



UNIRIO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIODIVERSIDADE
NEOTROPICAL)

Tatiane Moreira Dias

**Efeitos do séston e *Cylindrospermopsis raciborskii* isolada de um
reservatório naturalmente eutrófico (Reservatório do Camorim, RJ) sobre
a história de vida de cladóceros**

Rio de Janeiro

2014

Tatiane Moreira Dias

Efeitos do séston e *Cylindrospermopsis raciborskii* isolada de um reservatório naturalmente eutrófico (Reservatório do Camorim, RJ) sobre a história de vida de cladóceros

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Betina Kozlowsky-Suzuki

Co-orientador: Dr. Aloysio da Silva Ferrão Filho

Rio de Janeiro

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Efeitos do séston e *Cylindrospermopsis raciborskii* isolada de um reservatório naturalmente eutrófico (Reservatório do Camorim, RJ) sobre a história de vida de cladóceros

TATIANE MOREIRA DIAS

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical), Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: Biodiversidade Neotropical

Dissertação aprovada em / /

Banca Examinadora:

Dra. Betina Kozlowsky Suzuki, UNIRIO

Dr. Jayme Magalhães Santangelo, UFRRJ

Dra. Christina Wyss Castelo Branco, UNIRIO

Dedico em memória da minha avó Anna Moreira Dias e para minhas duas mães Tânia Moreira Dias e Sônia dos Anjos por confiar em mim incondicionalmente durante todos esses anos de vida acadêmica.

Agradecimentos

A minha orientadora Doutora Betina Kozlowsky-Suzuki e meu co-orientador Doutor Aloysio da Silva FerrãoFilho agradeço por me guiar, dar-me forças e apoio científico fundamental para o desenvolvimento desse trabalho. Agradeço a confiança, oportunidade e paciência de viver esse desafio pessoal e científico.

A todos do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental-Departamento de Biologia/IOC - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) por toda a infraestrutura e suporte a mim disponíveis durante o período da pós-graduação para que fosse possível a realização dos experimentos.

Aos laboratórios que contribuíram com análises e informações valiosíssimas: Laboratório de Ficologia - Depto.de Botânica, Museu Nacional (UFRJ); Laboratório de Ecofisiologia de Algas - Depto.de Biologia Vegetal – IBRAG (UERJ); Núcleo de Estudos Limnológicos (NEL) - Depto. de Zoologia e Depto. de Ecologia e Recursos Marinhos (UNIRIO).

A Tassiana Tomás grata por todo o companheirismo e amizade, por sempre estar disposta a me ajudar nos experimentos e torná-los divertidos com nossas cantorias.

A Ana Caroline Angeletti, Tatiana da Silveira e Michele Carvalho, pelas risadas, almoços, conversas produtivas e por compartilharmos cada desafio.

A Aline Barborsa e Shimenne Bueno, que muitas vezes foram minha válvula de escape, obrigada por fazerem parte da minha vida. Obrigada por todos os momentos bons e nem tão bons, pelas palavras de incentivo, pelas gargalhadas, lágrimas e principalmente pela amizade.

Agradeço principalmente à Deus, por ter feito perfeitamente essa linda obra de arte que é a natureza, por ter me dado a capacidade e ciência de poder estudar e entender uma pequena fração.

*“Vejo a natureza como uma estrutura magnífica que podemos entender apenas
imperfeitamente e que deveria inspirar em qualquer pessoa com capacidade de reflexão um
sentimento de humildade”*

Albert Einstein

Resumo

Diversos estudos têm demonstrado que as cianobactérias e suas toxinas exercem efeitos negativos sobre cladóceros. Com o objetivo de analisar os efeitos de cianotoxinas sobre as taxas de crescimento, reprodução e mortalidade de cladóceros nativos de diferentes tamanhos (*Daphnia laevis*, *D. simillis*, *D. gessneri*, *Moina micrura* e *Ceriodaphnia richardii*) cultivados em laboratório foram realizados testes de toxicidade agudos (96 horas) e crônicos (14 dias) com amostras de séston provenientes do reservatório do Camorim e com uma cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* produtora de saxitoxinas (CYL-2). Nos testes agudos com água bruta do reservatório, foi observado efeito significativo em outubro/12, quando a concentração de saxitoxina foi de 11,2 ng L⁻¹ e a sobrevivência de *D. gessneri* e *C. richardii* e o crescimento de *D. laevis* foram reduzidos. No entanto, em janeiro/13, quando a concentração de saxitoxina foi de 34 ng L⁻¹, não houve efeito significativo, o que parece indicar não ter havido relação do efeito com a biomassa de cianobactérias e a concentração de toxina do séston. Nos testes crônicos, foram observados efeitos negativos na reprodução de *D. laevis*, *M. micrura* e *C. richardii* no mês de novembro/12, em que a fecundidade média e o total de neonatos produzidos sofreram declínios progressivos de acordo com as concentrações de saxitoxinas que variaram de 96 a 260 ng L⁻¹. Em janeiro/13, quando a biomassa de cianobactérias e a concentração de saxitoxinas foi 6 a 8 vezes menor, não houve efeito significativo sobre a reprodução. CYL-2 afetou tanto a sobrevivência quanto o crescimento dos cladóceros, em maior grau em *D. gessneri* e *D. laevis*. Houve uma queda gradual na taxa de crescimento, proporcional às concentrações utilizadas. Em conclusão, o baixo crescimento e potencial reprodutivo dos cladóceros com o séston do reservatório, em alguns períodos, indica que estes efeitos podem estar relacionados com a presença de cianobactérias tóxicas ou com o baixo valor nutricional do séston. Mesmo assim, não se pode deixar de ressaltar possíveis efeitos sinérgicos que confundem os resultados (toxicidade, morfologia e valor nutricional).

Palavras Chaves: 1.Cianobactérias. 2.Toxicidade 3. Cladóceros

Abstract

Several studies have demonstrated that cyanobacteria and their toxins may have negative effects on cladocerans. Therefore, acute (96 hours) and chronic (14 days) tests were carried out with seston from Camorim reservoir and a saxitoxin-producing strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (CYL-2) to evaluate the effects on growth, reproduction and mortality of laboratory clones of native cladocerans of different sizes (*Daphnia laevis*, *D. similllis*, *D. gessneri*, *Moina micrura* e *Ceriodaphnia richardii*). Seston samples had significant effects in the acute test carried out in October/12 when the concentration of saxitoxins was 11,2 ng L⁻¹ and survival of *D. gessneri* and *C. richardii*, and growth of *D. laevis* were low. However, in January/13 when the concentration of saxitoxins was 34 ng L⁻¹, no negative effect was observed. During chronic exposures negative effects were detected in the reproduction of *D. laevis*, *M. micrura* and *C. richardii* in November/12. Average fecundity and the total number of neonates decreased progressively with increasing concentrations of saxitoxins (96 to 260 ng L⁻¹). In January/13, however, no negative effect was detected when cyanobacterial biomass and saxitoxins concentration were 6 to 8 times lower. Saxitoxin-producing CYL-2 strain had negative effects on the survival and growth of cladocerans, but the effect was stronger in *D. gessneri* and *D. laevis* with a gradual decrease in the growth rate at higher concentrations of cyanobacteria. In conclusion, low growth and low reproductive potential of cladocerans with reservoir seston during some periods may indicate that such effects could be related with the presence of toxic cyanobacteria or with low seston nutritional value. However, possible synergistic confounding effects (toxicity, morphology and nutritional value) cannot be neglected.

Key words: 1.Cyanobacteria. 2.Toxicity 3. Cladocerans

Lista de Figuras

Figura 1- A. Mapa do maciço da Pedra Branca e arredores, localização do Reservatório de Camorim e sua bacia hidrográfica	7
Figura 1-B. Imagem de satélite do Reservatório do Camorim	7
Figura 2. Parâmetros populacionais de <i>Ceriodaphnia richardii</i> , <i>Daphnia leavis</i> e <i>Moina micrura</i> expostas ao séston do reservatório do Camorim coletado em 08/11/2012.....	17
Figura 3. Parâmetros populacionais de <i>Ceriodaphnia richardii</i> , <i>Daphnia leavis</i> e <i>Moina micrura</i> expostas ao séston do reservatório do Camorim coletado em 07/03/2013.....	18
Figura 4. Parâmetros populacionais de <i>Ceriodaphnia richardii</i> , <i>Daphnia leavis</i> , <i>Moina micrura</i> e <i>Daphnia simillis</i> expostas à cepa CYL-2 isolada do reservatório do Camorim	19

Lista de Tabelas

Tabela I. Cladóceros utilizados nos estudos ecotoxicológicos e suas origens.....	9
Tabela II. Sobrevivência dos cladóceros após 96 horas de exposição nos testes agudos...	13
Tabela III. Taxa de crescimento dos cladóceros após 96 horas de exposição nos testes agudos.....	14
Tabela IV. Concentração de carbono orgânico particulado (COP), nitrogênio orgânico total (NOT), fósforo particulado (P-part) e razão C:N e C:P do séston durante os experimento.....	15
Tabela V. Biovolume (mm^3L^{-1}) e percentagem do biovolume dos grupos do fitoplâncton do Reservatório do Camorim predominantes durante os experimentos	15

Sumário

Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xi
Introdução.....	1
Cianobactérias e suas toxinas.....	1
Cianobactérias e seus efeitos sobre consumidores.....	2
Reservatório do Camorim.....	5
Objetivos.....	6
Material e métodos.....	6
Área de Estudo.....	6
Amostragem e análises das amostras limnológicas e das comunidades planctônicas ..	7
Análises de toxinas.....	8
Isolamento e cultivo das cepas de cianobactérias.....	8
Culturas de microcrustáceos planctônicos (cladóceros).....	9
Ensaio ecotoxicológicos.....	9
Resultados.....	11
Testes de toxicidade aguda.....	12
Testes de toxicidade crônica.....	16
Discussão.....	21
Conclusão.....	23
Referências Bibliográficas.....	24

Introdução

Cianobactérias e suas toxinas

Cianobactérias são procariontes fotossintetizantes, cosmopolitas e habitantes de ecossistemas de água doce, salobros e marinhos (Granéli & Turner, 2006). São importantes membros das comunidades fitoplanctônicas (Oliver & Granf, 2000), estando presentes em todos os ambientes dos ecossistemas aquáticos (Sant'Anna *et al.*, 2006). Quando surgem condições propícias nesses ecossistemas como temperatura elevada, abundância de luminosidade, disponibilidade de nutrientes (Soares, 2009), estabilidade da coluna d'água, pH e baixa herbivoria, pode-se verificar a ocorrência e manutenção de florações ou “blooms” de cianobactérias (Fernandes *et al.*, 2008). O termo “bloom”, geralmente é conceituado como sendo uma biomassa fitoplanctônica significativamente mais elevada que a média do corpo d'água (Zohary & Roberts 1990).

Florações de cianobactérias têm se tornado um problema em várias partes do mundo, trazendo não só prejuízos econômicos, pela perda da qualidade da água e estética do ambiente, mas também riscos à saúde humana e animal (Granéli & Turner, 2006). Florações de cianobactérias representam uma séria ameaça para os ecossistemas de água doce através da produção de metabólitos secundários (Carmichael, 1992), quais constituem-se em potentes toxinas, denominadas de cianotoxinas (Ferrão-Filho *et al.*, 2009). Dentre os aproximadamente 150 gêneros de cianobactérias conhecidos, 40 estão relacionados com a produção de toxinas (Apeldoorn *et al.*, 2007). Os gêneros mais comuns de cianobactérias formadoras de florações são *Anabaena*, *Aphazomenom*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis* e *Planktotrix* (Padisák & Reynolds, 2004). Em contra partida, não se pode considerar que todas as florações de cianobactérias sejam tóxicas, algumas podem ser tóxicas durante apenas um determinado período do ano, do mês ou da semana. O mais comumente encontrado é a dominância de cepas tóxicas e não tóxicas, as quais, quando são da mesma espécie, não se podem separar fenotipicamente (Molica & Azevedo, 2009).

As cianotoxinas podem ser classificadas, de acordo com seu mecanismo de toxicidade em animais em três classes principais; as dermatoxinas, as hepatotoxinas e as neurotoxinas, sendo estas duas últimas as mais frequentemente encontradas em corpos d'água e que geram maiores preocupações (Carmichael, 1997).

Neurotoxinas podem ser divididas em três sub-grupos: anotoxina-a, anotoxina-a(s) e saxitoxinas. (Molica & Azevedo, 2009). Já foram isoladas nos seguintes gêneros: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis*. (Soares, 2008). Hepatotoxinas estão divididas em: microcistinas, nodularinas e cilindrospermopsina. Já foram isoladas nos seguintes gêneros: *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularina*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis*, *Planktotrix* e *Arthrospira* (Mirluoto & Codd, 2005).

Anatoxina-a é um alcalóide que age como bloqueador neuromuscular pós-sináptico de receptores nicotínicos e colinérgicos. Anatoxina-a(s) inibe a atividade da acetilcolinesterase, causando hipersalivação e convulsões em animais, bem como a morte por parada respiratória (Carmichael, 1992). Ambas as toxinas atuam muito rapidamente, matando os ratos em poucos minutos (2-30 min) após injeção intraperitoneal (i.p.) (Codd *et al.*, 1999). A CL_{50} (i.p.) da anotoxina-a em camundongos é de $375 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corpóreo, para anotoxinas-a(s) é de $20 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corpóreo (Soares *et al.*, 2009). Saxitoxinas são alcalóides carbomatos, compõem um grupo variado de toxinas sendo conhecidas como PST (Paralytic Shellfish Toxins) (Landsberg, 2002). Estas toxinas têm diferentes CL_{50} (i.p.) para camundongos, mas o mecanismo de ação é o mesmo, agindo na ligação e bloqueio dos canais de sódio em células nervosas (Sivonen, 1996). A saxitoxina mais potente, com CL_{50} de $263 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Soares *et al.*, 2009). Microcistinas e nodularinas agem de modo muito semelhante, inibindo proteínas fosfatases (PP1 e PP2). As microcistinas apresentam CL_{50} (i.p.) de 50 a $1.200 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corpóreo e as nodularinas apresentam CL_{50} (i.p.) de 50 a $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corpóreo, entre as variantes da toxina (Funasa, 2003). Cilindrospermopsina inibe a síntese de proteínas e causa danos ao DNA, CL_{50} (i.p.) em camundongos é de 200 e $2.100 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de peso corpóreo para morte entre 5-6 dias e morte até 24h (Silva, 2008).

Cianobactérias e seus efeitos sobre consumidores

As cianobactérias e suas toxinas podem exercer efeitos em todos os níveis taxonômicos, sendo que uma atenção especial tem sido dedicada aos efeitos sobre invertebrados aquáticos, principalmente o zooplâncton (Chistoffersen 1996, Wiengand & Pflugmacher 2005). Estudos laboratoriais demonstraram que as toxinas de

cianobactérias podem inibir o crescimento, a sobrevivência e reprodução das comunidades zooplancônicas (e.g. DeMott *et al.*, 1991; Van Der Grinten, 2003). Efeitos paralisantes nos movimentos natatórios causados em cladóceros por saxitoxinas produzidas por *C. raciborskii* já foram observados (Ferrão-Filho *et al.*, 2008).

As toxinas de cianobactérias são constituintes de produtos naturais, produzidas por esses organismos. Muitos autores têm assumido que esses compostos tóxicos desempenham a função protetora contra a herbivoria (Carmichael, 1992), sabendo-se que ainda não estão devidamente esclarecidos os motivos da produção destas toxinas.

Da mesma forma que ainda não é clara a função das cianotoxinas, também há uma incerteza qual o papel de fatores ambientais no controle da produção dessas toxinas. Segundo (Azevedo *et al.*, 2002), os fatores ambientais poderiam influenciar na produção de toxinas, controlando a abundância das cepas produtoras de toxinas e/ou a produção de cepas tóxicas.

É amplamente conhecido que as florações de cianobactérias são frequentemente associadas com mudanças drásticas na estrutura da comunidade de zooplâncton, indicado pela dominância de pequenos cladóceros, rotíferos ou copépodes (Edmondson & Litt 1982, Gilbert 1990, Fulton & Jones, 1991, Hansson *et al.*, 1998, Ghadouani *et al.*, 2003). A interação entre o fitoplâncton e o zooplâncton herbívoro é fundamental para o ecossistema aquático, pois essa relação media a transferência de energia e matéria de organismos autotróficos para organismos heterotróficos (Vanni e Findlay, 1990; Hansson & Carpenter, 1993).

As cianobactérias são conhecidas por afetar negativamente seus herbívoros, quer por apresentar insuficiência nutricional, isto é, a deficiência em nutrientes essenciais, tais como esteróis, ácidos graxos poli-insaturados e outros compostos ainda não identificados (DeMott & Muller-Navarra, 1997; Von Elert *et al.*, 2003); por causar entupimento do aparelho filtrador e interferência mecânica por filamentos e colônias com o processo de filtração (Gliwicz & Siedlar 1980); quanto pela produção de toxinas (DeMott, 1999; Sarnelle, 2010).

Como parte do fitoplâncton de ecossistemas aquáticos, as cianobactérias participam das cadeias tróficas, sendo parte da dieta de zooplâncton e peixes fitoplancívoros. Em ambientes que apresentam densas florações, o mesozooplâncton (>200 µm), como cladóceros e copépodes podem ser afetados, experimentando redução na taxa de filtração, na assimilação de alimento ou mesmo mortalidade (Ghadouani *et*

al., 2004; Rohrlack *et al.*, 2005). No entanto, estudos de campo e de laboratório indicam que, mesmo tóxicas, as cianobactérias podem ser utilizadas pelo zooplâncton (Panosso *et al.*, 2003; Gobler *et al.*, 2007). Há evidências de que as cianobactérias têm efeitos deletérios sobre o zooplâncton, mas estes efeitos são altamente variáveis entre os gêneros e espécies, e até mesmo clones individuais de espécies de zooplâncton (Okumura *et al.*, 2007).

Não há evidências claras de que as cianotoxinas tenham realmente uma função anti-herbivoria, assim como não se pode generalizar este papel para as diferentes classes de cianotoxinas, pois estas têm diferentes mecanismos de ação. Além disso, apesar desta hipótese ter sido amplamente testada para espécies de zooplâncton temperadas, ainda foi pouco testada em ambientes tropicais, onde ocorrem intensas florações de cianobactérias (Ferrão-Filho & Kozlowsky-Suzuki, 2011). Efeitos de cepas de *Cylindrospermopsis raciborskii* produtoras de saxitoxinas em cladóceros reportados na literatura, como paralisia dos movimentos natatórios (Ferrão-Filho *et al.*, 2008), inibição da taxa de filtração e da reprodução (Soares *et al.*, 2009), sugerem um possível papel anti-herbivoria destas toxinas.

Há pouco conhecimento sobre os efeitos das florações de cianobactérias e suas toxinas sobre as espécies de zooplâncton tropicais (Sotero-Santos *et al.*, 2006). Estudos sobre os efeitos de extratos de cianobactérias sobre a fecundidade de cladóceros são escassos, especialmente em relação às espécies tropicais (Okumura *et al.*, 2007), sendo a maioria dos estudos centrado sobre os efeitos das cianobactérias em cladóceros de clima temperado (Rohrlack *et al.*, 2003; Gustafsson & Hansson, 2004).

A eficácia da herbivoria de um determinado grupo de zooplâncton depende de vários fatores, incluindo as taxas de crescimento do fitoplâncton, a seletividade de partículas alimentares, os seus níveis de limitação alimentar e as taxas de crescimento da população (Gulati *et al.*, 1990). A capacidade de cladóceros de suportar os possíveis efeitos tóxicos de cianobactérias também deve ser levada em conta. Por exemplo, uma espécie pode resistir aos efeitos tóxicos de cianobactérias mais do que outra (Nandini *et al.*, 2000).

Há várias espécies de cladóceros, que podem ser utilizadas para identificar possíveis efeitos das cianotoxinas, porém faz-se importante a padronização da utilização de espécies mais representativas de nossos ecossistemas, nativas do Brasil, tornando os

resultados dos bioensaios mais consistentes com o que ocorre no ambiente, tornando-os mais confiáveis e eficientes (Ferrão-Filho *et al.*, 2009).

Ensaio ecotoxicológicos são subsídios importantes na avaliação dos riscos dessas toxinas para as comunidades aquáticas. As análises ecotoxicológicas envolvem testes de toxicidade aguda e crônica, tendo como importante objetivo caracterizar os efeitos adversos causados por substâncias tóxicas (Dahms *et al.*, 2011). O teste de toxicidade agudo tem como objetivo avaliar a dose ou a concentração de cianotoxinas que tenham capacidade de produzir efeitos aos organismos expostos em um período de tempo relativamente curto (Restani, 2011). Os testes de toxicidade crônica são realizados para medir os efeitos das cianotoxinas sobre espécies de zooplâncton por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste, em diversas concentrações (Costa *et al.*, 2008).

Reservatório do Camorim

Reservatórios são sistemas artificiais complexos, redes interativas de componentes estruturais, físico-químicos e biológicos. As represas são sistemas com capacidade de auto-organização e reestruturação de seus componentes. Os elementos são reciclados nos reservatórios em relação ao volume, circulação, tempo de retenção e biomassa (Tundisi, 2006). A eutrofização resulta no aumento de produtividade e da biomassa algal, e na redução da diversidade fitoplanctônica, com predominância de alguns grupos (Panosso *et al.*, 2007).

O reservatório do Camorim representa o maior manancial do grupo Jacarepaguá-Rio de Janeiro/RJ e integra o Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB). Durante um ano (Março/2012 a Março/2013) foram realizadas coletas quinzenais, em três pontos de amostragem. Este ambiente pode ser considerado naturalmente eutrófico com base na concentração média de clorofila-*a* ($54 \mu\text{g L}^{-1}$) e durante todo o período de estudo, esteve dominado por diatomáceas, principalmente do gênero *Aulacoseira*, em situações de intensa mistura da coluna d'água. Em diversas situações observou-se codominância de espécies de algas, tendo sido ainda registradas duas florações da cianobactéria potencialmente tóxica *Cylindrospermopsis raciborskii* (U. J. Pereira, comunicação pessoal).

Objetivo geral

Contribuir para o entendimento dos efeitos e mecanismos ecológicos de interação entre cianobactérias e zooplâncton, especialmente do grupo dos cladóceros.

Objetivos específicos

1- Realizar ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos, com séston e com cepas de cianobactéria isoladas do reservatório do Camorim, utilizando espécies nativas de cladóceros.

2- Avaliar os efeitos de séston e cepas de cianobactéria sobre as taxas de crescimento, reprodução e mortalidade de espécies de cladóceros.

Material e métodos

Área de estudo

Localizado na vertente sudeste do maciço da Pedra Branca, a 436 metros de altitude, o Reservatório do Camorim foi concluído em 1908 com o objetivo de abastecer a região de Jacarepaguá e integra o Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB). Este reservatório recebe água de um conjunto de rios, dos quais o principal, o Rio Camorim, tem 6,5 km de extensão, indo desaguar na lagoa do Camorim, que faz parte do Complexo Lagunar de Jacarepaguá. Representa o maior manancial do grupo Jacarepaguá, sendo totalmente cercado de matas (Fig. 1). Seu volume é de 210.000 m³, apresentando profundidade máxima de 18 metros e uma capacidade de armazenamento de 2,4 milhões de m³ de água. Suas águas são captadas por um engenhoso aqueduto, construído no início do Século XX, sendo levadas a uma pequena estação de tratamento da CEDAE, que fica situada na sede do PEPB (INEPAC, 1998).

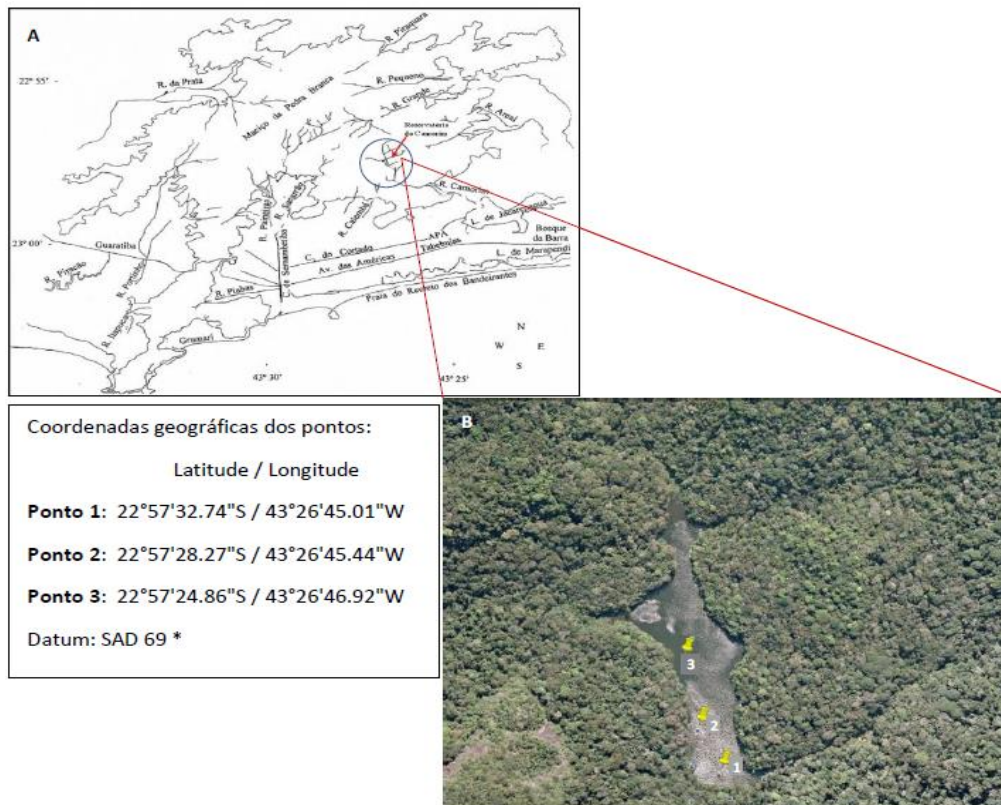


Figura 1 – A) Mapa do maciço da Pedra Branca e arredores, modificado de Gomes (2006), seta vermelha indica localização do Reservatório de Camorim e círculo azul sua bacia hidrográfica; B) imagem de satélite do Reservatório do Camorim, em amarelo os pontos de coleta. Fonte: Google Earth.

Amostragem e análises das amostras limnológicas e das comunidades planctônicas

No Reservatório do Camorim, foram realizadas coletas quinzenais no primeiro ano do projeto (Março/2012 a Março/2013), em três pontos de amostragem (Fig. 1), com a finalidade de se conhecer a composição da comunidade fitoplânctônica e zooplânctônica e de coletar amostras de água para análises físico-químicas e testes ecotoxicológicos.

Amostras de toda a coluna d'água foram coletadas aleatoriamente em triplicata em cada ponto de amostragem com um tubo integrador de PVC e misturadas em um balde de 18 L, sendo retiradas sub-amostras de 100 mL e fixadas com solução de Lugol para posterior análise do fitoplâncton. Amostras de 10 L desta mesma amostra integrada foram filtradas através de rede com abertura de malha de 50 μ m e fixadas com formaldeído a 4%, tamponado com 10% de ácido bórico para a análise do zooplâncton.

Amostras de 2,5 L foram levadas ao laboratório e sub-amostras de 250 mL filtradas em membrana de borosilicato e congeladas para posterior análise de toxinas e clorofila *a*.

Amostras de 250 mL foram filtradas em filtros Whatman GF/C para análise de nitrogênio inorgânico dissolvido (íon amônio, N.NH_4^+ ; nitrato, N.NO_3^- e nitrito, N.NO_2^-), fósforo solúvel reativo (PSR), sílica solúvel reativa (SRSi) e amostras de 250 ml foram mantidas sem filtrar para determinação das concentrações de nutrientes totais (nitrogênio orgânico total, NOT e fósforo total (PT). Ambas foram mantidas congeladas em freezer a -35°C até análise. TP e SRP foram determinados pelo método do ácido ascórbico; N.NO_3^- e N.NO_2^- por redução em coluna de cádmio, seguido de determinação colorimétrica pelo método do fenol-hipoclorito (Wetzel & Likens 1990). NOT foi medido pelo método clássico de Kjeldahl. As amostras para as formas totais e dissolvidas de N, P e sílica foram analisadas de técnicas espectrofotométricas.

As populações micro e nanofitoplancônicas foram examinadas em microscópio Olympus BH-2 equipado com sistema de captura de imagens Image Pro-Plus e contraste de fase para identificação, sempre que possível, em nível de espécie, através de características morfológicas e métricas das fases vegetativas e reprodutivas. A densidade fitoplancônica (ind. mL^{-1}) foi estimada segundo método de sedimentação de Utermöhl (1958), em microscópio invertido Zeiss Oberkochen, modelo Axiovert 10, a 400 aumentos, enumerados em campos aleatórios (Uhelinger, 1964). As classes taxonômicas foram consideradas de acordo com Hoek *et al.* (1997), exceto para as classes Cyanobacteria (Komárek & Anagnostidis, 1999, 2005) e Bacillariophyceae (Round *et al.*, 1990).

Análises de toxinas das amostras

As análises de saxitoxina nas amostras de seston foram realizadas através de imunoenensaio (ELISA), com o uso de kits da Beacon®.

Devido à ausência de microcrustáceos de grande porte (cladóceros e copépodos), não foi possível separar as amostras de zooplâncton do fitoplâncton para posterior extração de microcistinas e saxitoxinas. Deste modo, utilizou-se o material particulado em suspensão como um todo (séston = fitoplâncton + zooplâncton + detritos).

Isolamento e cultivo das cepas de cianobactérias

Cepas de cianobactéria da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju foram isoladas da Represa do Camorim (RJ) por microcapilar de vidro no Laboratório de Ecologia e Fisiologia do Fitoplâncton (LabAlgas), Departamento de Biologia Vegetal (IBRAG/UERJ). As cepas são mantidas no banco de cultivo do LabAlgas, em meio BG-11, à temperatura de 24 ± 2 °C e sob iluminação contínua com intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Culturas de microcrustáceos planctônicos (cladóceros)

Cladóceros planctônicos isolados de corpos d'água do Rio de Janeiro e Minas Gerais (Tabela I) foram utilizados como organismos-teste em testes ecotoxicológicos, sendo cultivada em água mineral, em câmara de germinação a 23°C, baixa intensidade luminosa e alimentada com clorofíceas de alto valor nutritivo. Cladóceros da espécie *Daphnia similis* (exótica) com protocolo de ensaio ecotoxicológico padronizado pela ABNT (2004), foram utilizados como organismos de referência.

Tabela I – Cladóceros utilizados nos estudos ecotoxicológicos e suas origens.

Espécie	Tamanho do adulto (mm)	Origem
<i>Daphnia similis</i> ⁽¹⁾	2,0 – 3,0	Região temperada
<i>Daphnia gessneri</i>	1,2 – 1,5	Reservatório de Lajes (RJ)
<i>Daphnia laevis</i>	1,5 – 2,5	Lagoa do Ibirité (MG)
<i>Moina micrura</i>	0,8 – 1,0	Reservatório de Lajes (RJ)
<i>Ceriodaphnia richardii</i>	0,4 – 0,6	Reservatório do Funil (RJ)

(1) Cedido pelo Labtox, Biorio, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Ensaio ecotoxicológicos

Testes de toxicidade aguda com cladóceros foram realizados com a cepa de *C.raciborskii* isolada (CYL-2) ou com água bruta do reservatório do Camorim, expondo-se 10 indivíduos jovens (<24 h) a 30 mL de amostra em várias concentrações

(3 réplicas), sendo utilizado também um controle com água de cultivo. Após 24, 48, 72 e 96 horas, foi feita a contagem do número de indivíduos mortos e imobilizados.

Ao final dos testes, os animais sobreviventes foram medidos em lupa Olympus (SZ61) com aumento de 40X, transferidos para placas de Petri e colocados em estufa a 60°C ao longo da noite para posterior pesagem, que foi realizada em uma balança Mettler Toledo MinWeigh, com precisão de 0,1 µg.

Testes de toxicidade crônica foram realizados com amostras de água bruta e a cepa CYL-2. Nestes testes, os neonatos nascidos dentro de 24 h foram expostos individualmente a 30 mL de amostra em diferentes concentrações (15 réplicas), variando-se a proporção de amostra em relação ao alimento (0 a 100%). Foi utilizado também um controle com água de cultivo com clorofíceas. Esta coorte foi acompanhada desde o estágio juvenil até a maturidade, observando-se a idade da primeira reprodução e o número de neonatos produzidos por fêmea em cada ninhada, até pelo menos a terceira ninhada em cada espécie (10-15 dias). A sobrevivência e a fecundidade média nos testes crônicos foram utilizadas para o cálculo da taxa intrínseca de crescimento natural (r), que foi feita por técnica de 'bootstrap' com o auxílio do programa 'Rm' (Taberner *et al.*, 1993).

Resultados

Testes de toxicidade aguda

Foram realizados três testes agudos com o séston do reservatório do Camorim, em 14/09/2012 (período frio-seco), em 26/10/2012 (período de transição) e em 24/01/2013 (período quente-chuvoso). Em setembro de 2012, a amostra de séston causou uma redução na sobrevivência (33,3%) somente em *D. gessneri*, sendo que os outros dois cladóceros testados não apresentaram mortalidade em 96h (Tabela II). A taxa de crescimento somático dos cladóceros variou de 0,438 a 0,588 d⁻¹ (Tabela III), e não sofreu efeito significativo com concentrações crescentes de séston em comparação com o controle. Neste período, houve disponibilidade de alimento (clorofila-*a*), e razões C:N e C:P teoricamente não limitantes (Tabela IV). O biovolume de *Cylindrospermopsis raciborskii* foi reduzido (0,002 mm³ L⁻¹) (Tabela V), assim como a concentração de saxitoxina (1,38 ng L⁻¹).

Em outubro de 2012, houve um efeito maior da amostra de séston, com reduções da ordem de 33 a 47% na sobrevivência dos cladóceros testados. Houve somente um efeito significativo na taxa de crescimento somático de *D. laevis*, na concentração de 100% de séston (Tabela III). Neste período, as razões de C:N e C:P no séston pareceram indicar potencial limitação por N e P, mesmo com disponibilidade de alimento (Tabela IV). O biovolume de *C. raciborskii* foi um pouco mais alto (0,024 mm³L⁻¹; Tabela V), assim como a concentração de saxitoxina (11,2 ng L⁻¹).

Em janeiro de 2013 houve efeito significativo na sobrevivência dos cladóceros expostos ao séston do reservatório do Camorim, com reduções da ordem de 17 a 47% na sobrevivência (Tabela II). No entanto, nenhum efeito significativo do séston na taxa de crescimento somático dos cladóceros foi observado (Tabela III). Neste período, o séston apresentou qualidade nutricional aparentemente não limitante (Tabela IV), porém apresentando elevado biovolume de *C. raciborskii* (2,1 mm³L⁻¹; Tabela V) e concentração de saxitoxina da ordem de 34 ng L⁻¹. Um controle com água filtrada (membrana de borosilicato, 1-2 µm) do reservatório não apresentou diferença significativa em relação ao controle com água mineral, demonstrando que o efeito está ligado ao material particulado, e não à fração dissolvida.

Foram realizados dois experimentos com a cepa de *C. raciborskii* CYL-2. No experimento de 23/10/2012, uma proporção fixa de alimento ($500 \mu\text{g C L}^{-1}$) foi utilizada, sendo que a proporção de cianobactérias na dieta variou de 10 a 50%. No experimento de 27/06/2013, variaram-se ambos, a proporção de alimento e de cianobactérias na dieta, indo de 0 (zero) a 100% de cianobactérias e/ou clorofíceas, numa concentração total de alimento de $500 \mu\text{g C L}^{-1}$ (Tabela II). Em ambos os experimentos, houve uma redução significativa na sobrevivência de todas as espécies de cladóceros testadas, variando de 20 a 60% no primeiro experimento, e de 68 a 100% no segundo experimento. Esta cepa continha $50,5 \mu\text{g}$ de saxitoxina (STX) g^{-1} de amostra, sendo que a concentração mais alta utilizada ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) continha $50,5 \text{ ng STX L}^{-1}$. No experimento de 23/10/2012, houve efeito significativo da cepa CYL-2 na taxa de crescimento somático de duas espécies de cladóceros, com *D. gessneri* sendo afetada em todas as concentrações e *D. laevis* apenas na maior concentração da cepa (Tabela III).

Tabela II . Sobrevivência dos cladóceros após 96 horas de exposição nos testes agudos. Asteriscos indicam diferenças significativas em relação ao controle. Nos experimentos com a cepa CYL-02, em 23/10/12 foi adicionada uma proporção fixa de alimento (500 $\mu\text{g C L}^{-1}$), enquanto que em 27/06/13 foi adicionada uma proporção variável de alimento (100 a 0 %) em combinação a uma proporção variável de cianobactéria (0 a 100%), perfazendo um total de 500 $\mu\text{g PS L}^{-1}$ ($\sim 250 \mu\text{g C L}^{-1}$). O traço (-) indica ausência de teste na concentração; a cruz (†) indica que todos os indivíduos morreram antes do fim do experimento.

Datas/testes	Tratamentos	Sobrevivência após 96 h (%)			
14/09/2012 Séston	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. laevis</i>	<i>M. micrura</i>
	Controle	100	90,0 \pm 57,8	-	100
	20	-	-	-	100
	50	100	86,6 \pm 33,3	-	100
	100	100	66,7 \pm 33,3*	-	100
26/10/2012 Séston	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. laevis</i>	<i>M. micrura</i>
	Controle	100	100	100	-
	50	70,0 \pm 0,0*	73,3 \pm 33,3*	83,3 \pm 33,3*	-
	100	56,7 \pm 33,3*	53,3 \pm 33,3*	66,7 \pm 33,3*	-
24/01/2013 Séston	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. laevis</i>	<i>M. micrura</i>
	Controle	93,3 \pm 33,3	96,6 \pm 33,3	93,3 \pm 33,4	100
	Filtrada-séston	-	93,3 \pm 33,3	90,0 \pm 0,0	-
	20	-	90,0 \pm 0,0	80,0 \pm 5,8	-
	50	83,3 \pm 33,4	90,0 \pm 0,0	73,3 \pm 33,3*	83,3 \pm 33,3*
	100	70,0 \pm 57,8*	83,3 \pm 33,4	70,0 \pm 0,0*	63,3 \pm 33,3*
23/10/2012 CYL-02 (Proporção fixa de alimento)	Biomassa ($\mu\text{g/L}$)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. laevis</i>	<i>M. micrura</i>
	Controle (0%)	96,6 \pm 33,4	96,6 \pm 33,4	100	96,6 \pm 33,3
	125 (11%)	-	-	96,7 \pm 33,4	-
	250 (20%)	-	-	93,3 \pm 33,4	-
	375 (27%)	-	76,6 \pm 33,4	90,0 \pm 0,0	-
	500 (33%)	90,0 \pm 0,0	50,0 \pm 0,0*	86,7 \pm 33,4*	86,6 \pm 33,3
	1000 (50%)	80,0 \pm 0,0*	40,0 \pm 57,8*	80,0 \pm 0,0*	56,6 \pm 33,3*
27/06/2013 CYL-02 (Proporção variável de alimento)	Biomassa ($\mu\text{g/L}$)	<i>C. richardii</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. laevis</i>	<i>M. micrura</i>
	Controle (0%)	96,7 \pm 33,3	100	93,3 \pm 33,3	100
	125 (25%)	66,6 \pm 33,3*	56,6 \pm 33,3*	63,3 \pm 33,3*	66,7 \pm 88,3*
	250 (50%)	60,0 \pm 0,0*	50,0 \pm 57,8*	56,7 \pm 33,3*	53,3 \pm 33,3*
	375 (75%)	43,3 \pm 33,3*	40,0 \pm 0,0*	43,3 \pm 33,3*	0,67 \pm 33,3*
	500 (100%)	33,3 \pm 33,3*	13,3 \pm 66,7*	33,3 \pm 33,3*	†

Tabela III. Taxa de crescimento somático dos cladóceros após 96 horas de exposição nos testes agudos. Asteriscos indicam diferenças significativas em relação ao controle. Nos experimentos com a cepa CYL-02, em 23/10/12 foi adicionada uma proporção fixa de alimento ($500 \mu\text{g C L}^{-1}$), enquanto que em 27/06/13 foi adicionada uma proporção variável de alimento (100 a 0 %) em combinação a uma proporção variável de cianobactéria (0 a 100%), perfazendo um total de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ($\sim 250 \mu\text{g C L}^{-1}$). O traço (-) indica ausência de teste na concentração; a cruz (†) indica que todos os indivíduos morreram antes do fim do experimento.

Datas/testes	Tratamentos	Taxa de crescimento (d^{-1}) após 96 h			
14/09/2012	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. leavis</i>	<i>M. micrura</i>
Séston	Controle	$0,439 \pm 0,003$	$0,556 \pm 0,003$	-	$0,526 \pm 0,003$
	20	-	-	-	$0,523 \pm 0,003$
	50	$0,438 \pm 0,001$	$0,557 \pm 0,005$	-	$0,521 \pm 0,002$
	100	$0,444 \pm 0,002$	$0,570 \pm 0,007$	-	$0,524 \pm 0,003$
26/10/2012	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. leavis</i>	<i>M. micrura</i>
Séston	Controle	$0,536 \pm 0,004$	$0,550 \pm 0,006$	$0,590 \pm 0,007$	-
	50	$0,550 \pm 0,002$	$0,580 \pm 0,007$	$0,551 \pm 0,013$	-
	100	$0,548 \pm 0,003$	$0,554 \pm 0,003$	$0,521 \pm 0,020^*$	-
24/01/2013	Concentração (%)	<i>C. richardii</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. leavis</i>	<i>M. micrura</i>
Séston	Controle	$0,536 \pm 0,005$	$0,470 \pm 0,001$	$0,439 \pm 0,005$	$0,379 \pm 0,010$
	Filtrada-séston	-	$0,463 \pm 0,009$	$0,450 \pm 0,008$	-
	20	-	$0,476 \pm 0,006$	$0,456 \pm 0,011$	-
	50	$0,550 \pm 0,003$	$0,469 \pm 0,005$	$0,460 \pm 0,008$	$0,379 \pm 0,004$
	100	$0,548 \pm 0,003$	$0,460 \pm 0,002$	$0,453 \pm 0,001$	$0,376 \pm 0,007$
23/10/2012	Biomassa ($\mu\text{g/L}$)	<i>C. richardii</i>	<i>D. gessneri</i>	<i>D. leavis</i>	<i>M. micrura</i>
CYL-02	Controle (0%)	$0,473 \pm 0,002$	$0,588 \pm 0,009$	$0,547 \pm 0,003$	$0,485 \pm 0,002$
(Proporção fixa de alimento)	125 (11%)	-	-	$0,538 \pm 0,011$	-
	250 (20%)	-	-	$0,527 \pm 0,012$	-
	375 (27%)	-	$0,549 \pm 0,002^*$	$0,521 \pm 0,004$	-
	500 (33%)	$0,455 \pm 0,004$	$0,545 \pm 0,001^*$	$0,545 \pm 0,011$	$0,480 \pm 0,002$
	1000 (50%)	$0,459 \pm 0,007$	$0,545 \pm 0,002^*$	$0,472 \pm 0,012^*$	$0,473 \pm 0,006$
27/06/2013	Biomassa ($\mu\text{g/L}$)	<i>C. richardii</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. leavis</i>	<i>M. micrura</i>
CYL-02	Controle (0%)	$0,478 \pm 0,001$	$0,467 \pm 0,006$	$0,524 \pm 0,001$	$0,520 \pm 0,003$
(Proporção variável de alimento)	125 (25%)	$0,471 \pm 0,001$	$0,445 \pm 0,004$	$0,514 \pm 0,001$	$0,515 \pm 0,001$
	250 (50%)	$0,463 \pm 0,002$	$0,420 \pm 0,002$	$0,511 \pm 0,001$	$0,504 \pm 0,002$
	375 (75%)	$0,445 \pm 0,002$	$0,397 \pm 0,005$	$0,510 \pm 0,002$	$0,493 \pm 0,009$
	500 (100%)	$0,439 \pm 0,002$	$0,376 \pm 0,008$	$0,501 \pm 0,004$	†

Tabela IV. Concentração de carbono orgânico particulado (COP), nitrogênio orgânico total (NOT), fósforo particulado (P-part), razões C:N e C:P do séston e clorofila-*a* durante os experimentos.

Experimentos	COP (mg L ⁻¹)	NOT (µg L ⁻¹)	P-part (µg L ⁻¹)	C:N (molar)	C:P (molar)	Clorofila (µg L ⁻¹)
Agudo 14/09/12	1,17	258,9	29,3	5,3	102,7	109,5
Agudo 26/10/12	3,42	142,8	13,4	28,1	656,3	56,2
Agudo 24/01/13	0,43	241,4	18,3	2,08	60,8	32,1
Crônico 08/11/12	1,48	16,2	44,9	104,7	85,1	72,6
Crônico 07/03/13	0,74	126,0	46,4	6,9	41,0	39,1

Tabela V. Biovolume (mm³L⁻¹) e percentagem do biovolume dos grupos do fitoplâncton do Reservatório do Camorim predominantes durante os experimentos. Os dados foram compilados a partir dos resultados da tese de Uanderson J. Pereira.

Experimentos	Unidades	<i>Cylindro. raciborskii</i>	<i>Aulacoseira ambigua</i>	<i>Mougeotia sp.</i>	Total de filamentosas ⁽¹⁾	Total de algas nutritivas ⁽²⁾
Agudo 14/09/12	mm ³ L ⁻¹ (%)	0,002 (0,02)	5,84 (60,6)	0,04 (0,40)	5,88 (61,0)	2,04 (21,1)
Agudo 26/10/12	mm ³ L ⁻¹ (%)	0,024 (0,23)	3,86 (36,6)	0,19 (1,8)	4,07 (38,6)	3,61 (34,3)
Agudo 24/01/13	mm ³ L ⁻¹ (%)	2,15 (20,32)	0,00 (0,0)	3,78 (35,6)	5,93 (55,9)	4,06 (38,3)
Crônico 08/11/12	mm ³ L ⁻¹ (%)	2,37 (14,8)	3,06 (19,2)	2,58 (16,1)	8,00 (50,1)	1,65 (10,3)
Crônico 07/03/12	mm ³ L ⁻¹ (%)	0,00 (0,0)	0,54 (5,3)	0,01 (0,1)	0,55 (5,3)	9,07 (87,8)

(1) Total de filamentosas = *Cylindro*+*Aulacoseira*+*Mougeotia*

(2) Total de algas nutritivas = Bacillariophyta+Chlorophyta+Cryptophyta+Chrysophyta+Euglenophyta

Testes de toxicidade crônica

Foram realizados dois testes de toxicidade crônica com o séston do reservatório do Camorim, um em 08/11/2012 e outro em 07/03/2013, ambos no período quente-chuvoso. No experimento realizado em 08/11/2012, houve um efeito significativo do séston nos parâmetros reprodutivos das três espécies testadas (Fig. 2). *C. richardii* foi pouco afetada pelo séston neste período, tendo somente um ligeiro, mas significativo, decréscimo na taxa intrínseca de aumento populacional (r) na maior concentração (Fig. 2A). A espécie mais afetada foi *D. laevis* (Fig. 2B), tendo sua fecundidade média, total de neonatos produzidos e taxa intrínseca de aumento populacional (r) drasticamente reduzidos nos tratamentos com séston, mostrando inclusive uma resposta concentração-dependente (Fig. 2B). *M. micrura* foi exposta somente a 100% de água bruta do reservatório contendo séston, sendo afetada significativamente na sua fecundidade média, total de neonatos produzidos e taxa intrínseca de aumento populacional (Fig. 2C). Neste período, o biovolume de *C. raciborskii* ($2,37 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) e a concentração de saxitoxina (96 ng L^{-1}) foram relativamente elevados. No experimento realizado em 07/03/2013 (Fig. 2), somente *M. micrura*, na concentração de 100% de séston, teve seus parâmetros populacionais afetados significativamente (Fig. 3C). No entanto, os efeitos foram menos drásticos do que os observados no experimento anterior. Neste período, não havia presença de *C. raciborskii*, embora o biovolume de outras cianobactérias tenha sido de $0,32 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ e a concentração de saxitoxina tenha sido de 14 ng L^{-1} .

Um teste de toxicidade crônica foi feito com a cepa CYL-02 em 22/07/2013. Neste teste, variaram-se a proporção de alimento e de cianobactérias na dieta, indo de 0 (zero) a 100% de cianobactérias e/ou clorofíceas. Os resultados mostram um efeito concentração dependente e significativo dos tratamentos com cianobactéria nos parâmetros populacionais dos cladóceros (Fig. 4), sendo que *D. similis*, *D. laevis* e *M. micrura* foram as espécies mais afetadas, tendo valores de r próximos de zero ou negativos na concentração de 100% de cianobactéria. Para *C. richardii*, entretanto, a reprodução foi menos afetada, tendo efeitos significativos nos valores de r somente nas concentrações mais altas da cianobactéria (Fig. 4A).

Figura 2 - Parâmetros populacionais de *Ceriodaphnia richardii* (A), *Daphnia laevis* (B) e *Moina micrura* (C) expostas ao séston do reservatório do Camorim coletado em 08/11/2012. As concentrações estão em percentagem de água do reservatório no meio de cultivo. As letras diferentes indicam diferenças significativas (ANOVA, Teste de Tukey, $P < 0,05$).

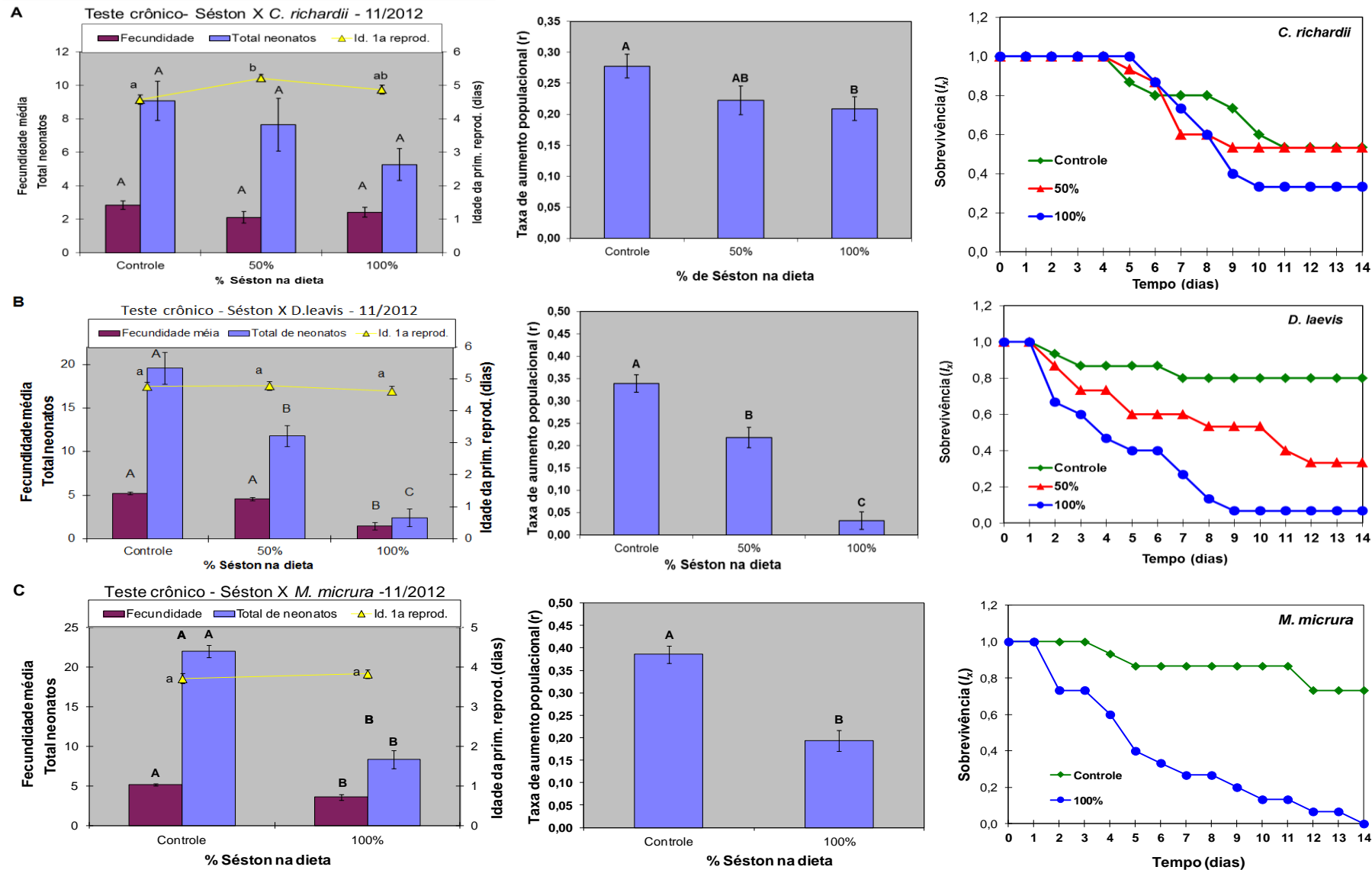


Figura 3 - Parâmetros populacionais de *Ceriodaphnia richardii* (A), *Daphnia leavis* (B) e *Moina micrura* (C) expostas ao séstom do reservatório do Camorim coletado em 07/03/2013. As concentrações estão em porcentagem de água do reservatório no meio de cultivo. As letras diferentes indicam diferenças significativas (ANOVA, Teste de Tukey, P<0,05)

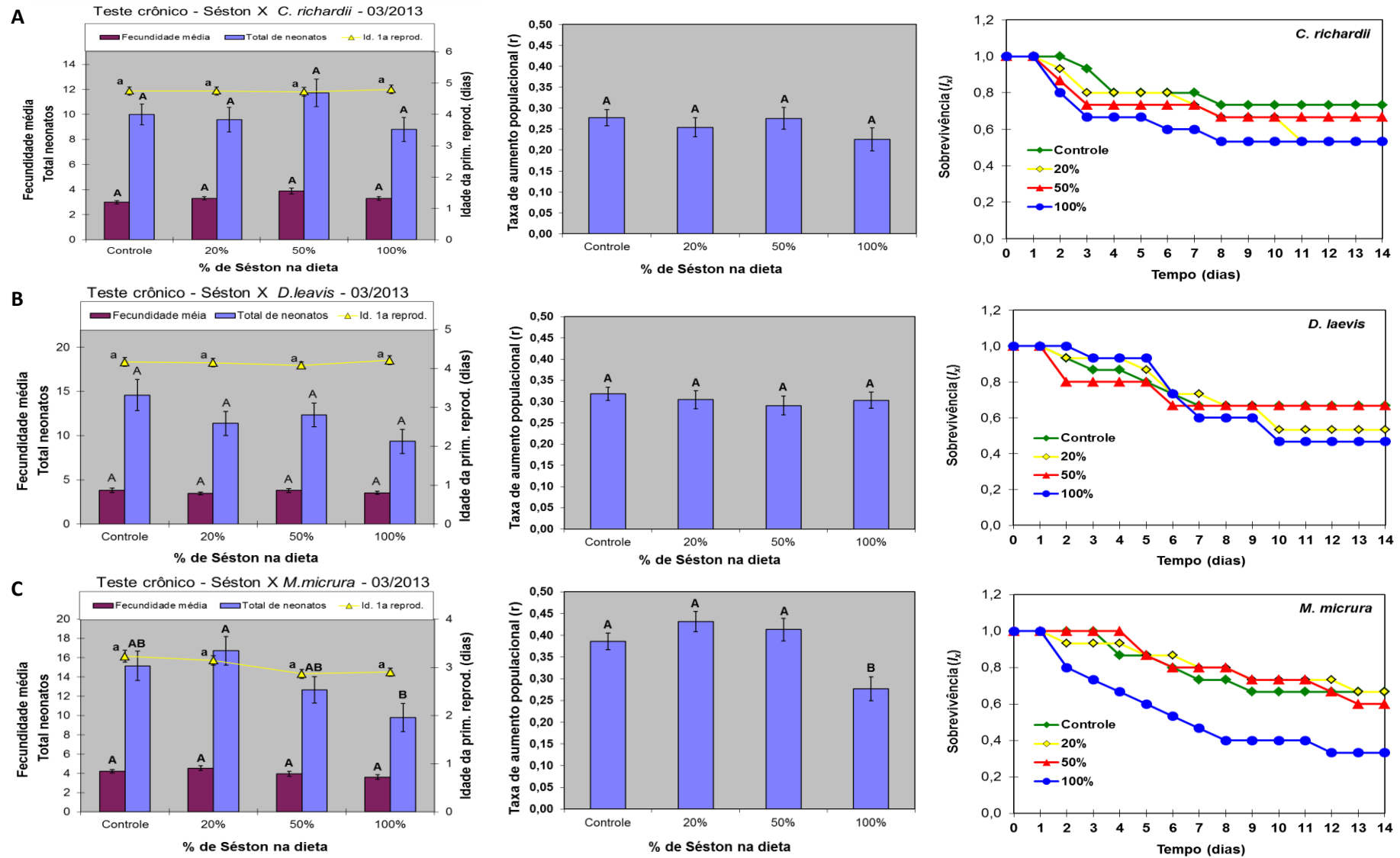
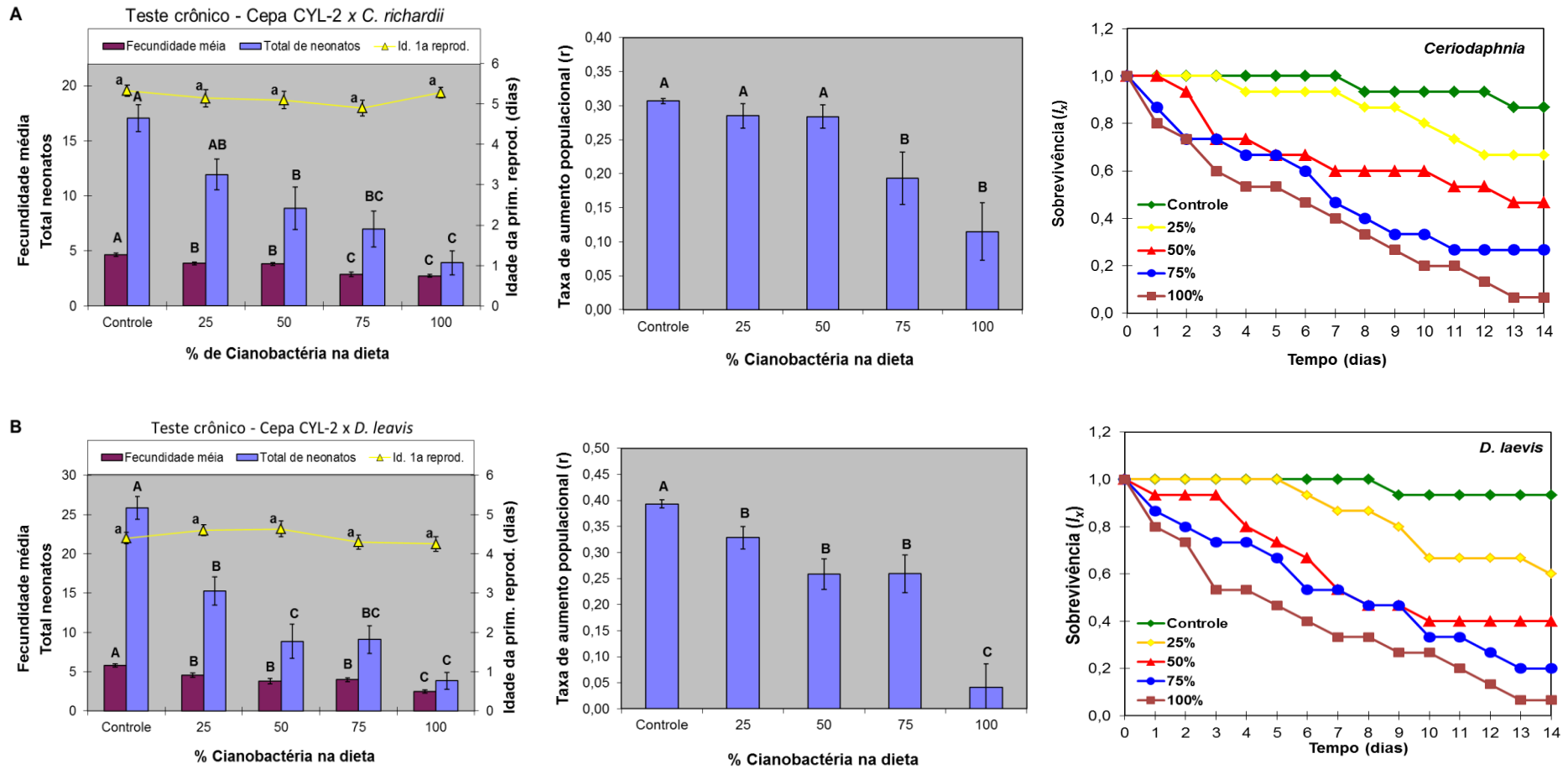
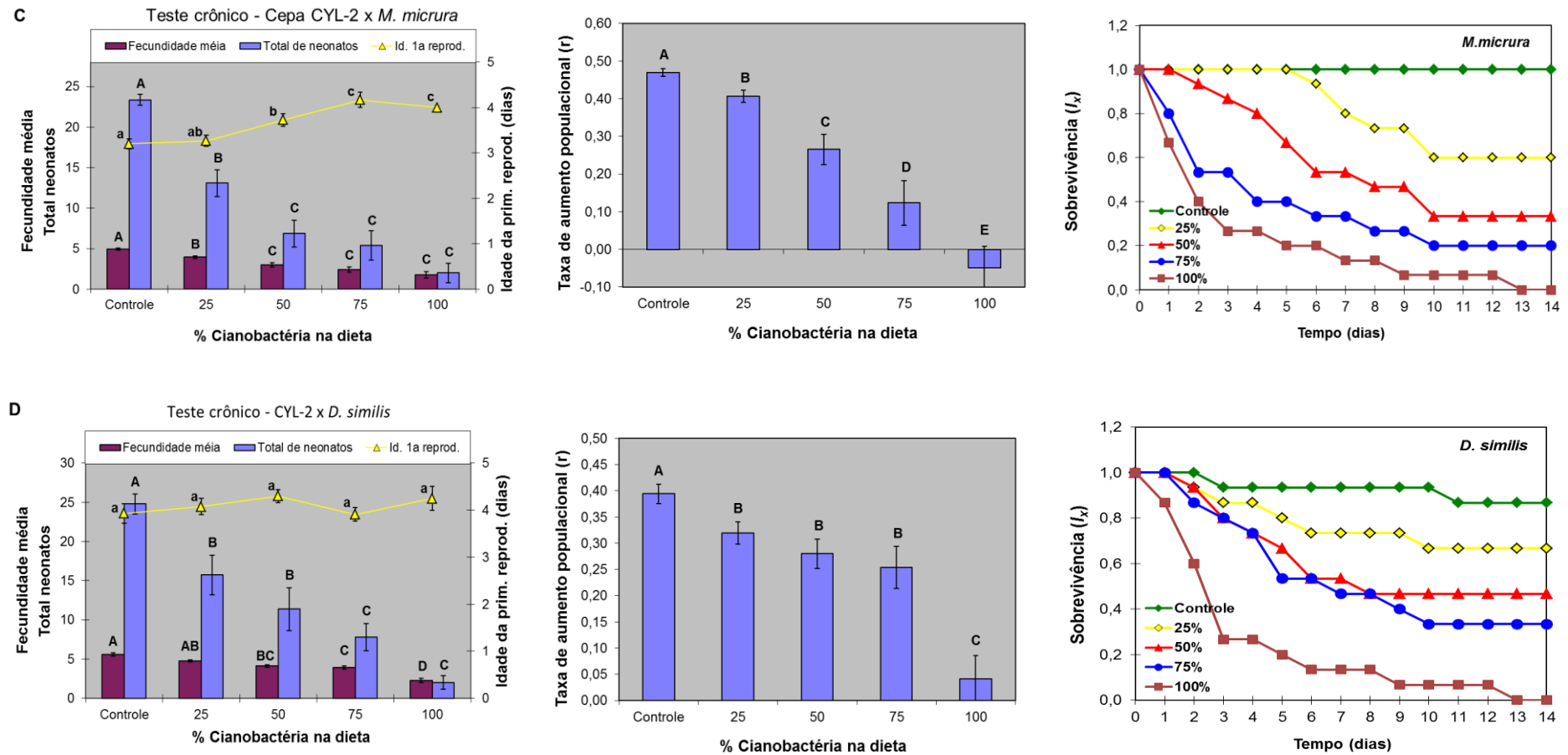


Figura 4 - Parâmetros populacionais de *Ceriodaphnia richardii*, *Daphnia leavis*, *Moina micrura* e *Daphnia simillilis* expostas à cepa CYL-2 isolada do reservatório do Camorim. As concentrações estão em percentagem de cianobactéria na dieta, em uma proporção fixa de alimento total (clorofíceas + cianobactérias) de $500 \mu\text{g L}^{-1}$. O controle refere-se a uma concentração de 100% de clorofíceas. As letras diferentes indicam diferenças significativas (ANOVA, Teste de Tukey, $P < 0,05$).



Continuação... Figura 4- Parâmetros populacionais de *Ceriodaphnia richardii*, *Daphnia leavis*, *Moina micrura* e *Daphnia similis* expostas à cepa CYL-2 isolada do reservatório do Camorim. As concentrações estão em porcentagem de cianobactéria na dieta, em uma proporção fixa de alimento total (clorofíceas + cianobactérias) de $500 \mu\text{g L}^{-1}$. O controle refere-se a uma concentração de 100% de clorofíceas. As letras diferentes indicam diferenças significativas (ANOVA, Teste de Tukey, $P < 0,05$).



Discussão

Os efeitos agudos e crônicos encontrados, tanto com as amostras de séston quanto com a cepa CYL-2, demonstram que o séston do reservatório do Camorim pode exercer efeitos negativos em cladóceros comumente encontrados em corpos d'água brasileiros. Estes efeitos se devem, provavelmente, tanto à presença de toxinas (Ferrão-Filho et al., 2009) quanto à características morfológicas e ao baixo valor nutritivo deste alimento (Soares et al., 2009).

Nos meses de setembro e outubro de 2012, o biovolume de *Cylindrospermopsis raciborski* foi muito baixo para causar algum efeito tóxico, portanto, é possível que os efeitos negativos na sobrevivência observados nesses meses estejam mais relacionados a fatores como valor nutricional ou inibição da filtração. Entretanto, cabe observar que ocorreram outras algas no fitoplâncton durante os experimentos que poderiam sustentar um bom crescimento dos cladóceros, principalmente dos grupos Bacillariophyceae (com exceção de *Aulacoseira*), Chlorophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae e Euglenophyceae, que juntas somam de 21 a 88% do fitoplâncton (Tabela IV).

De acordo com a teoria estequiométrica, as razões carbono:nitrogênio (C:N) e carbono:fósforo (C:P) do alimento podem ser um fator limitante para o crescimento do zooplâncton acima de certos valores, que para *Daphnia* são comumente estimados em 15 e 300, respectivamente (Urabe e Watanabe, 1992; Sterner e Robinson 1994; Sterner 1997). Durante o período de estudo, somente em dois períodos ocorreram valores que excederam os limiares das razões C:N e C:P (Tabela V), sendo que durante um experimento agudo (em 26/10/12) houve co-limitação em N e P e em um experimento crônico (em 08/11/12) houve possível limitação em P. Estes fatos são corroborados pela redução na sobrevivência, na fecundidade e na taxa de crescimento populacional nos tratamentos com séston durante estes experimentos.

Os resultados do teste de toxicidade crônica confirmam o potencial tóxico de *C. raciborski* produtora de saxitoxinas em cladóceros tropicais e temperados, corroborando resultados de outros estudos realizados no Brasil por Ferrão-Filho et al. (2008, 2010) e Costa et al. (2013), utilizando outras cepas de *C. raciborski*. Nos experimentos com séston, no entanto, não é possível se afirmar que se trata apenas de um efeito tóxico. Apesar da redução na sobrevivência ter sido proporcional à concentração de séston, o efeito pode ser também devido a uma deficiência nutricional,

dependendo da composição dos outros grupos de algas presentes na amostra. Além disso, sabe-se que as cianobactérias são, em geral, deficientes em alguns ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) e esteróis, que são considerados limitantes ao crescimento do zooplâncton (DeMott e Muller-Navarra, 1997; Muller-Navarra *et al.*, 2000; Wacker e von Elert, 2001). Portanto, os efeitos observados nos experimentos crônicos, tanto com séston quanto com a cepa de *C. raciborskii* isolada do reservatório do Camorim, não podem ser imputados somente à presença de toxinas, mas a um conjunto de fatores.

Apesar de terem sido encontradas concentrações conspícuas de saxitoxina no séston e na cepa CYL-2, não foram observados efeitos de paralisia nos cladóceros testados, como os observados nos estudos de Ferrão-Filho *et al.* (2008, 2010), utilizando outras cepas de *C. raciborskii*. Nos referidos trabalhos, os autores demonstraram que séston de um reservatório eutrófico (Res. do Funil) e duas cepas de *C. raciborskii* produtoras de saxitoxina (T3 e CYRF-01), provocaram efeito de paralisia em cladóceros da espécie *Daphnia pulex* e *Moina micrura* em concentrações de saxitoxina da ordem de 0,08 a 10,0 ng L⁻¹ (cepas T3 e CYRF-01, respectivamente). No presente trabalho, entretanto, não foi observado efeito de paralisia mesmo em concentrações de saxitoxina da ordem de 50 ng L⁻¹. Este fato demonstra que os efeitos observados nem sempre devem estar, única e exclusivamente, relacionados às cianotoxinas conhecidas e descritas para a espécie *C. raciborskii*. Alguns trabalhos mostram ainda que cepas desta espécie são capazes de produzir mais de um tipo de toxina (Fathalli *et al.*, 2011; Hoff-Rissetti *et al.*, 2013), podendo, deste modo, atuar sinergicamente.

Além disso, mais dois aspectos da qualidade do alimento que têm sido considerados como fatores que podem limitar o crescimento do zooplâncton herbívoro, são as características morfológicas e a digestibilidade do fitoplâncton (van Donk *et al.*, 1997; DeMott e Tessier, 2002; Fileto *et al.*, 2004). Duas das espécies do fitoplâncton que foram dominantes durante o período de estudo, *Aulacoseira ambigua* (Bacillariophyceae) e *Mougeotia* sp. (Zygnemaphyceae), são algas filamentosas que tem filamentos rígidos, da ordem de mais de 100-200 µm, que podem interferir no processo de filtração dos cladóceros (Fileto *et al.*, 2004). Portanto, quando essas algas predominaram, é possível que tenha havido um efeito de inibição da taxa de filtração. Além disso, devido ao tamanho e dificuldade de manuseio e ingestão, esses alimentos são considerados de baixo valor nutritivo para o zooplâncton (Porter e Orcutt, 1980; DeMott e Moxter, 1991; Leonard e Pearl, 2005).

Conclusão

Os resultados encontrados nos testes de toxicidade, tanto com o séston (principalmente nos períodos quentes), quanto com as cepas de *C. raciborskii* isoladas do reservatório, sugerem que este recurso alimentar não é favorável aos cladóceros, o que corrobora a hipótese de limitação pelo alimento. Esta limitação, no entanto, pode ser tanto devido a fatores nutricionais, morfologia, quanto à presença de toxinas no fitoplâncton.

Mesmo considerando que as toxinas causem efeitos negativos a cladóceros fatores não relacionados à toxicidade das cianobactérias, como morfologia e valor nutricional, são, na maioria das vezes, dificilmente separados dos efeitos tóxicos, podendo causar efeitos sinérgicos que confundem os resultados (Ferrão-Filho & Kozlowsky-Suzuki, 2011). Novos estudos deveriam abordar mais as relações tróficas entre os organismos aquáticos, com uma abordagem que considere a separação de todos esses fatores complicadores (toxicidade, morfologia e valor nutricional).

Referências

- Apeldoorn, M.E.; EGMOND, H.P.; SPEIJERS, G.J.A & BAKKER, G.J.I. 2007. Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51: 7-60.
- Azevedo, S.M.F.O., Carmichael, W.W., Jochimsen, E.M., Rinehart, K.L., Lau, S., Shaw, G.R., Eaglesham, G.K., 2002. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology* 181-182, 441-446.
- Carmichael, W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites: the cyanotoxins. *Applied Bacteriology*, 72: 445-454.
- Carmichael, W.W. 1997. The cyanotoxins. *Advances in Botanical Research*, 27:211-256.
- Christoffersen K. 1996. Ecological implications of cyanobacteria toxins in aquatic food webs. *Phycologia* 35: 42-50.
- Codd, G.A., Bell, S.G., Kaya, K., Ward, C.J., Beattie, K.A., Metcalf, J.S. 1999. Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *Eur. J. Phycol.* 34, 405/415.
- Codd, G.A.; Bell, S.G.; Kaya, K.; Ward, C.J.; Beattie, K.A.; Metcalf, J.S. 1999. Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *Eur. J. Phycol.* 34, 405-415.
- Costa, I.A.S., Cunha, S.R.S., Panosso, R., Araújo, M.F.F., Melo, J.L.S. & Eskinazi-Sant'Anna, E.M. 2009. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. *Oecol. Bras.*, 13(2): 382-401.
- Costa, S. M.; Ferrão-Filho, A. S.; Azevedo, S.M.F.O. 2013. Effects of saxitoxin- and non-saxitoxin-producing strains of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* on the fitness of temperate and tropical cladocerans. *Harmful Algae*, 28: 55-63.
- Dahms, E. H. Borth, F. Lunkeit, and K. Fraedrich. 2011. ITCZ splitting and the influence of large-scale eddy fields on the tropical mean state. *J. Met. Soc. Japan*, Vol.89, N° 5, 399-411.
- DeMott, W.R. & Müller -Navarra, D.C. 1997. The importance of highly unsaturated fatty acids in zooplankton nutrition: evidence from experiments with *Daphnia*, a cyanobacterium and lipid emulsions. *Freshwater Biology*, 38: 649-664.
- DeMott, W.R.; Zhang, Q.X.; Carmichael, W.W. 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 36: 1346-1357.
- DEMOTT, W. R. & TESSIER, A. J. 2002. Stoichiometric constraints vs. algal defenses: Testing mechanisms of zooplankton food limitation. *Ecology* 83: 3426-3433.

- DeMott, W.R.; Moxter, F. 1991. Foraging cyanobacteria by copepods: Responses to chemical defenses and resource abundance. *Ecology*, 72, 1820-1834.
- Edmondson, W.T & A.D Litt, 1982. *Daphnia* in Lake Washington, *Limnol, Oceanogr*, 27: 272-293.
- Fathalli, A.; Jenhania, A.B.R.; Moreira, C.; Welker, M.; Romdhane, M.; Antunes, B, A.; Vasconcelos, V. 2011. Molecular and phylogenetic characterization of potentially toxic cyanobacteria in Tunisian freshwaters. *Systematic and Applied Microbiology*, v.34, p.303-310.
- Fernandes, V. O.; Cavati, B.; Oliveira, L. B.; De Souza, B. A. 2009. Ecologia de cianobactérias: fatores promotores e consequências das florações. *Oecologia Australis*, v. 13, n. 2.
- Ferrão-Filho, A.S.; Soares, M.C.S.; Magalhães, V.F. & Azevedo S.M.F.O. 2009. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 479-489.
- Ferrão-Filho, A.S. & Kozłowski-Suzuki, B., 2011. Cyanotoxins: Bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Marine Drugs*, vol. 9, p. 2729-2772.
- Ferrão-Filho, A.S. *et al.* 2010. A rapid bioassay for detecting saxitoxins using a *Daphnia* acute toxicity test. *Environmental Pollution*, n. 158, p. 2084-2093.
- Ferrão-Filho, A.S.; Costa, S.M.; Ribeiro, M.G.L.; Azevedo, S.M.F.O. 2008. Effects of a saxitoxin-producer strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) on the swimming movements of cladocerans. *Environ. Toxicol.*, 23, 161-168.
- Ferrão-Filho, A.S.; Costa, S.M.; Ribeiro, M.G.L. & Azevedo S.M.F.O. 2008. Effects of a saxitoxin-producer strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) on the swimming movements of cladocerans. *Environmental Toxicology*, 23: 161-168.
- Fileto, C., M.S. Arcifa, A.S. Ferrão-Filho and L.H.S. Silva. 2004. Influence of phytoplankton fractions on growth and reproduction of tropical cladocerans. *Aquatic Ecology*. 38: 503-514.
- Fulton, R. S & Jones, R. C., 1991. Growth and reproductive responses of *Daphnia* to cyanobacterial blooms on the Potomac River. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 76: 5-19.
- FUNASA (Fundação Nacional da Saúde). 2004. Portaria nº 518, 25 de março de 2004. Ministério da Saúde, Brasil.
- Ghadouani A, Pinel-Alloul B, Plath K. 2004. Effects of *Microcystis aeruginosa* and purified microcystin-LR on the feeding behavior of *Daphnia pulex*. *Limnol Oceanogr* 49: 666-679.

- Ghadouani, A., Bernadette, P. A. and Prepas, E. E. 2003. Effect of experimentally induced cyanobacterial blooms on crustacean zooplankton communities. *Freshwater Biol.*, 48, 363-381.
- Gilbert, J. J. 1990. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers: mechanisms and implications. *Ecology*, 71, 1727-1740.
- Gliwicz, Z. M & E. Siedlar. 1980. Food size limitation and algae interfering with food collection in *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol.* 88: 155-177.
- Gobler C. J., Norman C., Panzeca C., Taylor G. T., Sanudo-Wilhelmy S. A. 2007. Effect of B-vitamins (B-1, B-12) and inorganic nutrients on algal bloom dynamics in a coastal ecosystem. *Aquat. Microb. Ecol.* 49, 181-19410.
- Granéli, E., and J. T. Turner. 2006. *Ecology of Harmful Algae*. Ecological Studies 189. Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg 413 pp.
- Gulati, R. D.; Lammens, E. H. R. R.; Meljer, M.-L. & Van Donk E. 1990. (eds.) *Bio-manipulation - Tool for Water Management*. Kluwer Academic Publishers. Belgium.
- Gustafsson, S.; Hansson, L.-A. Development of tolerance against toxic cyanobacteria in *Daphnia*. *Aquat. Ecol.* 2004, 38, 37-44.
- Hansson L.A. and Carpenter S., 1993. Relative importance of nutrient availability and food chain for size and community composition in phytoplankton. *Oikos*, 67, 257-263.
- Hansson LA, Bergman E, Cronberg C. 1998. Size structure and succession in phytoplankton communities: the impact of interactions between herbivory and predation. *Oikos* 81: 337-345.
- Hoek, C.; Mann, D.G. & Jahns, H.M. 1997. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge: Cambridge University Press. 627p.
- Hoff -Risseti, C.; Dorr, F.A.; Schaker, P.D.C.; Pinto, E.; Werner, V.R.; Fiore, M.F. 2013. *Cylindrospermopsin* na saxitoxin synthetase genes in *Cylindrospermopsis raciborskii* strains from Brazilian freshwater, *Plos One*, San Francisco, v.8. 74238.
- INEPAC (Instituto Estadual do Patrimônio Cultural). Inventário de identificação dos reservatórios da CEDAE. Levantado por M.G. Ferraz, M.G. Mendonça e Rui Veloso (1998) e Iracema Franco (2006). Secretaria de Estado de Cultura, RJ. Disponível em: <http://www.inepac.rj.gov.br/modules/InventarioReserv/pdf/21_ficha_camorim.cdr.pdf> Acesso em: 05/07/11.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2005. Oscillatoriales. In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner & M. Schagerl, M. (orgs.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa: Cyanoprokariota*. Spektrum Akademischer Verlag, 19: 1-759.

- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 1999. Chroococcales. In: A. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig & D. Mollenhauer (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa: Cyanoprokariota. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 548p.
- Landsberg JH. 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev Fish Sci* 10: 113-390.
- Leonard, J.A.; Pearl, H.W. 2005. Zooplankton community structure, microzooplankton grazing impact, and seston energy content in the St. Johns river system, Florida as influenced by the toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Hydrobiologia*, 537, 89-97.
- Meriluoto, J. & Codd, G.A. 2005. Toxic Cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. Åbo Akademi University Press. 149p.
- Molica, R. & Azevedo, S. 2009. Ecofisiologia de cianobactérias produtoras de cianotoxinas. *Oecol. Bras.*, 13(2): 229-231.
- Muller-Navarra, D. C., M. T. Brett, A. M. Liston, And C. R. Goldman. 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature* 403: 74-77.
- Nandini, S. 2000. Responses of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): a demographic study. *Aquatic Ecology*, 34: 227-242.
- Nandini, S., Sarma, S. S. S. and Ramakrishna-García, P. (2000) Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*, 73, 1273-1286.
- Okumura, D.T.; Sotero-Santos, R.B.; Takenaka, R.A. & Rocha, O. 2007. Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans. *Ecotoxicology*. 16: 263-270.
- Oliver, R.L. & Granf, G.G. 2000. Freshwater Florações. Pp. 150-189. In: B.A. Whitton & M. Potts (eds.). *The ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers, Boston. 669p.
- Padisák J., Reynolds C.S. 2003. Shallow lakes: the absolute, the relative, the functional and the pragmatic - *Hydrobiologia*, 506/509: 1-11.
- Panosso, R.; Carlsson, P.; Kozłowski-Suzuki, B.; Azevedo, S.M.F.O. & Granéli, E. 2003. Effect of grazing by neotropical copepod, *Notodiaptomus*, on a natural cyanobacterial assemblage and on toxic and non-toxic cyanobacterial strains.
- Panosso, R.F.; Costa, I.A.S.; Souza, N.R.; Attayde, J.L.; Cunha, S.R.S. & Gomes, F.C.F. 2007. Cianobactérias e Cianotoxinas em reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Oecologia Brasiliensis*. 11: 433-449.

Porter, K.G.; Orcutt, J.D. Nutritional adequacy, manageability and toxicity as factors that determine the food quality of green and blue-green algae for *Daphnia*. In *Evolution and Ecology of Zooplankton Communities*; Kerfoot, W.C., Ed.; University Press of New England: Hanover, NH, USA, 1980; pp. 268-281.

Rohrlack T, Christoffersen K, Hansen PE, Zhang W, Zarnecki O, Henning M, Fastner J, Erhard M, Neilan BA, Kaebernick M (2003) Isolation, characterization, and quantitative analysis of Microviridin J, a new Microcystis metabolite toxic to *Daphnia*. *J Chem Ecol* 29: 1757-1770.

Round, F.E.; Crawford, R.M.& Mann, D.G. 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of Genera*. Cambridge University Press: Cambridge.

Sant'Anna, C.L.; Azevedo, M.T.P.; Agujaro, L.F.; Carvalho, M.C.; Carvalho, L.R. & Souza, R.C.R. 2006. Identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Ed. Interciência, Rio de Janeiro. 58p.

Sarnelle, O. Gustafsson, S & Hansson, L.A. 2010. Effects of cyanobacteria on fitness components of the herbivore *Daphnia*. *Journal of Plankton Research*. 32: 471-477.

Silva, R.C. 2008. Acúmulo e depuração de Cilindrospermopsina (cianotoxina) e seu efeito no crescimento em tilapias juvenis (*Oreochromis niloticus*). Dissertação de Mestrado, IBCCF-CCS - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 89p.

Sivonen, K. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* 1996, 190, 267-275.

Soares, M.C.S. *et al.* 2009. Changes in species composition during annual cyanobacterial dominance in a tropical reservoir: physical factors, nutrients and grazing effects. *Aquat Microb Ecol*, v. 57: 137-149.

Soares, M.C.S.; Marinho, M.M; Huszar, V.L.M.; Branco, C.W.C.; Azevedo, S.M.F.O. 2008. The effects of water retention time and watershed features on the limnology of two tropical reservoirs in Brazil. *Lakes and Reservoirs*, 13: 257-269.

Sotero-Santos, R.B.; Silva, R.S.E.; Verani, N.F.; Nonaka, K.O. & Rocha, O. 2006. Toxicity of a cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (Middle Tietê River, São Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64: 163-170.

Sterner, R. W. 1997. Modelling interactions of food quality and quantity in homeostatic consumers. *Freshwater Biology* 38: 473-481.

Sterner, R. W., and J. Robinson. 1994. Thresholds for growth in *Daphnia magna* with high and low phosphorus diets. *Limnology and Oceanography* 39: 1229-1233.

Taberner, A., Castañera, P., Silvertre E. *et al.* 1993. Estimation of the intrinsic rate of natural increase and its error by both algebraic and resampling approaches. *Comp. App. Biosc.*, 9, 535-540.

- Tundisi, J.G. 2006. Gerenciamento integrado de bacias hidrográficas e reservatórios - Estudos de caso e perspectivas. Pp. 1-21. In: M.G. Nogueira, R. Henry & A. Jorcin, (eds.), *Ecologia de Reservatórios: Impactos Potenciais, Ações de Manejo & sistemas em Cascata*. Rima, São Carlos. 472p.
- Uuhelingher, V. 1964. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. *Arch. Sci.*, v. 17, n. 2, p.121-123.
- Urabe, J. & Watanabe, Y. 1992. Possibility of N or P limitation for planktonic cladocerans: Na experimental test. *Limnol. Oceanogr.* 37: 1337-1340.
- Van Donk, E., M. Lu, R. Ling, D. O. Hessen, And G. M. Lokhorst. 1997. Altered cell wall morphology in nutrient-deficient phytoplankton and its impact on grazers. *Limnol. Oceanogr.* 42: 357-364.
- Vanni, M. & L. Findlay. 1990. Trophic cascades and phytoplankton community structure. *Ecology* 71: 921-937.
- Von Elert, E. 2003. Determination of limiting polyunsaturated fatty acids in *Daphnia galeata* using a new method to enrich food algae with single fatty acids. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1764-1773.
- Wacker, A., And E. Vonelert. 2001. Polyunsaturated fatty acids: Evidence for non-substitutable biochemical resources in *Daphnia galeata*. *Ecology* 82: 2507-2520.
- Wiegand C, Pflugmacher S. 2005. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 203:201-218.
- Zohary, T. & Roberts, R.D. 1990. Hyperscums and the population dynamics of *Mycrocystis aeruginosa*. *Journal Plankton Research*, 12: 423-423.