PEARL et al. (2014).

Portanto, esta pesquisa está entre as primeiras a investigar os processos de assimilação de nitrogênio pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais. Espera-se que os resultados permitam uma melhor compreensão de como a poluição nitrogenada afeta o ecossistema aquático em comparação com estudos realizados em outros tipos de ambientes aquáticos e diferentes tipos clima, o reconhecimento dos principais fatores intervenientes em cada caso e subsídios para o manejo adequado dos reservatórios tropicais e subtropicais.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal da pesquisa foi estudar a dinâmica da comunidade fitoplanctônica e os processos de assimilação de diversas formas de nitrogênio (amônio, nitrato e ureia) em ambientes subtropicais usando como objeto de estudo dois reservatórios com diferentes graus de trofia no Estado de São Paulo.

2.1 Objetivos específicos:

I correlacionar o comportamento da comunidade fitoplanctônica com a assimilação de nitrogênio e observar qual a forma preferencial de nitrogênio utilizado pela comunidade (amônio, nitrato ou ureia).

II Investigar se a magnitude do processo de assimilação das formas nitrogenadas se relaciona com a disponibilidade de luz na coluna de água.

III Examinar a influência do estado trófico sobre a taxa de assimilação das formas nitrogenadas.

IV Avaliar a influência da escala temporal na assimilação de nitrogênio através de medições em diferentes estações do ano.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Reservatórios: nutrientes e eutrofização

Reservatórios são obras de engenharia nas quais um barramento gera um acúmulo de água na bacia de drenagem (HUTCHINSON, 1957). O volume, a profundidade e as características hidrológicas, assim como outras características físico-químicas e biológicas, variam amplamente entre os reservatórios, dependendo da função para qual foi construído e das características locais (EPA, 2000).

Reservatórios cumprem um papel importante na bacia hidrográfica, pois contribuem com diferentes ciclos biogeoquímicos da bacia ao aumentarem o tempo de detenção hidráulico, afetando a qualidade da água a jusante (RUEDA et al., 2006; CUNHA et al., 2014). De maneira geral, a maior parte da água, nutrientes e carga de sedimentos que chegam ao reservatório é oriunda dos tributários principais do sistema aquático. Isso permite, ao longo de um gradiente em direção a barragem, a compartimentalização do reservatório em três zonas teóricas com características físicas, químicas e biológicas distintas (THORTON, 1990) (Figura 2).

(I) Zona de rio: apresenta um canal relativamente estreito e com a massa de água bem misturada. Embora a velocidade da água seja decrescente, forças advectivas são suficientes para transportar material particulado, o que gera turbidez e consequente possível limitação aos produtores primários.

(II) Zona de transição: com o aumento da sedimentação, pode ser verificada uma elevação da profundidade de penetração da luz.

(III) Zona lacustre: apresenta funcionamento semelhante aos lagos, com baixa sedimentação de partículas inorgânicas e suficiente penetração da luz para promover a produção primária, podendo apresentar-se estratificada.

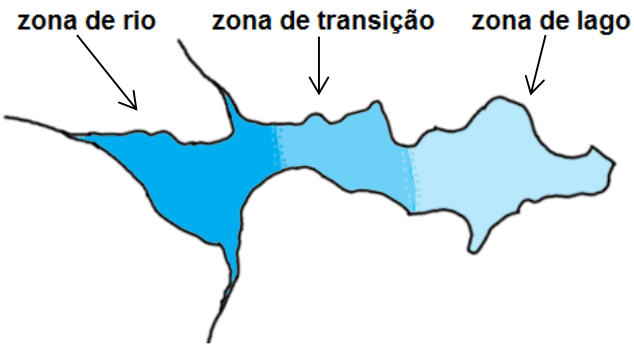


Figura 2: Compartimentação em um reservatório segundo Thorton et al. (1990).

Além da origem, reservatórios distinguem-se de lagos naturais por apresentarem forças de circulação horizontal e vertical produzidas pelas suas rotinas operacionais. A vazão vertida, o tempo de retenção e a altura de tomada da água, por exemplo, trazem consequências às variáveis físicas, químicas e biológicas que influenciam a distribuição e a sucessão das comunidades biológicas, além de sua produção da biomassa (RIGOSI & RUEDA, 2012).

Reservatórios, com seu regime lêntico, menor atenuação luminosa e tempos de residência relativamente longos, tendem a criar ambientes propícios ao desenvolvimento do fitoplâncton (ELLIOTT, 2010). Adicionalmente, a bacia de drenagem dos reservatórios costuma ser maior que a de lagos de dimensões equivalentes, promovendo o acúmulo de nutrientes e tornando-os ambientes suscetíveis à eutrofização cultural (BURFORD et al., 2007).

O termo eutrofização se refere ao conjunto dos efeitos físicos, químicos e biológicos decorrentes do aumento na concentração de nutrientes em um ambiente aquático. A eutrofização é um processo natural relacionado à sucessão ecológica no qual, ao longo do tempo, sedimentos e nutrientes se acumulam no fundo do corpo hídrico, gerando um aumento da biomassa e a perda de profundidade, culminando com a transformação do lago em uma área alagada (CALIJURI et al., 2006).

Algumas atividades humanas, porém, afetam significativamente os ciclos dos nutrientes, causando um rápido e contínuo aumento em suas concentrações nos ecossistemas aquáticos (GRUBER & GALLOWAY, 2008; BOUWMAN et al., 2011). Com isso, a resposta ambiental ao acúmulo de nutrientes é acelerada. A essa eutrofização de origem antrópica, dá-se o nome de eutrofização cultural.

Dentre os efeitos mais característicos da eutrofização cultural, estão a rápida proliferação de vegetais aquáticos (macrófitas) e floração de algas e cianobactérias (fitoplâncton), o que resulta em um encadeamento de alterações físicas, químicas e biológicas ao corpo de água (Figura 3). Esse crescimento, muitas vezes explosivo, é uma consequência do processo de fotossíntese, pelo qual as plantas, algas e cianobactérias produzem matéria orgânica e biomassa utilizando a luz e os nutrientes do meio.

Toda essa matéria orgânica, ao morrer, tende a migrar para o fundo da coluna de água. A decomposição dessa matéria orgânica pode levar à depleção do oxigênio dissolvido, ocorrência de processos anaeróbios, liberação de toxinas e alterações químicas na água que culminam com a queda da biodiversidade e o encarecimento do tratamento da água (SMITH & SCHINDLER, 2009).

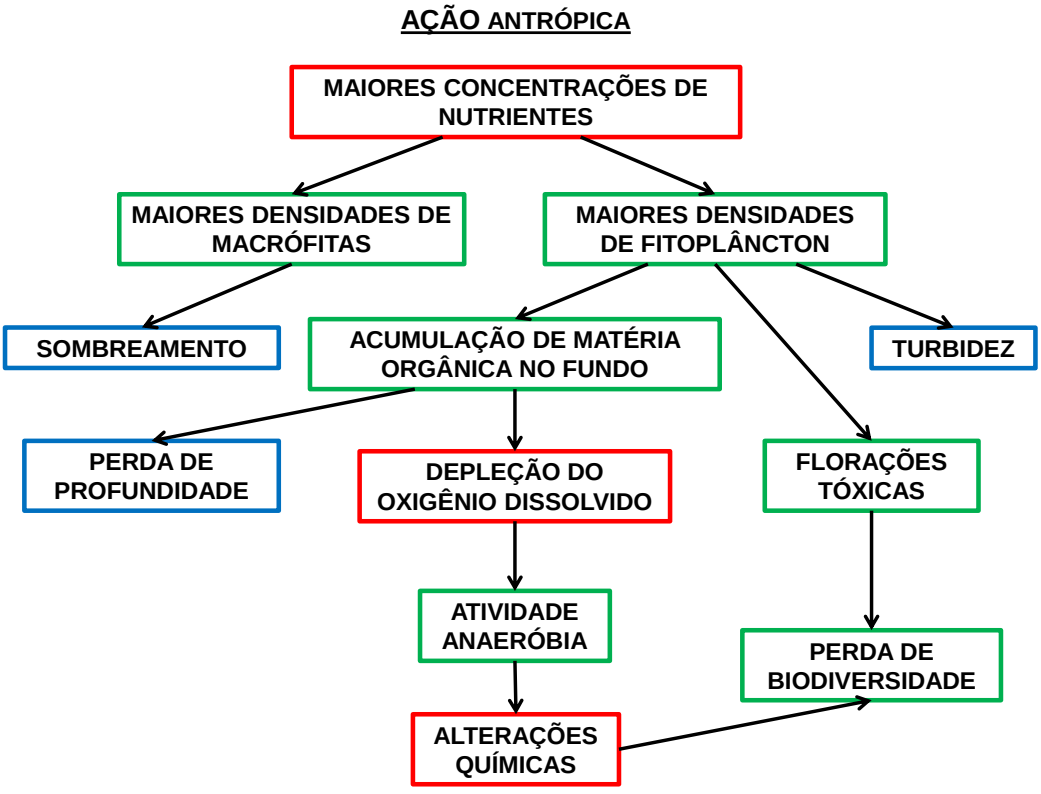


Figura 3: Diagrama com o encadeamento dos principais efeitos físicos (azul), químicos (vermelho) e biológicos (verde) do aumento nas concentrações de nutrientes em um sistema aquático devido à ação antrópica (eutrofização cultural).

A eutrofização em lagos, reservatórios e rios, pode ser considerada um reflexo do modo pouco cuidadoso com o qual a sociedade está tratando o destino final dos seus resíduos, bem como práticas pouco conscientes de uso do solo (ABELL et al. 2011).

Apesar do objetivo primário dos reservatórios geralmente ser a geração de energia elétrica, são também importantes fontes de água para o abastecimento público, regularização de vazões, irrigação, aquicultura, indústria, recreação e navegação, tendo tanto fins econômicos, quanto sociais e ambientais (FONTANA et al., 2014). Portanto, as alterações negativas na qualidade das águas decorridas da eutrofização são indesejáveis e afetam os serviços ecossistêmicos.

O fósforo (P) e o nitrogênio (N) são geralmente apontados como os causadores da eutrofização em lagos e reservatórios (VOLLENWEIDER, 1968). Desse modo, o controle da eutrofização geralmente é focado na restrição da carga destes nutrientes nos sistemas (ABELL, et al. 2011; XU, et al., 2010).

A maior parcela dos experimentos relativos ao papel dos nutrientes em metabolismo de lagos e reservatórios descreve o comportamento de ambientes temperados (*e.g*. SMITH & SCHINDLER, 2009; SCHINDLER, 2012). A extensão à qual o conhecimento limnológico desenvolvido em latitudes mais altas pode ser aplicado aos lagos e reservatórios tropicais ainda não é clara. Algumas pesquisas desenvolvidas em reservatórios tropicais sugerem que o crescimento da biomassa parece não responder de maneira igual à concentração de nutrientes em regiões climáticas diferentes (LEWIS, 2002; HUSZAR et al., 2006).

Reservatórios tropicais e subtropicais parecem ser mais eficientes em produzir biomassa a partir de uma concentração de nutrientes em ralação à sistemas temperados (LEWIS, 2002) devido à temperatura e disponibilidade luminosa mais elevadas e ao maior aporte de nutrientes em períodos de chuvas intensas (JONES & POPLAWSKI, 1998).

O incremento populacional e o desenvolvimento econômico do Brasil se traduzem em um maior consumo de água e de energia elétrica. Apesar de o país ser considerado privilegiado quanto aos recursos hídricos, os mesmos não são distribuídos uniformemente em seu território. As grandes fontes de água localizam-se em regiões de baixa densidade populacional e parcela considerável dos mananciais urbanos encontra-se com a qualidade da água deteriorada.

Para atender à demanda crescente por água e energia elétrica, a construção de reservatórios se tornou alternativa recorrente. Recentemente, Goldemberg & Lucon (2007) contabilizaram cerca de 450 grandes reservatórios no país. Dificuldades

em assegurar o uso múltiplo das águas têm se tornado frequentes devido ao conflito entre usos incompatíveis (e.g. abastecimento público e destinação final de águas residuárias) e ao crescente aumento do estado trófico dos reservatórios brasileiros (BERMANN, 2007).

3.2 A comunidade fitoplanctônica em reservatórios

A comunidade fotossintetizante em reservatórios é constituída por vegetais superiores aquáticos (macrófitas), microalgas e cianobactérias suspensas na coluna de água (fitoplâncton) ou aderidas ao substrato (perifíton).

Reservatórios, por suas características físicas como maior profundidade, grande aporte externo de nutrientes e uma alta radiação solar, tendem a formar um ambiente propício para a proliferação do fitoplâncton (ELLIOTT, 2010). Os padrões de mistura e os gradientes de luz e nutrientes promovem um habitat favorável para diferentes grupos funcionais (REYNOLDS et al., 2002; PADISÁK, 2009; CUNHA & CALIJURI, 2011). O fitoplâncton tende a dominar a produção primária nesse tipo de ambiente.

Além de exercer a importante função de produção de oxigênio, propiciando a manutenção da vida aquática aeróbia , graças às suas altas taxas metabólicas, o fitoplâncton geralmente é o principal responsável pela produtividade primária em reservatórios (MIECZAN, 2010). Devido ao rápido metabolismo e curto ciclo de vida, a composição, os padrões de distribuição espacial e variabilidade temporal das populações fitoplanctônicas respondem de maneira imediata às perturbações humanas nas bacias de drenagem. Dessa forma, tais organismos podem servir como indicadores de qualidade ambiental (CALIJURI et al. 2006; TANIWAKI et al., 2013).

As cianobactérias estão entre os principais grupos fitoplanctônicos em reservatórios tropicais e tendem a se tornar dominantes em ambientes eutrofizados (KOSTEN et al., 2012, SOARES et al., 2013). A presença desse grupo é especialmente problemática devido às toxinas produzidas por algumas cepas de determinadas espécies (VAN APELDOORN et al., 2007). Essas toxinas afetam a fauna aquática e impossibilitam diversos usos da água.

Em vista disso, a Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde define que, sempre que o número de cianobactérias no ponto de captação exceder 20.000 indivíduos.mL^{-1}, durante o monitoramento, é exigida a análise semanal de cianotoxinas na água na saída do tratamento.

O aparecimento de florações está se intensificando em frequência e em extensão devido a mudanças climáticas, como o aumento da concentração de dióxido de carbono e o aumento da temperatura global (PAERL et al., 2011; O'NEIL et al., 2012). O entendimento desta comunidade é fundamental para o preparo de planos de proteção e manejo dos sistemas aquáticos visando a garantir a manutenção de todos os usos da água em longo prazo.

3.3 Fatores limitantes ao fitoplâncton: ênfase na disponibilidade de fósforo e nitrogênio

Diversos fatores são apontados como limitantes para o fitoplâncton. Além da concentração de nutrientes, a disponibilidade luminosa parece ter papel regulador do desenvolvimento fitoplanctônico, principalmente em ambientes eutrofizados ou em situações em que o sombreamento reduz a penetração de luz e a zona eufótica (HENRY et al., 2006).

Micronutrientes, geralmente metais, são aqueles necessários em quantidades pequenas, e, embora menos comum, podem exercer controle sobre o crescimento fitoplanctônico (NORTH et al. 2007).

Os macronutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo) são aqueles requeridos em maiores quantidades pelos organismos, sendo estes geralmente o principal foco dos esforços para o controle da eutrofização. Uma proporção ótima destes nutrientes é necessária para o máximo crescimento. De acordo com Redfield (1958), essa razão seria 106:16:1 (C:N:P). O nutriente que estiver mais abaixo desta razão seria o limitante.

Tal razão, porém, pode variar de acordo com a disponibilidade de nutrientes no ambiente (GÄCHTER & BLOESCH, 1985) e as necessidades nutricionais dos diferentes grupos de organismos fotossintetizantes (YE & CAI, 2011). Outros pesquisadores (e.g. DZIALOWSKI et al., 2005) apontam que o

crescimento do fitoplâncton não é limitado apenas por falta de apenas um nutriente mas pela relação de combinação destes. No entanto, ainda não há consenso quanto ao uso desses critérios (DOWNING et al., 2001).

Como o carbono é amplamente acessível na forma de dióxido de carbono, dificilmente variações na concentração desse elemento afetariam o desenvolvimento fitoplanctônico, a não ser em situações particulares de águas muito enriquecidas (SCHIPPERS et al., 2004).

Tradicionalmente, o P e o N são apontados como principais promotores do crescimento da biomassa fotossintetizante. Ambientes marinhos e terrestres parecem ser primariamente limitados por N, enquanto lagos e reservatórios são, aparentemente, limitados por P. Essa ideia é conhecida como o "paradigma do fósforo" e é vastamente descrita na literatura (e.g.: SCHINDLER, 2012; STIGEBRANDT et al., 2014).

De acordo com esse paradigma, em ambientes dulcícolas, as algas e cianobactérias esgotam todo P disponível na água antes de esgotarem outros nutrientes. Isso ocorre porque algumas cianobactérias coloniais possuem células especializadas na fixação do gás N_2 em N orgânico, o que contribuiria continuamente para a reposição desse nutriente. Dessa forma, a redução do aporte de P é geralmente apontada como a maneira mais eficiente para o controle da eutrofização em lagos (SMITH & SCHINDLER, 2009).

Contudo, a literatura recentemente tem expandido suas opiniões sobre a atuação dos nutrientes no crescimento das algas. Teorias que observam a limitação da produtividade primária em ambientes aquáticos por múltiplos fatores ganham cada vez mais força. Interações sinérgicas entre os suprimentos de N e P na limitação da produção são descritas em sistemas terrestres e aquáticos (ELSER et al. 2007). Cada vez mais observações atuais admitem uma co-limitação entre recursos devido à composição diversa das comunidades por múltiplas espécies, com adaptações próprias aos fatores ambientais limitantes (DANGER et al., 2008.).

Estudos sugerindo que a produção fitoplanctônica é, mais provavelmente, limitada pela disponibilidade de fosfatos são baseados em experimentos majoritariamente conduzidos em climas temperados e oligotróficos (e.g. VOLLENWEIDER 1968; SCHINDLER, et al. 2008; SCHINDLER, 2012). Porém,

pesquisas realizadas em lagos e reservatórios tropicais/subtropicais não relacionam a concentração de P à biomassa fitoplanctônica de maneira tão estrita (MAZUMDER & HAVENS 1998; HUSZAR et al., 2006). Portanto, a limitação da produtividade por P, embora frequente, não é regra.

A deficiência de N no sistema aquático é descrita como uma barreira à produtividade primária (e.g. WURTSBAUGH et al. 1985; ELSER et al., 2007; CORNELISSENI et al., 2014), atuando como um co-limitante juntamente com o P (LEWIS & WURTSBAUGH, 2008; PEARL et al., 2011; CHAFFIN, et al., 2013).

Uma possível razão para a limitação por N em latitudes menores estaria relacionada à capacidade substancial das cianobactérias em estocar P (ISTVÀNOVICS et al., 2000)., chegando a acumular quantidade suficiente para completar de duas a quatro divisões celulares (MUR et al.,1999).

A fixação do N_2 atmosférico pelas cianobactérias não parece ser suficiente para suprir a demanda do nutriente pela comunidade fitoplanctônica (PATOINE & LEAVITT 2006; SCOTT & MCCARTNEY, 2010; FERBER et al, 2004), pois esse processo suprime parcialmente a fotossíntese (WALSBY et al., 2003) e demanda elevado gasto energético (BEVERSDORF et al., 2013). Segundo Howarth et al. (1988), a fixação de N_2 parece representar apenas cerca de 5% da demanda de N para a produção primária em lagos eutróficos.

Xu et al. (2010) apontaram a razão N:P como uma possível chave para o surgimento de florações tóxicas de cianobactérias. Dolman et al. (2012) observaram que em aguas muito enriquecidas, o crescimento de cianobactérias não se relaciona com as concentrações de P, enquanto que biovolume de cianobactérias aumenta continuamente com o aumento da concentração de N. Isso pode explicar a tendência das cianobactérias em dominar o fitoplâncton em lagos e reservatórios eutróficos, sendo muitas delas produtoras de cianotoxinas nocivas à saúde humana e animal.

3.4 Ciclo biológico do nitrogênio no meio aquático

O N está presente naturalmente nos corpos de água como produto da degradação de compostos orgânicos e inorgânicos do solo e da água, resultado

da excreção da biota, redução do N_2 gasoso da água por cianobactérias e trocas gasosas com a atmosfera.

Atividades humanas também são importantes fontes deste nutriente para o meio aquático, principalmente pelo uso indiscriminado de fertilizantes agrícolas e despejo de águas residuárias sem devido tratamento, trazendo alterações importantes ao ciclo do N (GALLOWAY & COWLING, 2002; BOUWMAN et al, 2011).

Os compostos de N são necessários para diversos processos biológicos, pois, depois do carbono, o N é o elemento exigido em maior quantidade pelas células vivas. Períodos de restrição do N disponível no ambiente podem afetar profundamente a fisiologia do fitoplâncton. A concentração intracelular de N e os níveis de proteínas diminuem e, em resposta, aumenta a reciclagem de N na célula (HOCKIN et al., 2012). Isso pode induzir uma diminuição nos pigmentos fotossínteticos e causar clorose celular, reduzindo a capacidade fotossintética (BEHRENFELD et al., 2008).

Diferentes organismos participam do ciclo do N através de reações nas quais se utilizam de compostos nitrogenados para produzir moléculas necessárias à manutenção de suas células (BOTHE et al. 2007). A desnitrificação se processa em condições com disponibilidade limitada de oxigênio e gera N gasoso (N_2). A fixação do N envolve a captura de N_2 e sua transformação em amônio e, posteriormente, em formas orgânicas nitrogenadas. Esse processo pode ocorrer como resultado de descargas elétricas na atmosfera, de processos industriais (fixação de Haber- Bosch) e da fixação biológica.

Durante seu ciclo biológico, o N passa por diversas reações de oxidação e redução que produzem compostos cujo número de oxidação varia de cinco (como no nitrato) a três (como na amônia) (Figura 4).

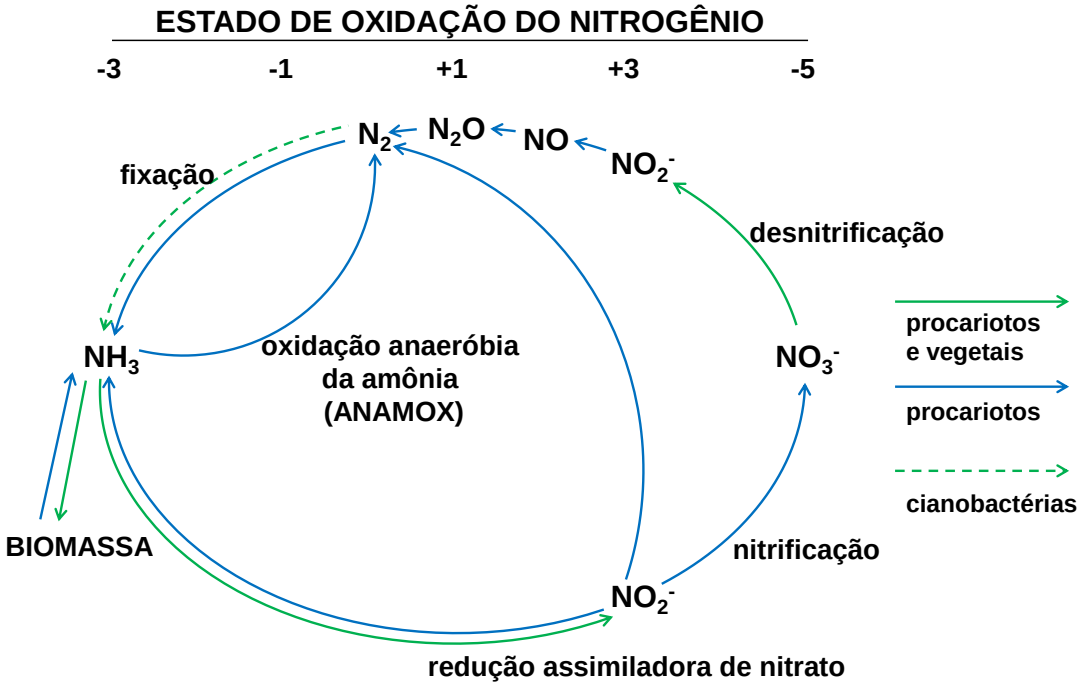


Figura 4: O ciclo biológico do N. Adaptado de Sparacino-Watkins *et al.* (2013).

Várias formas de N podem ser utilizadas pelos seres vivos, incluindo formas orgânicas (NH_3 e ureia) e inorgânicas (NO_2, NO_3 e N_2 pelas cianobactérias através da fixação). A partir da assimilação do N dissolvido, esse elemento passa a estar disponível para o restante da cadeia alimentar na forma de aminoácidos e proteínas.

Informações a respeito dos mecanismos de assimilação das diferentes formas nitrogenadas são limitadas, sendo a maioria dos resultados relativos a estudos com plantas vasculares (BOTHE et al., 2007). Contudo, outros grupos como fitoplâncton e bacterioplâncton também desempenham papel relevante no ciclo do N no meio aquático (BRADLEY et al., 2010; BUNCH & BERNOT, 2012 ; PÉREZ et al., 2014) .

3.5 Assimilação de formas de nitrogênio pelo fitoplâncton

As formas dominantes de N e suas concentrações relativas são importantes para determinar a estrutura da comunidade microbiana em ambientes aquáticos (MULHOLLAND & LOMAS, 2008). Os grupos fitoplanctônicos não possuem capacidade igual para assimilar as diferentes formas de N, suas diferentes capacidades genéticas de utilização dos nutrientes levam a mudanças temporais e

espaciais na abundância e distribuição dos grupos (RUKMINASARI & REDDEN, 2011; FISHER *et al.,* 2013).

Formas combinadas de N são incorporadas às células dos microrganismos fotossintetizantes através de permeases e metabolizadas a amônio, que é incorporado a um esqueleto carbônico através da rota glutamina-sintase/glutamato-sintase. O N então é distribuído pela glutamina ou glutamato para outros compostos orgânicos nitrogenados (FLORES & HERRERO, 2005) (Figura 5).

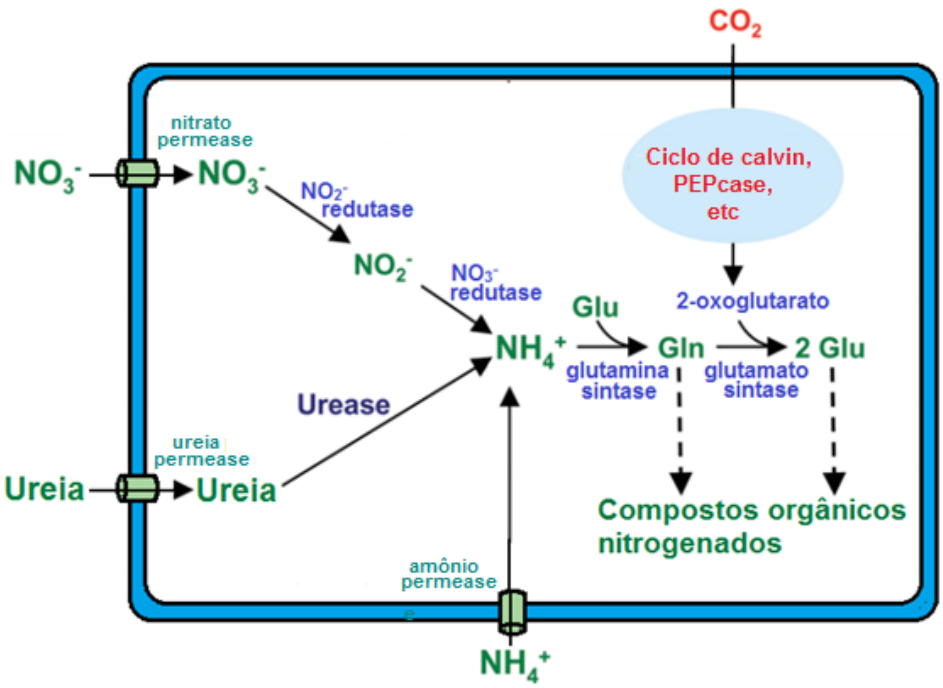


Figura 5: Esquema simplificado das principais rotas de assimilação do N por uma espécie fitoplanctônica hipotética. Existe significativa variação entre os grupos, já que nem todos possuem capacidade genética de assimilar as diversas formas de N. Adaptado de Flores & Herrero (2005).

A fonte preferencial de N e a velocidade de assimilação variam de acordo com a disponibilidade de fontes nitrogenadas (DORTCH, 1990), características da população fitoplanctônica (SHIOMOTO et al, 1994; VARELA & HARRISON, 1999; DONALD et al., 2011) e condições ambientais (PRÉSING et al, 2001).

A assimilação de N no escuro é geralmente considerada um indicador do estado nutricional da célula. Elevadas taxas de assimilação sem a presença da fotossíntese podem indicar estresse nutricional (PAASCHE et al, 1984). Isso

pode significar tanto a falta de N no sistema quanto uma demanda significativa pelo nutriente (KUDELA et al, 1997).

De acordo com REAY et al. (1999), temperaturas maiores tendem a contribuir positivamente com a assimilação de nutrientes por aumentar a afinidade por substratos.

3.5.1 Amônio

Apesar de suas concentrações relativamente baixas em relação às formas inorgânicas no meio aquático, o amônio tem grande importância no ciclo global do N. Suas concentrações também são de interesse à saúde pública e gestão ambiental.

O amônio (NH_4^+) em conjunto com a amônia (NH_3) é denominado nitrogênio amoniacal. O nitrogênio amoniacal é tóxico à vida dos peixes, muitas espécies não suportam concentrações acima de 5 $mg.L^{-1}$. Além disso, ele provoca consumo de oxigênio dissolvido nos corpos de água ao ser oxidado biologicamente. Por estes motivos, a concentração de nitrogênio amoniacal é importante parâmetro de monitoramento da qualidade de águas naturais e integra padrões de qualidade ou potabilidade. (Resolução CONAMA 357/2005; Portaria MS 2914/2011).

O NH_4^+ é uma forma de N energeticamente mais eficiente para o uso celular porque já está reduzida e é um composto intermediário no metabolismo do N, demandando, portanto, pouca energia para sua assimilação (SYRETT, 1981) (Figura 5). O NH_4^+ também é assimilado mais rapidamente e tem uma constante de saturação menor (DORCHT, 1990). Assim, concentrações maiores de NH_4^+ no meio promovem um crescimento mais veloz do fitoplâncton e o possível desenvolvimento de florações (VON RÜCKERT & GIANI, 2004).

Apesar das concentrações geralmente baixas de NH_4^+ em sistemas aquáticos, a assimilação e a regeneração do NH_4^+ parecem estar intimamente pareadas, resultando em curtos períodos de regeneração e em estoque (*pool*) baixo. Consequentemente, mesmo sob baixas concentrações ambientais de NH_4^+, a assimilação pode ocorrer em taxas significativas (YUAN et al., 2012).

Na maioria dos experimentos que compara as diferenças relativas entre a assimilação de fontes do N, o NH_4^+ parece ser preferido às outras fontes (e.g. PRÉSSING et al., 2001; JAUZEIN et al. 2008; DONALD; 2013), favorecendo especialmente grupos fitoplantonicos eucarióticos e cianobactérias incapazes de fixar N atmosférico (VON RÜCKERT & GIANI, 2004).

Cianobactérias em geral aparentam ter preferência por formas reduzidas de N (FLORES & HERRERO, 2005). Donald (2013), em um experimento de enriquecimento de águas superficiais com formas distintas de N, notou que o NH_4^+ favoreceu táxons com maiores taxas de assimilação.

3.5.2 Nitrato

O nitrato (NO_3^-) é um dos íons mais comuns em águas subterrâneas naturais, geralmente ocorrendo em baixos teores nas águas superficiais. Quando encontrados em águas de abastecimento, são considerados compostos tóxicos responsáveis pela doença denominada metahemoglobinemia infantil, que é letal para crianças (o NO_3^- é reduzido a NO_2^- na corrente sanguínea, competindo com o oxigênio livre), e pela potencial formação de nitrosaminas e nitrosamidas no estômago, ambos potencialmente carcinogênicas (ALABURDA & NISHIHARA, 1998). Por isso, a concentração de NO_3^- é um padrão de potabilidade, sendo 10 $mg.L^{-1}$ o valor máximo permitido pela Portaria 2914 de 2011 do Ministério da Saúde.

Para o fitoplâncton, a assimilação do NO_3^- é energeticamente mais custosa que do NH_4^+, necessitando de síntese de NO_2^- e NO_3^--redutases (Figura 5). Dessa maneira, para assimilar o NO_3^-, o fitoplâncton além de gastar energia, deve possuir a informação genética para a síntese das enzimas e dos sistemas de transporte necessários. (MCCARTHY, 1981; SYRETT, 1981).

Vários estudos mostraram que a presença de NH_4^+ no meio aquático exerce influência negativa na utilização do NO_3^- pelo fitoplâncton (e.g. DORTCH, 1990; L'HELGUEN, 2008). Segundo Dortch (1990), se NO_3^- e NH_4^+ estiverem presentes separadamente, a assimilação do NH_4^+ é maior. No caso de NH_4^+ e NO_3^- estarem presentes em conjunto - como geralmente ocorre nos

ambientes naturais, a inibição da assimilação do NO_3^- tende a ocorrer quando a concentração de NH_4^+ é maior que 1 µM. Porém, essa inibição raramente é total, concluindo em sua revisão da literatura, que o efeito negativo do NH_4^+ sobre a assimilação do NO_3^- é geralmente menor ao que lhe é geralmente atribuído.

Varela & Harrison (1999) frisaram que a interação entre NH_4^+ e NO_3^- depende de uma série de fatores, como espécies estudadas, estado fisiológico e condições ambientais.

Alguns grupos como as dinófitas, parecem ter maior afinidade por NO_3^-, podendo predominar em ambientes pobres em N (DORCHT, 1990). Segundo Glibert et al. (2014), cianobactérias são melhores competidoras por NH_4^+ enquanto diatomáceas são melhores competidoras por NO_3^-.

Pouco é sabido sobre o efeito da temperatura na assimilação das diferentes formas de N pelos microrganismos, porém, é sugerido que há uma diferença entre a dependência da temperatura para os sistemas de assimilação do NO_3^- e NH_4^+. Aparentemente, a afinidade ao NO_3^- tende a cair sob temperaturas subótimas, enquanto a assimilação do NH_4^+ não apresenta uma dependência tão clara da temperatura ambiente (REAY et al. 1999).

De acordo com FALKOWSKI & STONE (1975), a presença da NO_3^--permease (uma ATPase NO_3^--ativada), na membrana celular de algumas espécies de fitoplâncton, fomenta a ideia da relação entre a intensidade luminosa e a assimilação do NO_3^-, uma vez que a energia gerada pela fotofosforilação é necessária para o funcionamento da enzima. Mecanismos semelhantes provavelmente devem regular a assimilação do NH_4^+ e da ureia (COCHLAN et al. 1991).

3.5.3 Ureia

O consumo de ureia pelas atividades antrópicas vem aumentando drasticamente, representando 50% dos fertilizantes nitrogenados usados atualmente (GLIBERT, 2006). A ureia também está presente nos dejetos de rebanhos e de seres humanos. O aumento do aporte de ureia devido à ação

humana em lagos e reservatórios pode agravar problemas relativos à eutrofização. Glibert (2006) aponta que áreas onde o uso de N vem aumentando na forma de fertilizantes à base de ureia vêm sofrendo mais com florações potencialmente tóxicas de cianobactérias e dinoflagelados.

Em geral, as concentrações de ureia nos ecossistemas aquáticos são menores que as do NH_4^+ e NO_3^-. Em razão disso, comparando com outras formas nitrogenadas, o papel da ureia é relativamente pouco estudado. No entanto, em situações particulares a concentração de ureia pode exceder as concentrações das formas inorgânicas por curtos períodos de tempo, caso haja uma fonte de poluição nitrogenada recente (GLIBERT *et al.,* 2006; KUDELA *et al*. 2008). Berman & Bronk, (2003) defendem que, apesar da concentração de ureia nos ambientes aquáticos ser geralmente menor que 1 µM-N, é uma importante fonte de N e C para o fitoplâncton.

Segundo Flores & Herrero (2005), devido às menores concentrações ambientais de ureia, a mesma é geralmente assimilada pelo fitoplâncton através de transporte ativo na membrana em resposta à escassez de M no meio. A expressão dos transportadores de ureia é afetada pela presença de formas alternativas de N, especialmente NH_4^+. A inibição da assimilação de ureia pelo NH_4^+ ou NO_3^- é descrita em alguns estudos (e.g. REES & SYRETT 1979; JAUZEIN et al. 2008).

Contudo, as estratégias da comunidade fitoplanctônica na utilização do N dependem não apenas da habilidade fisiológica das algas e cianobactérias em usar determinado substrato, mas também do estado fisiológico (estado nutricional, taxa de crescimento, etc.) das células (GLIBERT et al., 2006).

3.6 Quantificação da assimilação de formas nitrogenadas

Estudos sobre o ciclo biológico do N e a fisiologia da biota aquática não estariam completos sem a quantificação da assimilação pelos organismos aquáticos. Além disso, processos como desnitrificação e nitrificação teriam sua compreensão limitada.

Uma das formas de quantificar a assimilação é por meio de bioensaios. Nesse método, culturas fitoplanctônicas ou amostras naturais de água não

filtrada, são dispostas em frascos fechados, aos quais uma concentração conhecida de nutrientes é adicionada. As mudanças resultantes dessa adição (aumento na fotossíntese, biomassa, biovolume algal, etc.) em um intervalo determinado de tempo são medidas. No caso de bioensaios com água proveniente de um ambiente cujas concentrações de nutrientes sejam muito elevadas, diluições ou remoção dos nutrientes por osmose reversa podem ser necessárias para que os efeitos fisiológicos nos microrganismos possam ser observados (PEARL & BOWLES, 1987).

Assim, o uso de bioensaios para quantificar a assimilação de nutrientes em comunidades provenientes de lagos e reservatórios eutróficos ou hipereutróficos pode ser problemático (DODDS et al., 1993). Além disso, a incubação geralmente é mais demorada para que o fitoplâncton atinja um crescimento detectável, e durante esse tempo a composição comunidade fitoplanctônica pode se alterar. Mesmo assim, essa técnica ainda é bastante usada, pois tem a praticidade e o custo relativamente mais baixo a seu favor.

Outra forma de quantificar a assimilação de N é a técnica dos traçadores isotópicos. A primeira aplicação dessa metodologia para o estudo do metabolismo do N pelo fitoplâncton foi descrita há 53 anos em um estudo sobre o ciclo biológico do N em ambiente marinho (DUGDALE et al., 1961). Essa técnica consiste no acréscimo de compostos nitrogenados marcados com isótopos raros do átomo de N que, ao serem assimilados pelos organismos aquáticos, permitem uma medida direta de traçadores, permitindo ainda uma medição clara do movimento do N de um *pool* para outro.

O uso de traçadores isotópicos permitiu um aumento do entendimento do metabolismo de nutrientes pelos organismos, por possibilitar uma observação direta do transporte, assimilação e fixação de nutrientes, e por identificar e quantificar transformações como nitrificação e redução do NO_3^- (LIPSCHULTZ, 2008).

O N possui diversos isótopos (Tabela 1), desses, o ^{14}N é o isótopo estável mais abundante, constituindo 99,634% do N encontrado naturalmente; o segundo isótopo estável mais abundante é o ^{15}N (BERGLUND & WIESER,

2009). Os demais isótopos são radioativos e possuem tempo de meia-vida muito curto.

Tabela 1 - Características dos principais isótopos do N

Isótopo	Massa isotópica (u)	Fração molar	Meia-vida (min)
^{13}N	13,00574	-	9,965
^{14}N	14,00307	0,996	estável
^{15}N	15,00011	0,004	estável
^{16}N	16,006	-	0,119
		...	

Fonte: BERGLUND & WIESER (2011)

Dentre os diversos isótopos do N, o ^{15}N e o ^{13}N são os utilizados em pesquisas cientificas, pois podem ser distinguidos do ^{14}N por sua maior massa (^{15}N) ou decaimento radioativo (^{13}N).

O radioisótopo ^{13}N tem uma atividade específica muito alta. A grande vantagem do seu uso é poder ser adicionado e detectado em níveis picomolares em experimentos com minutos de duração. A detecção do decaimento em amostras através de um contador gamma é relativamente simples e rápida (FUHRMAN et al., 1988). Porém, a curta meia-vida requer que o traçador seja rapidamente produzido e purificado *in situ* para uso imediato, o que desencoraja seu uso (ZEHR & MONTOYA, 2007).

O ^{15}N é uma das duas formas isotópicas estáveis do N, sendo bem menos abundante que o ^{14}N, correspondendo aproximadamente a 0,363% do N terrestre (BERGLUND & WIESER, 2011). Graças à sua raridade ambiental, desde o desenvolvimento da técnica no trabalho pioneiro de Dugdale & Goering (1967), o ^{15}N vem sendo largamente utilizado como traçador em estudos sobre fluxo de nitrogênio na coluna de água ou no sedimento, tanto em tempos curtos ou longos de incubação e em volumes grandes ou pequenos (e.g., DUGDALE et al., 1961; TOBIAS et al., 2003; VAN DEN MEERSCHE et al., 2011).

Essa ferramenta é particularmente útil para comparação das taxas de assimilação das diferentes formas de N (DUGDALE & WILKERSON, 1986). As vantagens do método do traçador ^{15}N, especialmente sobre o método de bioensaios, incluem alta sensibilidade, curto tempo de incubação, possibilidade de medição da assimilação bruta (assimilação total + qualquer forma de N

durante a incubação) e possibilidade de estimativa da assimilação em situações de grandes taxas de regeneração.

A quantificação do isótopo ^{15}N é feita, geralmente, por espectrometria de massa, ou por conversão do N da amostra à N_2 para posterior análise por cromatografia gasosa, o que eleva o custo da análise (FUHRMAN et al., 1988).

Porém, o problema mais notável relacionado ao uso do ^{15}N como traçador é a necessidade de um acréscimo desse nutriente, em sua forma isotópica rara, em quantidade suficiente para que a detecção pelo método seja possível. Esse acréscimo poderia ser suficiente para aumentar consideravelmente a concentração do nutriente em relação às concentrações ambientais, o que pode perturbar o sistema (MCCARTHY & BRONK, 2008).

Para minimizar esse efeito, não são recomendadas adições do traçador ^{15}N em quantidade superior a 10% à da concentração ambiental (LIPSCHULTZ, 2008). Com isso o uso do traçador na quantificação da assimilação de N em ambientes com baixas concentrações naturais de nutrientes pode ser problemática.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

Os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita estão localizados na Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê (SMT), que por sua vez está inserida na Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos número 10 (UGRHI-10), denominada Tietê/Sorocaba (Figura 6).

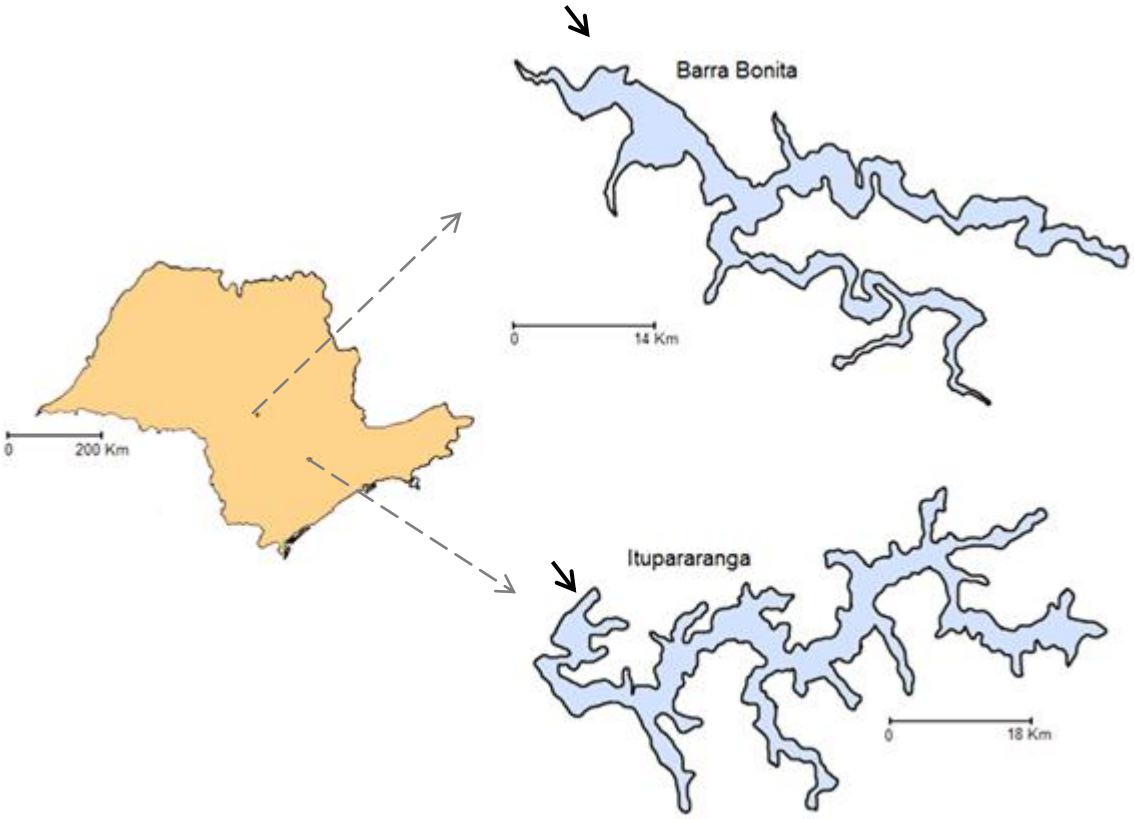


Figura 6: Localização dos reservatórios Itupararanga e Barra Bonita no Estado de São Paulo; as setas pretas indicam os locais das barragens.

O Estado de São Paulo possui 22 UGRHIs e delimitadas pelo Plano Estadual de Recursos Hídricos 2004 –2007 (SÃO PAULO, 2004). Nessas unidades, estão distribuídos 64 reservatórios de grande porte (Figura 7).

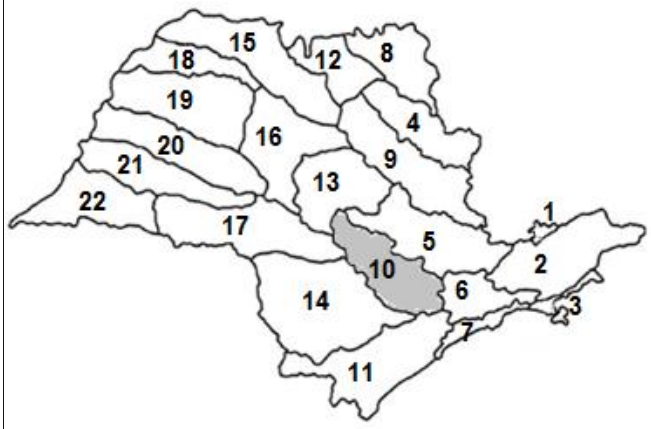
Localização da Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos no Estado de São Paulo	UGRHI		Reservatórios
	Número	Nome	por UGRHI
	1	Serra da Mantiqueira	-
	2	Paraíba do Sul	4
	3	Litoral Norte	-
	4	Pardo	3
	5	Piracicaba/ Capivarí/Jundiaí	4
	6	Alto Tietê	12
	7	Baixada Santista	1
	8	Sapucaí-Mirin/Grande	10
	9	Mogi-Guaçu	-
	10	Tietê	2
	11	Litoral Sul	7
	12	Pardo/Grande	2
	13	Tietê-Jacaré	3
	14	Alto Paranapanema	4
	15	Turvo/Grande	1
	16	Tietê-Batalha	1
	17	Média Paranaparena	1
	18	São José dos Dourados	1
	19	Baixo Tietê	2
	20	Aguapei	-
	21	Peixe	1
	22	Pontal do Paranapanema	4

Figura 7: Localização das 22 UGRHIs do Estado de São Paulo onde estão distibuídos 64 reservatórios. Destaque para a UGRHI-10 onde se localizam os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita

Essa UGRHI abrange 54 municípios, dos quais 34 com sede em seu território e 20 possuindo apenas áreas rurais e conta com uma população de 1.845.831 habitantes numa área de 11.829 Km^2. Trata-se de uma das regiões mais populosas e desenvolvidas do Estado de São Paulo, com perfil industrial forte, cujos principais setores são: eletroeletrônica, química, metalurgia, mecânica, agroindústria, alimentícia e têxtil. Na agricultura, destaca-se o cultivo da cana-de-açúcar em maior escala e da laranja em menor escala, assim como batata, hortaliças e reflorestamento. Seu balanço hídrico apresenta uma situação de atenção, com disponibilidade total de 39 $m^3.s^{-1}$ e demanda de 12,4 $m^3.s^{-1}$ (SEMA, 2011).

A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê (SMT), segundo um levantamento da Secretaria da Meio Ambiente é a região de melhor desempenho econômico da UGRHI-10, com empreendimentos industriais de grande porte nas cidades de Alumínio, Sorocaba e Votorantim que afetam diretamente a qualidade das águas da bacia (SEMA, 2011).

A SMT situa-se na porção sudeste do Estado de São Paulo, mais precisamente entre os paralelos 23°45’37’’ e 23°35’02’’de latitude S e 47°21’00’’

e 46°57’29’’ de longitude W (CBH-SMT, 2008). De acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger, a bacia STM apresenta clima tropical úmido com inverno seco. A temperatura média anual é de 20ºC (CBA, 2006). Os solos são dos tipos argissolos, latossolos e cambissolos (IPT, 2005).

Além de problemas quanto à qualidade, a bacia é considerada crítica em termos de disponibilidade hídrica devido a demandas elevadas da agricultura e indústria. (SIGRH, 2001).

Outro problema à proteção da qualidade SMT está no fato dela receber a vazão das outras duas áreas mais ricas do Estado e com graves problemas de saneamento: a Região Metropolitana de São Paulo pelo Rio Tietê e a Região Metropolitana de Campinas pelo Rio Capivari, prejudicando os usos de suas águas.

4.1.1 O Reservatório de Itupararanga

O Reservatório de Itupararanga é formado pelo barramento do Rio Sorocaba cujos principais afluentes são os rios Sorocamirim e Sorocabuçu. A área de drenagem do reservatório abrange os municípios de Alumínio, Cotia, Ibiúna, Mairinque, Piedade, São Roque, Vargem Grande Paulista e Votorantim (Figura 8).

O reservatório de Itupararanga possui volume útil estimado em 286 milhões de m³. A barragem possui 415 m de comprimento, 38 m de altura e gera uma queda bruta de 206 m. Começou a ser construído em 1911, pela empresa *São Paulo Eletric Company,* conhecida como “*Light*” e entrou em operação em 1914 para a geração de energia elétrica. Em 1976, a empresa Votorantim Metais, antiga Companhia Brasileira de Alumínio (CBA) ficou encarregada da operação da Usina Hidroelétrica (UHE) para geração de energia para a indústria de alumínio (ANEEL, 2004).

Outros usos da água se processam no reservatório, sendo um manancial importante para a regularização da vazão do Rio Sorocaba e para o abastecimento de água para a população de entorno. É utilizado para abastecimento dos municípios de Votorantim e Sorocaba, com captação realizada pelo SAAE (Serviço Autônomo de Água e Esgoto) de Sorocaba, que utiliza 1,51 $m^3.s^{-1}$ deste manancial, com atendimento a cerca de um milhão de

pessoas, o que representa 100% do abastecimento público em Votorantim e 90% em Sorocaba. Irrigação, navegação e recreação compõem os demais usos (CBH-SMT, 2008).

Em 1998, a Lei Estadual 10.100/1998 (SÃO PAULO, 1998), posteriormente alterada pela Lei Estadual 11.579/2003 (SÃO PAULO, 2003), criou a Área de Proteção Ambiental (APA) de Itupararanga ao redor do reservatório, visando à proteção do manancial e da diversidade biológica e ao disciplinamento do processo de ocupação da região. A APA de Itupararanga ocupa uma área de aproximadamente 93.000 ha e abrange os municípios de Alumínio, Cotia, Ibiúna, Mairinque, Piedade, São Roque, Vargem Grande Paulista e Votorantim (BEU *et al.,* 2011).

Apesar da APA de Itupararanga, e das suas margens serem classificadas como Área de Proteção Permanente (APP), os entornos do reservatório são predominantemente ocupados por cultivos agrícolas, correspondendo a cerca de 42% da área (SARDINHA *et al*., 2008). Também tem sido observado o aumento da ocupação por empreendimentos imobiliários. Bernardi (2011) identificou conflitos entre o zoneamento preconizado para a APA e os planos diretores dos municípios por ela abrangidos, o que limita a efetividade dessa área para a preservação desse sistema aquático.

Não há registro de lançamento direto de esgotos domésticos no Reservatório de Itupararanga. (CETESB, 2014). Porém, o Rio Sorocaba, antes de entrar no Reservatório de Itupararanga, sofre alterações ambientais que afetam sua qualidade, especialmente quando recebe a carga de seus afluentes. O Rio Una, outro afluente do reservatório recebe o descarte de efluentes domésticos e industriais sem tratamento da cidade de Ibiúna (SALLES *et al,.* 2008; SARDINHA 2008). O Rio Sorocabuçu e o Rio Sorocamirim carregam cargas difusas devido intenso uso de fertilizantes fosfatados e corretivos agrícolas em seus entornos (PEDRAZZI et al. 2014).

De acordo com Cunha (2012), a influência das cargas provenientes dos rios formadores e afluentes ao reservatório são maiores que as das cargas de fontes difusas (agricultura), o que sugere que o déficit de coleta e tratamento de

esgotos domésticos é o principal responsável pelo progressivo enriquecimento do Reservatório de Itupararanga.

Durante 15 anos de monitoramento, a CETESB observou uma significativa modificação na situação do reservatório, especialmente para os resultados de clorofila-a e nutrientes, apontando uma tendência ao incremento do estado trófico de suas águas. (CETESB, 1998 - 2013).

A CETESB destaca o aumento da participação das cianobactérias na comunidade fitoplanctônica, cujas densidades superaram o valor de alerta relativo ao padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria MS 2.914/2011 (BRASIL, 2011), 10.000 células.mL^{-1}. Casali (2014) observou densidades de cianobactérias superiores a 20.000 células.mL^{-1} assim como a presença da cianotoxina saxitoxina, porém em concentração inferior ao limite de 3 µg.L^{-1} permitido pela Portaria MS 2.914/2011 (BRASIL, 2011).

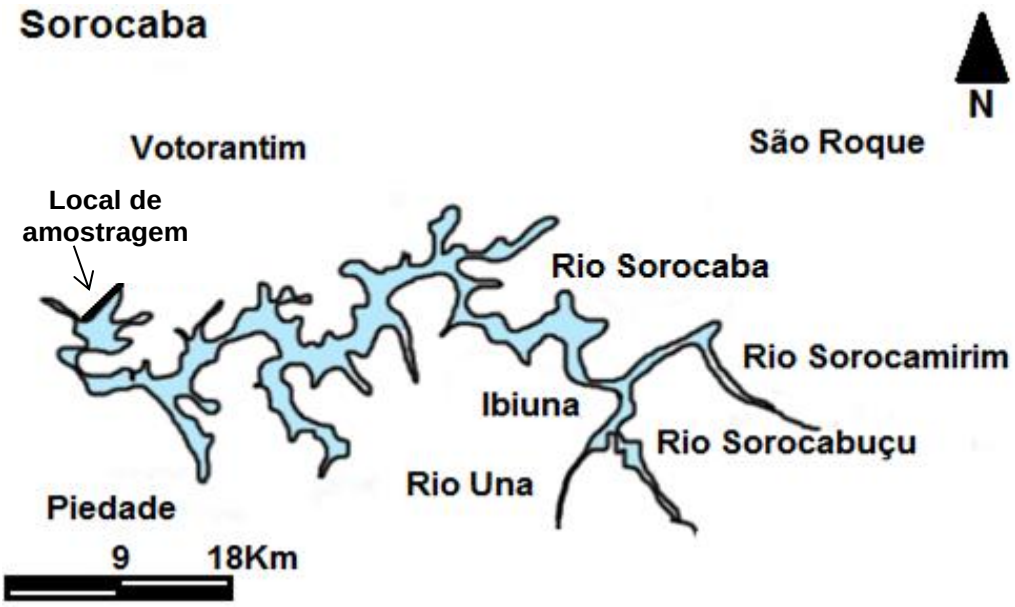


Figura 8: Reservatório de Itupararanga com principais tributários e principais áreas urbanas ao redor destacadas. (Adaptado de PETESSE, 2007)

4.1.3 O Reservatório de Barra Bonita

O reservatório de Barra Bonita é formado pelo represamento dos rios Tietê e Piracicaba, contando com a participação de vários outros afluentes menores (Figura 9). O reservatório é constituído por dois braços ao longo dos

principais tributários e um corpo central que compreende a planície aluvial (PETESSE, 2007).

Sua construção teve início em 1954 e começou a operar em 1963, com o objetivo de fornecer energia hidrelétrica. Inicialmente, este reservatório era gerenciado pela Companhia Energética de São Paulo (CESP), que foi privatizada em 2000 e desde então vem sendo gerenciado pela AES-Tietê. Atualmente, é também utilizado para transporte fluvial (Hidrovia Tietê- Paraná), irrigação, turismo, lazer, pesca, abastecimento urbano e como suporte ao desenvolvimento do complexo industrial da região (ANEEL, 2006).

Barra Bonita é o primeiro de um complexo de seis grandes reservatórios na porção média do Rio Tietê à jusante da cidade de São Paulo. Está localizado entre a latitude 22°29'S e longitude 48°33'W, entre os municípios de Barra Bonita e Igaraçu do Tietê. Está a uma altitude de 430 m (ANTONIO, 2004) e abrange 10 municípios: Barra Bonita, Anhembi, Botucatu, Dois Córregos, Piracicaba, Santa Maria da Serra, São Pedro, Igaraçú do Tietê, Mineiros do Tietê e São Manuel (MARTINS, 2000).

Na bacia do reservatório são desenvolvidas atividades industriais, principalmente têxteis, alimentícias, de papel e papelão e usinas de açúcar e álcool (CETESB, 2014). A vegetação dominante, ao seu redor, é a monocultura intensiva de cana de açúcar, seguida de pastagens cultivadas (PETESSE, 2007). De acordo com Buzelli & Cunha-Santino et al. (2013), essas atividades são responsáveis por acelerar o processo de eutrofização no manancial.

Os fragmentos de vegetação remanescentes mais significativos referem-se às Unidades de Conservação, como a APA de Corumbataí-Botucatu-Tejupá e a APP de Barra Bonita (WISNIEWSKI, 1998).

De acordo com um levantamento do Sistema Integrado de Gerenciamento de Recursos Hídricos de São Paulo (SIGRH, 2001) sua qualidade é prejudicada principalmente pelas cargas provenientes da Região Metropolitana de São Paulo. A situação é agravada pela contribuição dos rios Jundiaí e Capivari que cortam a Região Metropolitana de Campinas, e ao desaguarem no Rio Tietê, inviabilizam a utilização do rio neste trecho.

Os rios Tietê e Piracicaba também contribuem para esse processo, pois, transportam efluentes domésticos e industriais de grandes centros urbanos. As bacias desses rios são as mais industrializadas do estado de São Paulo (PRADO & NOVO, 2006). Maia (2009) indica que o braço do reservatório formado pelo Rio Tietê é o mais afeta negativamente a qualidade de suas águas, pois que apresenta teores mais elevados de material orgânico, provindo dos esgotos domésticos e industriais dos grandes centros urbanos.

Desde 1978 o reservatório é monitorado pela CETESB e já era indicado como eutrófico, a partir de 2007 até o ultima avaliação em 2013, o reservatório passou a ser classificado como hipereutrófico mostrando um alto grau de fertilização de suas águas (CETESB, 1978-2013).

Figura 9: Reservatório de Barra Bonita com principais tributários e áreas urbanas ao redor destacadas. (Adaptado de PETESSE, 2007).

4.2 Amostragens

As amostragens foram realizadas trimestralmente entre outubro de 2013 e julho de 2014 (Tabela 2) para abranger as variações naturais das condições climáticas nos reservatórios estudados, possibilitando a avaliação da influência da sazonalidade na assimilação das diferentes formas de N pela comunidade fitoplanctônica. As coletas foram efetuadas nas proximidades da barragem de

cada sistema aquático, correspondendo à zona de lago. A escolha dessa região foi devido às condições plenamente lênticas e com menor interferência de tributários.

Tabela 2: Datas em que foram realizadas as quatro coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro de 2013 e julho de 2014

Reservatório	Data			
	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	4ª Coleta
Itupararanga	30/10/2013	03/02/2014	05/05/2014	14/07/2014
Barra Bonita	28/10/2013	05/02/2014	07/05/2014	16/07/2014

Com base no perfil de radiação solar fotossinteticamente ativa (RSFA), determinado com auxílio de um radiômetro (Quanta-Meter Ly-Cor, faixa de 400 a 700 nm), foi realizada a coleta de água com auxílio de uma garrafa de Van-Dorn em duas profundidades diferentes, correspondendo a 50% e 10% da RSFA disponível na superfície da água para observar o efeito da disponibilidade de luz na assimilação de N.

4.3 Variáveis Climatológicas

4.3.1 Precipitação, Temperatura do ar, Direção e Velocidade dos ventos

Os dados de precipitação pluviométrica (mm), temperatura do ar (ºC), velocidade ($m.s^{-1}$) e direção (°) dos ventos entre outubro de 2013 e junho de 2014 foram obtidos junto à Votorantim Energia para o reservatório de Itupararanga. Os dados para o mês de julho de 2014 para Itupararanga e entre outubro de 2013 e julho de 2014 para Barra Bonita foram obtidos através do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Os dados climatológicos foram analisados em escala horária, diária, mensal ou anual, dependendo da variável.

4.3.2 Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa

A Radiação Solar Fotossinteticamente Ativa (RSFA) incidente e subaquática ($\mu E.m^{-2}.s^{-1}$) foi determinada *in situ* com radiômetro (Quanta Meter Li-Cor, LI-1.400) com faixa de sensibilidade entre 400 – 700 nm.

Para a construção de um perfil vertical, a RSFA subaquática foi medida a cada 10 cm da coluna de água até 2 m de profundidade, e em seguida a cada 50 cm.

4.4 Variáveis abióticas da água

4.4.1 Temperatura da água, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e transparência da água

A temperatura da água (°C), oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) e pH foram medidos com uma multi-sonda (Yellow Springer, 556 MPS). As medições foram realizadas nas mesmas profundidades em que foram aferidos os valores de RSFA.

A profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds), profundidade de zona eufótica (Zeuf) e transparência da água foram estimadas com base na leitura do Disco de Secchi (WETZEL & LIKENS, 1991).

4.4.2 Nutrientes e Sólidos Totais

Após a coleta, amostras de água das duas profundidades foram filtradas no caso dos nutrientes dissolvidos, congeladas e transportadas para o Laboratório de Biotoxicologia em Águas Continentais e Efluentes (*BIOTACE*), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP).

No laboratório foram quantificados os seguintes nutrientes: nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) (método 4.500 Norg; $\mu g.L^{-1}$, Bücchi®), nitrogênio amoniacal (N amon) (método 4.500NH3 B e C; $\mu g.L^{-1}$, Bücchi®), NO_3 (método 4.500NO_3 B; $\mu g.L^{-1}$, espectrofotômetro Hach®), NO_2 (método 4.500NO_2 B; $\mu g.L^{-1}$, espectrofotômetro Hach®), ortofosfato (método 4.500P E- ácido ascórbico; $\mu g.L^{-1}$, espectrofotômetro Hach®), fósforo total dissolvido (PTD) (método 4.500P E; $\mu g.L^{-1}$, espectrofotômetro Hach®) e fósforo total (PT) (método 4.500P E- digestão com perssulfato; $\mu g.L^{-1}$, espectrofotômetro Hach®) de acordo com as metodologias descritas no *Standard Methods* (APHA, 2005) e amônia de acordo com o método colorimétrico de Koroleff (1983).

Utilizando as concentrações de PT e nitrogênio total Kjeldahl, NO_3 e NO_2 em $mol.L^{-1}$, foram calculadas as razões NT:PT. A partir das concentrações de PT

e clorofila-a foi calculado o índice de estado trófico (IET) de Carlson modificado por Lamparelli (2004).

Para a determinação dos sólidos suspensos totais (SST) ($mg.L^{-1}$), sólidos suspensos orgânicos (SSO) ($mg.L^{-1}$) e inorgânicos (SSI) ($mg.L^{-1}$), 500 mL de água das duas profundidades dos dois reservatórios foram filtrados em membranas pré-calcinadas de microfibra de vidro (Millipore AP 20; 47mm de diâmetro e 0,8- 8,0nm de porosidade), e analisadas por gravimetria seguindo os procedimentos do *Standard Methods* (APHA, 2005) no BIOTACE.

4.5 Variáveis bióticas da água

4.5.1 Clorofia-a e feoftina

Os pigmentos fotossintéticos clorofila-a e feofitina também foram determinados nas mesmas duas profundidades em cada reservatório. Em campo, as amostras foram filtradas em membranas de microfibra de vidro (membrana GF/C de 0,45 µm), conservadas no freezer até o momento da extração.

No laboratório BIOTACE, foi feita a extração com etanol 80% e com auxílio de choque térmico. A análise dos extratos foi feita por espectrofotometria (espectofotômetro Hach® 4.000V) seguindo a metodologia descrita no *Standard Methods* (APHA, 2005) e a leitura realizada nos comprimentos de ondas 665nm e 750nm. Para a determinação da clorofila-a ($\mu g.L^{-1}$) e feofitina ($\mu g.L^{-1}$) foram utilizadas as fórmulas (equações 1 e 2), de Nusch (1980) descritas na Norma Holandesa (*Nederlandse Norm*- NEN 6520, 1981):

$$[\text{clorofila} - \text{a}] = 29{,}6\ \frac{\text{v}}{\text{V}_\text{a}\text{S}}[(\text{Eu}_{665} - \text{Eu}_{750}) - (\text{Ea}_{665} - \text{Ea}_{750})] \qquad \text{(equação 1)}$$

$$[\text{feofitina}] = 29{,}6\ \frac{\text{v}}{\text{V}_\text{a}\text{S}}1{,}7[(\text{Ea}_{665} - \text{Ea}_{750}) - (\text{Eu}_{665} - \text{Eu}_{750})] \qquad \text{(equação 2)}$$

Onde:

[clorofila]: concentração de clorofila-a na água (µg.L-1)

[feofitina]: concentração de feofitina na água (µg.L-1)

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 (cm);

29,6: Coeficiente de absorção especifica da clorofila a;

1,7: Razão de rendimento da clorofila-a não acidificada para acidificada.

4.5.2 Contagem e identificação da comunidade fitoplanctônica

A comunidade fitoplântônica dos reservatórios foi analisada nas duas profundidades amostradas. Em campo, amostras para a análise quantitativa e qualitativa do fitoplâncton foram fixadas com lugol acético e armazenadas em local escuro até posterior análise.

Para a contagem, foi utilizado o método das câmaras de sedimentação (UTHERMÖHL, 1958). Os campos foram observados em microscópio ótico invertido Olympus CK2® em aumento de 400 vezes.

Consideraram-se como um indivíduo os organismos unicelulares, filamentos e colônias. Foram calculadas as densidades das espécies fitoplanctônicas (org.mL^{-1}) e a densidade total da comunidade (org.mL^{-1}), além da abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos (%) (APHA, 2005).

$$D = \frac{C \times At}{Af \times F \times V}$$

Onde:

D: densidade total (org.mL^{-1});

C: número de organismos contados;

At: área total do fundo da câmara de sedimentação (mm^2);

Af: área do campo de contagem (mm^2);

F: número de campos contados;

V: volume da amostra sedimentada (mL).

Os organismos foram identificados por meio de chaves dicotômicas específicas (e.g.: ANAGNOSTIDIS & KOMARÉK, 1986, 1989, 1998; BICUDO & MENEZES, 2006; BOURRELY, 1972, 1981, 2002; CASTRO et al., 1991; KOMÁREK & FOTT, 1983; PARRA et al., 1980, 1982 1983; SANT'ANNA et al., 2006).

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 N pelo fitoplâncton em reservatórios subtropicais com diferentes graus de trofia" (Processo FAPESP nº 2014/2088-5).

4.6 Quantificação da assimilação de nitrogênio utilizando traçador ^{15}N

Em campo, a água coletada nas duas profundidades de cada reservatório foram dispostas em frascos de vidro de 250 mL de capacidade, que foram divididos em três grupos. Cada grupo foi enriquecido com um traçador ^{15}N: ^{15}N-NH_4^+ ($^{15}NH_4Cl$), ^{15}N- NO_3^- ($K^{15}NO_3$), ou ^{15}N-uréia $(^{15}NH_2)_2CO$. Esses traçadores foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Isótopos Estáveis (CENA/USP), coordenado pelo Prof. José Albertino Bendassolli.

Para cada traçador, foram utilizados seis frascos, três por profundidade (1 branco e 2 réplicas com o traçador) (Figura 10). Dessa forma, em de cada coleta foram contabilizadas 36 amostras dos dois reservatórios. Ao final do experimento, foram analisadas 144 amostras.

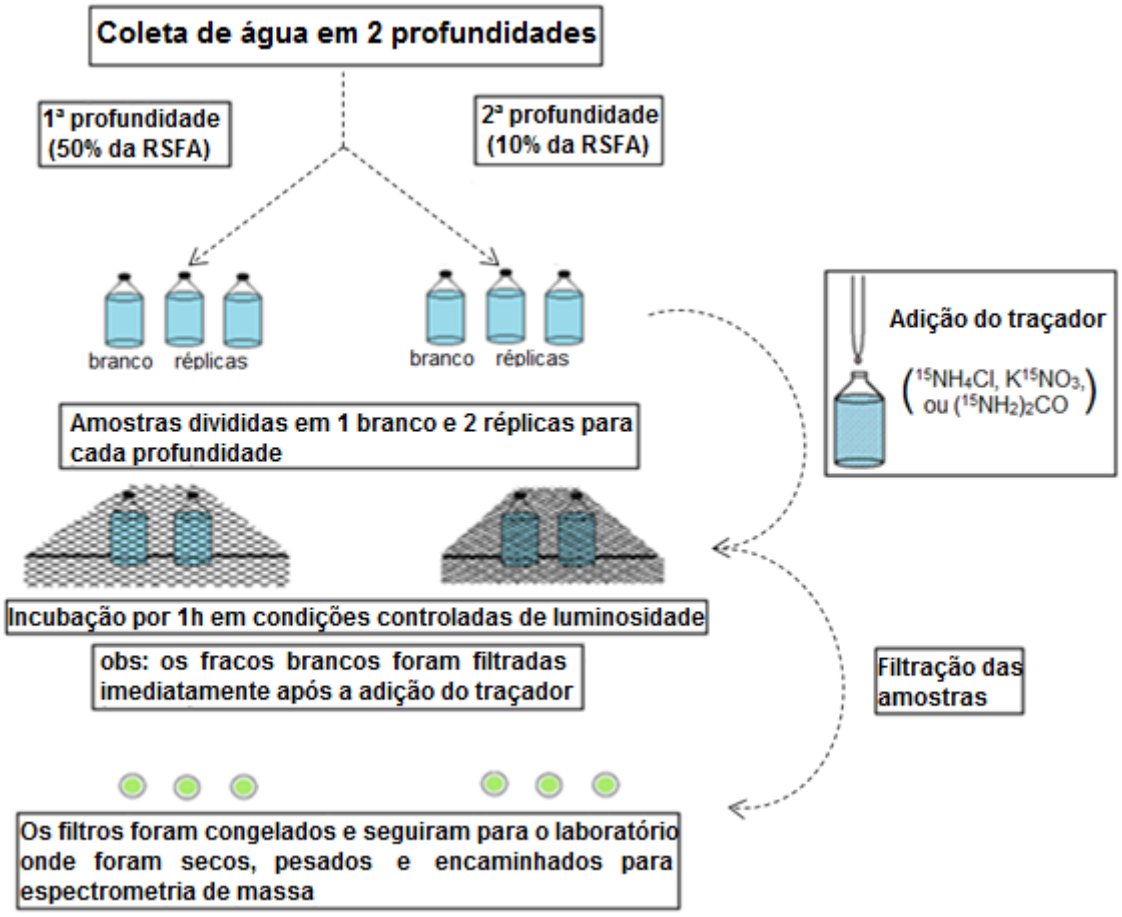


Figura 10.: Esquema do experimento de determinação da assimilação do NH_4^+, NO_3^- e ureia pelo uso do traçador ^{15}N.

Para que os resultados refletissem as condições naturais, o traçador foi adicionado 2-10% da concentração *in situ* observada durante a coleta anterior de cada forma nitrogenada, de acordo com as recomendações de Lipschultz (2008). Por exemplo, se a concentração ambiental estimada de NO_3^- for 1,0 $mg.L^{-1}$, foi adicionado, no máximo, 0,10 $mg.L^{-1}$ de $K^{15}NO_3$. A adição do traçador em uma porcentagem muito superior à ambiental representaria uma situação de enriquecimento, não refletindo a resposta fitoplanctônica às condições ambientais reais verificadas nos reservatórios.

Como o período amostrado entre 2013 e 2014 mostrou-se atípico em relação ao regime pluviométrico e ambos reservatórios passaram por um processo acelerado de eutrofização, a concentração de nutrientes mostrou-se instável entre as coletas. Por vezes, o traçador foi adicionado em concentrações menores que as recomendadas e fora da faixa proposta por Lipschultz (2008).

As incubações foram feitas por 1h, minimizando a regeneração dos nutrientes e diminuindo a chance de diluição isotópica e consequente subestimação dos resultados (HARRISON & HARRIS, 1986; MULHOLLAND & LOMAS, 2008). Os frascos foram expostos à luz solar e cobertos com uma tela de opacidade conhecida a fim de simular a intensidade luminosa do reservatório nas duas profundidades desejadas.

Os frascos brancos de cada profundidade foram imediatamente filtrados (tempo de incubação = 0h). Com isso, pôde-se obter uma estimativa real da concentração natural de ^{15}N nos reservatórios além de dar uma estimativa do quanto o traçador adicionado poderia percolar na membrana filtrante, evitando uma superestimação dos resultados.

Ao final da incubação, as amostras foram filtradas por filtração a vácuo (< 5 psi) e os filtros foram estocados em um freezer (-20ºC). No laboratório BIOTACE, os filtros contendo as amostras foram secos em estufa a 60ºC e acondicionados individualmente em cápsulas de estanho. Tais cápsulas seguiram para análise por espectrometria de massa (ANCA-SL) no Laboratório de Isótopos Estáveis do Centro de Energia Nuclear Aplicada (LIE- CENA/USP).

4.6.1 Cálculo da assimilação das formas nitrogenadas

O uso do isótopo ^{15}N como traçador para medir a taxa de assimilação foi proposto por Dugdale *et al.* (1961) para estudos sobre produção primária do fitoplâncton marinho. Seu emprego se baseia no fluxo de algum composto marcado (e.g. $K^{15}NO_3$) de um *pool* fonte para um *pool* alvo (LIPSCHULTZ, 2008). Por exemplo, ao adicionar certa concentração do traçador $K^{15}NO_3$ (*pool* fonte), o *pool* alvo será o nitrogênio orgânico particulado (NOP) contido no fitoplâncton (Figura 11).

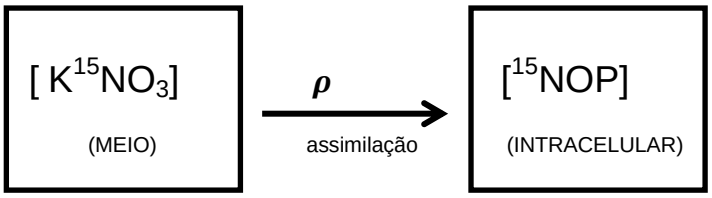


Figura 11: Representação da assimilação de NO_3^- por uma célula.

A equação básica para calcular a taxa de assimilação (taxa de saída de um *pool* para outro) é:

$$\text{taxa} = \frac{\text{Atom\% do pool}_{\text{fonte}}}{\text{Atom\% do pool}_{\text{destino}} \times \text{t}} \times [\text{pool}_{\text{fonte}}]$$

Onde:
Atom% = razão $^{15}N/^{14}N$ em um *pool*;
t = tempo de incubação.

Várias equações derivadas foram desenvolvidas a partir dessa equação básica para medir a taxa de assimilação específica (e.g.: DUGDALE & GOERING, 1967 COLLOS, 1987). A aplicação das diferentes equações é baseada em diferentes preceitos que podem ser válidos para uma situação, mas não para outra, como por exemplo, fontes múltiplas de N ou regeneração (em tempos longos de incubação, a regeneração, não pode ser desprezada) (LEGENDRE & GOSSELIN, 1997). A escolha de qual equação a ser usada deve levar em consideração esses fatores.

Na presente pesquisa, a taxa de assimilação foi calculada seguindo a metodologia proposta por Dugdale & Goering (1967), segundo a qual a velocidade de assimilação específica (V_t^N), ou seja, o N assimilado por unidade

de N particulado, é calculada com base na razão isotópica medida ao final da incubação.

$$V_t^N = \frac{{}^{15}N_{xs}}{\left[\left({}^{15}N_{enr} - {}^{15}N_N\right) \times t\right]}$$

Onde:

$^{15}N_{xs}$ = porcentagem atômica (atom%) excedente ao final da incubação;

$^{15}N_{enr}$ = atom% de ^{15}N do traçador;

t= tempo de incubação;

$^{15}N_N$ é a abundância natural de ^{15}N

A taxa de assimilação (ρ_t^N) é então calculada usando a V_t^N e NOP ao final da incubação (NOP_t):

$$\rho_t^N = V_t^N \times NOPt$$

4.7 Análise dos dados

Para descrever as mudanças nas variáveis abióticas e bióticas entre os dois reservatórios, entre as coletas (variação sazonal) e entre as diferentes profundidades (variação vertical) foi feita análise de variância (ANOVA), admitindo o nível de corte de probabilidade de 5%.

Em seguida, para observar o efeito das variáveis bióticas e abióticas sobre a assimilação das três diferentes formas nitrogenadas testadas, foi realizada uma correlação linear de Spearman (r) para o conjunto de resultados obtidos ao longo dos experimentos para os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita. Estas análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* Statistica 12.0®.

Em seguida, para observar como as variáveis bióticas e abióticas afetaram a assimilação do NH_4^+, NO_3^- e ureia, foi realizada uma análise de correlação canônica (CCA) entre o conjunto de dados das variáveis ambientais e a assimilação das formas nitrogenadas. Nesta análise foi utilizado o *software Past*.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização dos pontos e períodos de amostragem

A Tabela 3 apresenta as condições meteorológicas, temperatura do ar, profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), profundidade da zona eufótica (Zeu, m) e coeficiente de extinção da luz na coluna de água (η) em cada reservatório nos instantes em que ocorreram as coletas.

Durante o período de amostragem, foram observadas variações temporais nas características dos reservatórios. A temperatura foi diretamente afetada pelas condições climatológicas e estações do ano. Nas 1ª e 2ª coletas, houve predomínio de temperaturas mais elevadas em comparação à 3ª e 4ª.

As diferenças no Zds, Zeu e η entre os reservatórios e no decorrer das amostragens estão relacionadas provavelmente às flutuações nas densidades fitoplanctônicas, que por sua vez, foram maiores nos meses mais quentes. Na 2ª coleta foram registradas as menores profundidades das zonas eufóticas nos dois reservatórios, indicando um efeito de auto-sombreamento nas comunidades fitoplanctônicas.

As Figuras 12 e 13 apresentam as condições locais observadas no momento da coleta. Ao longo das amostragens, foi notável o efeito da estiagem sob o reservatório de Itupararanga em função do rebaixamento do nível de água. Em fevereiro, foi observada uma densa cobertura de *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* na região da barragem em Barra Bonita, assim como uma floração da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*.

Tabela 3– Data, horário, condições climáticas, temperatura do ar (°C), profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Zds, m), profundidade da zona eufótica (Zeu, m) e coeficiente de extinção da luz (η, m^{-1}) e índice de estado trófico (IET) em cada uma das coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita

	Itupararanga				Barra Bonita			
	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	4ª Coleta	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	4ª Coleta
Data	30/10/2013	03/02/2014	05/05/2014	14/07/2014	28/10/2013	05/02/2014	07/05/2014	16/07/2014
Hora (h)	9:10	9:30	11:00	9:50	8:50	8:35	8:24	10:00
Condições climáticas	Nublado	Sol	Sol	Sol com neblina e vento	Sol	Levemente nublado	Nublado	Neblina e vento
Temperatura do ar (°C)	18	27	18	15	22	26	18	16
(Zds, m),	1,8	1,1	1,35	1,6	2	0,6	2	1,7
(Zeu, m)	1,0	0,6	0,7	0,9	1,1	0,3	1,1	0,9
η (m^{-1})	0,9	1,5	1,26	1,06	0,85	2,83	0,85	1,0
IET	64 (supereutrófico)	66 (supereutrófico)	62 (supereutrófico)	66 (supereutrófico)	71 (hipereutrófico)	77 (hipereutrófico)	72 (hipereutrófico)	75 (hipereutrófico)

Figura 12 – Aspecto do Reservatório de Itupararanga na região da barragem durante os períodos de amostragem: a) e b) mostram o reservatório no início do ano hidrológico, na estação chuvosa, já c) e d) mostram o reservatório no final do ano hidrológico, em que se notam os efeitos da estiagem. Fotos da autora.

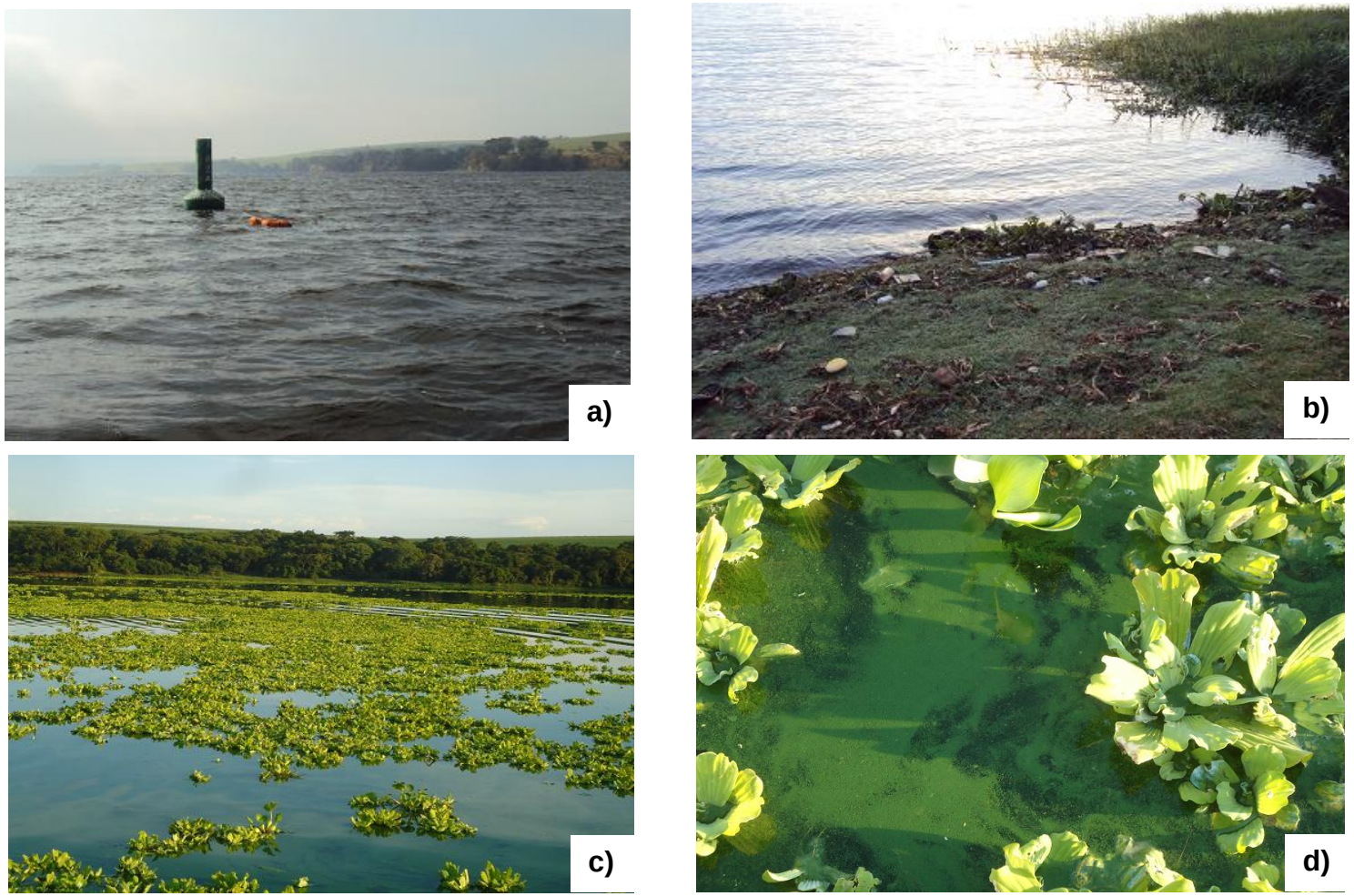


Figura 13 – Aspecto do Reservatório de Barra Bonita durante os períodos de amostragem: a) mostra a região de amostragem, b) mostra a presença de resíduos sólidos nas margens, c) e d) mostram a densa cobertura de macrófitas e a floração da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*. Fotos da autora.

5.2 Variáveis Climatológicas

5.2.1 Precipitação Pluviométrica

O período de coleta correspondeu ao ano hidrológico outubro/2013 - setembro/2014. Esse período foi caracterizado por uma baixa pluviosidade. Como resultado, foi criada uma situação de estresse hídrico em vários dos reservatórios do Estado de São Paulo.

Na Figura 14, estão representadas as lâminas mensais precipitadas no período de coleta, em relação à média de precipitação total mensal dos últimos cinco anos hidrológicos de Itupararanga e Barra Bonita. Comparando-se os dados, pôde-se observar que no ano hidrológico 2013-2014, a precipitação foi abaixo do esperado. A estiagem foi especialmente notada no período chuvoso (outubro à março), havendo um leve incremento nas médias dos meses seguintes.

Em Itupararanga, a maior precipitação no período de amostragem ocorreu no mês de fevereiro (169 mm). Já em Barra Bonita, no mês de janeiro (234,4 mm), mas ainda assim uma lâmina menor que a média dos últimos 5 anos hidrológicos.

O mês jan/2014 foi particularmente atípico, pois as chuvas foram aquém do esperado nos dois reservatórios. O mês de junho foi o mais seco, tendo chovido apenas 27 mm em Itupararanga e 0,4 mm em Barra Bonita, o que certamente influenciou os resultados de jul/2014.

Especificamente nos meses de coleta, as precipitações totais mensais foram, respectivamente em Itupararanga e Barra Bonita: 106,5 e 159,2 mm (out/ 2013), 169,0 e 103,8 mm (fev/2014), 62,5 e 71,6 mm (mai/2014) e 31,0 e 29,6 mm (jul/2014).

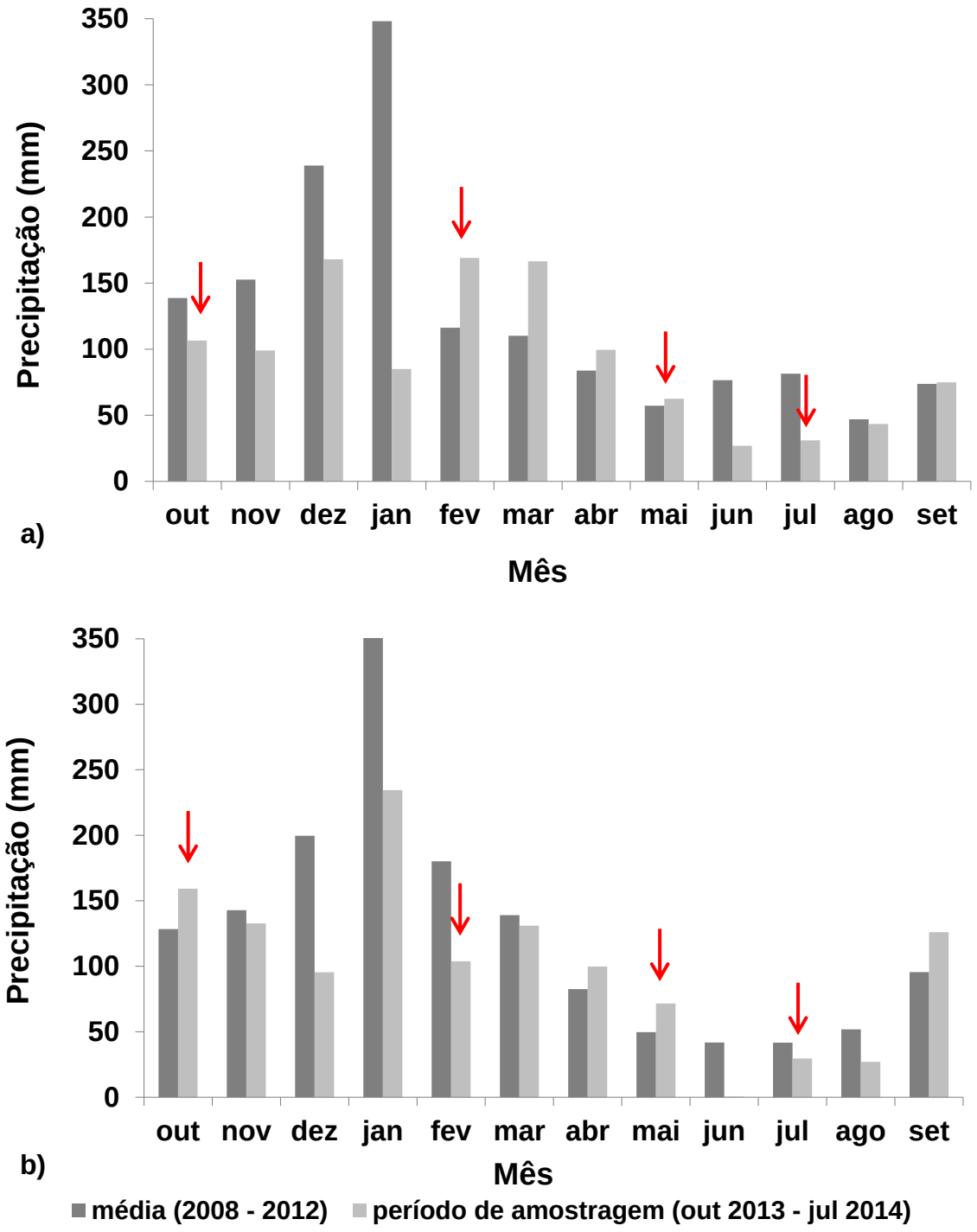


Figura 14: Precipitações mensais em mm, no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014).

O total anual acumulado de chuva durante o ano hidrológico de 2013-2014 foi de 1.132,5 mm, cerca de 26% abaixo da média dos últimos 5 anos hidrológicos em Itupararanga. Em Barra Bonita, a lâmina de água acumulada durante o período de

amostragem foi de 1.121,2 mm, 19 % inferior à média dos anos hidrológicos entre 2008-2013.

Além da precipitação acumulada mensal, também foi obtida a somatória dos valores diários das chuvas nos meses em que ocorreram as amostragens nos reservatórios de Ituparanga e Barra Bonita (Figuras 15 e 16). Durante os dias de coleta não houve registro de precipitação. Em Itupararanga, foi observada baixa precipitação (1,5 mm) apenas três dias antes da coleta de out/2013), sendo o acumulado da semana anterior 13,5 mm de chuva. Em outubro em Barra Bonita, foi observada precipitação um pouco mais intensa (5 mm) no dia anterior à coleta e tendo-se acumulado 44,4 mm de lâmina de precipitação na semana precedente. Em julho foi observada uma precipitação acumulada de 11,5 mm uma semana antes da coleta em Itupararanga e 11,2 mm em Barra Bonita. Nos demais dias de amostragem, não houve ocorrência de precipitações próximas (até uma semana antes).

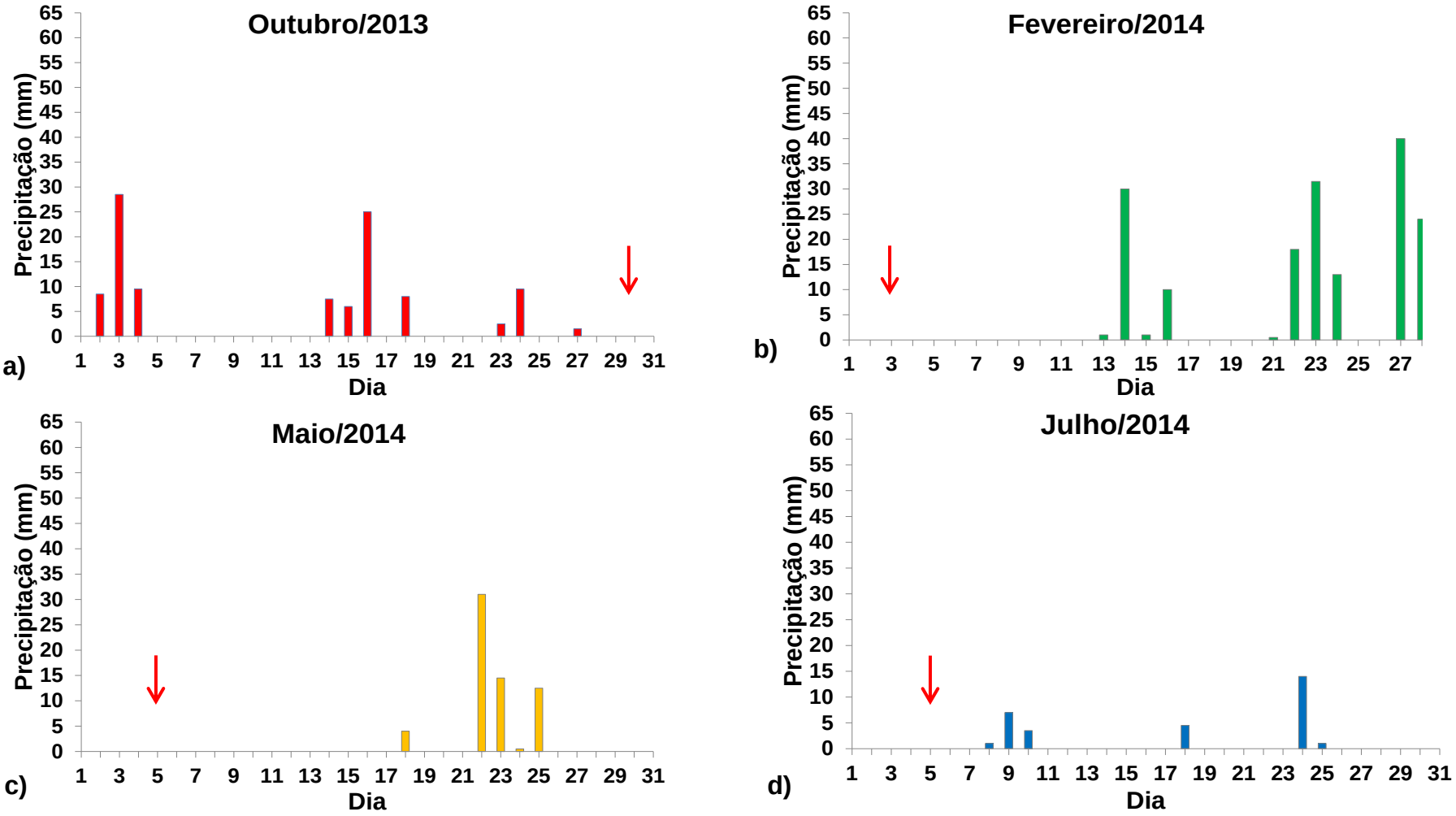


Figura 15 – Precipitação total diária (mm) no Reservatório de Itupararanga durante os meses em que as quatro coletas foram realizadas. A seta vermelha indica os dias nos quais as coletas foram efetuadas: a) 30/10/2013, b) 03/02/2014, c) 05/05/2014 e d) 14/07/2014. Fonte: Votorantim Energia (2008-2014).

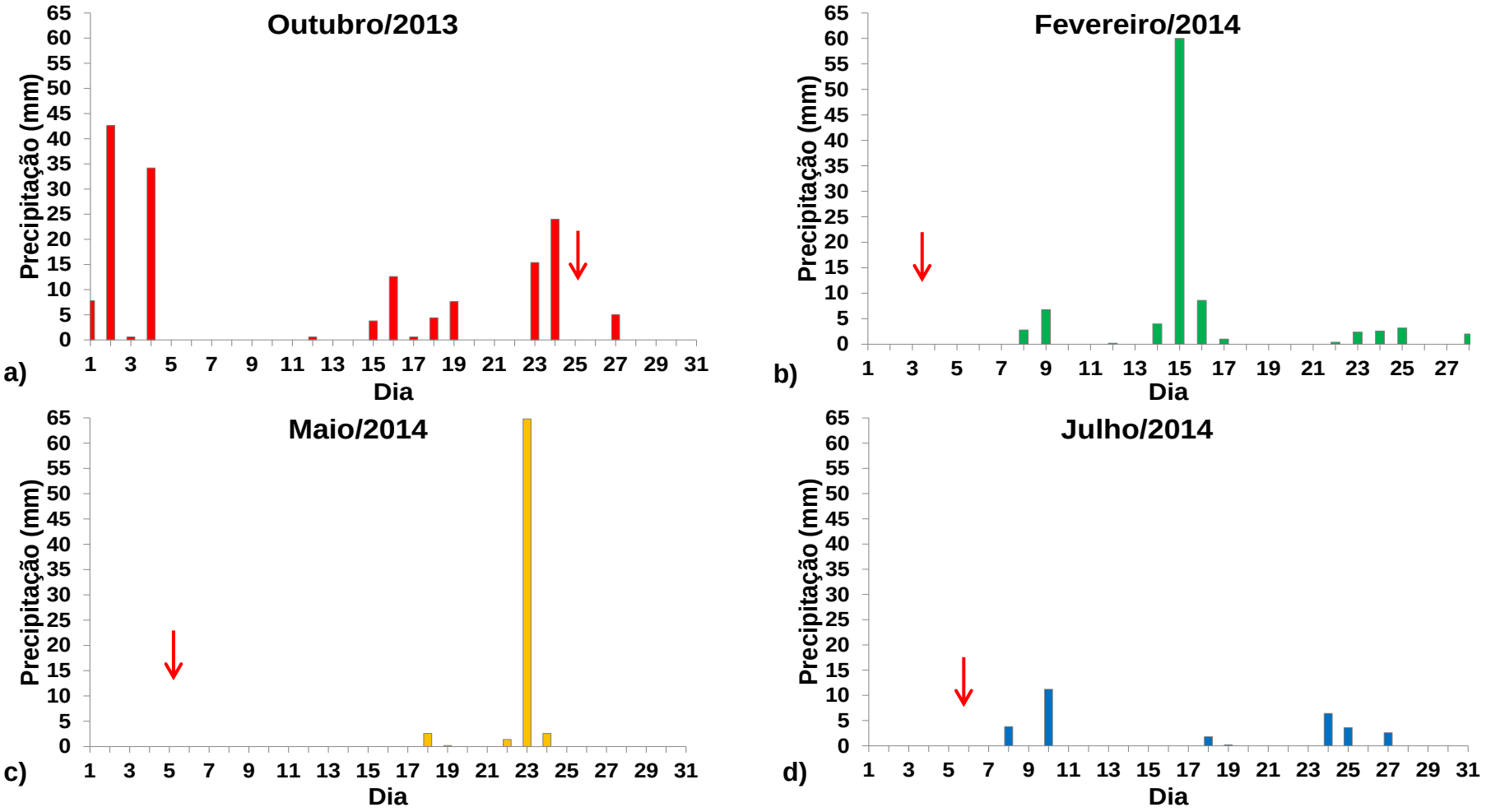


Figura 16 – Precipitação total diária (mm) no Reservatório de Barra Bonita durante os meses em que as quatro coletas foram realizadas. A seta vermelha indica os dias nos quais as coletas foram efetuadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014).

5.2.2 Temperatura do ar

Foram observadas temperaturas médias mais elevadas em Barra Bonita em comparação a Itupararanga (Figura 17). As maiores temperaturas médias mensais nestes reservatórios foram, respectivamente, 23,2°C em janeiro e 26,4ºC em fevereiro. As temperaturas mínimas foram de 16,0°C em Itupararanga e 18,2°C em Barra Bonita.

Especificamente nos meses de coleta, as temperaturas médias mensais foram, em ordem cronológica: 18,0°C, 23,1ºC, 16,3ºC, 17,1ºC em Itupararanga e 22,8ºC, 25,4ºC, 19,3ºC, 18,8ºC em Barra Bonita.

As temperaturas médias mensais em Itupararanga à partir do mês de agosto não foram obtidas por problemas operacionais na estação climatológica localizada no reservatório.

Também foram obtidos os valores médios diários e horários de temperatura para os dias de coleta (Figura 18 e 19). Em Itupararanga, as temperaturas médias diárias foram 15,7°C (30/10/2013), 26,1°C (03/02/2014), 18,3°C (05/05/2014) e 13,5°C (14/07/2014). Em Barra Bonita as temperaturas médias diárias registradas durante as coletas foram 21,2°C (28/10/2013), 30,0°C (05/02/2014), 22,3°C (07/05/2014) e 18,5°C (16/07/2014).

Analisando-se em conjunto o regime de chuvas e a temperatura do ar, dois períodos distintos puderam ser reconhecidos:

- **Período chuvoso (1ª e 2ª coleta)**: período de precipitações mais intensas, com os valores acumulados mensais geralmente acima dos 100 mm, e temperaturas mais elevadas, geralmente acima de 20 ^{o}C (outubro a março).

- **Período seco (3ª e 4ª coleta)**: pouca chuva, geralmente abaixo dos 70 mm e temperaturas mais baixas, abaixo de 20°C (abril a setembro).

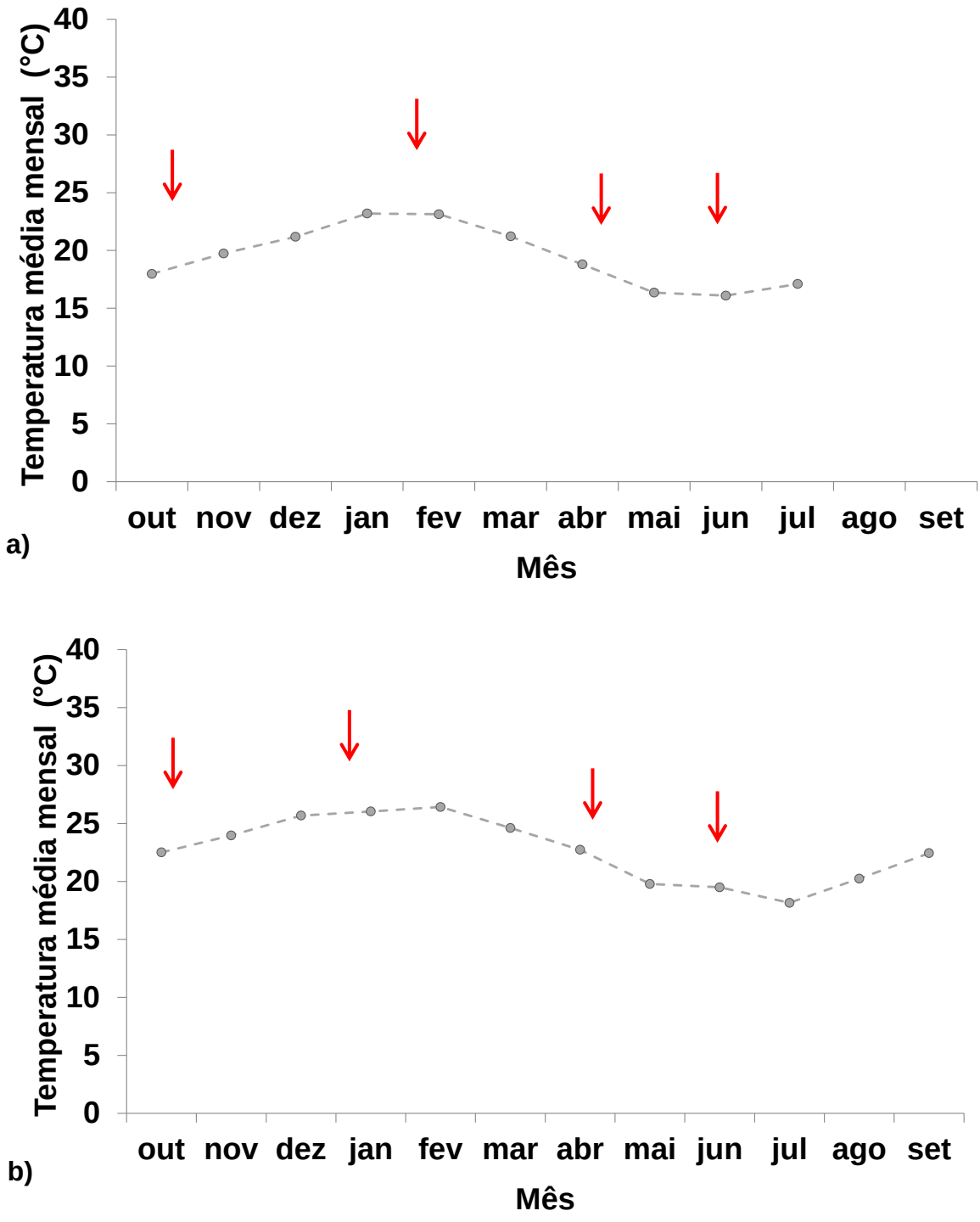


Figura 17: Temperaturas mensais em ºC no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014).

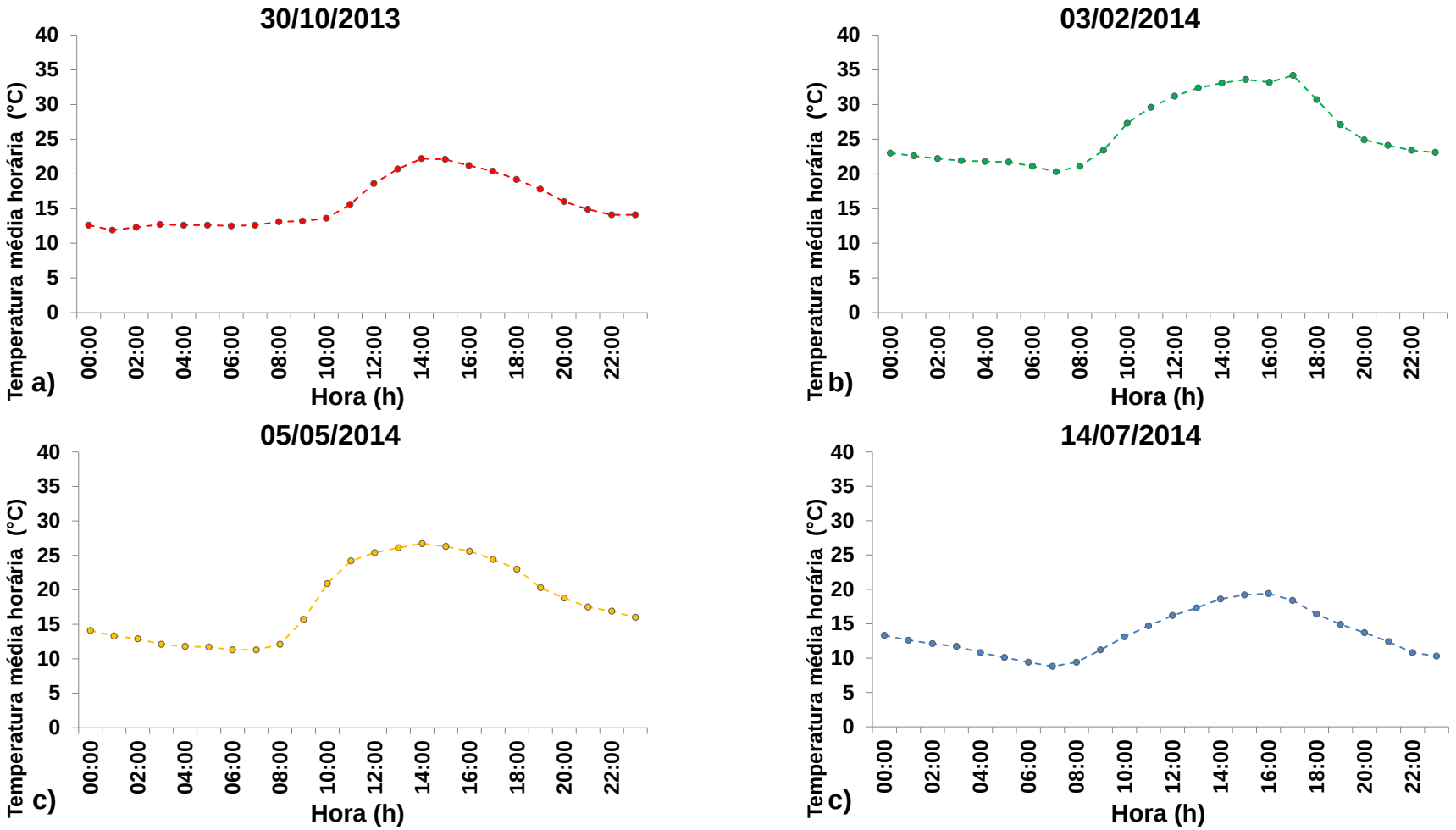


Figura 18 – Temperatura média horária (mm) no Reservatório de Itupararanga durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 30/10/2013, b) 03/02/2014, c) 05/05/2014 e d) 14/07/2014. Fonte: Votorantim Energia (2008-2014).

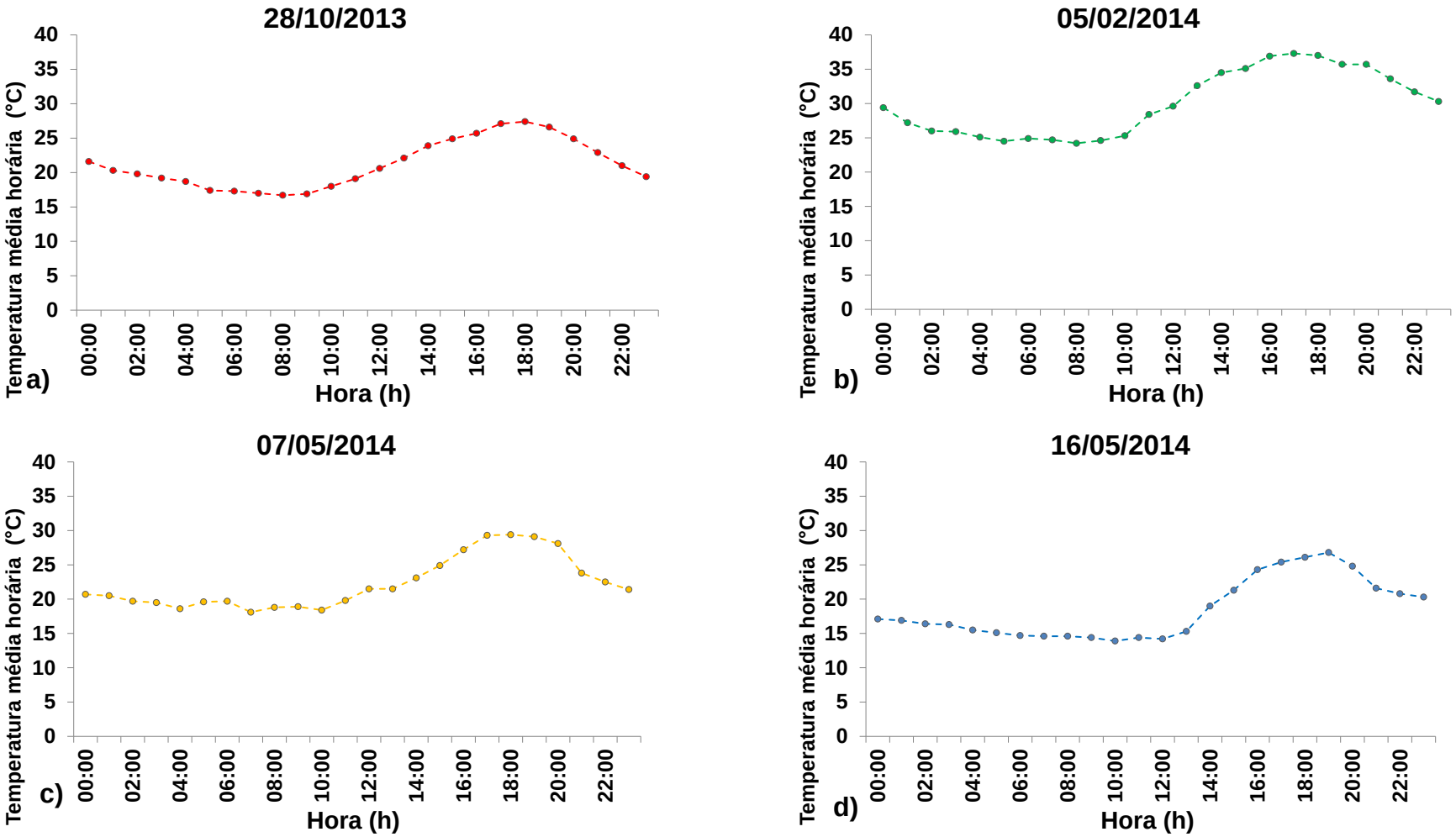


Figura 19 – Temperatura média horária (mm) no Reservatório de Barra Bonita durante os dias em as que quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014).

5.2.3 Direção e velocidade dos ventos

As características dos ventos podem influenciar diretamente a comunidade fitoplanctônica e a ocorrência de florações. No período de coleta entre 2013 e 2014, a velocidade média dos ventos foi de 5,2 $m.s^{-1}$ em Itupararanga e de 4,4 $m.s^{-1}$ em Barra Bonita. As maiores velocidades médias mensais ocorreram em outubro/2013 e em novembro/2013 (8,1 $m.s^{-1}$) em Itupararanga e em Barra Bonita respectivamente (Figura 20).

A análise dos ventos nos dias específicos em que ocorreu cada uma das coletas, por meio de dados horários (Figura 21 e 22), apontou que as coletas realizadas no final de outubro/2013 em Itupararanga e Barra Bonita foram caracterizadas por maiores velocidades (máximos de 6,8 $m.s^{-1}$ e 9,0 $m.s^{-1}$, respectivamente).

Por outro lado, as velocidades foram inferiores nas coletas de mai/2014 e jul/2014, nas quais medições indicaram velocidades próximas ou iguais a zero. Durante a coleta de jul/2014 em Itupararanga as velocidades do vento não foram detectáveis pela estação climatológica.

Usando uma rosa-dos-ventos como referência, foram analisadas as mudanças na direção dos ventos nos dias de coleta (Figura 23 e 24). Em Itupararanga, os ventos tenderam a soprar em direção constante ao longo do dia. Durante a coleta de jul/2014, porém, a velocidade dos ventos não foi detectável, portanto, nessa ocasião, a direção foi indeterminada. Já em Barra Bonita, excetuando a coleta de out/2013, a direção dos ventos tendeu a variar mais durante o dia. Mudanças bruscas na direção dos ventos podem gerar rajadas e promover a homogeneização da coluna de água.

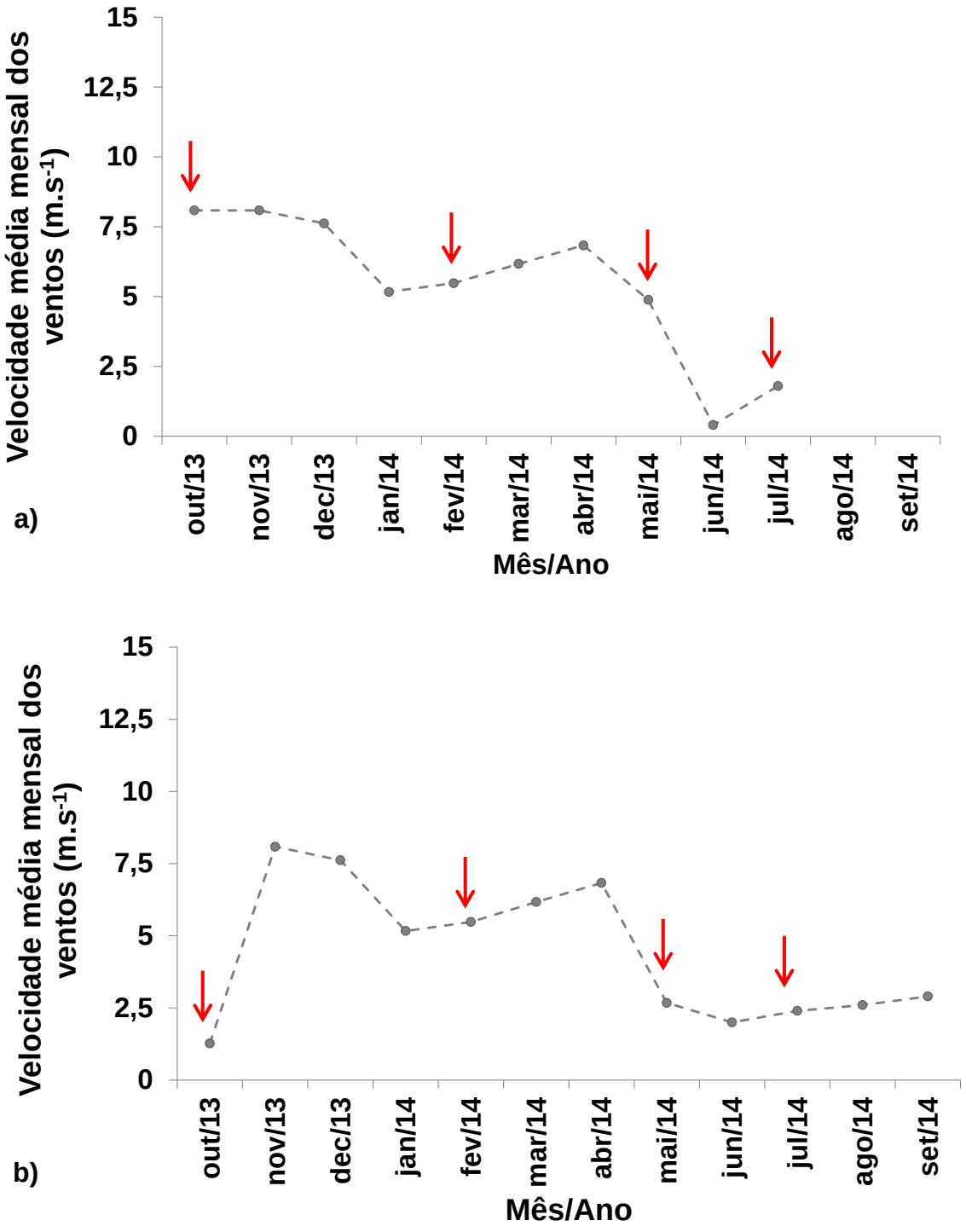


Figura 20: Velocidades médias mensais em $m.s^{-1}$ no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014).

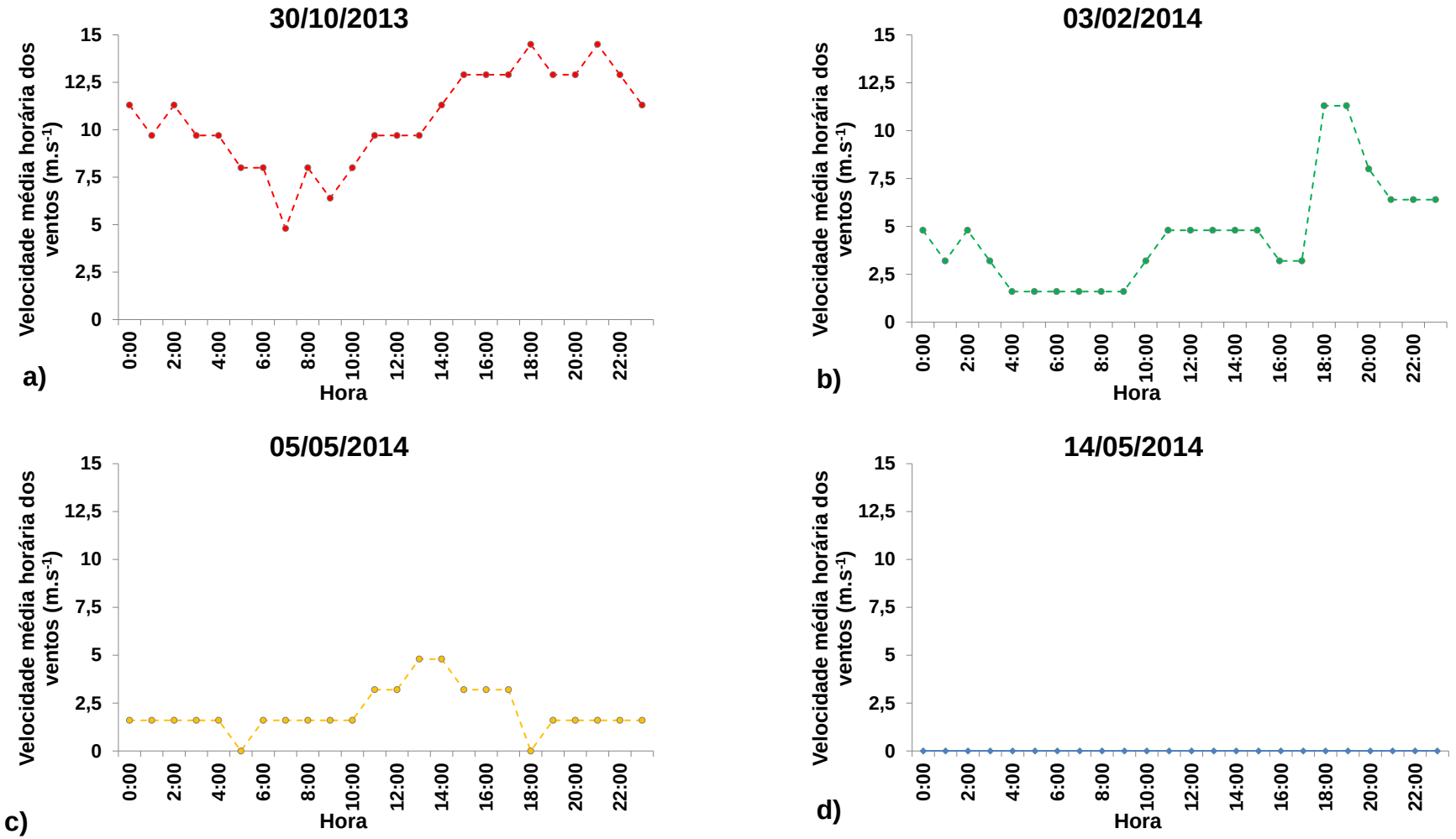


Figura 21 – Velocidade média horária dos ventos (m.s^{-1}) no Reservatório de Itupararanga durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: Votorantim Energia (2008-2014).

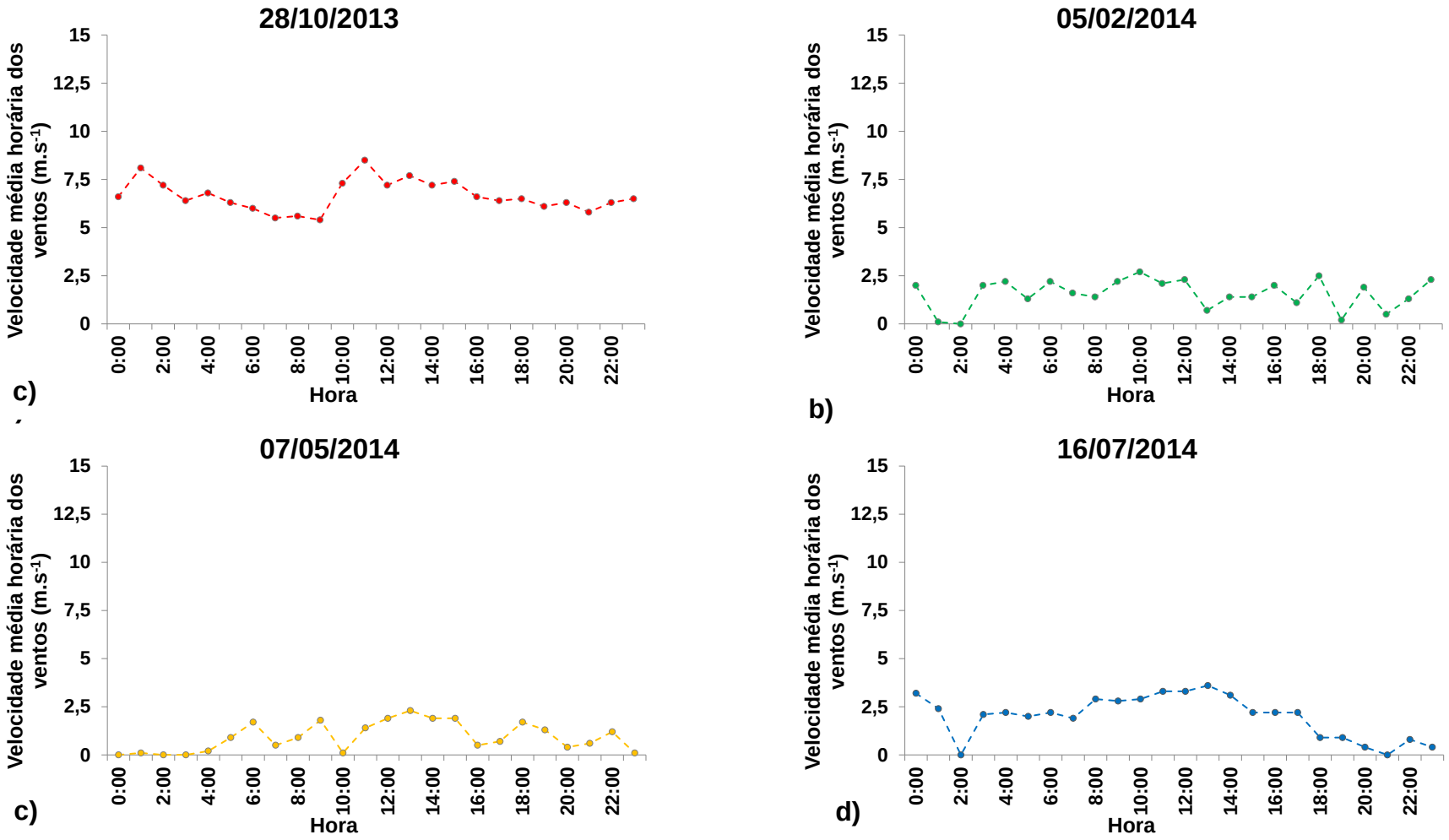


Figura 22 – Velocidade média horária dos ventos (m.s^{-1}) no Reservatório de Barra Bonita durante os dias em que as quatro coletas foram realizadas: a) 28/10/2013, b) 05/02/2014, c) 07/05/2014 e d) 16/07/2014. Fonte: INMET (2008-2014).

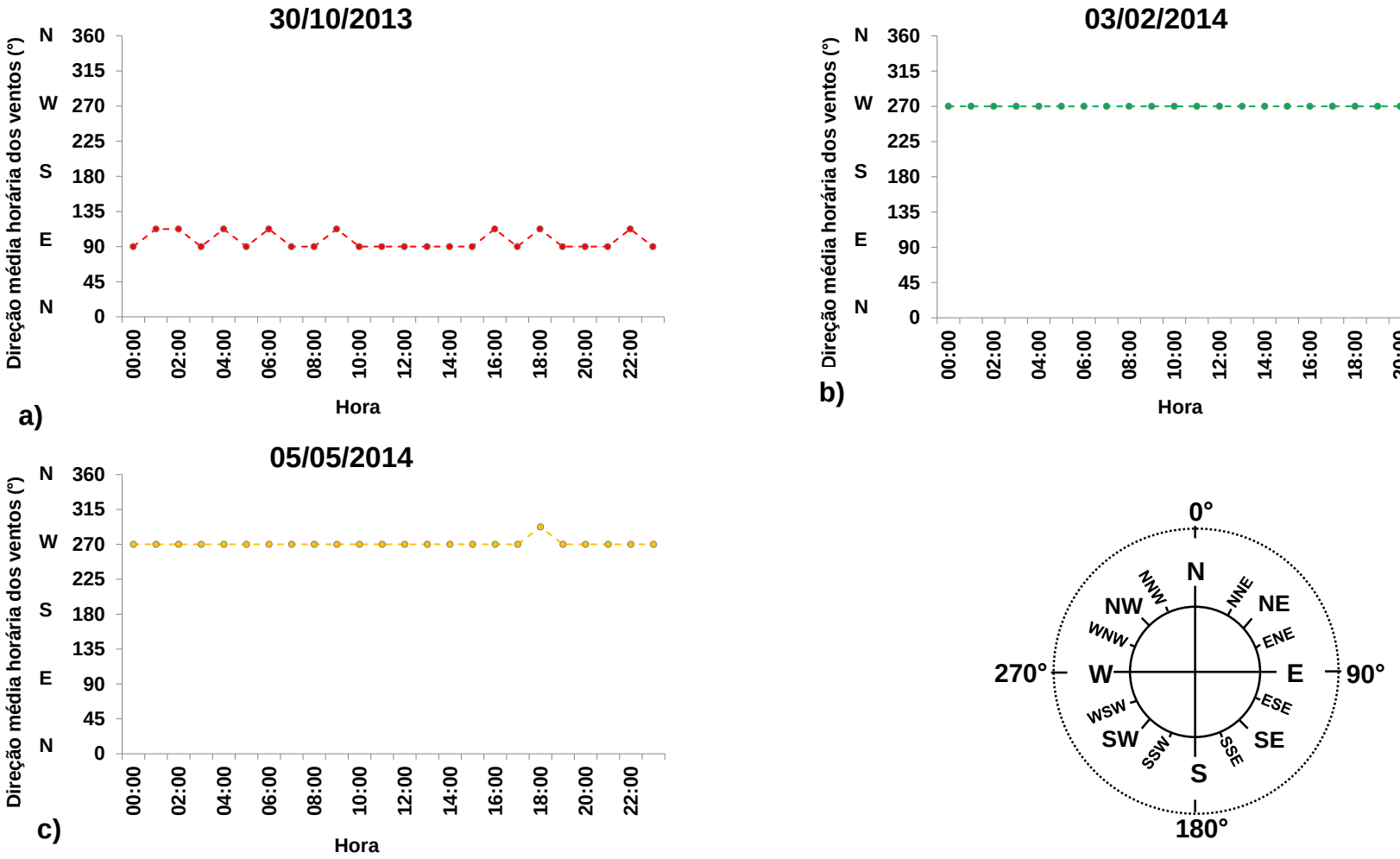


Figura 23: Direção dos ventos (º) em Itupararanga durante os períodos de coleta: a) 1ªcoleta (30/10/2013); b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ªcoleta (05/05/2014). Fonte: Votorantim energia (2013-2014). Em detalhe uma rosa-dos-ventos com os pontos cardeais, colaterais e subcolaterais indicados.

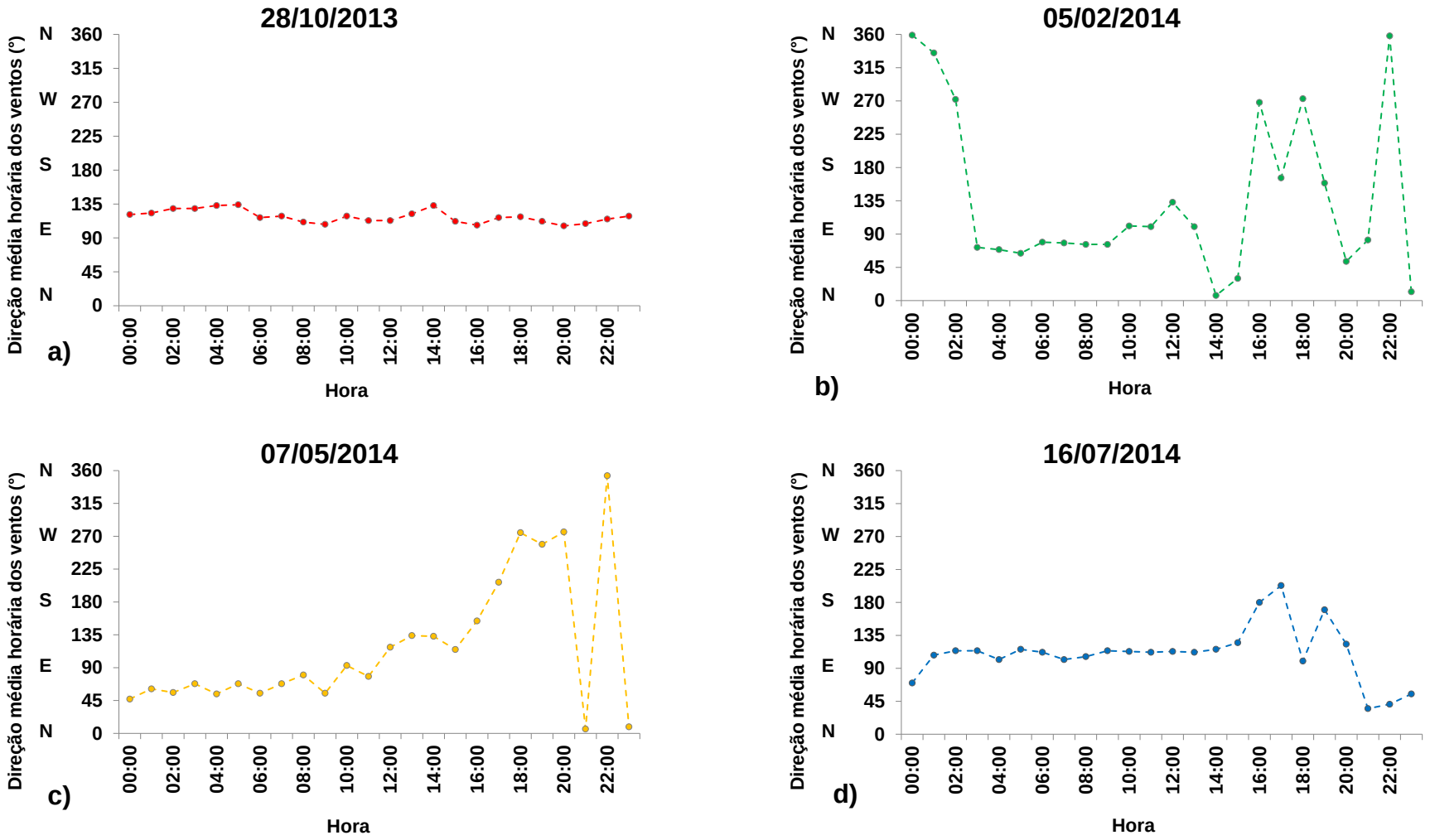


Figura 24: Direção dos ventos (º) em Barra Bonita durante os períodos de coleta: a) 1ªcoleta (28/10/2013); b) 2ª coleta (05/02/2014); c) 3ªcoleta (07/05/2014) e 4ª coleta (16/07/2014). Fonte: INMET (2013-2014).

5.2.4 Radiação solar incidente

A radiação solar incidente (RSI) média entre as 08 e às 19h entre outubro/2013 e setembro/2014 foi de 1290,2 $KJ.m^{-2}$ em Itupararanga e de 1336,7 $KJ.m^{-2}$ em Barra Bonita. A variação intra-anual da RSI incidente mostrou-se análoga às variações da temperatura e da precipitação, sendo maior no período chuvoso (outubro a março) e menor no período seco (abril a setembro) (Figura 25).

Já nas Figuras 26 e 27, pode-se observar variação horária da RSFA incidente, verificando-se que os maiores valores foram obtidos entre as 12 e 16h. Esse padrão não foi mantido apenas no mês de outubro de 2013, pois foi o único em que a coleta foi realizada fora do horário de verão.

A observação em escala horária da RSI mostrou que além de dependente da estação do ano, a intensidade da radiação solar medida também esteve relacionada às condições climáticas, com menores RSI em dias nublados.

A RSI média dos dias de amostragem entre 08 e 19h foram de 1.620,0 e 2.447,0 $KJ.m^{-2}$ na 1ª coleta, 879,9 e 2.121,8 $KJ.m^{-2}$ na 2ª coleta, 1.382,7 e 994,8 $KJ.m^{-2}$ na 3ª coleta e 1.249,2 e 1.009,1 $KJ.m^{-2}$ na 4ª coleta em Itupararanga e Barra Bonita respectivamente.

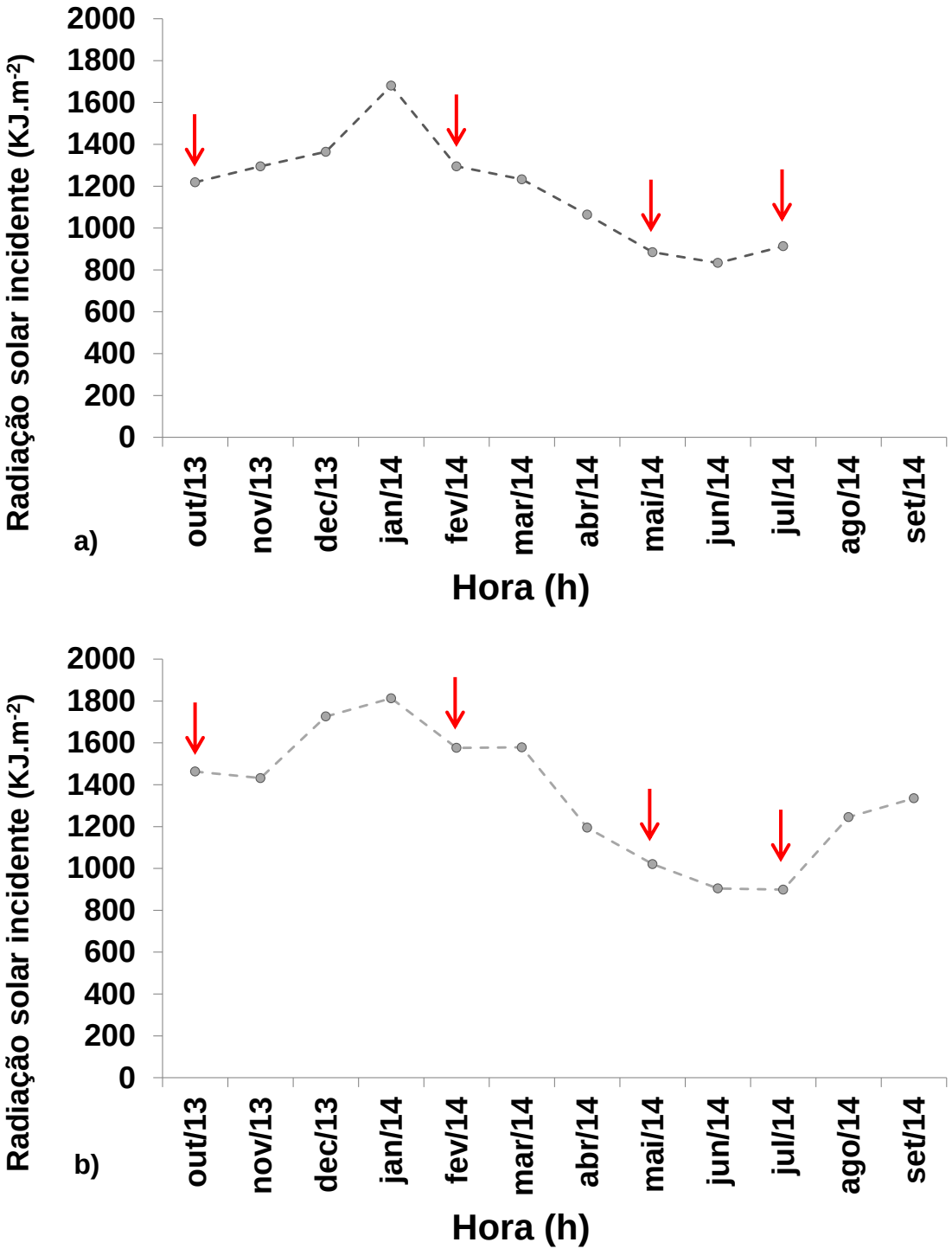


Figura 25: Radiação solar incidente média mensal (KJ.m^{-2}) no Reservatório de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b). As setas vermelhas indicam os meses em que as coletas foram realizadas Fonte: Votorantim Energia (2008-2014) e INMET(2008-2014).

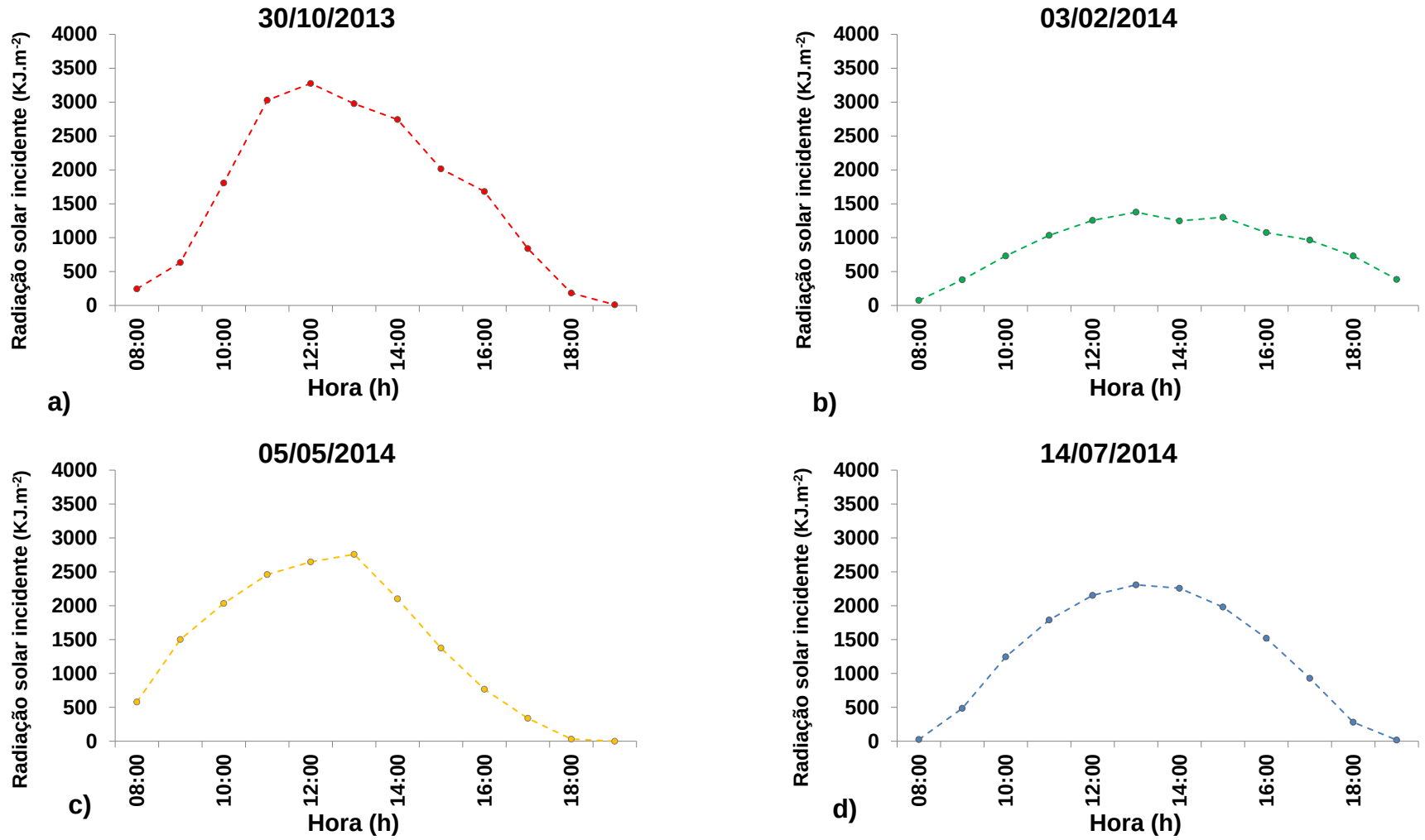


Figura 26: Radiação solar incidente média horária ($KJ.m^{-2}$) em Itupararanga durante os períodos de coleta: a) 1ª coleta (30/10/2013); b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ª coleta (05/05/2014); d) 4ª coleta (14/07/2014)

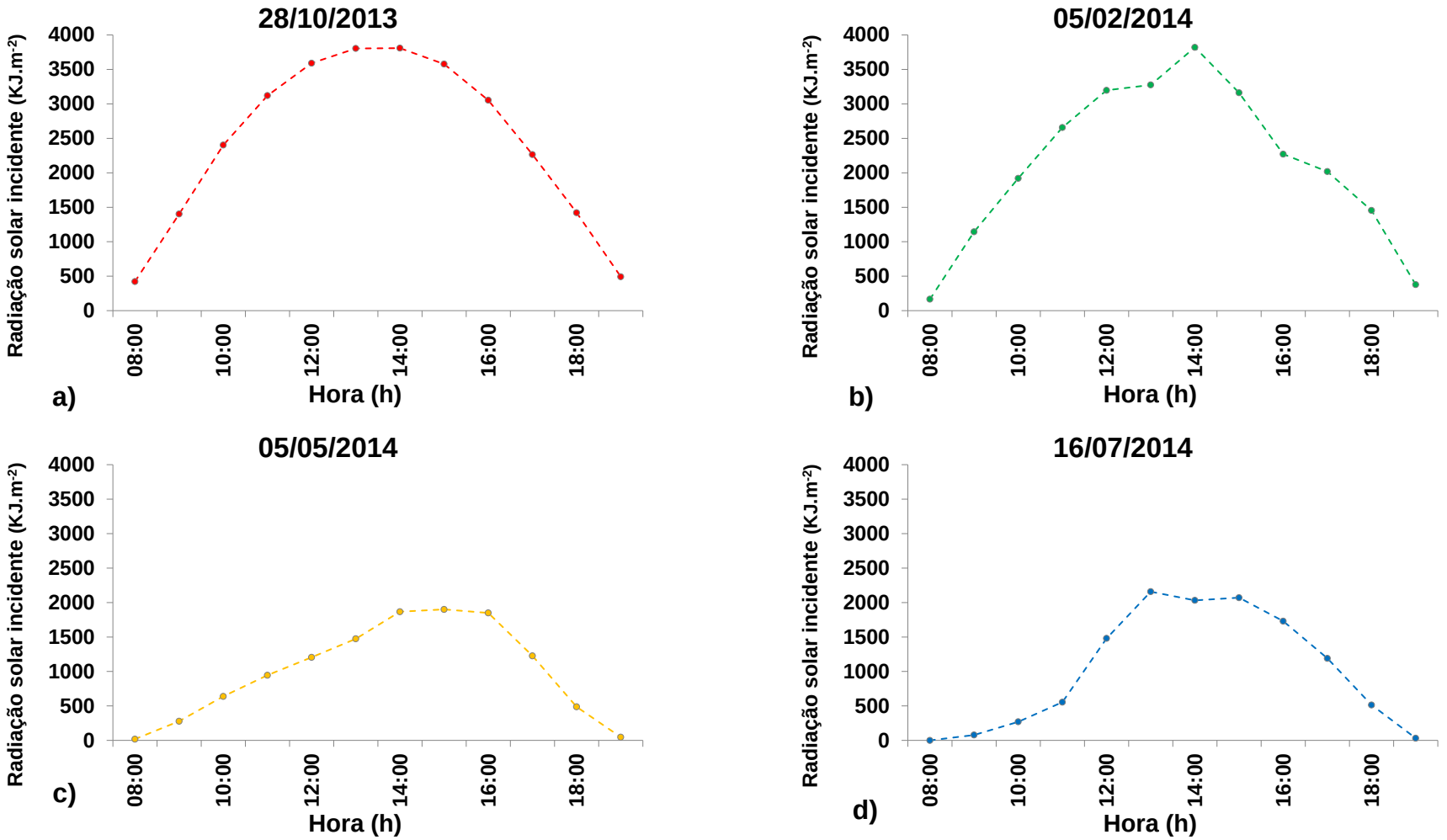


Figura 27: Radiação solar incidente média horária ($KJ.m^{-2}$) em Barra Bonita durante os períodos de coleta: a) 1ª coleta (30/10/2013); b) 2ª coleta (03/02/2014); c) 3ª coleta (05/05/2014); d) 4ª coleta (14/07/2014)

5.3 Variáveis Hidrológicas

Precipitações abaixo da média no ano hidrológico 2013-2014 foram refletidas nas variáveis hidrológicas dos reservatórios amostrados.

Entre outubro/2013 e setembro/2014, as maiores vazões afluentes foram observadas no mês de março em Itupararanga (13,9 $m^3.s^{-1}$) e em janeiro em Barra Bonita (290,9 $m^3.s^{-1}$). A Figura 28 mostra que as maiores vazões afluentes coincidiram com o período chuvoso. Vale salientar que a vazão de entrada em Barra Bonita foi superior à de Itupararanga e para fins de melhor observação da variação da vazão de entrada nos reservatórios, os gráficos da Figura 28 estão apresentados em escalas distintas.

Quanto às vazões de saída, Itupararanga não verteu no último ano hidrológico. A vazão de saída do reservatório correspondeu então à água tomada para geração de energia (vazão turbinada) e à vazão retirada para o abastecimento público.

Em Barra Bonita, o volume vertido no período estudado foi de 496.001.818m^3. O mês de março apresentou a maior vazão mensal (46,29 $m^3.s^{-1}$) e os meses de julho e agosto não apresentaram vazão vertida, coincidindo, assim, com os meses mais secos.

Observando a Figura 29, as maiores vazões efluentes em ambos reservatórios foram observadas nos meses mais quentes (outubro a março), quando o consumo de água e energia elétrica é maior. As menores vazões de saída observadas ao final do ano hidrológico, estiveram associadas, em parte, com as chuvas abaixo do esperado.

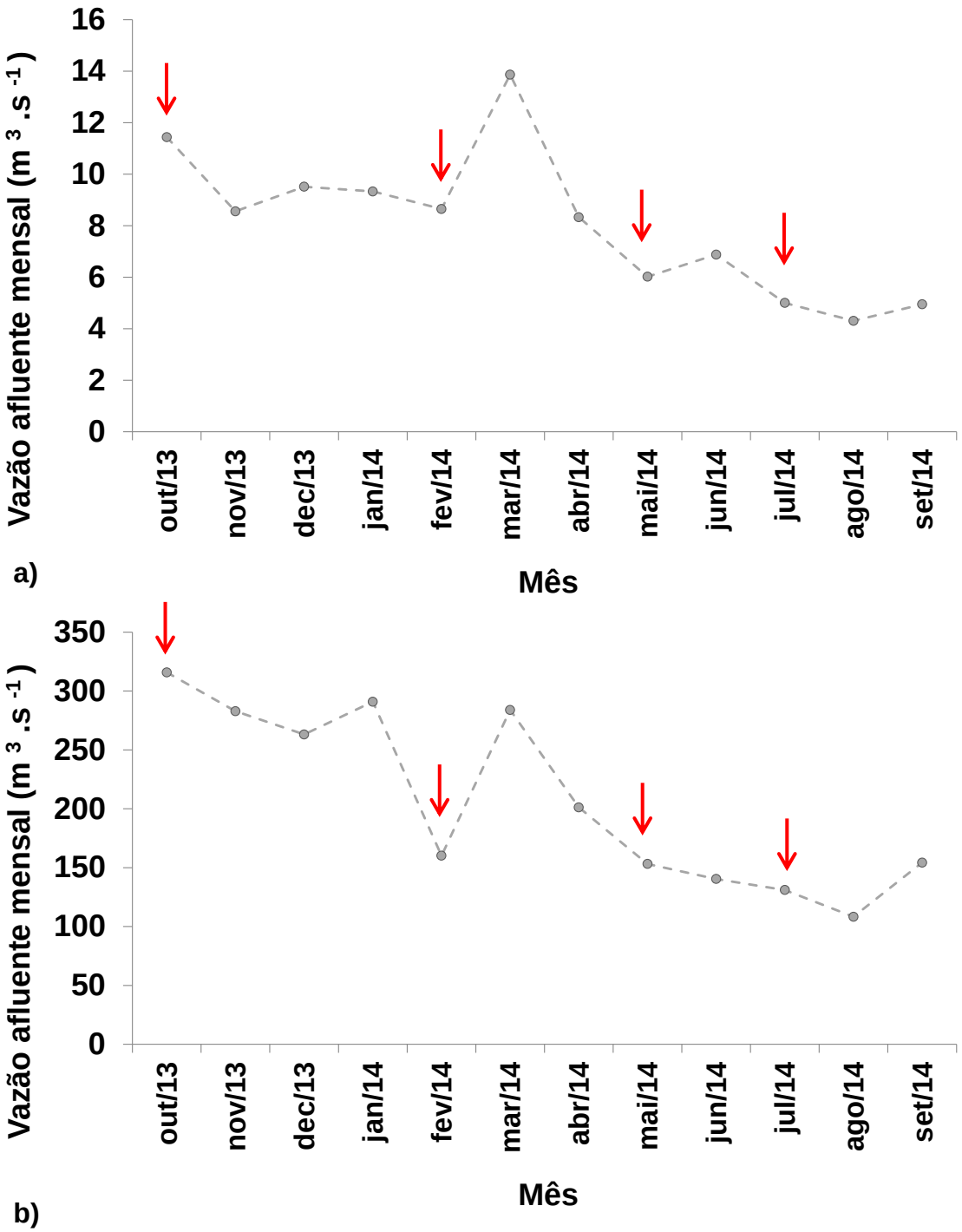


Figura 28 – Vazão média mensal ($m^3.s^{-1}$) afluente aos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. Os meses nos quais as quatro coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014).

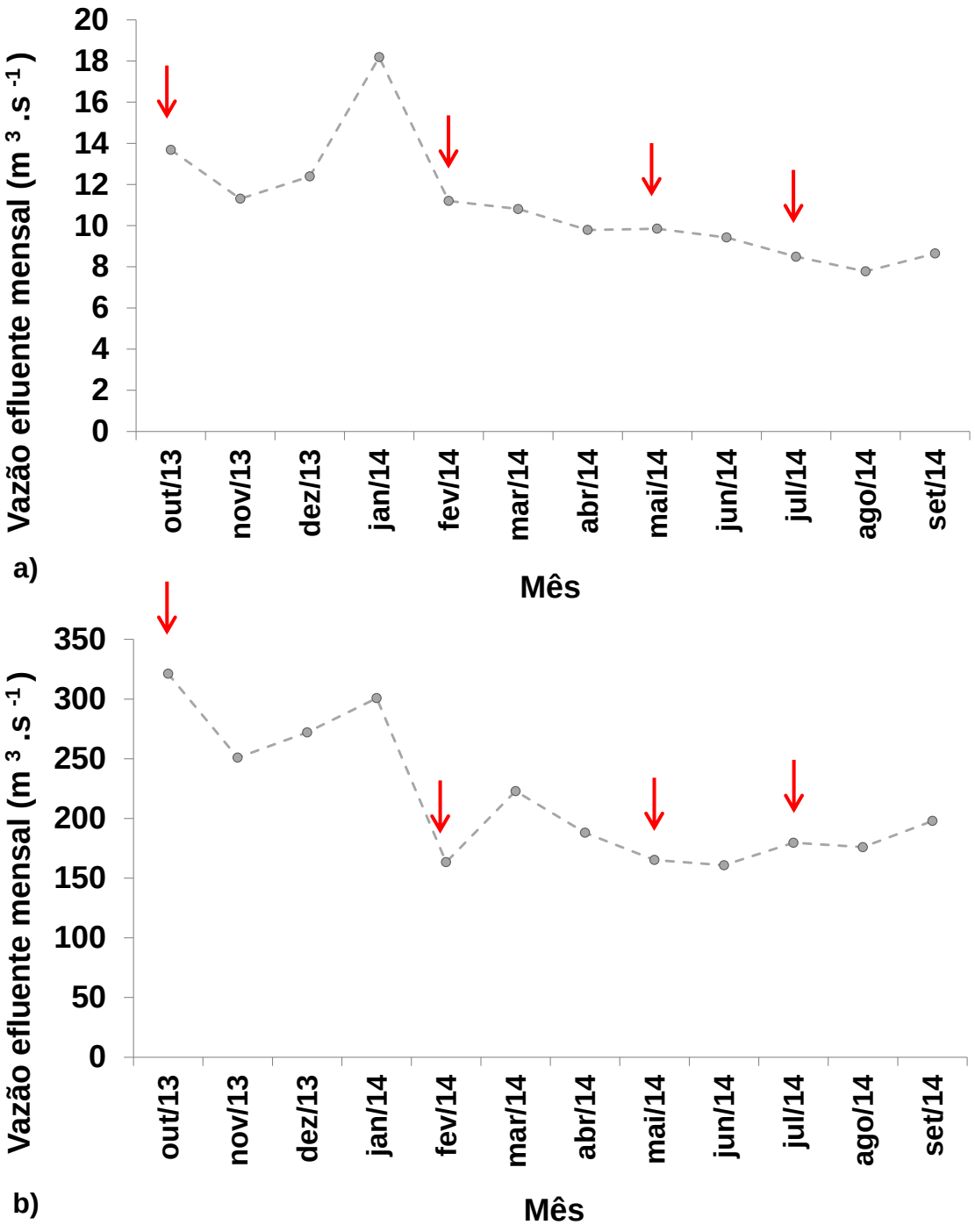


Figura 29 – Vazão média mensal (m3.s-1) efluente aos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. As setas vermelhas indicam os meses nos quais as quatro coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014).

A Figura 30 mostra o comportamento do TDH teórico em Itupararanga e Barra Bonita mês a mês durante o ano hidrológico de 2013-2014.

O TDH teórico nos dois reservatórios foi menor nos meses chuvosos e maior na estação seca, ao final do ano hidrológico, quando os efeitos acumulados da falta de chuvas estavam mais perceptíveis.

O aumento progressivo do TDH em Barra Bonita e em Itupararanga pode ter contribuído para o aumento na concentração de nutrientes nos reservatórios e, consequentemente, para o aumento do estado trófico e da densidade fitoplanctônica. Em média, Itupararanga (10,4 meses) apresentou maior TDH teórico do que Barra Bonita (5,9 meses).

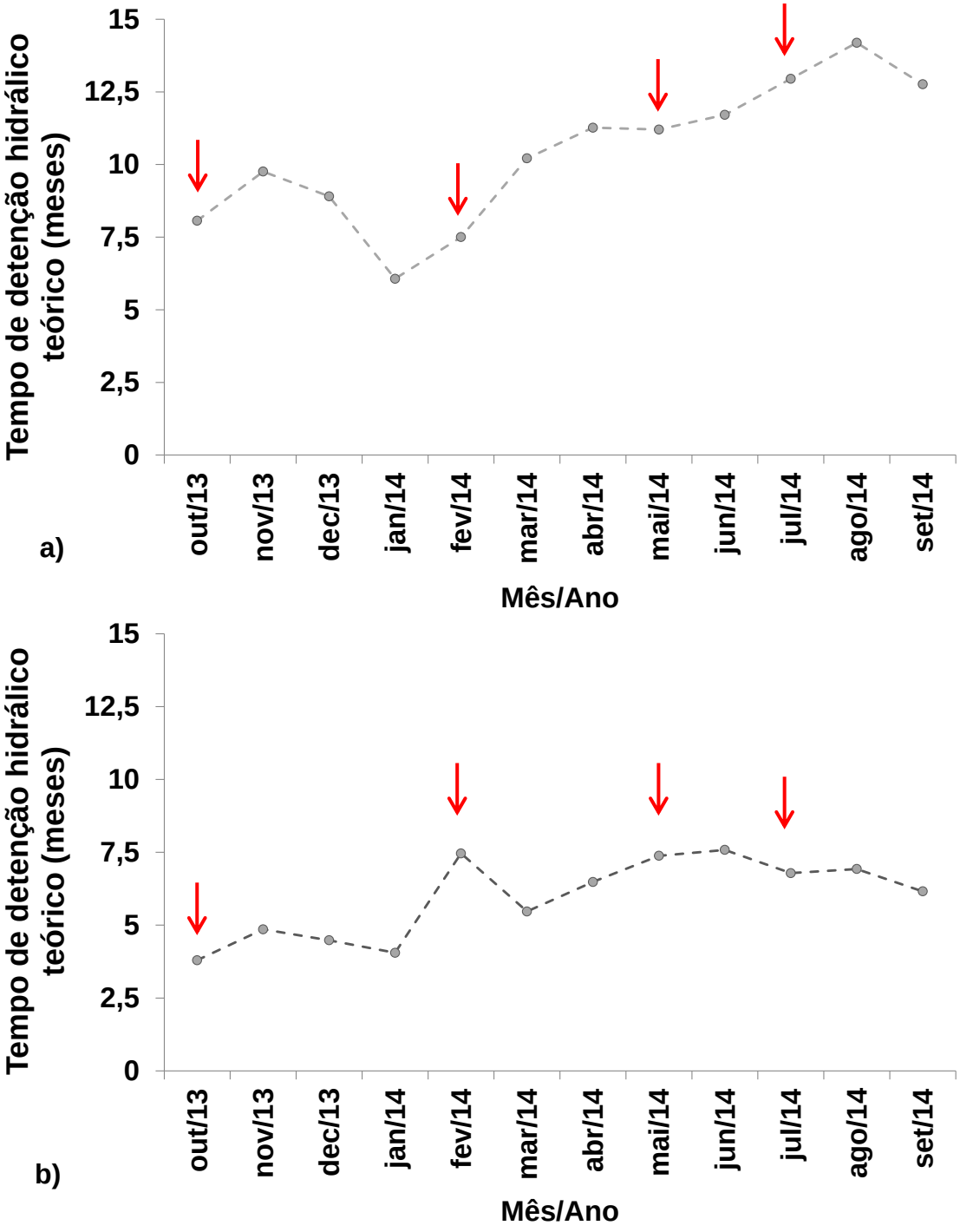


Figura 30 – Tempo de detenção hidráulico teórico (meses) nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) entre outubro/2013 e setembro/2014. Em vermelho são destacados os meses em que as quatro coletas foram efetuadas. Fonte: Votorantim Energia (2013-2014) e AES Tietê (2013-2014)

5.4 Variáveis abióticas da água

5.4.1 Radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática, temperatura da água, pH e oxigênio dissolvido

Os perfis de RSFA e de temperatura da água nos reservatórios (Figuras 31 e 32) flutuaram de acordo com a estação do ano, as condições climáticas no momento das coletas e o horário das medições. A partir de fevereiro, todas as coletas foram realizadas durante o horário de verão. Cerca de metade das coletas ocorreram sob tempo encoberto ou parcialmente nublado.

Em Itupararanga, a maior RSFA disponível na subsuperfície da água (570 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$) foi observada durante a coleta de mai/2014. O menor valor na subsuperfície (86 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$) foi obtido em fev/2014, quando o sol esteve encoberto por nuvens. Em out/2013 Barra Bonita apresentou o maior valor para RSFA na subsuperfície (666 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$). O menor valor (157 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$) foi obtido em mai/2014, que ocorreu com tempo nublado.

A diminuição da RSFA no perfil vertical esteve associada a uma atenuação da radiação com a profundidade. As diminuições mais acentuadas ocorreram quando os reservatórios encontravam-se colonizados por maiores densidades de fitoplâncton e, no caso de Barra Bonita, por macrófitas flutuantes. Em mai/2014, por exemplo, a profundidade correspondente a 50% da RSFA subsuperficial foi de apenas 0,6 m.

Além da sazonalidade, o microclima da região onde os reservatórios estão localizados, também influenciou na temperatura da água, sendo a cidade de Barra Bonita relativamente mais quente que a cidade de Votorantim (Figura 17 no tópico 5.2.2).

Observando os perfis de temperatura apresentados na Figura 32, percebe-se que as temperaturas máximas na coluna de água foram obtidas em out/2013, e as menores em jul/2014. Em Itupararanga, as temperaturas mínima e máxima medidas na subsuperfície foram 17,8 e 21,82ºC. Em Barra Bonita, a mínima e máxima foram 29,64 e 20,38ºC.

Em geral, tanto em Itupararanga quanto em Barra Bonita apresentaram comportamento polimíticos. Em fev/2014, a diferença na temperatura entre a superfície e o fundo atingiu 5,0^{o}C em Ituparaganda e 1,6 ^{o}C em Barra Bonita.

De maneira geral, os perfis de pH (Figura 33) e oxigênio dissolvido (OD) (Figura 34) tanto no reservatório de Itupararanga quanto em Barra Bonita apresentaram variações análogas ao perfil de temperatura, indicando a ocorrência não de uma estratificação química em fev2014. O mesmo padrão também foi seguido pelo perfil de oxigênio dissolvido.

Em Itupararanga, o maior e o menor valor de pH foram obtidos em fev/2014, 8,64 (a 1m), e 6,4 (a 9,5 m). Em Barra Bonita, o maior valor foi de 9,49, também em fevereiro a 1,1 metro e o menor foi de 6,94 obtido aos 10 metros de profundidade na coluna de água.

Tanto em Ituaparanga quanto em Barra Bonita, na coleta de fev/2014, foram observadas as maiores variações verticais na concentração de oxigênio dissolvido. Em Itupararanga, as concentrações de OD na coluna de água variaram entre 9,17 mg.L^{-1} na subsuperfície e 0,52 mg.L^{-1} aos 9,5 metros de profundidade. Em Barra Bonita a variação foi de 11,9 mg.L^{-1} na subsuperficie à 0,37 mg.L^{-1} aos 9 metros. Na 3ª coleta (07/05/2014), também foi observada uma pequena variação vertical do oxigênio dissolvido em Barra Bonita.

Com exceção da coleta de fev/2014, as concentrações de oxigênio dissolvido nos reservatórios mantiveram-se na faixa de 6,4 mg.L^{-1} a 9,8 mg.L^{-1} em Itupararanga, e 3,6 a 8,8 mg.L^{-1} em Barra Bonita nas profundidades amostradas.

Percebe-se que, comparativamente, Barra Bonita apresentou uma maior depleção do oxigênio em suas camadas mais profundas. Por outro lado, valores de oxigênio dissolvido próximo ao ponto de saturação em suas camadas mais superficiais indicaram intensa atividade fotossintética. Esses dois resultados sugerem maior estado trófico desse reservatório.

Os elevados valores de pH, em ambos os casos, coincidiram com os maiores valores de OD, clorofila-a e densidade fitoplanctônica, que foram reflexo da intensa atividade fotossintética nos reservatórios.

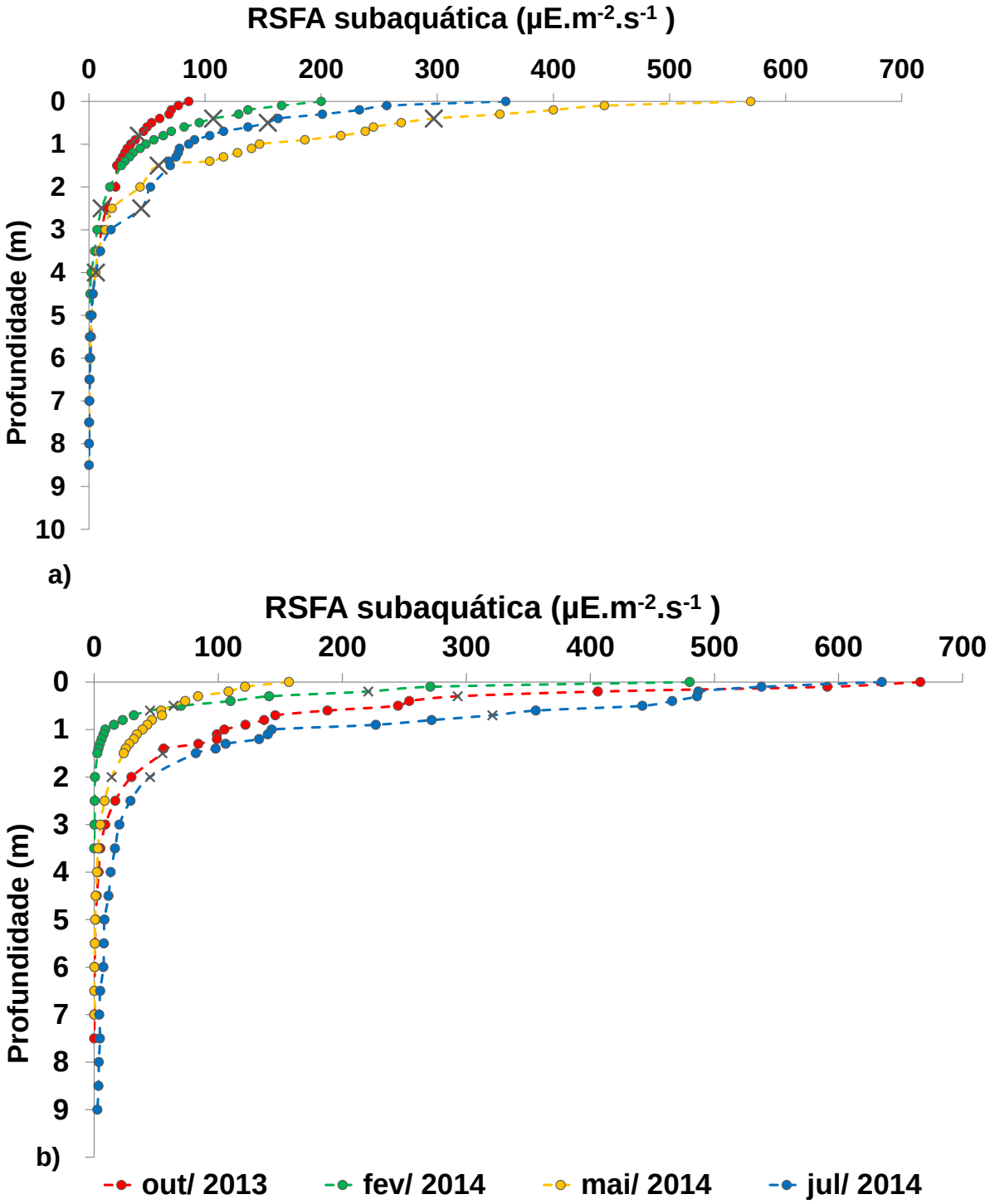


Figura 31 – Perfis de radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática (RSFA, µE.m^{-2}.s^{-1}) nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades em que ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton.

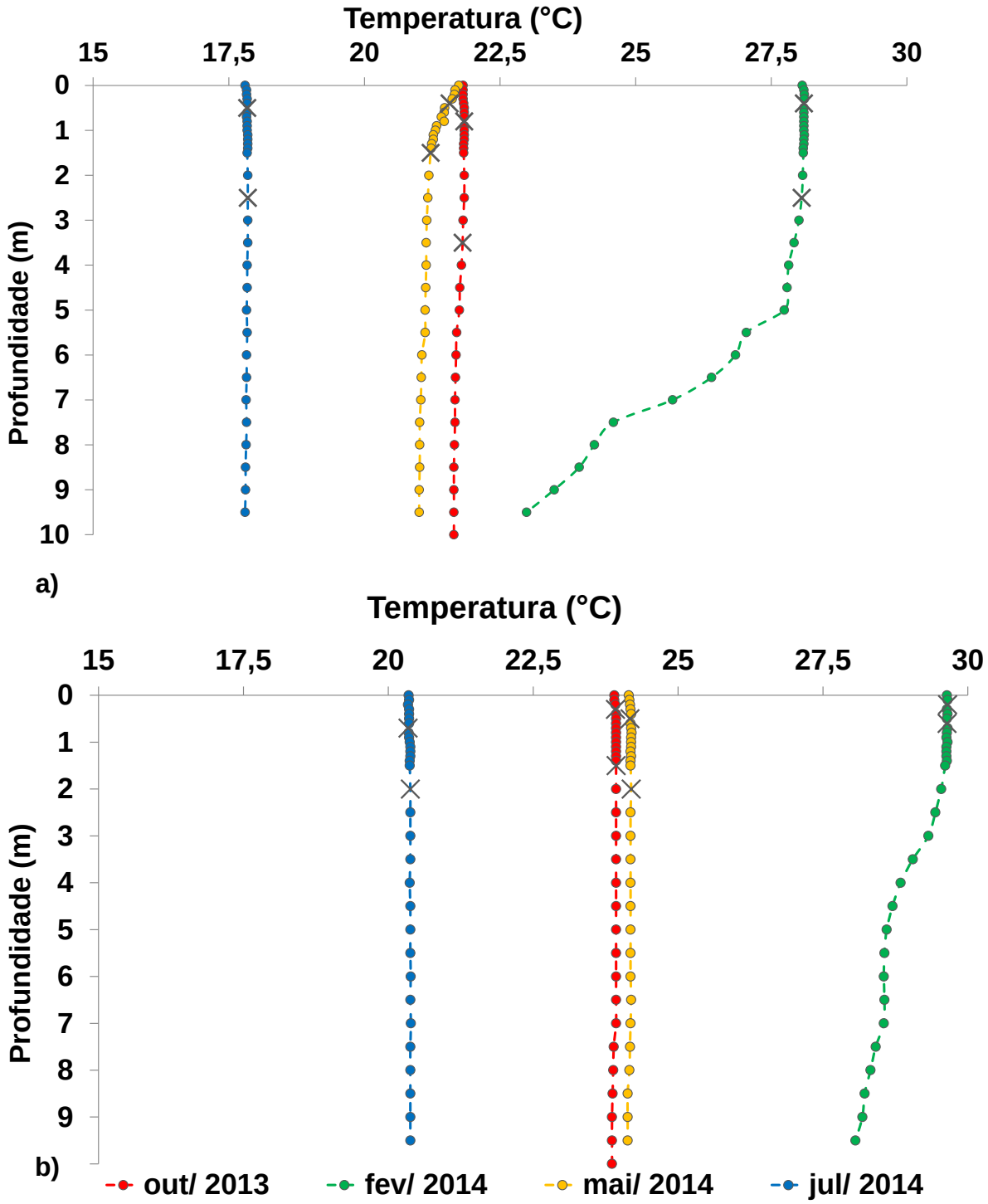


Figura 32 – Perfis de temperatura da água (ºC) dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades onde ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton.

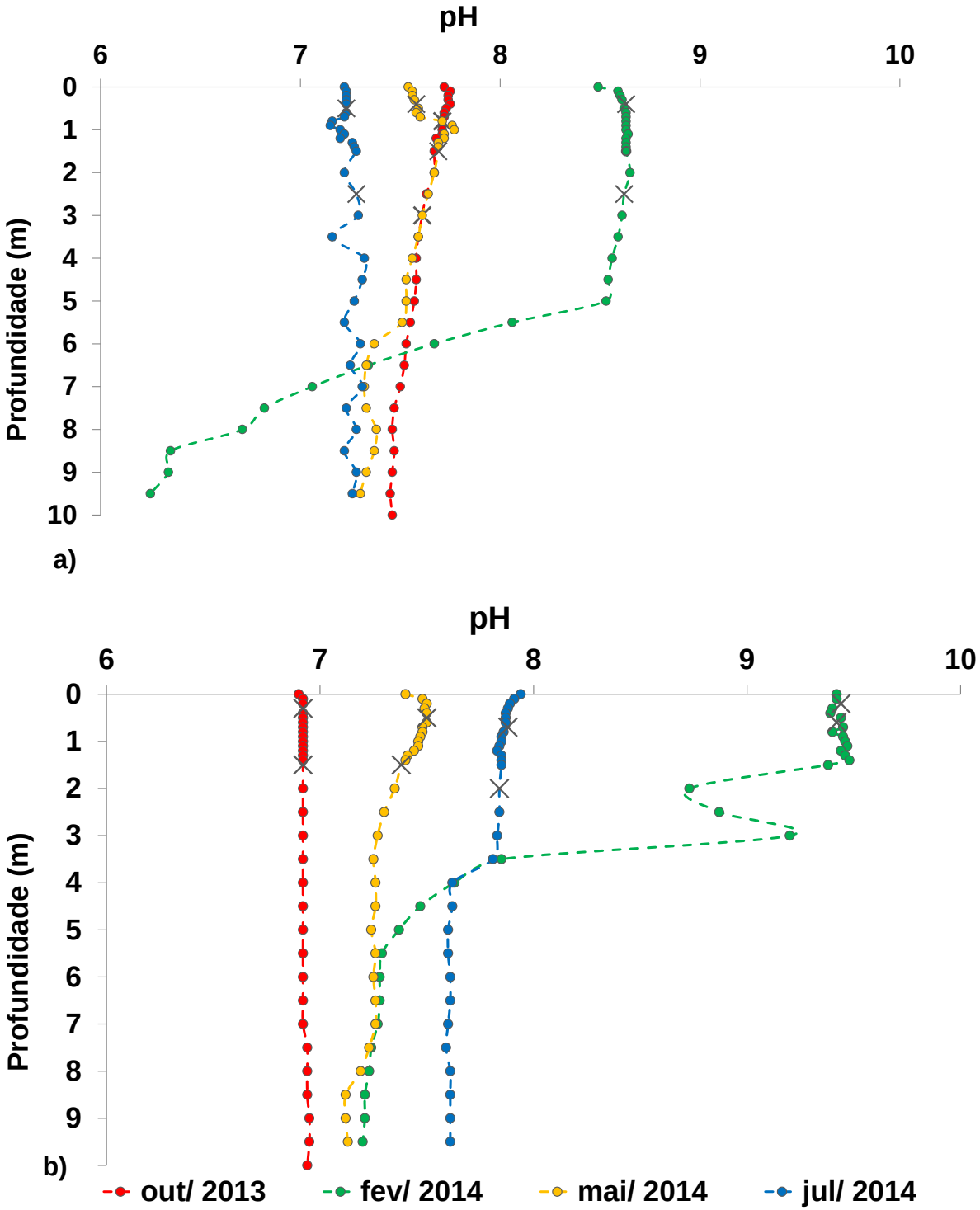


Figura 33 – Perfis de potencial hidrogeniônico (pH) na água dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades em que ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton.

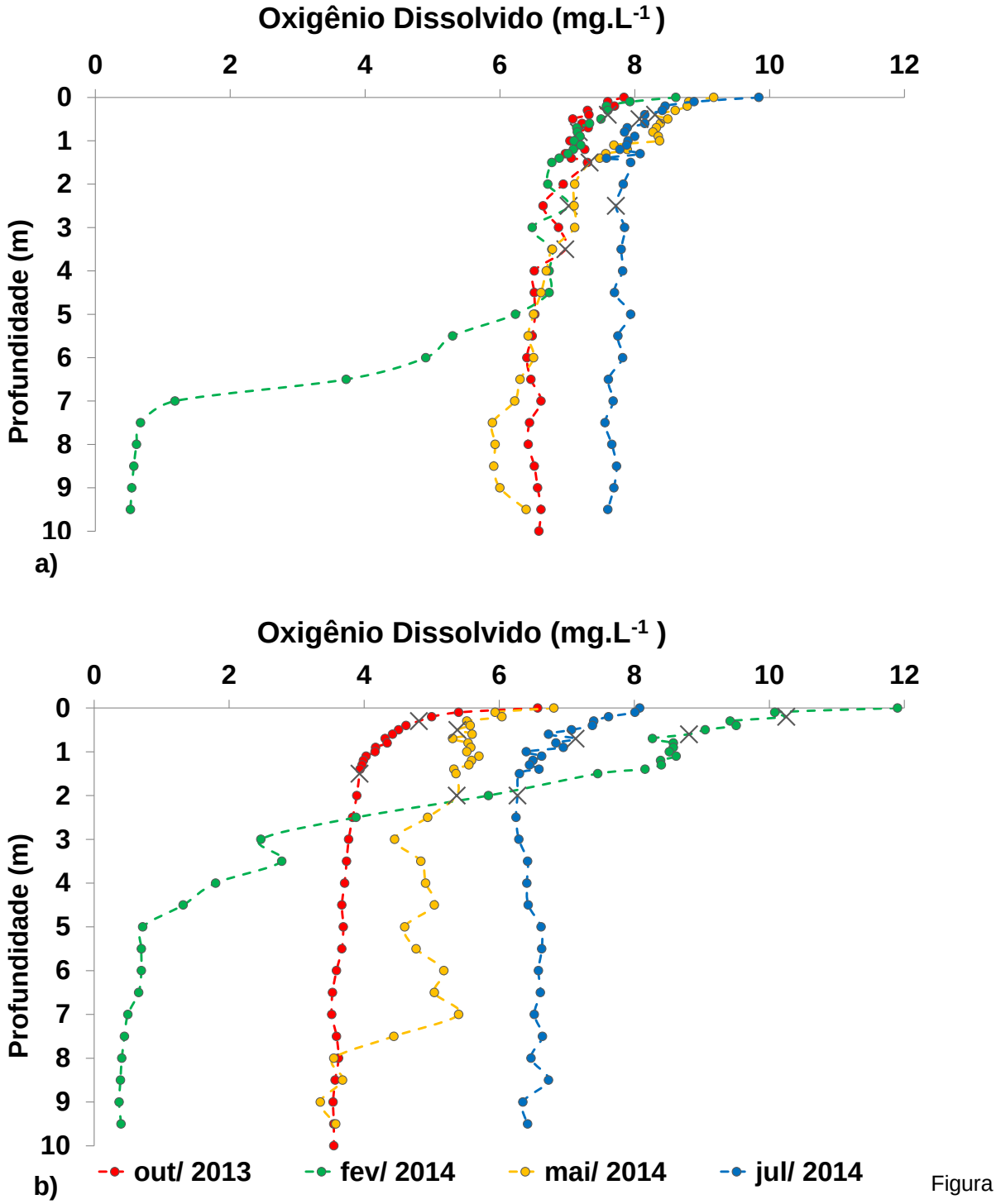


Figura 34 – Perfis de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) na água dos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) durante as quatro coletas realizadas entre outubro de 2013 e junho de 2014. O "X" indica as profundidades onde ocorreram as coletas de água para o experimento de assimilação do ^{15}N pelo fitoplâncton.

5.3.2 Nutrientes, sólidos em suspensão, condutividade elétrica, e transparência da água

Na Tabela 4 estão apresentados os valores para sólidos em suspensão, condutividade elétrica, nutrientes totais e dissolvidos nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita.

Em Itupararanga as maiores concentrações de sólidos suspensos totais (SST) ocorreram em jul/2014 na 1ª profundidade (4,4 $mg.L^{-1}$) e as menores em fev/2014 na 2ª profundidade (5,64 $mg.L^{-1}$). Em Barra Bonita as maiores concentrações ocorreram em mai/2014 na 1ª profundidade e as menores em out/2013 na 1ª profundidade.

O regime lêntico na região próxima à barragem dos reservatórios se refletiu na baixa contribuição da fração inorgânica dos SST. Assim, os sólidos suspensos orgânicos (SSO), representaram a maior parte dos sólidos presentes nos dois reservatórios: entre 74,35 e 93,10% em Itupararanga e 89,47 e 97,70% em Barra Bonita. Acredita-se que a biomassa fitoplanctônica foi a maior responsável pela SSO. Essa hipótese pode ser corroborada pela maior distribuição dos SSO em Barra Bonita do que em Itupararanga.

Observa-se uma tendência geral das concentrações de fosfatos serem mais elevadas em Barra Bonita que em Itupararanga. Em Itupararanga apesar de menores, as concentrações dos fosfatos, mostraram tendência ao aumento de suas concentrações ao longo das coletas. A proporção de ortofosfato em relação ao fosforo total dissolvido (PTD) e fósforo total (PT) não apresentou alterações entre as coletas, com exceção da coleta de out/2013, em que havia menos ortofosfato disponível em relação as outras formas de P na água. Barra Bonita apresentou concentrações relativamente mais elevadas de ortofosfato. Na segunda coleta, observou-se que houve uma menor disponibilidade de ortofosfato disponível na água. Esses dados são compatíveis com o maior evento de floração fitoplanctônica observado durante o experimento, indicando possível assimilação desse nutriente pela comunidade.

As concentrações dos nutrientes nitrogenados, especialmente a concentração de amônia, foram os que mais sofreram variações entre uma coleta e outra, porém não foi observado um padrão definido entre as profundidades.

As concentrações de amônia, tanto em Itupararanga quanto em Barra Bonita, mostraram uma progressiva tendência temporal ao incremento de suas concentrações. Uma provável explicação para esse padrão foi a decomposição da biomassa fitoplanctônica. Ainda, em ambientes com pH mais elevado, a amônia não ionizada tende a ser a forma predominante de nitrogênio amoniacal.

Tabela 4 - Variáveis abióticas avaliadas na água dos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro/2013 e julho/2014: sólidos totais (SST) ($mg.L^{-1}$), sólidos inorgânicos (SSI) (%), sólidos orgânicos (SSO) (%), ortofosfato ($P\text{-}PO_4$) ($\mu g.L^{-1}$), fósforo dissolvido total (PDT) ($\mu g.L^{-1}$), fósforo total (PT) ($\mu g.L^{-1}$).

Variáveis	RSFA (%)	Itupararanga				Barra Bonita			
		out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014	out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
SST ($mg.L^{-1}$)	50	6,9	6,3	6,2	4,4	3,9	21,6	23,4	22,7
	10	7,9	5,6	6,1	4,5	4,1	20,0	19,9	20,7
SSI (%)	50	6,9	25,6	20,5	24,0	3,9	3,9	2,3	9,4
	10	7,9	18,9	10,1	7,9	4,1	4,1	3,6	10,5
SSO(%)	50	93,1	74,3	79,5	76,0	96,1	96,1	97,7	90,6
	10	92,1	81,1	89,9	92,1	95,9	95,9	96,4	89,5
$P\text{-}PO_4$ ($\mu g.L^{-1}$)	50	1,6*	4,6*	3,5*	4,3*	84,8	13,4	86,8	79,1
	10	2,6*	3,1*	6,6*	4,2*	87,3	27,7	95,6	78,7
PDT ($\mu g.L^{-1}$)	50	5,4*	5,6*	8,4*	21,5	95,7	135,6	96,2	94,8
	10	6,8*	4,5*	8,1*	11,3	104,2	74,9	105,5	82,7
PT ($\mu g.L^{-1}$)	50	21,3	32,2	11,6	25,6	131,6	223,2	141,3	164,6
	10	17,0	48,1	13,8	68,8	131,3	186,5	146,5	188,9

Tabela 4 (continuação) - Variáveis abióticas avaliadas na água dos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita entre outubro/2013 e julho/2014: nitrito (NO_2) ($\mu g.L^{-1}$), nitrato ($NO_{3)}$ ($\mu g.L^{-1}$), amônia (NH_3) ($\mu g.L^{-1}$), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) ($\mu g.L^{-1}$), nitrogênio orgânico (Namon) ($\mu g.L^{-1}$), ureia ($\mu g.L^{-1}$).

Variáveis	RSFA (%)	Itupararanga				Barra Bonita			
		out-13	fev-14	mai-14	jul-14	out-13	fev-14	mai-14	jul-14
NO_2 ($\mu g.L^{-1}$)	50	1,1	0,14	0,5	1,2	4,7	13,4	19,4	87,2
	10	0,8	0,10	0,1	1,1	1,8	15,5	20,1	87,6
NO_3 ($\mu g.L^{-1}$)	50	380,0	386,7	350,0	450,0	3000,0	1486,7	3590,0	3580,0
	10	380,0	386,7	390,0	450,0	3000,0	1516,7	3655,0	3690,0
NH_3 ($\mu g.L^{-1}$)	50	ND	47,4	664,2	6534,7	49,5	136,5	147,0	2412,6
	10	ND	38,4	735,7	8011,0	44,2	46,7	102,2	2060,2
NTK ($\mu g.L^{-1}$)	50	1736,0	346,7	731,6	941,8	4026,4	406,8	819,0	2852,8
	10	1327,2	191,1	802,6	911,8	5930,4	256,6	737,1	2896,5
Norg ($\mu g.L^{-1}$)	50	509,6	131,0	215,7	425,9	660,8	358,2	634,0	2667,8
	10	151,2	65,5	404,0	513,2	2632,0	103,7	576,0	2735,5
Ureia ($\mu g.L^{-1}$)	50	25,5	6,5	10,8	21,3	33,0	17,9	31,7	133,4
	10	7,6	3,3	20,2	25,7	131,6	5,2	28,8	136,8

ND: não detectado * valores abaixo do limite mínimo de detecção do método

Percebe-se que na maioria das amostras, a razão NT:PT foi muito superior a 16, razão considerada “ótima” Por Redfield (1958), indicando que a produção primária nos reservatórios provavelmente não foi limitada pelo N (Tabela 5).

Nas coletas em que as razões NT:PT foram mais baixas, foram observadas as maiores densidades fitoplanctônicas, como na coleta de fevereiro, por exemplo.

Tabela 5 - Razão nitrogênio total:fósforo total (NT:PT) durante as quatro coletas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita

Coleta	Profundidade	Reservatório	
		Itupararanga	Barra Bonita
out/2013	50% RSFA	492:1	74:1
	10%RSFA	563:1	106:1
fev/2014	50% RSFA	50:1	19:1
	10%RSFA	26:1	21:1
mai/2014	50% RSFA	206:1	69:1
	10%RSFA	190:1	67:1
jul/2014	50% RSFA	120:1	52:1
	10%RSFA	17:1	78:1

5.4 Variáveis bióticas da água

As concentrações de clorofila-a (Figura 35) foram maiores nos meses mais quentes e com maior incidência de luz. Em Itupararanga, as concentrações de clorofila-a mantiveram-se relativamente constantes entre as coletas, variando entre 18,4 $\mu g.L^{-1}$ (mai/2014 na 1ª profundidade) a 30,7 $\mu g.L^{-1}$ (fev/2014 na 2ª profundidade).

Em maio e julho foram detectadas concentrações maiores desse pigmento, indicando a ocorrência de uma floração de fitoplâncton.

Já a variação vertical da concentração de clorofila-a não apresentou nenhum padrão notável de variação entre as profundidades em Ituaparanga, nem em Barra Bonita.

O pigmento feoftina não foi detectado em nenhuma amostra, indicando que a biomassa estava em bom estado fisiológico no momento das coletas.

A densidade fitoplanctônica nos dois reservatórios (Figura 36) geralmente foi maior quando a clorofila-a também foi alta, especialmente durante a floração de fevereiro.

Observando a Figura 37 com as abundâncias relativas, ficou notável a variação sazonal da composição da comunidade fitoplanctônica, especialmente em Barra Bonita. Contudo, em ambos reservatórios o grupo Cyanobacteria apresentou maior importância.

As Tabelas 6 e 7 mostram os gêneros e espécies encontrados nos reservatórios durante o período amostrado junto a suas densidades relativas. É possível notar que mesmo o grupo Cyanobacteria sendo predominante tanto em Itupararanga quanto em Barra Bonita, as comunidades fitoplanctônicas nos reservatórios são bem distintas. Itupararanga foi dominado pela cianobactérias *Cylindrospermopsis raciborskii* enquanto Barra Bonita foi dominado por *Microcystis aeruginosa*. Ressalta-se ainda a importância de Chlorophyceae em Barra Bonita nas coletas de out/2013 e fev/2014 e de Cryptophyceae em maio.

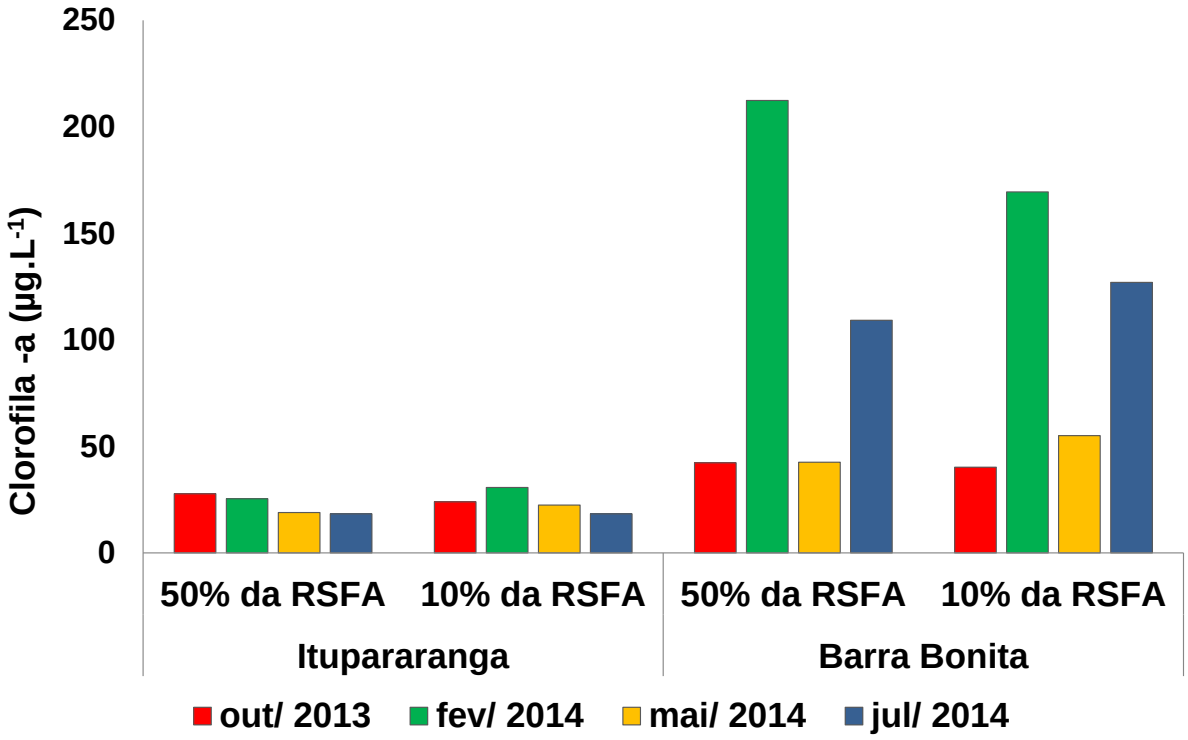


Figura 35 – Concentrações de clorofila-a ($\mu g.L^{-1}$) encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas.

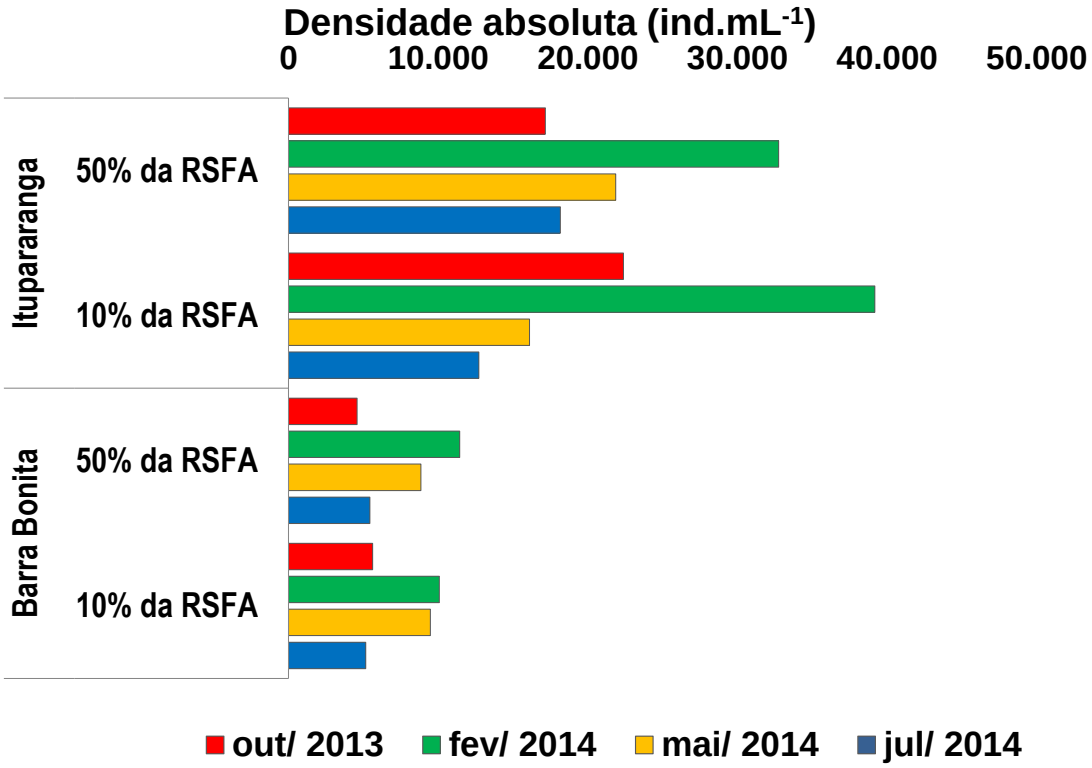


Figura 36 – Densidades relativas fitoplanctônicas (ind.L^{-1}) encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas.

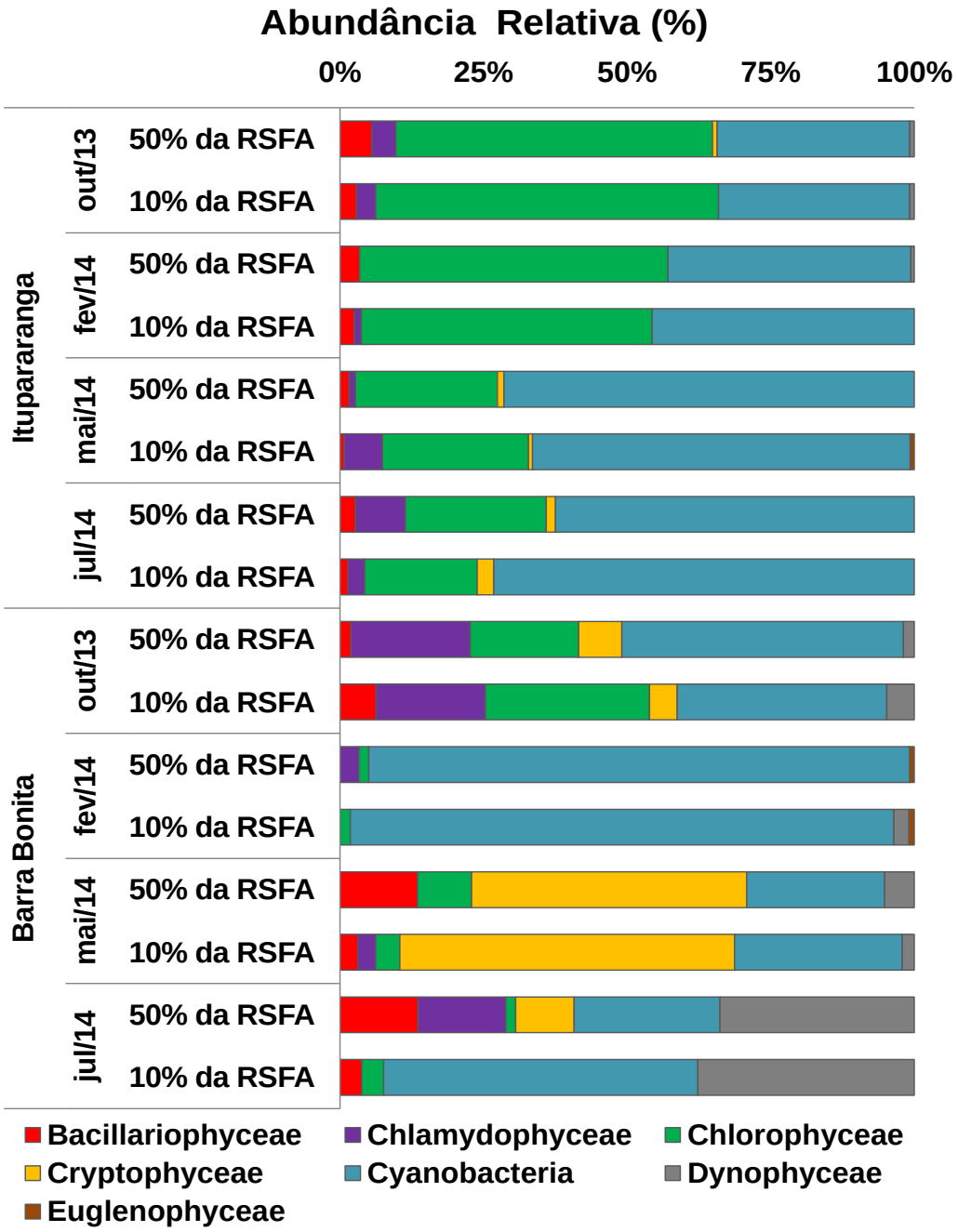


Figura 37 - Abundâncias relativas (%) das classes fitoplanctônicas encontradas nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas.

Tabela 6 - Densidade relativa (ind.mL^{-1}) de organismos fitoplanctônicos encontrados no reservatórios de Itupararanga

Gênero/Espécie	Densidade relativa (ind.mL^{-1})							
	out/2013		fev/2014		mai/2014		jul/2014	
	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA
Bacillariophyceae								
Aulacoseira granulata	73	-	-	-	-	-	-	-
Aulacoseira sp.	-	-	-	-	-	-	99	-
Cyclotella sp.	-	-	-	-	120	-	197	-
Euglena haematodes	73	-	-	-	-	-	-	-
Fragilaria crotonensis	364	184	-	-	-	-	-	-
Navicula sp.	73	-	-	-	-	-	-	-
Synedra sp.	364	461	1105	975	240	120	197	184
Chlamydophyceae								
Chlamydomonas debaryana	-	-	-	-	240	1082	1579	369
Chlamydomonas gracilis	727	737	-	488	-	-	-	-
Chlorophyceae								
Actinastrum hantschii	873	921	1520	975	480	-	-	
Chlorella vulgaris	218	1750	-	-	360	120	99	461
Golenkinia radiata	73	92	-	-	-	-	-	-
Kirchneriella obesa	73	-	-	-	-	120	395	184
Monoraphidium arcuatum	-	-	-	-	120	-	-	-
Monoraphidium contortum	7273	9305	14234	17071	4205	3605	3948	1843
Monoraphidium irregulare	946	1198	1797	1788	240	240	-	-
Oocystis sp.	-	92	-	-	-	-		
Cryptophyceae								
Cryptomonas tetrapyrenoidosa	145	-	-	-	-	-	-	-
Cryptomonas sp.	-	-	-	-	240	120	197	369
Rodomonas sp.	-	-	-	-	-	-	99	-
Cyanobacteria								
Anabaena sp.	436	276	1797	1951	-	-	-	276
Aphanizomenon sp	-	-	-		-	-	493	-
*Aphanocapsa elachista**	1673	2672	2487	2439	2644	1442	395	369
Cylindrospermopsis raciborskii	3418	4422	8706	11218	12257	9133	10167	4238
Geitlerinema sp.	-	92	829	1138	-	-	99	2027
Leptolyngbya sp.	-	-	-	-	-	-	197	-
Lyngbya sp.	73	-	-		481	-	-	92
Microcystis aeruginosa		-	-	1138	-	-	-	92
Pseudoanabaena limnetica	73	-	-	-	-	-	-	-
Pseudanabaena sp.	-	-	-	-	240	-	-	1566
*Rhabdoderma sp.**	73	-	-	-	-	-	-	-
Spirulina sp.	-	-	-	-	-	-	-	461
*Synechocystis sp.**	-	92	-	-	-	-	-	184
Euglenophyceae								
Trachelomonas sp.	-	-	-	-	120	-	-	-
Dynophyceae								
Peridinium gatunense	145	-	276	-	-	-	-	-

Tabela 7 - Densidade relativa (ind.mL^{-1}) de organismos fitoplanctônicos encontrados no reservatórios de Barra Bonita

Gênero/Espécie	Densidade relativa (ind.mL^{-1})							
	out/2013		fev/2014		mai/2014		jul/2014	
	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA	10% da RSFA	50% da RSFA
Bacillariophyceae								
Aulacoseira sp.	-	-	-	-	829	197	645	184
Navicula sp.	867	-	-	-	369	99	92	-
Cyclotella sp.	-	357	-	-	-	-	-	-
Chlamydophyceae								
Chlamydomonas gracilis	950	1070	381	-	-	296	-	-
Chlamydomonas debaryana	-	-	-	-	-	-	829	276
Chlorophyceae								
Chlorella vulgaris	259	624	-	-	829	296	-	184
Coelastrum sp.	259	89,16	-	-	-	-	-	-
Crucigeniella sp.	-	-	-	89	-	99	-	-
Eutetramorus sp.	-	89	-	-	-	-	-	-
Kirchneriella obesa	-	267	-	-	-	-	-	-
Monoraphidium contortum	259	357	95	89	-	-	-	-
Monoraphidium indicum	-	-	95	-	-	-	92	-
Monoraphidium irregulare	86	-	-	-	-	-	-	-
Scenedesmus acuminatus	-	178	-	-	-	-	-	-
Cryptophyceae								
Cryptomonas sp.	-	-	-	-	184	790	553	-
Cryptomonas brasiliensis	86	89	-	-	-	-	-	-
Cryptomonas tetrapyrenoidosa	259	178	-	-	-	-	-	-
Rhodomonas lacustris	-	-	-	-	4054	4738	-	-
Cyanobacteria								
*Aphanocapsa elachista**	777	446	-	89	461	296	-	-
Aphanotece sp.	-	-	-	-	-	-	92	-
*Coelomoron sp.**	-	-	-	-	-	197	-	-
Merismopedia sp.	-	-	-	-	-	99	-	-
Microcystis aeruginosa	518	446	10296	9183	1198	2073	921	553
Myxobaktron sp.	-	89	-	-	-	-	-	-
Phormidium sp.	432	624	95	178	-	-	276	276
Pseudanabaena sp.	173	89	-	-	-	99	-	553
Rhabdoderma sp.	173	-	-	-	-	-	-	-
Spirulina sp.	-	178	95	-	92	-	92	92
Synechococcus sp.	173	178	286	89	-	-	-	-
*Synechocystis sp.**	-	-	-	-	369	-	-	1198
Dynophyceae								
Ceratium sp.	86	267	-	-	461	197	1843	1843
Peridinium gatunense	-	-	-	267	-	-	-	-
Euglenophyceae								
Trachelomonas sp.	-	-	95	89	-	-	-	-

5.5 Assimilação do nitrogênio

A Tabela 8 mostra quanto foi o incremento na concentração de N na amostra pela adição do traçador. De acordo com recomendação de Lipschultz (2008), deve-se acrescentar o traçador entre 2 a 10% da concentração ambiental.

As concentrações do traçador ^{15}N- NH_4^+ em Itupararanga foram as que mais se afastaram da faixa desejada, devido as flutuações sazonais da concentração desse nutriente no reservatório.

Tabela 8 - Enriquecimento na concentração de nutriente nitrogenado na amostra em decorrência do acréscimo do traçador ^{15}N (%)

Forma nitrogenada	Itupararanga			
	out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
NH_4^+	24,8	1,1	0,1	<0,1
NO_3^-	3,6	5,0	5,2	3,9
Ureia	4,9	19,9	1,6	4,9
	Barra Bonita			
	out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
NH_4^+	9,4	2,5	3,2	0,9
NO_3^-	1,7	8,4	1,3	3,1
Ureia	2,9	34,2	1,7	1,0

Os resultados da assimilação absoluta das três formas nitrogenadas utilizando o método do ^{15}N estão expostos na Tabela 9, assim como a soma da assimilação das três formas nitrogenadas (NH_4^+ + NO_3^- + ureia).

Nota-se que em Barra Bonita a assimilação foi bastante superior à Itupararanga. As maiores taxas foram obtidas em fev/2014, quando houve uma floração de *M. aeruginosa*, provavelmente indicando uma relação positiva de assimilação de N e biomassa fitoplanctônica (comparar com a Figura 35 da concentração de clorofila-a).

A assimilação do NH_4^+ em jul/2014 em Itupararanga não foi detectada. Provavelmente em razão da subestimação no acréscimo do traçador em relação a concentração ambiental.

Na Figura 38 tem-se um gráfico com o comparativo do somatório dos resultados assimilação das três formas nitrogenadas estudadas nos dois reservatórios.

As contribuições de cada forma nitrogenada no somatório da assimilação estão dispostos na Figura 39. Nota-se que mesmo com a provável subestimação da assimilação do NH_4^+ durante a coleta de jul/2014, a assimilação do NO_3^- tendeu a ser maior, seguido pela assimilação do NO_3^- e da ureia.

Tabela 9 - Resultados da assimilação absoluta de N- NH_4^+, N- NO_3^- e N-ureia e soma das assimilação dos três compostos nitrogenados durante as quatro coletas

Reservatório	Profundidade	N- NH_4^+ ($\mu gN.L^{-1}\ h^{-1}$)			
		out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
Itupararanga	50% RSFA	8,1	17,8	1,0	ND
	10%RSFA	7,9	15,9	0,1	ND
Barra Bonita	50% RSFA	6,9	121,5	77,1	0,6
	10%RSFA	6,5	117,0	70,6	2,2
		N- NO_3^- ($\mu gN.L^{-1}\ h^{-1}$)			
		out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
Itupararanga	50% RSFA	1,5	10,9	0,3	0,6
	10%RSFA	0,9	13,9	0,3	0,6
Barra Bonita	50% RSFA	<0,1	24,1	9,4	9,8
	10%RSFA	<0,1	12,3	8,5	10,1
		N-uréia ($\mu gN.L^{-1}\ h^{-1}$)			
		out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
Itupararanga	50% RSFA	1,1	5,2	0,5	0,11
	10%RSFA	0,3	2,8	0,6	0,06
Barra Bonita	50% RSFA	<0,1	13,7	11,9	0,23
	10%RSFA	0,2	5,1	8,9	0,09
		Somatório das assimilações ($\mu gN.L^{-1}\ h^{-1}$)			
		out/2013	fev/2014	mai/2014	jul/2014
Itupararanga	50% RSFA	10,70	33,95	1,75	0,10
	10%RSFA	9,01	32,70	0,90	ND
Barra Bonita	50% RSFA	6,99	159,26	98,27	10,61
	10%RSFA	6,79	134,35	88,03	12,42

ND: não detectado

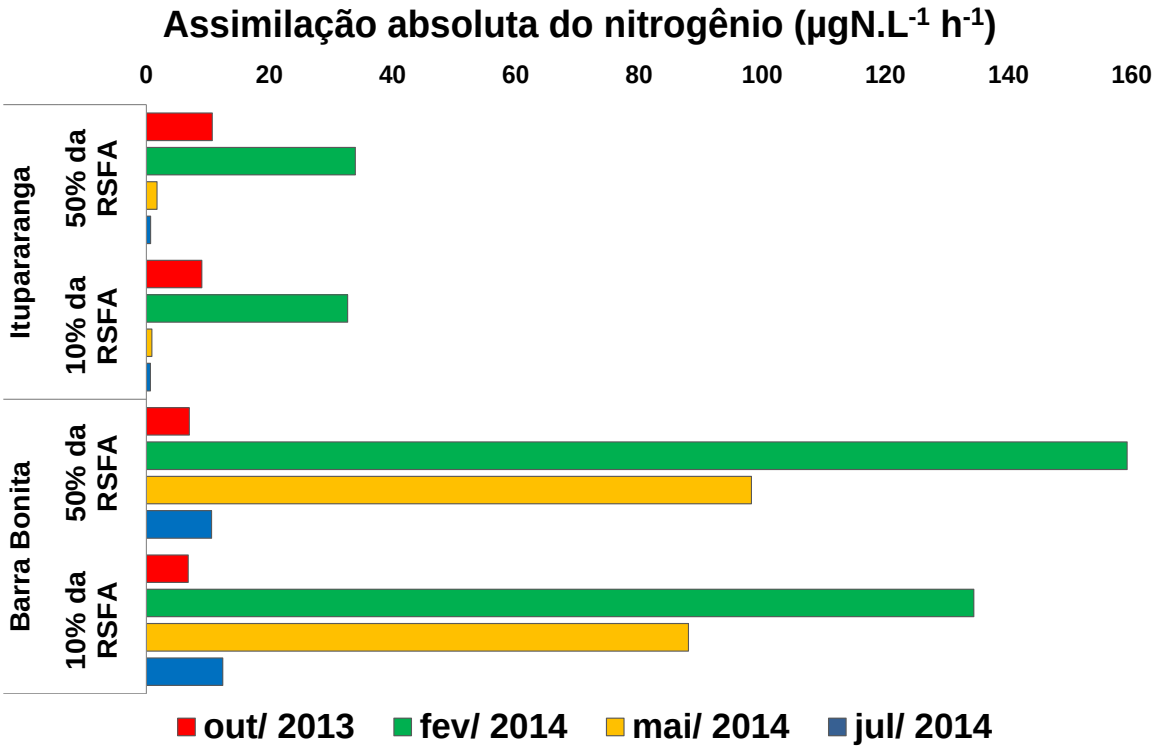


Figura 38. Assimilação de N (NO_3^- + NH_4^+ + ureia, µg.$L^{-1}h^{-1}$) pela comunidade fitoplanctônica nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita em duas profundidades de coleta, correspondentes a 50% e 10% da RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa) nas quatro coletas realizadas.

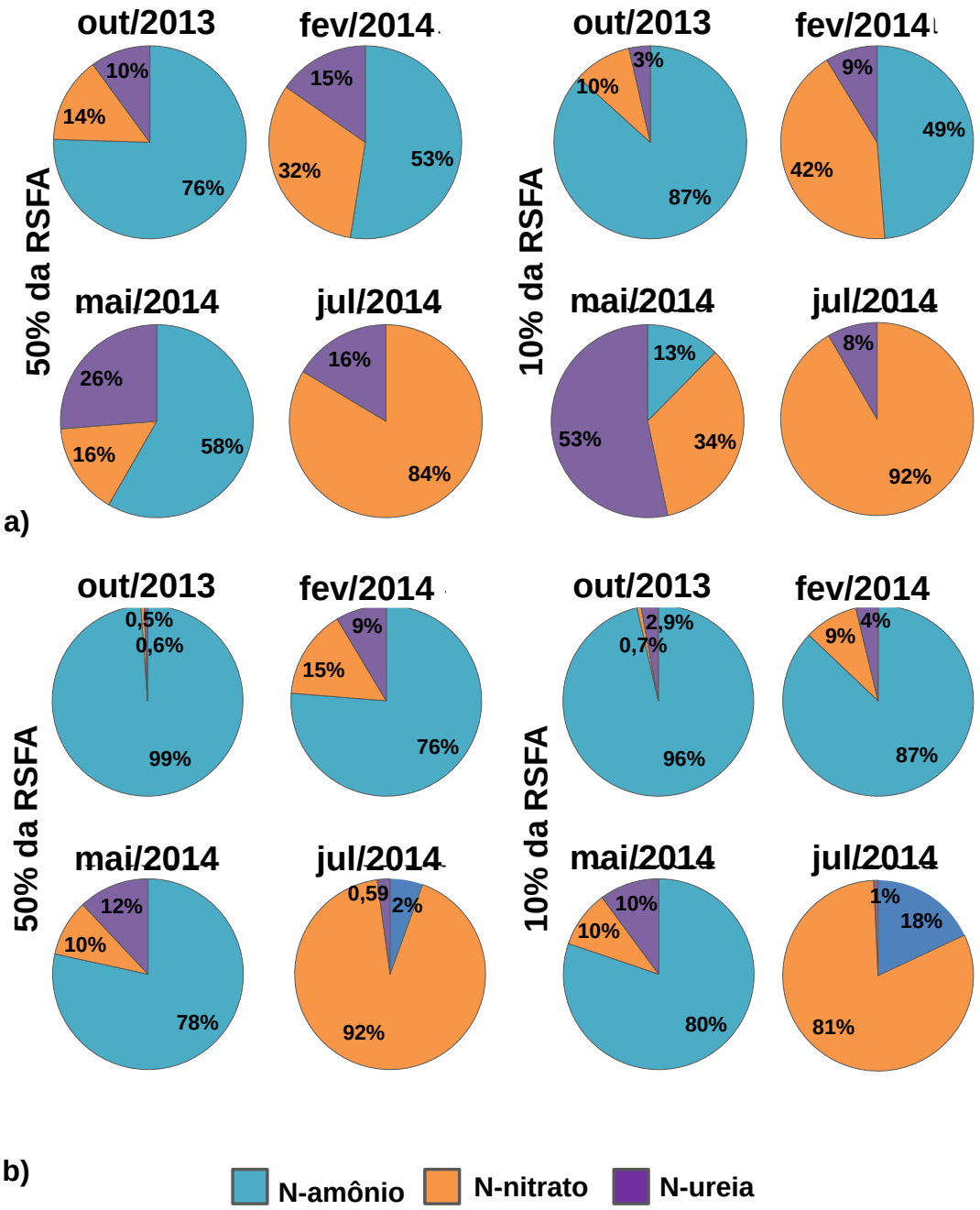


Figura 39. Distribuição relativa da assimilação das formas nitrogenadas e ($\mu g.L^{-1}h^{-1}$) pela comunidade fitoplanctônica nos reservatórios de Itupararanga (a) e Barra Bonita (b) nas profundidades correspondentes a 50% e 10% da RSFA nas quatro coletas realizadas.

5.6. Análise estatística

Análises de variância (ANOVA) foram realizadas individualmente para os fatores abióticos (ortofosfato, fósforo total dissolvido, fósforo total, nitrito, nitrato, amônia, nitrogênio total Kjeldahl, nitrogênio orgânico, ureia, razão N:P, temperatura, oxigênio dissolvido, radiação solar fotossinteticamente ativa subaquática) e bióticos (clorofila-a, abundância relativa de Cyanobacteria, abundância relativa de Chlorophyceae, assimilação do NO_3^- e assimilação da ureia). Foram observadas flutuações dos resultados quanto aos diferentes reservatórios, coletas (variação sazonal), e profundidades (variação vertical).

As concentrações dos nutrientes foram significativamente maiores em Barra Bonita que em Itupararanga com exceção das concentrações de amônia (Tabela 10). Comparando os reservatórios, não houve diferença significativa entre as variáveis dependentes das condições climatológicas (temperatura e radiação), nem entre as variáveis que indicavam a atividade fotossintética (oxigênio dissolvido e pH). A comunidade fitoplanctônica também diferiu entre os reservatórios, sendo as concentrações de clorofila-a e densidades de cianobactérias e clorofíceas maiores em Barra Bonita. Quanto à assimilação, apenas a assimilação do NH_4^+ mostrou diferença entre os reservatórios.

A variação vertical foi detectada apenas entre as RSFA, o que já era esperado, pois as profundidades foram escolhidas com base nos perfis de radiação e entre a assimilação da ureia.

A variação entre as coletas foi observada nas concentrações de formas nitrogenadas (NH_4^+, NTK), e consequentemente, razão NT:PT. Flutuações sazonais também foram detectadas na temperatura, pH e assimilação do NO_3^-.

Tabela 10: Análise de variância (ANOVA) entre fatores abióticos e entre os diferentes reservatórios, profundidades e coletas

Variável	Entre os reservatórios	Entre as profundidades	Entre as coletas
$P\text{-}PO_4$	0,00 *	0,87	0,61
PDT	0,00 *	0,75	1,00
PT	0,00 *	0,87	0,78
NO_2	0,03 *	1,00	0,14
NO_3	0,00 *	0,97	0,74
NH_3	0,28	0,92	0,00 *
NTK	0,09 *	0,86	0,02 *
Norg	0,03 *	0,69	0,15
Ureia	0,03 *	0,69	0,15
NT:PT	0,04 *	0,81	0,02 *
T	0,25	0,98	0,00 *
OD	0,20	0,42	0,08
RSFA	0,47	0,00 *	0,95
pH	0,74	0,99	0,00 *
Clorofila-a	0,01 *	0,97	0,24
Densidade relativa de Cyanobacteria	0,00 *	0,97	0,11
Densidade relativa de Chlorophyceae	0,00 *	0,91	0,35
Assimilação do NH_4^+	0,03 *	0,94	0,08
Assimilação do NO_3^-	0,11	0,74	0,01 *
Assimilação do ureia	0,28	0,02 *	0,74

* diferença significativa para α=5%

$P\text{-}PO_4$ (ortofosfato); PDT (fósforo total dissolvido); PT (fósforo total); NO_2(nitrito); NO_3 (nitrato); NH_3 (amônia); NTK (nitrogênio total Kjeldahl); Norg (nitrogênio orgânico); T (temperatura); OD (oxigênio dissolvido); RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa)

De acordo com as Tabelas 11 e 12, em Itupararanga e em Barra Bonita, a assimilação de NH_4^+ apresentou correlação positiva com a assimilação do NO_3^- e da ureia. As assimilações de NO_3^- e ureia, porém, não demonstraram correlação significativa.

Quanto às correlações com as demais variáveis, nos dois reservatórios, a assimilação do NH_4^+ e da ureia responderam negativamente às concentrações de alguns nutrientes dissolvidos e positivamente à temperatura, clorofila-a e densidade de clorofíceas. A assimilação do NO_3^- respondeu apenas à temperatura e clorofila-a.

Lembrando que, quanto maior a atividade fotossintética, mais baixas são as concentrações de nutrientes dissolvidos na água, em resumo, maior a atividade metabólica do fitoplâncton, maior a assimilação das formas nitrogenadas.

Tabela 11 - Correlação de Spearman (r) entre as assimilações das formas nitrogenadas (horizontal) e as variáveis abióticas e bióticas (vertical) analisadas no Reservatório de Itupararanga

	Assimilação do NH_4^+		Assimilação do NO_3^-		Assimilação do ureia	
$P\text{-}PO_4$	-0,28		-0,28		-0,29	
PDT	-0,92	*	-0,67		-0,93	*
PT	0,11		0,55		0,14	
NO_2^-	-0,63		-0,10		-0,64	
NO_3^-	-0,55		-0,29		-0,55	
NH_3^+	-0,77	*	-0,57		-0,75	*
NTK	-0,40		-0,19		-0,40	
Norg	-0,81	*	-0,57		-0,79	*
Ureia	-0,81	*	-0,57		-0,79	*
NT:PT	-0,23		-0,39		-0,24	
T	0,92	*	0,77	*	0,93	*
OD	-0,73	*	-0,57		-0,74	*
RSFA	-0,54		-0,51		-0,57	
pH	0,90	*	0,66		0,90	*
Clorofila-a	0,90	*	0,77	*	0,90	*
Assimilação do NH_4^+	1,00		0,78	*	0,99	*
Assimilação do NO_3^-	0,78	*	1,00		0,77	*
Assimilação do ureia	0,99	*	0,77	*	1,00	

* diferença significativa para α=5%

$P\text{-}PO_4$ (ortofosfato); PDT (fósforo total dissolvido); PT (fósforo total); NO_2(nitrito); NO_3 (nitrato); NH_3 (amônia); NTK (nitrogênio total Kjeldahl); Norg (nitrogênio orgânico); T (temperatura); OD (oxigênio dissolvido); RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa)

Tabela 12 - Correlação de Spearman (r) entre as assimilações das formas nitrogenadas (horizontal) e as variáveis abióticas e bióticas (vertical) analisadas no reservatório de Barra Bonita

	Assimilação do NH_4^+	Assimilação do NO_3^-	Assimilação do ureia
$P\text{-}PO_4$	-0,17	-0,79 *	-0,17
PDT	0,31	-0,31	-0,07
PT	0,19	0,88 *	0,40
NO_2^-	-0,38	0,40	0,24
NO_3^-	-0,59	-0,30	0,00
NH_{3+}	-0,50	0,31	-0,07
NTK	-0,79 *	-0,81 *	-0,86 *
Norg	-0,98 *	-0,43	-0,76 *
Ureia	-0,98 *	-0,43	-0,76 *
NT:PT	-0,76 *	-0,79 *	-0,90 *
T	0,95 *	0,36	0,69
OD	0,36	0,95	0,43
RSFA	-0,32	-0,06	-0,57
pH	0,39	0,96 *	0,42
Clorofila-a	0,21	0,76 *	0,02
Assimilação do NH_4^+	1,00	0,40	0,71 *
Assimilação do NO_3^-	0,40 *	1,00	0,52
Assimilação do ureia	0,71 *	0,52	1,00

* diferença significativa para α=5%

$P\text{-}PO_4$ (ortofosfato); PDT (fósforo total dissolvido); PT (fósforo total); NO_2(nitrito); NO_3 (nitrato); NH_3 (amônia); NTK (nitrogênio total Kjeldahl); Norg (nitrogênio orgânico); T (temperatura); OD (oxigênio dissolvido); RSFA (radiação solar fotossinteticamente ativa)

Observando os resultados da análise de correlação canônica (CCA) entre o conjunto de dados das variáveis ambientais e a assimilação das formas nitrogenadas em Itupararanga (Tabela 13) e Barra Bonita (Tabela 14), nota-se que nos dois reservatórios o eixo canônico 1 foi responsável pela maior parte da variação.

Tabela 13 - Resultados da análise de correspondência canônica para as variáveis abióticas e a assimilação de formas nitrogenadas em Itupararanga

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores	0,061242	0,005224
Porcentagem	92,14%	7,86%

Tabela 14 - Resultados da análise de correspondência canônica para as variáveis abióticas e a assimilação de formas nitrogenadas em Barra Bonita

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores	0,18841	0,014333
Porcentagem	92,93%	7,07%

Em Itupararanga, observando-se o diagrama de ordenação da CCA na Figura 40, percebe-se pelo eixo 1 que a assimilação do NH_4^+ e ureia possuem relação oposta com a concentração de nutrientes dissolvidos e oxigênio dissolvido e positiva com a temperatura e razão NT:PT. A assimilação do NO_3^- aparenta ter relação positiva com maiores concentrações de nutrientes dissolvidos. Pela disposição mais distante nos eixos, a assimilação no NH_4^+ parecer ter menor relação com a assimilação de NO_3^- e ureia.

Em Barra Bonita (Figura 41), a assimilação do NH_4^+ apresentou correlação positiva com PTD e razão NT:PT e negativa com a concentração de formas nitrogenadas. A assimilação da ureia está mais relacionada à temperatura e a assimilação do NO_3^- possuiu correlação positiva com a concentração de compostos nitrogenados dissolvidos na água.

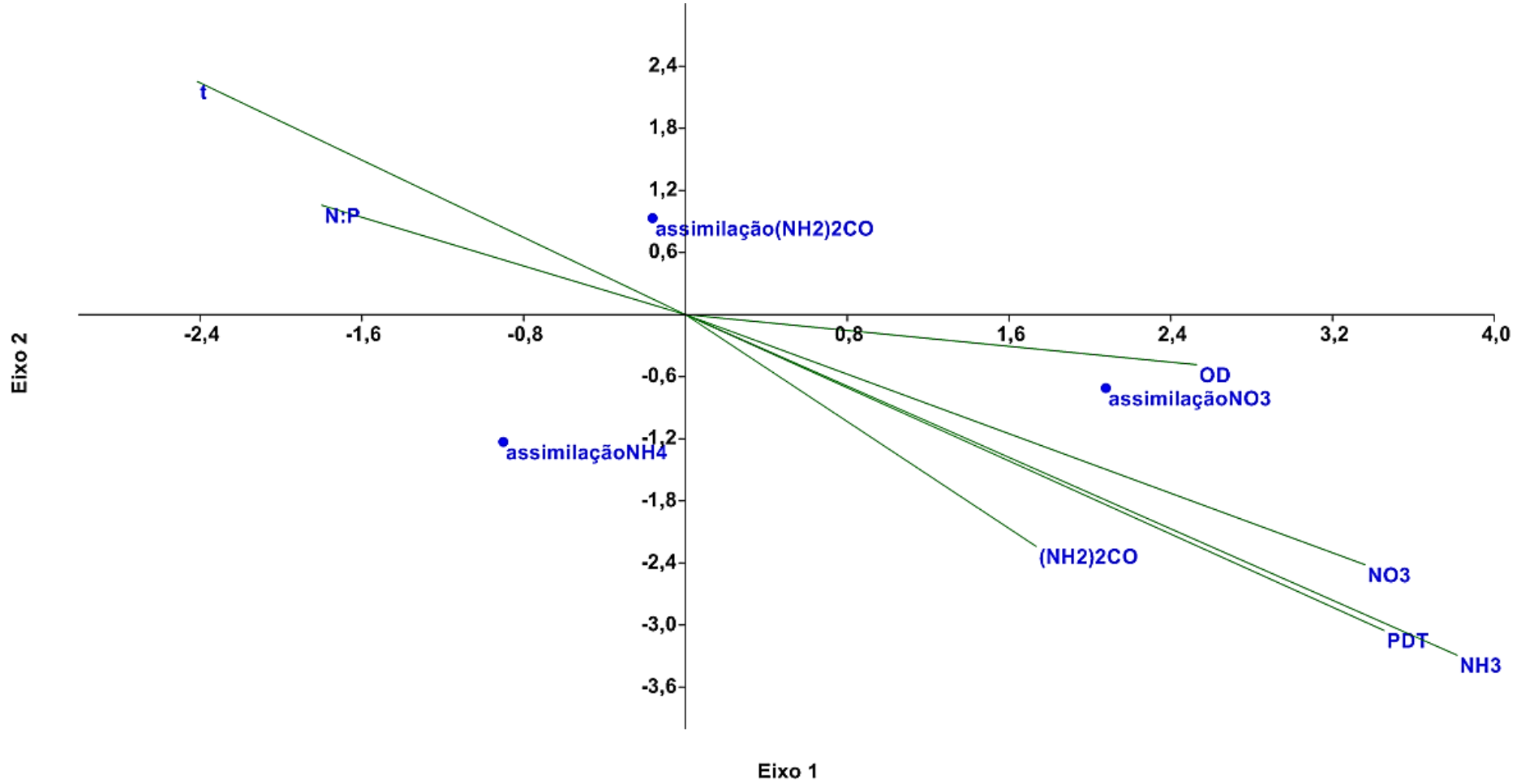


Figura 40 – Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica com a assimilação do NO_3^-, NH_4^+ e ureia e variáveis ambientais (vetores) em Itupararanga. Onde: assimilação NH4 = assimilação do NH_4^+, assimilaçãoNO3 = assimilação do NO_3^-, assimilação (NH2)2CO = assimilação da ureia, t = temperatura, N:P = razão NT:PT, (NH2)2CO = concentração de ureia, OD = oxigênio dissolvido, NO3 = concentração de NO_3^-, PTD = concentração de PTD e NH3 = concentração de NH_3^+.

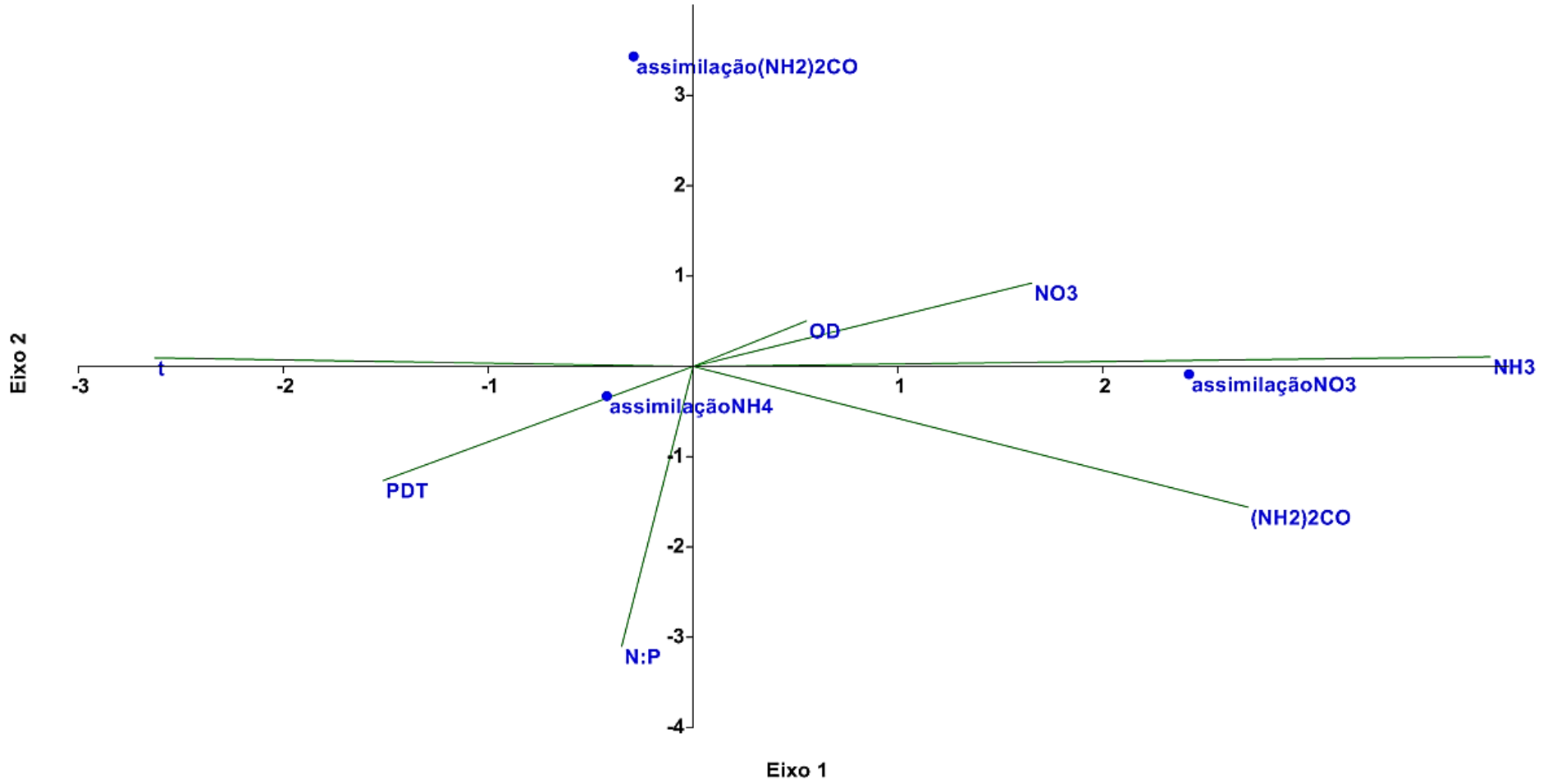


Figura 41 – Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica com a assimilação do NO_3^-, NH_4^+ e ureia e variáveis ambientais (vetores) em Barra Bonita. Onde: assimilação NH4 = assimilação do NH_4, assimilaçãoNO3 = assimilação do NO_3^-, assimilação (NH2)2CO = assimilação da ureia, t = temperatura, N:P = razão NT:PT, (NH2)2CO = concentração de ureia, OD = oxigênio dissolvido, NO3 = concentração de NO_3^-, PTD = concentração de PTD e NH3 = concentração de NH_3.

6. DISCUSSÃO

6.1. Condições ambientais

Os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita são dois grandes reservatórios localizados no interior do Estado de São Paulo. Foram construídos originalmente para geração de energia, mas hoje acumulam outros usos, muitas vezes conflituosos, como regularização da vazão, irrigação, navegação, lazer e descarga de efluentes (CALIJURI et al., 2002, BUZELLI & CUNHA-SANTINO, 2013; TANIWAKI et al. 2013). Além disso, ambos vêm sofrendo influências negativas de centros urbanos e de regiões de monocultura extensiva (SOTERO-SANTOS et al., 2006; SEMA, 2014; CETESB, 2014).

Como fator agravante, as condições hidrológicas foram desfavoráveis no ano hidrológico de 2013 – 2014. A escassez de chuvas foi responsável por reduções do nível de água e aumento progressivo do TDH, o que promoveu o acúmulo das cargas de nutrientes nos dois reservatórios.

Lagos e reservatórios com elevados TDH, acumulação de nutrientes e eutrofizados são propícios para a ocorrência de florações fitoplanctônicas, pois, nesse caso, as algas e as cianobactérias têm a seu dispor mais tempo para utilização dos nutrientes disponíveis (VAN APELDOORN et al., 2007; CARVALHO et al., 2011; JEPPESEN et al., 2015).

Em Itupararanga e Barra Bonita durante o período amostral, foram registradas em geral, concentrações elevadas de PT, NTK, NO_2 e NO_3 e, à medida que os efeitos da estiagem foram acumulados ao longo do ano hidrológico, observou-se uma tendência ao aumento na concentração de amônia. Buzelli & Cunha-Santino (2013) atribuíram à falta do efeito diluidor das precipitações atmosféricas as elevadas concentrações dos nutrientes no reservatório de Barra Bonita durante a estiagem ocorrida no ano de 2011.

Em Barra Bonita, as concentrações de nutrientes, assim como os resultados do IET e das densidades fitoplanctônicas calculados ao longo das coletas foram geralmente maiores que em Itupararanga. Porém, foi notada uma tendência um pouco mais acelerada deste último reservatório ao aumento das concentrações de amônia no decorrer do ano hidrológico 2013-2014.

Uma possível explicação para o aumento nas concentrações de amônia foi a decomposição da biomassa originada das florações de cianobactérias observadas nos dois reservatórios durante a coleta de fev/2014 (verão). Entre fev/2014 e jul/2014 houve uma queda de 34 e 38% nas concentrações de clorofila-a em Itupararanga e Barra Bonita, respectivamente. Gomes (2011) observou que, após o colapso de uma floração de *Cylindrospermopsis raciborskii* na lagoa de Jacarepaguá (Rio de Janeiro-RJ), houve liberação de N na água.

Além disso, períodos de mistura completa dos reservatórios, observados pela ausência de estratificação térmica (Figura 32), podem ter contribuído com as maiores disponibilidades de NH_4^+ na superfície pela ressuspensão dos nutrientes liberados pela decomposição da biomassa fitoplanctônica no fundo.

Os resultados do IET mantiveram-se relativamente estáveis nos dois reservatórios ao longo do período amostrado: em todas as coletas Itupararanga foi classificado como supereutrófico e Barra Bonita, como hipereutrófico. Estudos prévios como IETC-UNEP (2001) e Buzelli & Cunha-Santino (2013) já classificavam o reservatório de Barra Bonita como hipereutrófico. Itupararanga, em 2012, foi classificado por Cunha como eutrófico em sua região de barragem, porém Taniwaki em 2013, já o classificou como supereutrófico, o que aponta uma piora na qualidade de suas águas em anos recentes.

6.2. A comunidade fitoplanctônica

As razões NT:PT obtidas nesse trabalho foram, em média, maiores que a razão ótima proposta por Redfield (1958). Isto indica que a comunidade fitoplanctônica nesses reservatórios, provavelmente, não foi limitada pelas concentrações de N. Casali (2014) também não detectou limitação por N na comunidade fitoplanctônica em Itupararanga.

Diversos estudos sobre a influência da relação entre N e P na distribuição dos grupos fitoplanctônicos e na regulação da biomassa indicam que elevadas razões NT:PT parecem favorecer as cianobactérias não-fixadoras de N_2, as clorofíceas e as diatomáceas, (DORCHT, 1990; SOMMER, 1999; HAVENS *et al*., 2003).

Isto foi observado em Barra Bonita, que apresentou maiores densidades relativas da cianobactéria não-fixadora de N_2, *M. aeruginosa*. Porém, em Itupararanga, foram

observadas densidades relativas maiores da cianobactéria fixadora de N_2 *C. raciborskii* e a presença de heterócito em muitos filamentos. Isto indica que a comunidade fitoplanctônica neste reservatório é regulada por outros fatores além das razões de nutrientes.

Em reservatórios tropicais, diversos fatores como a RSFA disponível (HENRY *et al*., 2006; CUNHA & CALIJURI, 2011), o TDH (BEAVER *et al.* 2013), temperatura (MCCARTHY *et al*., 2009), períodos de estratificação e de mistura da coluna de água (CALIJURI *et al*., 2002), parecem ser importantes para regular a comunidade fitoplanctônica. Especialmente em ambientes com maior estado trófico (HUSZAR *et al.,* 2006).

Dessa forma, além da disponibilidade de nutrientes, a maior radiação disponível e a estratificação da coluna de água podem explicar a ocorrência de maiores densidades fitoplanctônicas entre os meses de setembro/2013 a março/2014 em Itupararanga e Barra Bonita. E no decorrer do ano hidrológico 2013-2014 a sazonalidade das variáveis ambientais foi responsável pelas mudanças na estrutura da comunidade fitoplanctônica nos reservatórios.

Em Itupararanga, ao longo do período amostrado, foram detectadas maiores densidades relativas da cianobactéria *C. raciborskii* e da clorofícea *M. contortum* em relação às outras espécies fitoplanctônicas. De acordo com Casali (2014) em estudo da comunidade do reservatório de Itupararanga, a cianobactéria *C. raciborskii* apresentou predominância tanto no período seco como no chuvoso.

Em Barra Bonita as densidades relativas das espécies fitoplanctônicas apresentaram maior variação sazonal. A cianobactéria *M. aeruginosa* foi a única espécie encontrada em todas as profundidades e em todas as coletas. Em fev/2014, esse microrganismo foi responsável por uma floração massiva. A partir de maio, houve o aumento das densidades da dinofícea *Ceratium sp.* e da diatomácea *Aulacoseira sp.* Calijuri & dos Santos (1996) observaram que durante a estação chuvosa, o reservatório de Barra Bonita esteve em estado de equilíbrio, pois houve estabilidade da coluna de água, menor diversidade de espécies e domínio da cianobactéria *M. aeruginosa*. Enquanto que no inverno ocorreu o estado de não-equilíbrio, com instabilidade da coluna de água e maior diversidade de espécies, sem nenhuma dominante.

Salienta-se que a importância das espécies filamentosas e coloniais pode ser subestimada. Cunha (2014) ao caracterizar a comunidade fitoplanctônica em Itupararanga, observou que, *M*. *contortum* apresentou maiores densidades que *C. raciborskii*, todavia, ao avaliar o biovolume, a importância da cianobactéria foi maior. No caso do reservatório de Barra Bonita, o tamanho das colônias de *M. aeruginosa* encontradas indica esta espécie como dominante no reservatório durante as estações mais quentes. Calijuri *et al.* (2002) também encontraram discrepâncias entre a caracterização da comunidade fitoplanctônica por contagem de indivíduos e biovolume.

Através da análise estatística ANOVA, pôde-se observar que os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita apresentaram, no período estudado, diferença significativa ($p<0,05$) entre as concentrações da maioria dos nutrientes, da clorofila e do assimilação do NH_4^+. Não houve diferença relevante entre as variáveis dependentes das variáveis climatológicas (temperatura e RSFA) nem entre as variáveis que indicam produtividade primária (pH e OD).

A análise do efeito da sazonalidade nos reservatórios indicou variação significativa apenas para as concentrações de alguns nutrientes nitrogenados (NH_3, NTK), além da razão NT:PT, temperatura, pH e na assimilação do NO_3^-.

Não houve variação significativa entre as profundidades para a maioria das variáveis, apenas para RSFA e para a assimilação de ureia. Isso provavelmente ocorreu porque as profundidades foram escolhidas baseadas no perfil de RSFA (Figura 31). Devido à turbidez gerada pelas densidades fitoplanctônicas elevadas nos dois reservatórios, a 2ª profundidade, muitas vezes, localizava-se a menos de 1 m abaixo da 1ª profundidade, o que provavelmente não foi suficiente para uma variação vertical ser detectada.

6.3. Assimilação do nitrogênio

Os resultados desta pesquisa mostram a existência de concentrações relativamente elevadas de nutrientes nitrogenados e de altas taxas de assimilação de N nos reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita. As diferentes formas de N exibiram diferentes concentrações e taxas de assimilação ao longo das coletas, o que provavelmente foi influenciado por alterações na estrutura das comunidades fitoplanctônicas em cada reservatório.

Sabe-se, porém, que bactérias também desempenham papel importante na assimilação de nutrientes no meio aquático. Kirchman & Wheeler (1998) acreditam que a assimilação de N pelo fitoplâncton é superestimada pela presença de bactérias retidas nos filtros GF/F. Bradley et al. (2010) e Yuan et al. (2012) apontaram que, em alguns casos, as taxas de assimilação de N na forma de aminoácidos livres pelas bactérias foi superior à assimilação pelo fitoplâncton após a incubação. Contudo, o fitoplâncton parece ser melhor competidor pelas formas reduzidas de N como NH_4^+ e NO_3^-, especialmente nas camadas mais superficiais dos corpos de água (KENESI et al. (2009).

Neste estudo, não foi possível inferir a parcela da assimilação do N que deve ser atribuída às bactérias. Entretanto, os resultados das taxas de assimilação das formas nitrogenadas mostraram-se relacionados à estrutura das comunidades fitoplanctônicas em Itupararanga e Barra Bonita.

De maneira geral, quanto maiores as concentrações de clorofila-a, maiores as taxas de assimilação de N em ambos os reservatórios. Isso explicaria porque a assimilação foi maior em Barra Bonita que em Itupararanga e também porque as taxas de assimilação foram maiores na 1ª profundidade em relação à 2ª.

GU et al. (1997) avaliaram a assimilação de N em amostras provenientes do lago Okeechobee (Flórida - Estado Unidos), um lago subtropical eutrófico. Após o enriquecimento com traçador ^{15}N em concentração ≤ 10% da concentração ambiental e incubação por 3h (25°C e 100-125 $\mu mol.s^{-1}.m^{-2}$) encontraram taxas de assimilação médias de 0,67 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ para NH_4^+, 0,24 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ para NO_3^- e 0,19 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ para ureia. Mesmo eutrofizado, as amostras apresentaram valores para clorofila-a abaixo do esperado (39,27 $\mu g.L^{-1}$), provavelmente devido à elevada turbidez da água do lago Okeechobee.

PRÉSING et al. (2001), em ensaios com amostras de água provenientes de duas regiões distintas do Lago Balaton (Hungria), enriquecidas com traçador ^{15}N após incubações de 1h em incubadoras à temperatura e intensidade luminosa similares à encontradas no lago, detectaram relação positiva entre as taxas de assimilação e estado trófico. De acordo com o experimento conduzido, a assimilação na bacia oeste (mesotrófica, dominada por diatomáceas) foi entre 0,11 e 1,56 $\mu gN.L^{-1}\ h^{-1}$ para o NH_4^+, 0,02 e 0,31 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ para NO_3^- e 0,12 e 1,38 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ para ureia. Já a assimilação na bacia oeste (eutrófica, dominada por cianobactérias fixadoras

de N_2) o NH_4^+ variou de 0,07 à 10,27 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$, a assimilação do NO_3^- foi entre 0,52 e 0,03 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$ e a assimilação da ureia foi entre 0,15 e 3,17 $\mu gN.L^{-1}.h^{-1}$. A assimilação do NH_4^+ e ureia foi maior na região mais eutrófica do reservatório. Os maiores valores para a assimilação do NH_4^+ foram obtidos quando as concentrações de clorofila-a foram mais elevadas (clorofila-a máx. na bacia leste: 14 $\mu g.L^{-1}$; clorofila-a máx. na bacia oeste: 45 $\mu g.L^{-1}$).

As menores biomassas fitoplanctônicas, indicadas pelas concentrações de clorofila-a, nos ambientes dos exemplos acima provavelmente foram também o motivo da grande diferença entre a as taxas de assimilação encontradas neste trabalho. Durante o episódio da floração em Barra Bonita em fev/2014, a taxa de assimilação registrada chegou a ser três ordens de grandeza maior que as maiores taxas registradas pelos autores. Dessa forma, a assimilação das formas nitrogenadas mostrou-se fortemente relacionada à comunidade fitoplanctônica.

Observando os resultados das correlações lineares de Spearman (r), e das correlações canônicas, observou-se em Itupararanga e em Barra Bonita que a assimilação do NH_4^+ e da ureia foi inversamente proporcional às concentrações de nutrientes dissolvidos. A assimilação foi proporcional as concentrações de clorofila-a e as variáveis ambientais que indicavam atividade fotossintética nos reservatórios (t, OD e pH). Assim, quanto maior atividade metabólica do fitoplâncton, maior é assimilação do N, assim como outros elementos essenciais ao crescimento fitoplanctônico, e consequentemente, menores são as concentrações de nutrientes dissolvidos.

Quanto à forma nitrogenada preferencial pela comunidade fitoplanctônica, a resposta parece estar não ligada apenas à biomassa total, mas também à composição da comunidade. A variação sazonal das condições ambientais, hidrológicas e das concentrações de nutrientes dos reservatórios foi responsável por mudanças na comunidade fitoplanctônica ao longo das coletas, consequentemente, afetando os resultados da assimilação das formas nitrogenadas.

A forma nitrogenada preferencial para o fitoplâncton em Itupararanga e em Barra Bonita no período amostrado foi, em geral, o NH_4^+, seguido pelo NO_3 e pela ureia. Estes resultados confirmam outros da literatura, que geralmente aponta o NH_4^+ como a fonte preferencial de N pela maioria das espécies fitoplanctônicas (PRÉSSING et al., 2001; JAUZEIN et al. 2008; XU et al., 2011; DONALD; 2013).

Concentrações ambientais menores deste nutriente suportam elevadas taxas de assimilação (YUAN et al., 2012). Assim, quanto maior a biomassa fitoplanctônica, maior a assimilação de NH_4^+.

Em Itupararanga, a assimilação do NH_4^+ (42%) foi maior, seguida pela assimilação do NO_3^- (40%) e ureia (18%). Houve correlação significativa entre variações na biomassa fitoplanctônica com a assimilação do NO_3^-, NH_4^+ e ureia. Nesse reservatório, portanto, a comunidade fitoplanctônica pareceu estar bem adaptada a assimilar as três formas nitrogenadas presentes na água.

Em Barra Bonita, o NH_4^+ (65%) foi a forma nitrogenada preferida, seguida por NO_3^- (26%) e ureia (9%). No entanto, o aumento na concentração de clorofila-a mostrou correlação positiva somente com a assimilação do NO_3^-. O resultado dessa correlação mais o resultado da ANOVA indicam que a comunidade fitoplanctônica deste reservatório parece ter capacidade de assimilar as três formas nitrogenadas, porém mudanças na composição da comunidade fitoplanctônica podem ter gerado um aumento na assimilação do NO_3^-.

A forma como as diferentes fontes de N são utilizadas em um ambiente natural varia com a composição das comunidades. Diferentes espécies fitoplanctônica exibem capacidade fisiológica distintas em usar determinado substrato (GLIBERT et al., 2006).

A comunidade fitoplanctônica em Itupararanga foi dominada por *Cylindrospermopsis raciborskii*. Essa cianobactéria é considerada um organismo com distribuição em expansão em várias partes do mundo. De acordo com PADISAK (1997), o sucesso ecológico de *C. raciborskii* está diretamente relacionado a sua grande adaptabilidade metabólica.

Ainda, segundo Kenesi et al. (2009), *C. raciborskii* é uma excelente competidora por NH_4^+ e NO_3^-. Mesmo em situações de limitação do suprimento do P, (200 µg.L $^{-1}$ P-PO) *C. raciborskii* é capaz de se desenvolver e crescer, desde que haja suprimento de NH_4^+ e NO_3^- suficiente. Portanto a redução apenas do aporte de P parece não ser efetivo para controlar as populações dessa cianobactéria (CHISLOCK et al., 2014).

De acordo com Tamminen & Irmisch (1996), a disponibilidade de ortofosfato na água aumenta a eficiência do uso de NH_4^+, NO_3^- e ureia por *C. raciborskii*, sendo a demanda nitrogenada restante suprida pela fixação atmosférica.

Spröber *et al.* (2003), em estudos com bioensaios em culturas contínuas, detectaram que, sob condição de abundância de ortofosfato (5 $mg.L^{-1}$ P-PO), a biomassa de *C. raciborskii* não foi diferente quando NH_4^+ ou NO_3^- foi a forma nitrogenada disponível. No entanto, quando presentes simultaneamente, a assimilação do NO_3^- foi menor, porém não chegou a ser totalmente inibida.

Dessa maneira, a comunidade de Itupararanga pareceu ser flexível quanto à estratégia de assimilação do N. Quando NH_4^+ está disponível esta seria a forma preferencial, seguido por NO_3^- e ureia. Esta ideia está de acordo com Burford & Davis (2011), que sugerem que as florações *de C. raciborskii são* de difícil controle, pois essa cianobactéria, mesmo mostrando preferência por NH_4^+, tem a capacidade de se aproveitar de todas as formas nitrogenadas disponíveis na água e em períodos de escassez ela é capaz de recorrer à assimilação do N_2 atmosférico.

A preferência por NH_4^+ pela maioria dos grupos fitoplanctônicos explica porque a assimilação do NH_4^+ foi predominante em Itupararanga. Apenas em jul/2014 a assimilação do NO_3^- foi maior que do NH_4^+, porém a isso pode ser atribuído a subestimação do traçador $^{15}N\text{-}NH_4^+$ acrescentado à amostra, o que causou a não-detecção da assimilação do NH_4^+ pelo método nesta coleta. Portanto a assimilação do NH_4^+ em Itupararanga foi provavelmente subestimada.

Em Barra Bonita, a comunidade fitoplanctônica apresentou um comportamento menos estável ao logo do período de amostragem, com isso, também houve mudanças na estratégia de assimilação de N pelo fitoplâncton nesse reservatório.

Durante a out/2013 e jul/2014 (estação chuvosa) a dominância da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* pareceu favorecer a assimilação de NH_4^+. A partir de mai/2014, após o colapso da floração e do aumento das abundâncias relativas das dinofíceas e diatomáceas, a comunidade pareceu aumentar a afinidade por NO_3^-.

MONCHAMP et al. (2014), em bioensaios com cultura de *M. aeruginosa,* indicou que a cianobactéria mostrou preferência por NH_4^+, mas foi capaz de assimilar outras formas de N na presença do NH_4^+. Segundo os autores, as florações de *M. aeruginosa* são capazes de assimilar formas múltiplas de N para manter seu crescimento.

As cianobactérias parecem ser melhores competidoras por NH_4^+ (MONCHAMP et al., 2014; PEARL et al., 2014). Portanto, outros grupos que favorecessem a assimilação de formas alternativas de N, como NO_3^- e ureia teriam vantagens competitivas em Barra Bonita.

Em um estudo recente, Lee (2014) observou que uma cepa tóxica de *M. aeruginosa* proveniente do estuário da Baia de São Francisco (Califórnia, Estados Unidos) exibiu inibição da assimilação da ureia pelo NH_4^+, mas não da assimilação do NO_3^-. Isso é uma possível explicação de por que a assimilação de ureia foi menor, especialmente na estação chuvosa, quando houve o predomínio de *M. aeruginosa,* e também porque durante a floração de fev/2014, quando havia maior concorrência por nutrientes, a assimilação do NO_3^- aumentou. A autora, porém, fez a ressalva de que os mecanismos fisiológicos de inibição da assimilação das formas nitrogenadas parece variar de cepa para cepa em *M. aeruginosa.*

Barra Bonita a partir de mai/2014 apresentou maiores abundâncias relativa de Dinophyceae e Bacilariophyceae, o que parece ter aumentado a afinidade da comunidade fitoplanctônica do reservatório pelo NO_3^-.

As diatomáceas apresentam altos níveis de assimilação de NO_3^- mesmo em ambientes com abundância de outras fontes de N (CHAVEZ & TOGGWEILER, 1995). De acordo com os autores, parte da assimilação do NO_3^- nesse grupo é regulada por mecanismos não-nutricionais, sendo a redução do NO_3^- uma reação fundamental para a manutenção do balanço energético intracelular.

Mesmo as taxas de assimilação do NH_4^+ geralmente corresponderem a maior parcela da assimilação do meio aquático, Dorcht (1990), em estudo sobre a relação entre a assimilação do NH_4^+ e NO_3^- em ambientes marinhos, aponta que espécies menores de fitoplâncton, como as dinófitas parecem ter maior afinidade por NO_3^-.

Glibert *et al.* (2014), em um experimento em que NH_4^+ e NO_3^- foram adicionados a amostras de água estuarina ricas em nutrientes e incubadas em duas condições luminosas diferentes (~60% e 15% da luz ambiente), observaram que mais clorofila-a e fucoxantinas (indicador de diatomáceas) foram produzidas no tratamento enriquecido com NO_3^- sob menor intensidade luminosa. Por outro lado,

mais clorofila-b e zeaxantinas (indicador de cianobactérias) foram produzidas no tratamento enriquecido com NH_4^+ em maior intensidade luminosa.

Com ressalvas quanto a diferenças óbvias entre os ambientes estuarinos e de reservatório, os resultados obtidos pelos autores são compatíveis com o comportamento da comunidade fitoplanctônica em Barra Bonita entre as estações chuvosa (maior RSFA; maior densidade de cianobactérias) e seca (menor RSFA; aumento na densidade de diatomáceas).

A assimilação nas duas profundidades obedeceu ao mesmo padrão ($\rho\ NH_4^+ > \rho\ NO_3^- > \rho$ ureia) e, em geral, as taxas de assimilação parecem ser um pouco maiores na 1ª profundidade em relação à 2ª. A assimilação na 2ª profundidade correspondeu a 91,6% e 87,1% a da 1ª profundidade em Itupararanga e Barra Bonita respectivamente. Isso era esperado devido às maiores densidades fitoplanctônicas na 1ª profundidade.

No entanto, de acordo com as análises estatísticas, a diferença das taxas de assimilação da ureia entre as duas profundidades foram significativas. Nesse caso a intensidade luminosa deve ter tido papel importante.

Em Itupararanga a assimilação da ureia na 2ª profundidade foi em média 65% da assimilação registrada na 1ª profundidade. Em Barra Bonita essa diferença foi menor, sendo a assimilação da 2ª profundidade em média 87,5% da assimilação da ureia na 1ª profundidade.

Dentre os escassos estudos sobre a assimilação da ureia pelo fitoplâncton, Tamminen & Irmisch (1996), ao compararem o efeito da luz em bioensaios claro/escuro em amostras do Mar Báltico da Costa sudoeste da Finlândia, observaram que a assimilação da ureia no escuro resultou entre 85% e 60% da assimilação em condição de luz plena, coincidindo com as faixas encontradas neste estudo. Bradley (2010) também observou maiores taxas de assimilação da ureia na superfície em comparação a profundidades maiores.

Segundo Solomon et al., (2010) a assimilação da ureia aumentou com a maior disponibilidade luminosa em uma floração da dinofícea *Prorocentrum minimum*. Essa observação pode indicar que, ao menos para esta espécie, alguma etapa da rota de assimilação do N na forma de ureia seja dependente da luz.

Ao contrário de experimentos com cultivo de células, o comportamento da assimilação de compostos nitrogenados não é muito clara em ambientes naturais, onde as comunidades são complexas e estão em constante mudança. Cada espécie parece ter mecanismos particulares e dinâmicos de assimilação de nutrientes, o que impede o delineamento de uma tendência geral na assimilação de N nos reservatórios.

7. CONCLUSÕES

Os reservatórios de Itupararanga e Barra Bonita, objetos de estudo desta pesquisa, encontram-se eutrofizados. Na região de barragem, Itupararanga mostrou-se supereutrófico e Barra Bonita, hipereutrófico, diferindo dos últimos relatórios publicados pela CETESB. Não foi detectada limitação por nitrogênio com base nas relações entre nitrogênio e fósforo totais.

As diferentes concentrações de nutrientes aliadas às variações sazonais de variáveis climatológicas e hidrológicas selecionaram comunidades fitoplanctônicas distintas nos dois reservatórios, o que resultou em diferentes estratégias de assimilação dos nutrientes nitrogenados.

A assimilação do nitrogênio mostrou-se mais relacionada à estrutura da comunidade fitoplanctônica nos reservatórios do que às concentrações de formas nitrogenadas disponíveis na água.

Quanto maiores as concentrações de clorofila e densidade fitoplanctônicas (indicadores de biomassa), maior a assimilação. Assim, provavelmente devido às elevadas biomassas fitoplanctônicas em Itupararanga e em Barra Bonita, as taxas de assimilação encontradas neste estudo foram superiores às descritas em pesquisas semelhantes.

As taxas de assimilação foram maiores em Barra Bonita em relação à Itupararanga e, frequentemente, superiores na 1ª profundidade de coleta em cada reservatório.

De maneira geral, a forma preferencial de nitrogênio nos dois reservatórios foi o amônio, seguido de nitrato e ureia. Não foi observada inibição da assimilação do nitrato e da assimilação da ureia pelas concentrações de amônio na água.

A comunidade fitoplanctônica em Itupararanga durante o período amostral foi dominada pela cianobactéria *Cylindrospemospsis raciborskii*. Essa comunidade mostrou-se bem adaptada à assimilação de nitrato, amônio e ureia.

Já a comunidade em Barra Bonita apresentou domínio pela cianobactéria *Microcystis aeruginosa* durante a estação chuvosa, e ausência de dominância na estação seca. Durante a estação chuvosa, a comunidade pareceu mais voltada para

assimilação do amônio. E, após o colapso da floração da cianobactéria, houve aumento na afinidade da comunidade fitoplanctônica por nitrato.

A intensidade luminosa teve efeito positivo na assimilação da ureia. Não houve relação significativa com a assimilação do amônio nem do nitrato.

As cianobactérias parecem bem adaptadas à assimilação de qualquer fonte de nitrogênio disponível, e parte do sucesso desse grupo em reservatórios subtropicais pode ser atribuído a esta característica. Portanto, medidas de controle da eutrofização devem considerar não apenas a redução da carga de fósforo, mas também focar nas diferentes formas nitrogenadas disponíveis.

8. RECOMENDAÇÕES

Esta pesquisa esteve entre as primeiras a avaliar a assimilação de diferentes formas nitrogenadas em reservatórios subtropicais aplicando a metodologia do ^{15}N. A partir das dificuldades encontradas no decorrer deste trabalho, apresentam-se as seguintes recomendações:

- Medição das concentrações de nutrientes *in situ* em momento anterior à realização dos experimentos: dessa forma, podem-se evitar super ou sub dosagens do traçador antes da incubação, tornando as taxas da assimilação de nitrogênio calculadas mais confiáveis.
- Caso se deseje comparar a assimilação das diferentes formas nitrogenadas, recomenda-se que as incubações sejam feitas ao mesmo tempo para evitar a influência de diferentes temperaturas e luminosidades sob as taxas de assimilação calculadas para as amostras.

Ainda, considerando a relação entre a assimilação das diferentes formas nitrogenadas e a estrutura da comunidade fitoplanctônica, recomenda-se o emprego de técnicas mais refinadas para avaliação da estrutura da comunidade fitoplanctônica, como a determinação do biovolume.

Como a estratégia da assimilação das formas nitrogenadas parece ser particular a cada espécie fitoplanctônica, sugere-se que os resultados deste trabalho sejam complementados por investigações da assimilação das formas nitrogenadas em culturas puras laboratoriais de espécies fitoplanctônicas encontradas nos reservatórios estudados.

REFERÊNCIAS

ABELL J. M. ÖZKUNDAKCI D.; HAMILTON D. P.; MILLER S. D. Relationships between land use and nitrogen and phosphorus in New Zealand lakes, **Marine and *Freshwater Research*** (2), 162–175. 2011.

ABONYI, A.; LEITÃO M.; LANÇON A. M.; PADISÁK J. Phytoplankton functional groups as indicators of human impacts along the River Loire (France). **Hydrobiologia** 698: 233–249. 2012.

Agência Nacional de Energia Elétrica - ANEEL. **Resolução homologatória no 45, 22 de março de 2004.** Disponível em: http://www.aneel.gov.br/cedoc/reh2004045.pdf.

ALABURDA, J. NISHIHARA, L. **Presença de composto de nitrogênio em águas de poços**. Revista de Saúde Pública, v.32, n. 2, p. 531-7, 1998.

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.

ANTONIO, R. M. **Potencial de heterotrofia do reservatório de Barra Bonita (SP), com ênfase na decomposição de polissacarídeos extra celulares de espécies fitoplanctônicas.** 2004. 135 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION**.- APHA Standart methods for the examination of water and wastewater.** 19th ed., Washington: Byrd Prepess Spingfield, 2005.

BEAVER J.R., JENSEN D.E., CASAMATTA D.A., TAUSZ C.E., SCOTESE K.C., BUCCIER K.M., TEACHER C.E., ROSATI T.C., MINEROVIC A.D., RENICKER T.R. Response of phytoplankton and zooplankton communities in six reservoirs of the middle Missouri River (USA) to drought conditions and a major flood event. **Hydrobiologia**, 705), pp. 173–189. 2013.

BEHRENFELD, M. J., HALSEY, K. H., MILLIGAN, A. J. Evolved physiological responses of phytoplankton to their integrated growth environment **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 363, 2687–2703. 2008.

BERGLUND, M.; WIESER, M. E. Isotopic compositions of the elements 2009 (IUPAC Technical Report) **Pure Applied Chemestry**., Vol. 83, No. 2: 397-410, 2011.

BERMAN T.; BRONK D. A. Dissolved organic nitrogen: a dynamic participant in aquatic ecosystems. ***Aquatic Microbial Ecology*** 31:279–305, 2003.

BERMANN, C. Impasses e controvérsias da hidreletricidade. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 21, n. 59, Apr. 2007.

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** 8: e56103. 2013.

BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil – chave para identificação e descrições. RiMa: São Carlos, 502p. 2006.

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.

BOUWMAN L., GOLDEWIJK K. K., HOEK K. W. V. D., BEUSEN A. H. W., VUUREN. D. P. V., WILLEMS J., RUFINO M. C., STEHFEST E. Exploring global changes in nitrogen and phosphorus cycles in agriculture induced by livestock production over the 1900–2050. ***Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America***. vol. 110 no. 52. 2011.

BOTHE, H., FERGUSON, S.J., NEWTON, W.E. (eds.), **Biology of the Nitrogen cycle**, Elsevier B.V. 2007.

BRADLEY P. B., SANDERSON M. P., FRISCHER M. E., BROFFT J., BOOTH M. G., KERKHOF L. J., BRONK D. A. Inorganic and organic nitrogen uptake by phytoplankton and heterotrophic bacteria in the stratified Mid-Atlantic Bight. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 88:429–441. 2010.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA 357, 17 de março de 2005** (CONAMA). 2005.

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.

BUNCH N.D.; BERNOT M.J. Nitrate and ammonium uptake by natural stream sediment microbial communities in response to nutrient enrichment. **Research in Microbiology**, 163, 137–141. 2012.

BURFORD, M. A., JOHNSON, S. A., COOK, A. J., PACKER, T. V., TAYLOR, B. M., TOWNSLEY, E. R.,. Correlations between watershed and reservoir characteristics, and algal blooms in subtropical reservoirs. **Water research**, 41:4105-4114. 2007.

BURFORD, M. A.; T. W. DAVIS. Physical and chemical processes promoting dominance of the toxic cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 29: 883–891. 2011.

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 Água**, v. 8, n. 1, 2013.

CALIJURI, M. C.; DOS SANTOS, A. C. A. Short Term Changes In The Barra Bonita Reservoir (São Paulo, Brazil): Emphasis On The Phytoplankton Communities. Hydrobiologia, v. 330, 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, SP-Brazil). **Journal Of Plankton Research** 24, 617-634, 2002.

CALIJURI M. C., ALVES M. A., SANTOS A. C. A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: Rima Editora, 118 p. 2006.

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, Simone Pereira. **A comunidade fitoplanctônica no reservatório de Itupararanga (Bacia do Rio Sorocaba, SP)**. 2014. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, EESC/USP, São Carlos, 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.

CHAVEZ F. P., TOGGWEILER J. R.. Physical estimates of global new production: the upwelling contribution. In Upwelling in the **Ocean: Modern Processes and Ancient Records**, ed. CP Summerhayes, KC Emeis, MV Angel, RL Smith, B Zeitzschel, pp. 313–20. 1995.

CETESB, COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de qualidade no ar do Estado de São Paulo 2013.** São Paulo: CETESB. 370 p, 2014.

CHAFFIN, J. D.; BRIDGEMAN T. B.; BADE D. L. Nitrogen Constrains the Growth of Late Summer Cyanobacterial Blooms in Lake Erie. **Advances in Microbiology**, vol 3, 16-26, 2013.

CHISLOCK M. F., SHARP K. L., WILSON A. E. *Cylindrospermopsis raciborskii* dominates under very low and high nitrogen-to-phosphorus ratios. **Water Research**, 249 , pp. 207–214. 2014.

COCHLAN, W. P., HARRISON, P. J. & DENMAN, K. L.. Diel periodicity of nitrogen uptake by marine phytoplankton in nitrate-rich environments. **Limnology and. Oceanography**. 36: 1689–700. 1991.

COLLOS,Y. Calculations of ^{15}N uptake rates by phytoplankton assimilating one or several nitrogen sources. **Applied Radiation and Isotopes**., 38, 275-282, 1987.

COMPANHIA BRASILEIRA DE ALUMÍNIO - CBA.. **Dados de vazão e precipitação. Estação meteorológica na Represa de Itupararanga**, Votorantim (SP). 2006.

CORNELISSENI. J. M.; SILSBE, G. M.; VERRETH, J. A. J., VAN DONK, E.; NAGELKEKE, L. A. J. Dynamic and limitations of phytoplankton biomass along a gradient im Mwanza Gulf, southern Lake Victoria (Tanzania). **Freshwater Biology** 59, 127-141, 2014.

CUNHA, D.G.F.; CALIJURI, M.C., Seasonal variation of phytoplankton functional groups in the arms of a tropical reservoir with multiple uses (SP, Brazil**). Acta Botanica Brasilica**; v. 25, n. 4: 822-831, 2011.

CUNHA, D.G.F., **Heterogeneidade espacial e variabilidade temporal do Reservatório de Itupararanga: uma contribuição ao manejo sustentável dos recursos hídricos da Bacia do Rio Sorocaba (SP**). 2012. 235f. Tese (doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos –EESC/USP, São Carlos. 2012

CUNHA, D. G. F., CALIJURI, M. C., DODDS, W. K. Trends in nutrient and sediment retention in Great Plains reservoirs (USA). Environmental Monitoring and Assessment, 1–13. 2014.

DANGER, M., DAUFRESNE, T., LUCAS, F., PISSARD, S. LACROIX, G. Does Liebig's Law of the Minimum scale up from species to communities? **Oikos**, 117, 1741–1751. 2008.

DODDS, W.K., STRAUSS, E.A., LEHMANN, R. Nutrient dilution and removal bioassays to estimate phytoplankton response to nutrient control. **Archiv für Hydrobiologie** 128(4):467-481. 1993.

DONALD, D. B., BOGARD, M. J., FINLAY, K., BUNTING, L., LEAVITT, P. R. Phytoplankton-specific response to enrichment of phosphorus-rich surface waters with ammonium, nitrate, and urea. **PLoS ONE** 8. 2013.

DOLMAN, A. M., J. RU¨ CKER, F. R. PICK, J. FASTNER, T. ROHRLACK, U. MISCHKE, AND C. WIEDNER. Cyanobacteria and cyanotoxins: The influence of nitrogen versus phosphorus. **PLoS ONE** 7: e38757, 2012

DORTCH Q. The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. **Marine Ecology Progress Series**; 61:183-201, 1990.

DOWNING J. A. WATSON S. B., MCCAULEY E.. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**. Sci. 58: 1905–1908. 2001.

DUGDALE.R.C, MENZEL, D. W., RYTHER,J.H. Nitrogen fixation in the Sargasso Sea. ***Deep-Sea Research***., 7: 297-300, 1961.

DUGDALE, R. C., GOERING, J. J., Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. **Limnology and Oceanography** 12: 196-206, 1967.

DUGDALE, R. C., WILKERSON, F. P. The use of ^{15}N to measure nitrogen uptake in eutrophic oceans; experimental considerations. **Limnology and Oceanography**. 31: 673-689, 1986.

DZIALOWSKI A.R., LIM N.C., LIECHTI P., BEURY J., Internal Nutrient Recycling in Marion Reservoir, **Kansas biological survey report** No. 145, p. 17. 2007.

ELSER J. J., BRACKEN M. E. S., CLELAND E. E. , GRUNER D. S., HARPOLE W. S., et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. **Ecology letters**.;10:1135–42. 2007.

ELLIOT J. A. The seasonal sensitivity of Cyanobacteria and other phytoplankton to change in flushing rate and water temperature. **Global Change Biology**, 16, pp. 864–876. 2010.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) . **Nutrient Criteria Technical Guidance Manual. Lakes and Reservoirs**. EPA- 822-F-00-002. 2000.

FALKOWSKI, P. G., STONE, D. Nitrate uptake in marine phytoplankton- Energy sources and interaction with carbon fixation. **Marine Biology**. 32, 77–84. 1975.

FERBER L. R., LEVINE S. N., LIN A., LIVINGSTON G. P. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? **Freshwater Biology** 49: 690–708. 2004.

FISHER, J. JAMES, C. S. MOORE, V. L AND MOSS, B. Dinophyta characterise nitrogen scarcity more strongly than Cyanobacteria in moderately deep lakes. **Acta Protozoologica**. 52: 203–216, 2013.

FLORES, E.; HERRERO, A. Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. Biochem Soc Trans 33, 164–167. 2005.

FONTANA L., ALBUQUERQUE A. L. S. , BRENNER M., BONOTTO D. M., SABARIS T. P., PIRES M. A. , COTRIM M. E., BICUDO D. C. The eutrophication history of a tropical water supply reservoir in Brazil. **Journal of Paleolimnology** 51(1):29–43. 2014.

FUHRMAN J. A., HORRIGAN S. G., CAPONE D. G. Use of 13N as tracer for bacterial and algal uptake of ammonium from seawater. **Marine Ecology Progress Series**. 45:271-278. 1988.

GÄCHTER, R. & BLOESCH, J. Seasonal and vertical variation in the C : P ratio of suspended and settling seston of lakes. **Hydrobiologia** 128, 193–200. 1985.

GALLOWAY J. N., COWLING E. B. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. **Ambio**, 31, 64–71. 2002.

GLIBERT P. M, HARRISON J., HEIL C., SEITZINGER S. Escalating worldwide use of urea - a global change contributing to coastal eutrophication. **Biogeochemistry** 77:441–463, 2006.

GLIBERT P.M., WILKERSON F., DUGDALE R.C., PARKER A.E., ALEXANDER J.A., BLASER S. Microbial communities from San Francisco Bay Delta respond differently to oxidized and reduced nitrogen substrates — even under conditions that would otherwise suggest nitrogen sufficiency. **Frontiers in Microbiology**. 2014.

GOLDEMBERG J., LUCON O. Energia e meio ambiente no Brasil. **Estudos. Avançados**. 21: 7-20.2007.

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). 186p. 2012.

GRUBER, N., GALLOWAY, J. N. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle **Nature** 451, 293–296. 2008.

GU, B. H., HAVENS, K. E., SCHELSKE, C. L., ROSEN, B. H. Uptake of dissolved nitrogen by phytoplankton in a eutrophic subtropical lake. **Journal of Plankton Research**, vol. 19, no. 6, p. 759-770. 1997.

HARRISON, W .G., HARRIS, L .R. Isotope-dilution and its effects on measurements of nitrogen and phosphorus uptake by oceanic microplankton. **The Marine Ecology Progress Series**, 27,253-26, 1986.

HAVENS, K.E., JAMES, R.T., EAST, T.L., SMITH, V.H. N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. **Environmental Pollution** 122, 379–390.2003.

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.

HOCKIN, N. L., MOCK, T., MULHOLLAND, F., KOPRIVA, S., MALIN, G. The response of diatom central carbon metabolism to nitrogen starvation is different from that of green algae and higher plants. **Plant Physiology**. 158, 299–312. 2012.

HOWARTH, R. W., R. MARINO, AND J. J. COLE. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. 2. Biogeochemical controls. **Limnology and Oceanography**. 33: 688–701. 1988.

HUSZAR, V.L.M.; CARACO, N.F.; ROLAND, F. & COLE, J. Nutrient-chlorophyll relationships. In tropical-subtropical lakes: do temperate models fit? **Biogeochemistry** 79(1-2): 239-250, 2006.

HUTCHINSON, G E. **A treatise on limnology.** Volume 1. Geography, physics and chemistry. 1015 pp. Wiley, New York. $19.50. Chapman & Hall, London. 148. 1957.

ILEC/LAKE BIWA RESEARCH INSTITUTE. 1988-1993 **Survey of the State of the World's Lakes. Volumes I-IV. International Lake Environment Committee, Otsu and United Nations Environment Programme**, Nairobi. 1994.

INTERNATIONAL ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CENTRE - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME - IETC-UNEP. **Planejamento e gerenciamento de lagos e represas: uma abordagem integrada ao problema de eutrofização.** Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente Instituto Internacional de Ecologia, São Carlos, 385 p. 2001.

INTERNATIONAL ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CENTRE - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME - IETC-UNEP. Where Nutrients Come From and How They Cause Eutrophication - Water Quality: The Impact of Eutrophication in: **Lakes and Reservoirs vol. 3**. 2010. Disponível em: < http://www.unep.or.jp/ietc/publications/short_series/lakereservoirs-3/3.asp>

INSTITUTO NACIONAL DE Meteorologia -INMET. Dados meteorológicos (temperatura do ar, radiação, precipitação e ventos) da estação Sorocaba-A713. (2013 - 2014) Disponível em: www.inmet.gov.br.

INSTITUTO DE PESQUISA TECNOLÓGICA DO ESTADO DE SÃO PAULO - IPT. **Relatório Técnico n° 80 401- 205. Atualização do relatório de situação dos recursos hídricos da Bacia do Sorocaba e Médio Tietê (Relatório Zero) como subsídio á elaboração do Plano de Bacia**. São Paulo, 420p. 2005.

ISTVÀNOVICS V., SHAFIK H.M., PRÉSING M., JUHOS S. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. **Freshwater Biology**, 43, 257–275. 2000.

JAUZEIN, C., LOUREIRO, S., GARCÉS, E., COLLOS, Y. Interactions between ammonium and urea uptake by five strains of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in culture. **Aquatic Microbial Ecology** 53, 271–280, 2008.

JONES, G.J., POPLAWSKI, W. Understanding and management of cyanobacterial blooms in sub-tropical reservoirs of Queensland, Australia. **Water Science and Technology** 37, 161-168. 1998.

JEPPESEN, E., BRUCET S., NASELLI-FLORES L., PAPASTERGIADOU E., STEFANIDIS K., NOGES T., NOGES P., ATTAYDE J. L., ZOHARY T., COPPENS J., BUCAK T., MENEZES R. F., FREITAS F. R. S., KERNAN M., SØNDERGAARD

M,. BEKLIOGU M. 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.

KENESI, G., SHAFIK, H.M., KOVACS, A.W.; HERODEK, S.; PRESING, M. Effect of nitrogen forms on growth, cell composition and N2 fixation of Cylindrospermopsis raciborskii in phosphorus-limited chemostat cultures. **Hydrobiologia**, v.623, p.191-202. 2009.

KIRCHMAN D L., WHEELER P. Uptake of ammonium and nitrate by heterotrophic bacteria and phytoplankton in the sub-Arctic Pacific. **Deep-Sea Res** I 45:347–365. 1998.

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.

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.

KOSTEN, V.L.M. HUSZAR, E. BÉCARES, L.S. COSTA, E. VAN DONK, L.-A. HANSSON, E. JEPPESEN, C. KRUK, G. LACEROT, N. MAZZEO, L. DE MEESTER, B. MOSS, M. LÜRLING, T. NÕGES, S. ROMO, M. SCHEFFER Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. **Global Change Biology**, 18, pp. 118–126. 2012.

KUDELA, R. M., COCHLAN W. P., DUGDALE R. C. Carbon and nitrogen uptake response to light by phytoplankton during an upwelling event, **Journal of Plankton Research**., 19, 609 – 630. 1997.

KUDELA R. M, LANE J. Q, COCHLAN W. P. The potential role of anthropogenically derived nitrogen in the growth of harmful algae in California, USA**. Harmful Algae** 8:103–110, 2008.

LEE, J.; PARKER, A. E.; WILKERSON, F. P. Understanding Nitrogen Assimilation and Inhibition in Cultures of Microcystis aeruginosa: Implications for Cyanobacterial Bloom Development in the San Francisco Delta. **2014 Bay-Delta Science Conference, Oral Abstracts**. 2014.

LEGENDRE, L., & GOSSELIN, M. Estimation of N or C uptake rates by phytoplankton using 15N or 13C: Revisiting the usual computation formulae. **Journal of Plankton Research.** 19(2), 263–271, 1997.

LEWIS, W. M Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**. 28: 210-213, 2002.

LEWIS, W. M; WURTSBAUGH A. W. Control of lacustrine phytoplankton by nutrients: Erosion of the phosphorus paradigm. **International Review of Hydrobiology**. 93: 446–465. 2008.

L'HELGUEN, S.; MAGUER, J. F.; CARADEC, J. Inhibition kinetics of nitrate uptake by ammonium in size-fractionated oceanic phytoplankton communities: implications for new production and f-ratio estimates, **Journal of Plankton Research**. 30: 1179-1188, 2008.

LIPSCHULTZ, F. Isotope tracer methods for studies of the marine nitrogen cycle. In: Capone, D.G.; Bronk, D.A.; Mulholland, M.R.; Carpenter, E.J. **Nitrogen in the Marine Environment** (2nd ed.), p. 1345-1384. Elsevier: Oxford, UK, 2008.

MAIA, J. L. **Técnicas para o gerenciamento quanti-qualitativo de reservatórios comu sos múltiplos da água: estudo de caso do reservatório de Barra Bonita – SP .** 2009. 158p. (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

MARTINS, R. C. **Análise dos impactos sócio-ambientais do processo de modernização agrícola das áreas de influência dos reservatórios de Barra Bonita e Jurumirim**. 2000. 199p. Tese (Doutorado em Sociologia Política) – Centro de Educação e Ciências Humanas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

MAZUMDER, A.; HAVENS, K. E. Nutrient-chlorophyll-Secchi relationships under contrasting grazer communities of temperate versus subtropical lakes. ***Canadian Journal* of Fisheries and *Aquatic* Sciences** 55: 1652-1662, 1998.

MCCARTHY, J. J. **Kinetics of nutrient utilization**. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210, 211–233, 1981.

MCCARTHY, M. J, LAVRENTYEV, P. J, YANG, L., ZHANG, L., CHEN, Y, BOQIANG, Q., GARDNER, W. S. Nitrogen dynamics and microbial food web structure during a summer cyanobacterial bloom in a subtropical, shallow, well-mixed, eutrophic lake (Lake Taihu, China). **Hydrobiologia** 581: pp. 195-207. 2007.

MCCARTHY, M. D.; BRONK D. A. Analytical methods for nitrogen chemical characterization and flux rates. In: Capone, D.G.; Bronk, D.A.; Mulholland, M.R.; Carpenter, E.J. **Nitrogen in the Marine Environment** (2nd ed.), p. 1219-1276. Elsevier: Oxford, UK, 2008.

MCCARTHY, M. J., JAMES, R. T., CHEN, Y., EAST, T. L., GARDNER, W. S. Nutrient ratios and phytoplankton community structure in the large, shallow, eutrophic, subtropical Lakes Okeechobee (Florida, USA) and Taihu (China). **Limnology** 10: pp. 215-227.2009.

MIECZAN. T. Periphytic ciliates in three shallow lakes in Eastern Poland: a comparative study between a phytoplankton-dominated lake, a phytoplankton-macrophyte lake and a macrophyte-dominated lake. **Zoological Studies** 49:589-600. 2010.

MONCHAMP M. E., PICK F. R., BEISNER B. E., MARANGER R. Nitrogen forms influence microcystin concentration and composition via changes in cyanobacterial community structure. **PLoS ONE**. 2014.

MULHOLLAND, M. R.; LOMAS, M. W. Nitrogen Uptake and Assimilation, In: Capone, D.G.; Bronk, D.A.; Mulholland, M.R.; Carpenter, E.J. **Nitrogen in the marine environment** (2nd ed.), p.: 303-361 Elsevier: Oxford, UK, 2008.

MUR, L.R., SKULBERG O.M.; UTKILEN H. Cyanobacteria in the Environment. Chapter 2, pp. 15-40. In: **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring, and Management**. eds. Chorus, I. & Bartram, J. London and New York. E&FN Spon, 416 pp, 1999.

NORTH, R. L., S. J. GUILDFORD, R. E. H. SMITH, S. M. HAVENS; M. R. TWISS: Evidence for phosphorus, nitrogen, and iron colimitation of phytoplankton communities in Lake Erie. **Limnology and Oceanography**. 52: 315–328. 2007.

NUSH, E.A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaepigment. **Arch.Hydrobiol. Bech. Sttutgart**. 14: 14-36, 1980.

O'NEIL, J. M., DAVIS, T. W., BURFORD, M. A., GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae** 14,313–334. 2012.

PAASCHE E., BRYCESON I., TANGEN K. Interspecific variation in dark nitrogen uptake by dinoflagellates. **Journal of Phycology**. 20 394–40110.1111/j.0022-3646.1984.00394. 1984.

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: 563–593. 1997.

PARRA, O.O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V. **Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referencia al fitoplancton de Chile. Classe Euglenophyceae.** Concepcion: Universidad de Concepcion. 98p. 1980.

PARRA, O.O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V. **Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referencia al fitoplancton de Chile. Classe Chlorophyceae.** Concepcion: Universidad de Concepcion. 151p. 1983.

PARRA, O.O.; GONZALEZ, M.; DELLAROSSA, V.; RIVERA, P.; ORELLANA, M. **Manual taxonómico del fitoplancton de águas continentales com especial referencia al fitoplancton de Chile. Classe Cyanophyceae**. Concepcion: Universidad de Concepcion. 70p. 1982.

PATOINE, A., GRAHAM M. D.; LEAVITT P. R. Spatial variation of nitrogen fixation in lakes of the northern Great Plains. **Limnology and Oceanography**. 51: 1665–1677, 2006.

PEDRAZZI F. J. M..; DA CONCEIÇÃO F. T.; SARDINHA D. S.; MOSCHINI-CARLOS V.; POMPÊO M. A VALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA NO RESERVATÓRIO DE ITUPARANGA, BACIA DO ALTO SOROCABA (SP). São Paulo, UNESP, **Geociências** , v. 33, n. 1, p. 26-38, 2014.

PEARL, H.W. & BOWLES, N. D.. Dilution bioassays: their application to assessments of nutrient limitation in hypereutrophic waters. **Hydrobiologia** 146:265-273. 1987.

PEARL H.W., HALL N.S., CALANDRINO E.S. Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change **Science of the Total Environment**, 409, pp. 1739–1745. 2011.

PAERL HW, XU H, HALL NS, ZHU G, QIN B. Controlling Cyanobacterial Blooms in Hypertrophic Lake Taihu, China: Will Nitrogen Reductions Cause Replacement of Non-N_2 Fixing by N_2 Fixing Taxa? **PLoS ONE** 9(11): e113123. doi:10.1371/journal.pone.0113123. 2014.

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.

PÉREZ, G., FARÍAS, L., FERNANDEZ, C., CONDE, D., PICCINI, C. Incidence of phytoplankton and environmental conditions on the bacterial ammonium uptake in a

subtropical coastal lagoon. **Journal of Limnology**. Volume 73, Issue 1, 2014, Pages 106-114. 2014.

PRADO, R.B.; NOVO, E.M.L.M. Análise espaço-temporal da relação do estado trófico do reservatório de Barra Bonita (SP) com o potencial poluidor da bacia hidrográfica. Disponível em: http://www.dpi.INPEePrint:sid.inpe.br/ePrint@80/ 2006.

PRÉSING M., HERODEK S., PRESTON, T, VÖRÖS, L., Nitrogen uptake and the importance of internal nitrogen loading in Lake Balaton. **Freshwater Biology**. 46, 125–139, 2001.

REES T.A.V., SYRETT P.J. The uptake of urea by the diatom, *Phaeodactylum* **New Phytologist**., 82, pp. 169–178. 1979.

REDFIELD, A. The biological control of chemical factors in the environment. **Am. Sci.**, 46, 205–221. 1958.

REAY D.S., NEDWELL D.B., PRIDDLE J., ELLIS-EVANS J.C. Temperature dependence of inorganic nitrogen uptake: Reduced affinity for nitrate at suboptimal temperatures in both algae and bacteria. **Applied and Environmental Microbiology** 65(6): 2577-2584. 1999.

REYNOLDS C. S., HUSZAR V. L., NASELLI-FLORES L., MELO S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal Of Plankton Research**., 24: 417-428. 2002.

RIGOSI A., RUEDA F. J. Hydraulic control of short-term successional changes in the phytoplankton assemblage in stratified reservoirs. Ecological Engineering, 44, pp. 216-226. 2012.

RUEDA, F. J., E. MORENO-OSTOS & J. ARMENGOL. The residence time of river water in the reservoirs. **Ecol. Model**., 191(2): 260-274. 2006.

RUKMINASARI N, REDDEN A. Growth response of natural phytoplankton to enrichment of urea and other forms of dissolved nitrogen. **African Journal of Environmental Science and Technology** Vol 5, No 12. 2011.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; AGUJARO, L.F.; CARVALHO, M.C.; CARVALHO, L.R.; SOUZA, R.C.R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de Cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras.** Interciência: Rio de Janeiro, 58p. 2006.

SALLES, M. H. D., CONCEIÇÃO, F. T., ANGELUCCI, V. A., SIA, R., PEDRAZZI, F. J. M., CARRA, T. A., MONTEIRO, G., SARDINHA, D. S. NAVARRO, G. R.B. Avaliação simplificada de impactos ambientais na Bacia do Alto Sorocaba (SP). **Revista de Estudos Ambientais**, vol. 10, no. 1, p. 6-20. 2008.

SÃO PAULO - SP. 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 - Sp. 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, compreendida pelos Municípios de Alumínio, Cotia, Ibiúna, Mairinque, Piedade, São Roque, Vargem Grande Paulista e Votorantim, com o objetivo de proteger a qualidade e quantidade de suas águas. 2003.

SÃO PAULO –SP . Plano estadual dos Recursos hídricos 2004 - 2007 do Estado de São Paulo. **Sumário Executivo**. Piracivaba: Consórcio JMR Engecorps, 25p. 2004

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.

SCHIPPERS, P., LURLING, M. AND SCHEFFER, M. Increase of atmospheric CO_2 promotes phytoplankton productivity. **Ecology Letters** 7: 446-451. 2004.

SCHINDLER D. W. "The dilemma of controlling cultural eutrophication." **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 279. p.:4322-4333, 2012.

SCHINDLER D.W., HECKY R. E., FINDLAY D. L., STAINTON M. P., PARKER B. R., PATERSON M., BEATY K. G., LYNG M., KASIAN S. E. M. 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***. USA 105, 11 254–11 258, 2008.

SCOTT, J. T.; MCCARTHY, M. J. Nitrogen fixation may not balance the nitrogen pool of lakes over timescales relevant to eutrophication management. **Limnology and Oceanography** 55: 1265-1270, 2010.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE -SEMA (2011). Relatório de qualidade ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em: http://www.sema.sp.gov.br.

SHIOMOTO, A.; SASAKI, K.; SHIMODA, T. Kinetics of Nitrate and Ammonium Uptake by the Natural Populations of Marine Phytoplankton in the Surface

SISTEMA DE INFORMAÇÕES PARA GERENCIAMENTO DE RECURSOS HÍDRICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO –SIGRH. **Plano Estadual de Recursos Hídricos**. Banco de Dados, 2001. Disponível em http://www.sigrh.sp.gov.br.

SMITH, V. H., SCHINDLER, D. W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology *&* Evolution.** 24, 201–207. 2009.

SPRÖBER, P., SHAFIK, H. M., PRÉSING, M., KORÁCS, A.W., HERODEK, S. Nitrogen uptake and fixation in the cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii under different nitrogen conditions. **Hydrobiologia** 506–509: pp. 169-174. 2003.

STIGEBRANDT A., RAHM L, VIKTORSSON L, ODALEN M, HALL PO, LILJEBLADH B. A new phosphorus paradigm for the Baltic proper. **Ambio**. Sep;43(5):634-43. doi: 10.1007/s13280-013-0441-3. Epub 2013 Oct 11. 2014.

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

SOMMER, U. A comment on the proper use of nutrient ratios in microalgal ecology. **Arch. Hydrobiol**., 146, 55–64. 1999.

SOTERO-SANTOS R. B.; CARVALHO G. E; DELLAMANO-OLIVEIRA M. J.; ROCHA O. Occurrence and toxicity of an Anabaena bloom in a Tropical reservoir (Southeast Brazil). **Harmful Algae** 7: 590-598. 2008.

SYRETT, P. J. Nitrogen metabolism of micro-algae. **Can. Bull. Fish** aquat. Sciences 210: pp. 182-210. 1981.

TAMMINEN T., IRRNISCH A. Urea uptake kinetics of a mid-summer planktonic community on the SW coast of Finland. **Mar Ecol Prog Ser** 130:201-211. 1996.

TANIWAKI, R, H.; ROSA, A. H.; DE LIMA, R.; MARUYAMA, C. R.; SECCHIN, L. F.; CALIJURI, M. C.; MOSCHINI-CARLOS, V. A influência do uso e ocupação do solo na qualidade e genotoxicidade da água no 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**. New York, Wiley. 1990.

TOBIAS, C.R., CIERI, M., PETERSON, B.J., DEEGAN, L.A., VALLINO, J., HUGHES, J. Processing watershed-derived nitrogen in a well-flushed New England estuary. **Limnol Oceanogr** 48: 1766–1778. 2003.

UTHERMÖHL, H. On the perfecting of quantitative phytoplankton method. **Inst. Ass. Theor. Commum**. Vol 9. 1958.

VAN APELDOORN M.E., VAN EGMOND H.P, SPEIJERS G.J., BAKKER G.J. Toxins of cyanobacteria. **Molecular Nutrition & Food Research**., 51, pp. 7–6. 2007.

VAN DEN MEERSCHE, K., K. S OETAERT, AND J. J. MIDDELBURG . 2011. Plankton dynamics in an estuarine plume: A mesocosm ^{13}C and ^{15}N tracer study. **Mar. Ecol. Prog. Ser**.429:29–43

VARELA, D. E., HARRISON, P. J. Effect of ammonium on nitrate utilization by Emiliania huxleyi, a coccolithophore from the oceanic northeastern Pacific. **Marine Ecology Progress Series** 186: pp. 67-74. 1999.

VOLLENWEIDER, R.A. Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication, **This Week's Citation Classic. Comments about the repercussion of the technical report produced by Vollenweider, R.A** –. 1987.

VON RÜCKERT, G.; GIANI, A. Effect of nitrate and ammonium on the growth and protein concentration of Microcystis viridis Lemmermann (Cyanobacteria). **Revista Brasileira de Botânica**, 27(2):325-31. 2004.

WALSBY, A. E., YACOBI, Y. Z., ZOHARY, T. Annual changes in the mixed depth and critical depth for photosynthesis by Aphanizomenon ovalisporum that allow growth of the cyanobacterium in Lake Kinneret, Israel. **Journal or Plankton Research.,** 25: 603–619. 2003.

WETZEL, R.G.; LIKENS, G.E. **Limnological analyses.** Springer-Verlag: New York, 391p. 1991.

WISNIEWSKI, M. J. S. **Distribuição espacial e produção secundária da comunidade zooplanctônica do reservatório de Barra Bonita-SP**. 1998. 140p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.

WURTSBAUGH, W. A., VINCENT, W. F., ALFARO, R. T., VINCENT, C. L. & RICHERSON, P. J.,: Nitrogen limitation of algal growth and nitrogen fixation in a tropical alpine lake, Lake Titicaca (Peru/Bolivia).- **Freshwather Biology**. 15:185-195. 1985.

XU H.; PAERL H. W.; QIN B. Z.; GUANGWEI G. G. Nitrogen and phosphorus inputs control phytoplankton growth in eutrophic Lake Taihu, China, **Limnology and Oceanography**, 55, doi: 10.4319/lo.2010.55.1.0420. 2010.

XU, J., GLIBERT, P.M., LIN, H., YIN, K.D., YUAN, X., CHEN, M., HARRISON, P.J.. Nitrogen sources and rates of phytoplankton uptake in different regions of Hong Kong waters in summer. Estuaries and Coasts. 2011.

YE, L.; CAI, Q. Spring phytoplankton blooms in Xiangxi Bay of Three-Gorges Reservoir: spatiotemporal dynamics across sharp nutrient gradients. **Jounal of Freshwater Ecology**, 26, pp. 11–18. 2011.

YUAN X., GLIBERT P., XU J., LIU H., CHEN M., LIU H.. Inorganic and organic nitrogen uptake by phytoplankton and bacteria in Hong Kong waters **Estuaries and Coasts**, 35, pp. 325–334. 2012.

ZEHR J. P.; MONTOYA J. P. Measuring N_2 fixation in the field. In: Bothe H, S Ferguson & WE Newton (eds). **Biology of the nitrogen cycle,** pp. 193-205. Elsevier, Amsterdam. 2007.

ANEXO 1

Exemplo de cálculo da taxa de assimilação do nitrato

Como o cálculo manual da taxa de assimilação pela fórmula de Dugdale & Goering (1967) para grandes quantidades de dados é pouco prático, foi desenvolvido um *macro* no *software Microsoft Office Excel 2010.*

Por finalidade didática, nesse item está uma demonstração passo a passo do cálculo da para um exemplo de assimilação do nitrato. A taxa de assimilação da amônia e da ureia é calculada de maneira análoga.

Dados:

Fonte de N: NO_3^-

Traçador: $K^{15} NO_3^-$ (≈102,11 g/mol)

Abundância natural de ^{15}N: 0,366 Atom%

Concentração ambiental de NO_3^-: 200µg.L^{-1} = 3,226 X10^{-6} µM.L^{-1}

Concentração de ^{15}N adicionada: 3,036%[NO_3^-]$_{natural}$ = 9,793x10^{-8} µM.L^{-1}

Volume filtrado: 0,1L

Razão isotópica ^{15}N:^{14}N no filtro: 0,405 Atom%

Nitrogênio orgânico particulado no filtro: 17,973 µg

- Passo I - Obtenção da porcentagem de ^{15}N excedente ($^{15}N_{xs}$).

  Sendo a abundância natural de (^{15}N) considerada 0,366 Atom%:

  $$^{15}N_{xs} = \left(\frac{^{15}N}{^{14}N}\right)_{\text{(após incubação)}} - \left(\frac{^{15}N}{^{14}N}\right)_{\text{(natural)}} = 0,405 - 0,366 = 0,039 \text{ Atom\%}$$

- Passo II - Obtenção da porcentagem de ^{15}N enriquecido ($^{15}N_{enr}$).

  $$^{15}N_{enr} = \frac{\left([^{15}N]_{adicionado} \right) \times 100}{[^{15}N]_{adicionado} + [^{15}N]_{natural}} = \frac{(9,793 \times 10^{-8}) \times 100}{9,793 \times 10^{-8} + 3,226 \times 10^{-6}} = 2,946 \text{ Atom\%}$$

- Passo III - Obtenção da velocidade de assimilação (V_t^N).

$$V_t^N = \frac{^{15}N_{xs}}{[(\ ^{15}N_{enr} - \ ^{15}N_N) \times t]} = \frac{0,039}{[(2,946-0,366) \times 1h]} = 15,116 \times 10^{-3} h^{-1}$$

- Passo IV - Obtenção da taxa de assimilação (ρ_t^N). Primeiro deve-se calcular a concentração de nitrogênio orgânico particulado em no filtro (NOP_t):

$$NOP_t = NOP_{filtro} / V_{filtrado} = 17,973/0,1 = 179,73\ \mu g.L^{-1}$$

$$\rho_t^N = V_t^N \times NOPt = (15,116 \times 10^{-3}) \times 179,73 = 2,717\ \mu g.Lh^{-1}$$