

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

INSTITUTO DE PESCA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE UM SISTEMA DE PISCICULTURA,
ATRAVÉS DO FITOPLÂNCTON E DE ENSAIOS
ECOTOXICOLÓGICOS COM A MICROALGA
Pseudokirchneriella subcapitata (CHLOROPHYCEAE)**

Luciana Miashiro

Orientadora: Profa. Dra. Cacilda Thais Janson Mercante

Co-orientador: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Dezembro - 2008

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

INSTITUTO DE PESCA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE UM SISTEMA DE PISCICULTURA,
ATRAVÉS DO FITOPLÂNCTON E DE ENSAIOS
ECOTOXICOLÓGICOS COM A MICROALGA
Pseudokirchneriella subcapitata (CHLOROPHYCEAE)**

Luciana Miashiro

Orientadora: Profa. Dra. Cacilda Thais Janson Mercante

Co-orientador: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Dezembro - 2008

Ficha catalográfica elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação – Instituto de Pesca, São Paulo

M618a Miashiro, Luciana

Avaliação ambiental de um sistema de piscicultura através do fitoplâncton e de ensaios ecotoxicológicos com a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Chlorophyceae) / Luciana Miashiro – São Paulo, 2008

xi, 99f. ; il. ; gráf. ; tab.

Orientadora: Cacilda Thais Janson Mercante

Co-orientador: Julio Vicente Lombardi

Dissertação(mestrado) – Instituto de Pesca, Secretaria de Agricultura e Abastecimento – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, São Paulo, 2008.

1. Piscicultura. 2. Fitoplâncton. 3. Ensaio ecotoxicológico. I. Título. II. Mercante, Cacilda Thais Janson (orientadora). III. Lombardi, Julio Vicente (co-orientador).

CDD 639.2

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

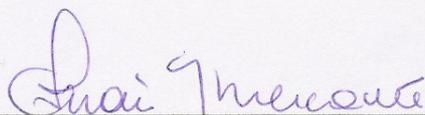
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE UM SISTEMA DE PISCICULTURA
ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO DO FITOPLÂNCTON E DE
ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS REALIZADOS COM
Pseudokirchneriella subcapitata (CHLOROPHYCEAE)**

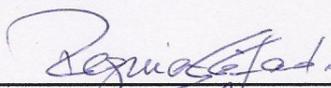
AUTOR: LUCIANA MIASHIRO

ORIENTADOR: Cacilda Thais Janson Mercante

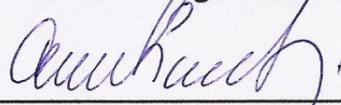
Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. Cacilda Thais Janson Mercante

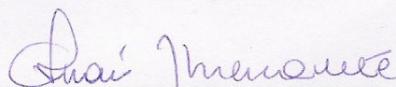


Profa. Dra. Regina Sáfiadi



Prof. Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo

Data da realização: 11 de dezembro de 2008



**Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Cacilda Thais Janson Mercante**

À Nobuko Yamauchi

In memoriam

DEDICO

A meus pais, Olivio e Ritsuko, que constantemente estiveram ao meu lado, sempre apoiaram meus estudos e, aguentando minha teimosia, me ensinaram como é valioso ter o amor da família presente em nossa vida. A vocês, ofereço minha eterna gratidão.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Dedico meus sinceros agradecimentos a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho:

Ao Instituto de Pesca APTA/SAA-SP e ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão do auxílio financeiro, Processo 05/05180-0, que beneficiou o projeto do qual este trabalho fez parte.

À Dra. Cacilda Thais Janson Mercante, pela confiança ao aceitar orientar-me neste trabalho e pela dedicação no desenvolvimento do mesmo.

Ao Dr. Julio Vicente Lombardi, pelos ensinamentos em sua co-orientação e exemplo profissional, que sempre foram uma grande inspiração.

À Dra. Cleide Schmidt R. Mainardes Pinto e ao Núcleo de Aquicultura do Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba – APTA/SAA-SP, de Pindamonhangaba, por permitirem a realização de nossas coletas e pela indispensável colaboração.

À Dra. Andrea Tucci, Pesquisadora Científica e Chefe da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica de São Paulo, que sempre me recebeu com enorme simpatia e colaborou de forma preciosa neste trabalho. Não posso lhe agradecer o suficiente pela sua contribuição, seu valor é inestimável.

A todos os estagiários, funcionários e alunos da Pós-graduação do Instituto de Pesca, especialmente aos envolvidos no Projeto ECOTOX: Natália Caruso, Luis Evangelista, João Saviolo Osti, Jeniffer Sati, Felipe Madeira, Renata Bazante e Luis Moreira, pelo companheirismo e trabalho em equipe.

Aos pesquisadores Científicos do Instituto de Pesca, por toda colaboração ao Programa de Pós-graduação: Dr. Hélcio Luis de Almeida Marques, Dra. Elizabeth Romagosa, Dr. Carlos M. Ishikawa, Dr. Clovis F. do Carmo, Dr. Nilton E. T. Rojas, Dr. Marcelo B. Henriques, Dr. André M. Vaz dos Santos, Dra. Suzana Sendacz, Dra. Cláudia M. Ferreira, Dra. Maria José T. Ranzani de Paiva e, em especial, Dra. Cintia Bardaró Pedroso, pelos valiosos conselhos dados durante o Exame de Qualificação.

Ao Dr. Carlos E. M. Bicudo e à Dra. Regina Sáfadi, que me honraram com suas participações na Comissão Examinadora para a Defesa desta tese.

A Michel Will, pela sua fiel amizade, pelos cuidados com o Pitoco, pela câmera fotográfica, que facilitou muito a identificação das microalgas deste trabalho, e por tudo que me ensinou na arte de 'roubar almas'. Há anos atrás, a Fotografia transformou meu olhar sobre o mundo, trazendo uma beleza em minha vida que levarei para sempre. Muito disso tudo, eu devo a você.

À Dra. Vilma Palazetti de Almeida e ao Dr. Paulo Inácio K. L. Prado, que despertaram em mim, ainda durante a graduação, o gosto pela pesquisa científica. Foram seus incentivos naquele início que me trouxeram até aqui.

Aos amigos tropeiros, pela lealdade que vem me acompanhando nestes últimos anos, como fonte de força e alegria: Cincotto, Itaoã, Melina, Thiago, Pri, Marina, Ulisses, Thithola, Fer, Laís e, em especial, Müller, pelo seu amor e pela sua luz.

A Paulo Lahoz, pelo seu carinho, que surgiu durante essa caminhada e me surpreendeu de uma maneira maravilhosa e muito especial. Sempre guardarei nossos momentos com muito amor.

As melhores recordações de todas as viagens, sejam elas reais ou imaginárias, são aquelas que nos ensinam como somos fortalecidos pela família e pelos amigos. Por isso, muito obrigada a todos!

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Área de estudo	10
2.2. Manejo do viveiro durante a engorda de tilápia do Nilo	10
2.3. Amostragens	11
2.4. Variáveis abióticas e Clorofila <i>a</i>	14
2.5. Caracterização do fitoplâncton	16
2.6. Ensaio ecotoxicológico com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	19
3. RESULTADOS	
3.1. Manejo do viveiro durante a engorda de tilápia do Nilo	24
3.2. Variáveis abióticas e Clorofila <i>a</i>	25
3.3. Caracterização do fitoplâncton	33
3.4. Ensaio ecotoxicológico com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	48
4. DISCUSSÃO	
4.1. Variáveis abióticas e Clorofila <i>a</i>	52
4.2. Caracterização do fitoplâncton	61
4.3. Ensaio ecotoxicológico com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	70
4.4. Síntese da discussão	75
5. CONCLUSÃO	77
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
7. ANEXOS	85

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACP	Análise de Componentes Principais
APHA	American Public Health Association
APTA	Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
CEO	Concentração de Efeito Observado
CENO	Concentração de Efeito Não Observado
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
IET	Índice de Estado Trófico
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration
NOEC	No Observed Effect Concentration
OD	Oxigênio Dissolvido
SAA-SP	Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo
STD	Sólidos Totais Dissolvidos
UNT	Unidades Nefelométricas de Turbidez

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.	Volume da amostra para o preparo das soluções-teste com efluente (ABNT, 2005).	22
Tabela 2.	Dados biométricos e quantificação do manejo alimentar registrados durante o ciclo de produção de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) no presente estudo (Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba).	24
Tabela 3.	Vazão ($L.s^{-1}$) medida no Afluente (E1), Efluente (E2) e no Corpo receptor (E5) ao longo do período de estudo.	26
Tabela 4.	Valores médios e desvio padrão das variáveis físicas e químicas nas estações de coleta e limites permitidos pelo CONAMA (2005) para água doce de classe 2.	27
Tabela 5.	Índice de Estado Trófico dos locais de amostragem ao longo do período de estudo.	30
Tabela 6.	Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as principais variáveis abióticas e os dois primeiros eixos de ordenação (N = 36).	32
Tabela 7.	Grupos funcionais fitoplanctônicos, segundo REYNOLDS <i>et al.</i> (2002), dos táxons considerados abundantes nas amostragens de todo o período de estudo.	40
Tabela 8.	Frequência de ocorrência dos táxons registrados.	41
Tabela 9.	Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis biológicas (táxons descritores com base na Frequência de Ocorrência) e os dois primeiros eixos de ordenação (N = 36).	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema de localização das estações de coleta.	12
Figura 2.	Imagem fotográfica da Estação 1 (afluente).	12
Figura 3.	Imagem fotográfica da Estação 2 (viveiro).	12
Figura 4.	Imagem fotográfica da Estação 3 (efluente).	13
Figura 5.	Imagem fotográfica da Estação 4 (zona de mistura).	13
Figura 6.	Imagem fotográfica da Estação 5 (montante da zona de mistura).	13
Figura 7.	Imagem fotográfica da Estação 6 (jusante da zona de mistura).	13
Figura 8.	Imagem fotográfica da microalga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , sob aumento de 400x, em microscópio ótico comum.	19
Figura 9.	Imagem fotográfica dos recipientes-teste no interior da incubadora.	22
Figura 10.	Precipitação acumulada mensal e número de dias com chuva registrados durante o período de estudo (Instituto Nacional de Meteorologia, Estação de Taubaté-SP).	25
Figura 11.	Ordenação biplot, pela ACP, das unidades amostrais (meses de coleta) e das variáveis abióticas.	31
Figura 12.	Contribuição das Classes taxonômicas para a riqueza de táxons de todo o período de estudo.	33
Figura 13.	Contribuição das Classes taxonômicas para a riqueza de táxons de cada estação de coleta, ao final do período de estudo.	34
Figura 14.	Densidade de organismos (org.mL^{-1}) de cada estação de coleta ao longo das amostragens realizadas durante o período de estudo.	36
Figura 15.	Contribuição das Classes taxonômicas para a composição da densidade de organismos ao longo das amostragens de cada estação de coleta.	38
Figura 16.	Ordenação biplot, pela ACP, das unidades amostrais (meses	

	de coleta) e dos táxons descritores. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com a estação de coleta.	46
Figura 17.	Média do crescimento algáceo nos ensaios com amostras brutas. Barras vermelhas indicam diferença significativa, em relação ao controle, nos resultados dos ensaios de cada campanha amostral.	49
Figura 18.	Variação do crescimento algáceo ($\text{cels.mL}^{-1} \times 10^4$) nos ensaios com amostras das Estações 2 e 3 e concentrações de Nitrogênio total (mg.L^{-1}) e Fósforo total (mg.L^{-1}) nas respectivas amostragens.	50
Figura 19.	Média do crescimento algáceo nos ensaios com diluição de efluente. Barras vermelhas indicam diferença significativa, em relação ao controle, nos resultados dos ensaios de cada campanha amostral.	51
Figura 20.	Fases da curva de crescimento de algas em sistema de cultivo estático (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).	87
Figura 21.	Imagem fotográfica da Câmara de Neubauer.	88
Figura 22.	Esquema da área de contagem dos retículos da Câmara de Neubauer (área total: 9 mm^2) (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).	88

ANEXOS

Anexo 1.	Composição da ração fornecida durante o ciclo de cultivo (Informações de rótulo).	85
Anexo 2	Soluções para preparo do meio de cultura L. C. Oligo (ABNT, 2005).	86
Anexo 3.	Fases de crescimento de cultura de algas.	87
Anexo 4.	Contagem em Câmara de Neubauer (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).	88
Anexo 5.	Informações sobre o clima registradas no momento de cada amostragem.	90
Anexo 6.	Fatores abióticos medidos em cada estação de coleta ao longo do período de estudo.	91
Anexo 7.	Densidade total (org.mL^{-1}) e Grupo funcional (REYNOLDS <i>et al.</i> , 2002) dos táxons considerados abundantes em cada estação de coleta.	95
Anexo 8.	Validação dos ensaios ecotoxicológicos com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> .	97
Anexo 9.	Densidade algácea registrada em cada repetição ao final dos ensaios ecotoxicológicos com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> .	98

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a qualidade da água de um sistema de piscicultura continental, durante o período de engorda de tilápia do Nilo, através da caracterização qualitativa e quantitativa do fitoplâncton e da realização de ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata*. A área de estudo foi a piscicultura experimental no Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba, na cidade de Pindamonhangaba, Estado de São Paulo. Foram realizadas seis amostragens entre novembro de 2006 e março de 2007, em seis estações de coleta: afluente (E1), viveiro (E2), efluente (E3), zona de mistura (E4), montante e jusante a zona de mistura (E5 e E6, respectivamente). As Estações 2 e 3 apresentaram altas concentrações de fósforo total ($> 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$), nitrogênio total ($> 2,5 \text{ mg. L}^{-1}$), ortofosfato ($> 39,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), nitrogênio amoniacal total ($> 1,7 \text{ mg. L}^{-1}$) e clorofila *a* ($> 80,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), promovidas pelo arraçoamento, a excreção dos peixes e a quantidade de matéria orgânica depositada no fundo do tanque. Essas alterações nos aspectos abióticos refletiram na composição e estrutura do fitoplâncton em E2 e E3, que apresentaram altos valores de densidade fitoplanctônica, com abundância de espécies frequentes em locais eutróficos. No corpo receptor, após seu encontro com o efluente, houve incremento na densidade e no número de táxons. As características de ambiente lótico das Estações 1, 4, 5 e 6 influíram diretamente nas características do fitoplâncton, com baixos valores de densidade e em maior representatividade de organismos oportunistas. No corpo receptor, houve incremento nos valores de densidade fitoplanctônica e no número de espécies frequentes em locais eutróficos, após seu encontro com o efluente. Os ensaios ecotoxicológicos confirmaram as características eutróficas de E2 e E3, apresentando maior crescimento algáceo, com diferença significativa, em relação ao controle, apontada pelo Teste de Tukey. Os ensaios ecotoxicológicos com amostras brutas demonstraram que o potencial do efluente em estimular crescimento algáceo ainda pôde ser detectado após a zona de mistura. Esses ensaios foram válidos para demonstrar que o manejo do viveiro contribui diretamente para o crescimento de algas. Nos ensaios de ecotoxicidade com diluição do efluente foram verificados CEO de 25% e CENO de 12,5%. Os ensaios ecotoxicológicos com diluição de efluente se mostraram importantes para verificar até que ponto o efluente deveria estar naturalmente diluído no corpo receptor, para que os efeitos de estímulo de crescimento sejam neutralizados. Concluiu-se que o manejo do viveiro influenciou diretamente nas concentrações de nutrientes da água, promovendo o crescimento algáceo e refletindo na estrutura do fitoplâncton, com aumento na abundância e na riqueza de espécies frequentes em locais eutróficos.

Palavras-chave: piscicultura, fitoplâncton, ensaios ecotoxicológicos.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the water quality of a pisciculture system, during the rearing period of Nile tilapia, through qualitative and quantitative characterization of phytoplankton and through toxicity tests with *Pseudokirchneriella subcapitata*. The site for sampling was selected at the Regional Center of Technologic Development of Agribusiness of Paraíba Valley, in Pindamonhangaba city, state of São Paulo. There were six field sampling procedures between November 2006 and March 2007, in six stations: affluent (Station 1), fishpond (Station 2), effluent (Station 3), mixing zone (Station 4), upstream and downstream the mixing zone (Stations 5 and 6, respectively). The Stations 2 and 3 presented high concentrations of total phosphorus ($> 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$), total nitrogen ($> 2,5 \text{ mg. L}^{-1}$), orthophosphate ($> 39,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), total ammonia nitrogen ($> 1,7 \text{ mg. L}^{-1}$) and chlorophyll *a* ($> 80,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), promoted by the fish food and excretion, as well as the organic matter in the bottom of the pond. These changes reflected in the composition and structure of phytoplankton in E2 and E3, with high density and abundance of species that are common in eutrophic environments. It was also noticed that there was an increase in density and number of taxa in the water after the mixing zone. The phytoplankton of Stations 1, 4, 5 and 6 were directly connected with the lotic characteristics of these sites, resulting in low density and presence of opportunistic organisms. The toxicity tests confirmed the eutrophic characteristics of Stations 2 and 3, showing higher algal growth, with significant difference indicated by Tukey Test. The toxicity tests also showed that the potential of the effluent in stimulating algal growth still could be detected downstream the mixing zone. These tests demonstrated that the fishpond management contributes directly to algal growth. The toxicity tests with effluent dilution presented LOEC 25% and NOEC 12.5%. These tests were important to verify the minimal effluent dilution required, so the effects of growth stimulation are vanished. It was concluded that the fishpond's management affects directly the concentrations of nutrients in the water, promoting algal growth and reflecting in the structure of phytoplankton, with increase in abundance and richness of species frequently found in eutrophic environments.

Keywords: pisciculture, phytoplankton, toxicity tests.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a produção mundial da aquicultura passou de menos de um milhão de toneladas, na década de 50, para 59,4 milhões de toneladas em 2004. Neste período, esse mercado movimentou cerca de 70,3 bilhões de dólares e cresceu mais rápido do que qualquer outro setor de produção de proteína animal. Esta evolução revelou uma taxa de crescimento de 8,8% ao ano, desde 1970, comparada a 1,2% da pesca (FAO, 2007).

A intensificação da atividade, no entanto, contribui para a geração de impactos negativos sobre os recursos naturais. A poluição das águas pelos efluentes dos sistemas aquícolas é, provavelmente, o impacto mais comum de ser denunciado (PAZ *et al.* 2005). Segundo CASTRO *et al.* (2006), a maioria desses empreendimentos utiliza água de boa qualidade e a devolve para os rios e córregos com qualidade inferior, sem nenhum tipo de tratamento.

De acordo com PAZ *et al.* (2005), o potencial de poluição dos efluentes aquícolas varia quanto à quantidade e carga poluidora, uma vez que depende da espécie cultivada, do sistema de produção e das técnicas de manejo. Quanto mais intensa a produção, maior a adição de nutrientes e produtos químicos e, conseqüentemente, maior o risco de impacto negativo ao meio ambiente. Esses mesmos autores afirmam que os efluentes da atividade podem conter uma série de drogas terapêuticas, utilizadas no controle de doenças e pragas, que resultam em grandes quantidades de substâncias químicas e seus metabólitos para dentro do ecossistema aquático.

MAXIMIANO *et al.* (2005) destaca alguns dos principais produtos utilizados para controle sanitário e de doenças: sulfato de cobre, peróxido de hidrogênio, cloreto de sódio, permanganato de potássio, azul de metileno, formaldeído, verde de malaquita, triclorfon, inseticidas organofosforados e os antibióticos: tetraciclina, eritromicina e oxitetraciclina. Segundo esses autores, não há legislação específica para o uso de drogas em aquicultura, nem produtos registrados para este fim. Esses produtos são avaliados pelo

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sem participação dos órgãos de saúde e de meio ambiente, o que significa que não há avaliação dos perigos dessas substâncias para a saúde humana e para o meio ambiente e, com a falta de produtos e regulamentos específicos, há margem para os abusos e usos incorretos. De acordo com CAO *et al.* (2007), muitos estudos relatam o aumento da resistência e até da múltipla resistência de patógenos como resultado do largo uso de antibióticos aplicados na aquicultura.

Além das substâncias químicas e terapêuticas, a matéria orgânica também compõe um dos principais descartes de sistemas de aquicultura intensiva (CAO *et al.*, 2007). Um dos maiores impactos ambientais causados por esses efluentes é a eutrofização dos corpos d'água receptores, devido às altas taxas de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, presentes nas águas dos viveiros (VALENTI, 2002).

SILVA *et al.* (2005) realizaram estudo com sistemas aquícolas de pequeno, médio e grande portes em Mato Grosso do Sul e constataram que todos apresentaram altas taxas de nutrientes, e seus efluentes, lançados sem controle ambiental, contribuíam para alteração da qualidade da água do Rio Cuiabá e de seus principais afluentes.

A utilização de fertilizantes é um dos fatores que pode influenciar o aumento nos níveis de nitrogênio e fósforo nos viveiros (MERCANTE *et al.* 2004). A fertilização é realizada para incrementar a produtividade primária, pois esta serve como base de teias alimentares, que vão culminar no crescimento dos animais cultivados (BOYD, 1981).

Praticamente todas as espécies de peixes passam por uma fase planctófaga durante seu desenvolvimento. Algumas espécies, como a tilápia, a carpa cabeça grande e a carpa prateada, mantêm sua preferência planctófaga mesmo na fase adulta. Alimentos naturais explorados pelos peixes possuem grande valor energético, alto nível de proteínas, minerais e vitaminas, compensando uma eventual deficiência nas rações (KUBITZA 1998).

Para SIPAÚBA-TAVARES *et al.* (2006), a taxa ideal de fertilização é a quantidade de matéria orgânica que pode ser efetiva e utilizada num viveiro, sem efeitos prejudiciais na qualidade da água e no crescimento dos peixes. A necessidade da fertilização varia de acordo com o tipo de piscicultura, das condições climáticas e dos nutrientes já presentes na água.

A aplicação da calagem é outro fator que favorece o aporte de nutrientes nas águas dos viveiros e, conseqüentemente, o incremento da produtividade primária (CASTAGNOLLI e CYRINO, 1986). Além de assepsia, a aplicação da calagem serve para correção de acidez, aumentando a dureza total, alcalinidade e pH. Este procedimento também favorece a remoção de substâncias húmicas, disponibilizando carbono na forma de dióxido de carbono (CO₂), enquanto acelera a circulação de nitrogênio pelos processos de decomposição, reforçando o sistema tampão do tanque e ajudando a neutralizar as reações ácidas do sedimento do fundo, propiciando assim a entrada de fósforo na coluna d'água (RIBEIRO *et al.*, 1997)

Além dos fertilizantes, CAO *et al.* (2007) destacam o manejo alimentar com ração como outro importante fator de contribuição para a entrada de cargas de nutrientes e matéria orgânica. A ração não consumida pode compor até 38% dessa carga, dependendo do tipo de alimento, do manejo e das espécies cultivadas. SIPAÚBA-TAVARES *et al.* (1999) explicam que o alimento não aproveitado e os produtos da excreção dos organismos cultivados se acumulam nas águas, elevando as taxas de nitrogênio e fósforo e favorecendo o aumento da biomassa fitoplanctônica e, conseqüentemente, a eutrofização.

Segundo KUBITZA (1998), em piscicultura intensiva, grande parte dos problemas da qualidade da água está relacionada com o uso de alimentos de má qualidade e estratégias de alimentação inadequadas.

Na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, CASTELLANI e BARRELLA (2005) estudaram 42 pisciculturas e constataram que, na maioria

dos empreendimentos, a quantidade de ração distribuída nos tanques e viveiros não era adequadamente controlada, uma vez que a biometria dos peixes, para o cálculo da ração mensal, não era realizada. Neste mesmo estudo, os autores observaram que 1.817 toneladas de ração foram utilizadas para produção anual de 617 toneladas de peixe, a uma conversão alimentar de 2,9:1. Os mesmos autores afirmam que uma conversão de 2:1 seria mais adequada para peixes tropicais e, por isso, houve um excesso de 32% na ração utilizada, com perda de lucratividade bruta de 43%.

CASTRO *et al.* (2006), através de um diagnóstico socioeconômico e ambiental da atividade de pesque-pague do Alto Tietê, em São Paulo, também verificaram que o arraçoamento era feito, sem controle, pela maioria dos funcionários e/ou proprietários, constituindo uma das principais causas da eutrofização de lagos dos pesqueiros. Neste mesmo estudo, foram encontradas elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo nos efluentes desses lagos e os autores enfatizaram sua contribuição para a degradação dos corpos d'água à jusante dos empreendimentos.

Segundo FIGUEIREDO *et al.* (2005), o processo de eutrofização pode causar diversas alterações nos aspectos naturais da água, interferindo diretamente nas seguintes variáveis: pH, transparência da água, oxigênio dissolvido, sólidos suspensos, demanda bioquímica de oxigênio, matéria orgânica, fósforo e nitrogênio amoniacal total. Além disso, a eutrofização do meio pode causar mudanças no fluxo de energia e na ciclagem de nutrientes, bem como alterações da biomassa e na estrutura das comunidades bênticas e pelágicas (CAO *et al.*, 2007).

De acordo com CAMARGO e ALONSO (2006), a eutrofização dos corpos d'água também pode causar efeitos ecológicos e toxicológicos que são direta ou indiretamente ligados à proliferação de produtores primários. Segundo esses autores, uma das manifestações da hipóxia em ecossistemas eutróficos é a grande mortalidade de invertebrados e peixes. Além disso, o declínio da concentração de oxigênio, provocado pela intensa decomposição de matéria

orgânica, também pode promover a formação de componentes reduzidos como o sulfeto de hidrogênio (H₂S), que é altamente tóxico e produz efeitos agudos (mortalidade) nos animais aquáticos, mesmo em concentrações relativamente baixas.

Em ambientes eutrofizados, são comuns as florações de algas fitoplanctônicas, principalmente de cianobactérias que, em mais de 60% dos casos, são tóxicas (COSTA e AZEVEDO, 1994 *in* TUCCI *et al.*, 2006). Essas florações podem provocar a morte de animais por insuficiência hepática e sua exposição, em longo prazo, contribui para o desenvolvimento de tumores cancerígenos (MATTHIENSEN *et al.*, 1999).

As florações de cianobactérias, principalmente espécies dos gêneros *Anabaena*, *Microcystis* e *Planktothrix*, também representam um risco para a saúde humana, pois diversos problemas podem ocorrer com o contato ou a ingestão de águas contaminadas, entre eles: irritação nos olhos, alergias epidérmicas, febre, vômito, diarreia, pneumonia, gastroenterites, hepatoenterites e paralisia muscular (CAMARGO e ALONSO, 2006).

Dentro do contexto da piscicultura, as cianotoxinas podem se acumular nos tecidos dos peixes destinados ao consumo humano e causar sérios problemas de saúde pública, enfatizando o valor de estudos ecológicos e sanitários com fitoplâncton, que permitem o monitoramento da qualidade das águas utilizadas nas diferentes atividades humanas (MATSUZAKI *et al.*, 2004).

Segundo SMITH (1988), as florações de algas, principalmente cianobactérias, são resultados da disponibilidade de nitrogênio e fósforo presentes na ração não consumida. Os teores desses nutrientes estão relacionados com os principais fatores no crescimento e estrutura do fitoplâncton e na acumulação de biomassa (MATSUZAKI *et al.*, 2004).

A caracterização do fitoplâncton tem grande importância para piscicultura, pois a produtividade de um sistema de criação de peixes também

depende da comunidade planctônica e de manejo eficiente dos viveiros (MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES, 2005).

Além de constituir o maior fornecedor da demanda de oxigênio nos viveiros de peixes (BOYD, 1981), as algas são a base de toda cadeia alimentar aquática e sustentam uma produção anual de recursos renováveis em algo em torno de cem milhões de toneladas de pescado e, por isso, desempenham um papel vital no cultivo de animais aquáticos e são de interesse estratégico para a aquicultura (MULLER-FEUGA, 2000).

As algas fitoplanctônicas são fundamentais na dinâmica dos sistemas aquáticos, constituem o elo na transferência de energia solar e dos nutrientes, possibilitando a passagem destes aos consumidores e determinando a produtividade de um ambiente (FARIA *et al.*, 2001). Algumas espécies de algas são capazes de retirar elementos químicos do meio aquoso, sugerindo sua utilização na recuperação de sistemas aquáticos. A caracterização do fitoplâncton também oferece a possibilidade de avaliar o nível de poluição de um corpo d'água, baseado nos tipos de algas presentes (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004).

SCHNECK *et al.* (2007), na região Sul do Brasil, estudaram a estrutura da comunidade de diatomáceas em um riacho impactado por efluentes de piscicultura. Os autores demonstraram que o enriquecimento trófico provocado pelo alto teor de nutrientes causou a substituição de espécies frequentes em ambientes oligotróficos, por espécies de ambientes eutróficos, concluindo que as diatomáceas elípticas são ferramentas úteis no biomonitoramento de impactos causados por eutrofização.

Outros trabalhos realizados dentro desta temática reconhecem a caracterização do fitoplâncton como forma de monitorar a qualidade das águas de viveiros de piscicultura (MATSUZAKI *et al.*, 2004; PESSOA e RIBEIRO, 2005) e de subsidiar estudos da cadeia trófica, com propostas de manejo (BEYRUTH *et al.*, 1998). A influência de fertilizantes e adubos orgânicos sobre

a estrutura do fitoplâncton também é relatada em alguns trabalhos (RIBEIRO *et al.*, 1997; BURFORD e PEARSON, 1998; FARIA *et al.*, 2001; MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES, 2005; SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2006; TERZIYSKI *et al.*, 2007).

Além da caracterização do fitoplâncton, a realização de ensaios ecotoxicológicos figura como uma importante ferramenta, com potencial de uso para avaliação dos possíveis impactos negativos causados por efluentes líquidos, lançados nos corpos receptores naturais.

Nesses ensaios, os organismos-teste, que podem ser algas, peixes, microcrustáceos ou outros, são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada (substância química, efluente, extratos aquosos) por determinado período de tempo. Após esse período, verificam-se os efeitos da amostra sobre os parâmetros biológicos, como mortalidade, crescimento, reprodução, comportamento dos organismos, dentre outros. Os efeitos observados são analisados estatisticamente e os resultados são expressos em unidades numéricas (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). Esses autores afirmam, ainda, que os ensaios de toxicidade podem ser utilizados para diversos fins, como: determinar a toxicidade de agentes químicos e efluentes líquidos; estabelecer critérios e padrões de qualidade da água e limites máximos de lançamento de efluentes líquidos em corpos hídricos; avaliar a necessidade de tratamento de efluentes líquidos, a qualidade da água, a toxicidade relativa de diferentes substâncias e a sensibilidade relativa de organismos aquáticos; subsidiar programas de monitoramento ambiental e estimar impactos provocados em acidentes ambientais.

De modo geral, as algas planctônicas são frequentemente utilizadas como material em estudos experimentais, pela facilidade de seu cultivo, pelo fato de serem unicelulares e possuírem baixo nível de diferenciação histológica e um ciclo de vida simples, dando respostas rápidas às condições ambientais (CÁCERES, 1996, GONZALEZ *et al.*, 1995, VONSHAK e MASKE, 1989).

Dentre as várias espécies fitoplanctônicas utilizadas para avaliação da qualidade dos ambientes aquáticos, destacam-se *Pseudokirchneriella subcapitata* (antes denominada como *Selenastrum capricornutum*), *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus*; padronizadas como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos (ABNT, 2005).

A manutenção do cultivo de algas em laboratório dificilmente se assemelha ao meio em que o fitoplâncton cresce naturalmente, mas a utilidade desses bioensaios não está no fato de imitarem o meio natural e sim, no fato de que o cultivo em laboratório permite isolar as variáveis que influenciam na população algal, tornando mais precisas as conclusões a respeito do teste em questão (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004).

O ensaio de toxicidade com algas, em particular com a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, tem registro em trabalhos com efluentes de indústrias têxteis (DELLAMATRICE e MONTEIRO, 2006), metais pesados em suspensão (IVANOVA e GROUDEVA, 2006; GUÉGUEN *et al.*, 2004), águas provenientes de cultivo de arroz (MARQUES *et al.*, 2008) e com substâncias de referência como sulfato de cobre e sulfato de zinco (RODRIGUES *et al.*, 2003). MA *et al.* (2006) também utilizaram a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata* para avaliar a toxicidade de 40 herbicidas e ROJICKOVÁ-PADRTOVÁ e MARSÁLEK (1999) compararam a sensibilidade de sete espécies de microalgas em testes de toxicidade com metais e pesticidas e verificaram que *Pseudokirchneriella subcapitata* foi, de forma geral, a mais sensível.

A Resolução 357/2005 do CONAMA estabelece o uso dos resultados de ensaios de toxicidade como critério para avaliação de padrões de lançamentos de efluente, de acordo com o Artigo 34, parágrafo 1º: 'O efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente'. Nesse mesmo artigo, no parágrafo 2º, a Resolução recomenda que os critérios de toxicidade previstos

devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos, e realizados no efluente.

O presente estudo foi desenvolvido como parte de um projeto mais amplo intitulado 'Análises ecotoxicológicas de efluentes de aquicultura continental' (Processo FAPESP 2005/05180-0), realizado durante o período de março de 2006 a março de 2008, que teve como objetivo: Realizar ensaios ecotoxicológicos em amostras de água provenientes de projetos de aquicultura continental, a fim de avaliar impactos desta natureza, bem como analisar qualitativa e quantitativamente a carga de poluentes orgânicos gerada na atividade, com vistas ao fornecimento de subsídios técnicos para as proposições de tratamento de efluentes.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi analisar a qualidade da água de um sistema semi-intensivo de piscicultura continental, durante o período de engorda de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), através da caracterização qualitativa e quantitativa do fitoplâncton e da realização de ensaios ecotoxicológicos com a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Chlorophyceae), a fim de avaliar os possíveis impactos ambientais causados pelos efluentes da atividade e subsidiar futuras medidas de monitoramento e/ou tratamento a serem propostas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

A área de estudo escolhida foi a piscicultura experimental localizada no Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba – APTA Regional – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (SAA-SP), na cidade de Pindamonhangaba, localizada a 147 km da capital do Estado de São Paulo, na altitude entre 530 e 550 metros, coordenadas 22°55'50"S 45°27'22"W.

O viveiro escolhido para o experimento foi operado em sistema semi-intensivo e utilizado para engorda de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). As características estruturais do viveiro encerram as dimensões de 1,08 m de profundidade média, 1.500 m² de área, 1.620 m³ de volume e 2,7 L.s⁻¹ de vazão média; tempo de residência de 7 dias, com sistema de renovação de água individual, constante e sem aeração mecânica. Tanto o fundo do viveiro, quanto os seus taludes, foram construídos por escavação direta em solo natural, proporcionando contato constante entre a água e a terra.

A água de abastecimento era provida pelo Reservatório do Borba. Este Reservatório, formado pelo barramento do Ribeirão de mesmo nome, possui profundidade máxima de 3,6 metros e área de 0,9 km² (TAKINO *et al.*, 1985). O efluente era descartado, sem tratamento, à jusante do Ribeirão do Borba, afluente do Ribeirão do Curtume, parte de uma das sub-bacias do Rio Paraíba do Sul. A bacia do Rio Paraíba do Sul estende-se por, aproximadamente, 55.400 km², compreendendo os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais e abrangendo 180 municípios (SOUZA JR., 2004).

2.2. Manejo do viveiro durante a engorda de tilápia do Nilo

Os dados a seguir, assim como outros relacionados à morfometria dos peixes e produtividade do sistema, foram coletados diretamente com os

operadores do manejo do viveiro estudado, que mantinham registros em planilhas de campo.

Antes do povoamento, o viveiro foi submetido à calagem com 150 kg de cal virgem hidratado, por todo fundo do tanque e, posteriormente, a diversas drenagens para remoção de excesso de cal. Após o preenchimento do tanque, a fertilização foi realizada com superfosfato simples (6 g/m²) e fosfato de amônia (4 g/m²).

O tanque foi povoado com 3.750 peixes jovens, linhagem monosexo “♂” de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso individual de, aproximadamente, 30 gramas. Os organismos foram alimentados com ração extrusada, de 28% de proteína bruta, duas vezes ao dia, na proporção de até 3% do peso vivo. A composição da ração fornecida pode ser observada no Anexo 1. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia e a forma de alimentação foi o lanço.

2.3. Amostragens

Seis campanhas amostrais foram realizadas entre os meses de novembro de 2006 e março de 2007, sempre no período da manhã, nas datas: 14 de novembro e 21 de dezembro de 2006; 22 de janeiro, 13 de fevereiro, 07 e 12 de março de 2007. Essas datas foram identificadas como: nov/06, dez/06, jan/07, fev/07, mar I/07 e mar II/07, respectivamente. O período amostral abrangeu toda a fase de engorda de tilápia do Nilo (*O. niloticus*).

Seis estações de coleta foram previamente demarcadas, de maneira a cobrir todo o percurso do fluxo de água ao longo do sistema, conforme esquema da Figura 1 e das imagens fotográficas das Figuras 2 a 7:

- Estação 1 - afluente (água de abastecimento do tanque, entrada do viveiro);
- Estação 2 - viveiro;

- Estação 3 - efluente (água de saída do viveiro);
- Estação 4 - zona de mistura (estação em que efluente do viveiro encontra o corpo d'água receptor);
- Estação 5 - montante da zona de mistura (estação do corpo d'água receptor a 11 metros antes do encontro com o efluente do viveiro);
- Estação 6 - jusante da zona de mistura (estação do corpo d'água receptor a 13 metros após o encontro com o efluente do viveiro).

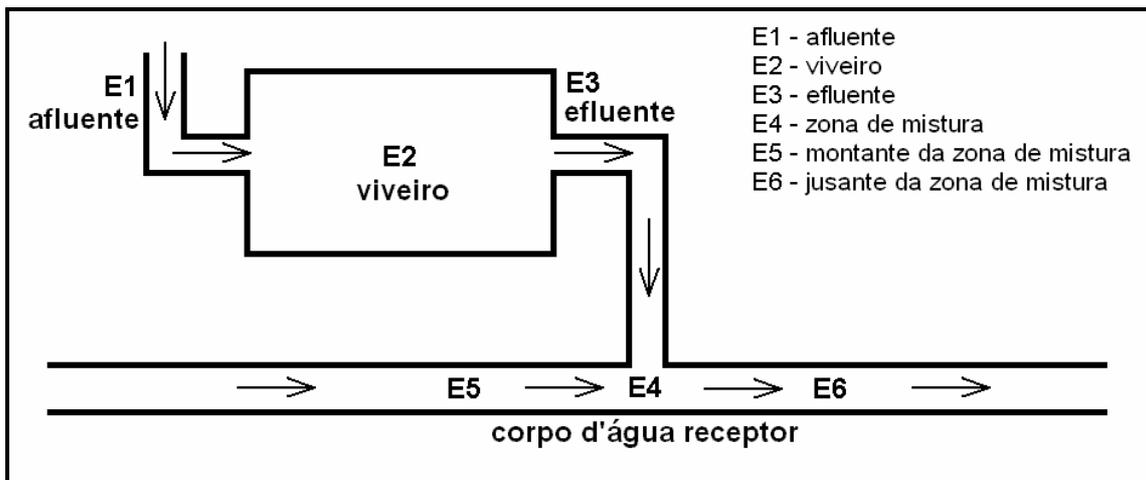


Figura 1. Esquema de localização das estações de coleta (As setas indicam o sentido do fluxo da água).



Figura 2. Imagem fotográfica da Estação 1 (afluente).



Figura 3. Imagem fotográfica da Estação 2 (viveiro)



Figura 4. Imagem fotográfica da Estação 3 (efluente).



Figura 5. Imagem fotográfica da Estação 4 (zona de mistura)



Figura 6. Imagem fotográfica da Estação 5 (montante da zona de mistura).



Figura 7. Imagem fotográfica da Estação 6 (jusante da zona de mistura).

Para análise do fósforo total, nitrogênio total, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal total, as amostras foram coletadas usando-se garrafa Van Dorn, e transferidas para frascos de polietileno de um litro de capacidade. Essas amostras foram levadas ao laboratório, sendo que, as sub-álíquotas destinadas às análises de nitrogênio total e o fósforo total, foram imediatamente congeladas, para posterior processamento e, as séries inorgânicas imediatamente filtradas em bomba a vácuo. Para a filtração, foram utilizados filtros Millipore com $0,45 \mu\text{m}$ de tamanho de poro.

As amostras destinadas à obtenção de Clorofila *a* foram coletadas na sub-superfície da coluna d'água, com auxílio de garrafa Van Dorn. A água foi

transferida para frascos de polietileno de um litro de capacidade, envoltos com papel alumínio e mantidos em isopor com gelo até a chegada ao laboratório, onde as amostras foram filtradas imediatamente em bomba a vácuo. Para a filtração, foram utilizados filtros Millipore com 45 μm de tamanho de poro.

As amostras de água para análise qualitativa do fitoplâncton foram filtradas, no momento da coleta, em rede de plâncton de 20 μm e preservadas em formol 4%. Para análise quantitativa, a amostra bruta foi fixada em solução de lugol acético 1%. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro do tipo snap-cap de volume de 200 mL, previamente descontaminados e rotulados, e mantidos ao abrigo de luz.

As amostras de água, destinadas aos testes ecotoxicológicos, foram armazenadas em recipientes de polietileno de dois litros, previamente descontaminados e devidamente rotulados. Essas amostras foram filtradas em rede de plâncton de 60 μm e congeladas no mesmo dia da coleta, permanecendo assim até a realização dos testes, respeitando as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (2005), que estabelece a validade de dois meses para amostras congeladas.

2.3. Análise das variáveis abióticas e Clorofila *a*

No momento da coleta, a vazão ($\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$) foi obtida para as Estações 1, 3 e 5. Com auxílio da sonda multiparâmetros Horiba® U-22, também foram medidos em todas as estações de coleta: temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$), condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), potencial hidrogeniônico (pH), sólidos totais dissolvidos – STD ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e turbidez (UNT).

Também foram anotadas informações sobre as condições climáticas, como temperatura do ar, presença de ventos e ocorrência de chuvas, no dia da coleta e no dia anterior à mesma.

Os dados de precipitação acumulada mensal e número de dias com chuva foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), na Estação Meteorológica da cidade de Taubaté, localizada a 30 km de Pindamonhangaba.

As análises limnológicas foram realizadas pelo Laboratório de Análises Físicas e Químicas da Água da Unidade Laboratorial de Referência em Limnologia – Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Recursos Hídricos do Instituto de Pesca (SP).

As análises para determinação do fósforo total (mg.L^{-1}) e nitrogênio total (mg.L^{-1}) foram feitas simultaneamente, seguindo as técnicas descritas em VALDERRANA (1981). As análises de nitrito (mg.L^{-1}) e nitrato (mg.L^{-1}) seguiram a técnica de Griess modificado descrita em GINÉ *et al.* (1980). Para a nitrogênio amoniacal total (mg.L^{-1}) seguiu-se a técnica de Nessler, descrita em APHA (2005). A análise da alcalinidade seguiu o método descrito em GOLTERMAN & CLYMO (1971), utilizando-se pHmetro e bureta comum, de precisão de 0,05 mL. Os resultados foram obtidos em miliequivalentes por litro.

Todas essas determinações tomaram como base os protocolos de análises recomendados no Standard Methods for the Examination for Water and Wastewater (APHA, 2005).

A determinação de clorofila *a* ($\mu\text{g.L}^{-1}$) foi feita através da técnica de extração de pigmentos, segundo MARKER *et al.* (1980) e SARTORY e GROBELLAR (1984), utilizando etanol 90% como solvente orgânico.

O Índice de Estado Trófico de CARLSON (1977), ajustado por TOLEDO *et al.* (1983) para ambientes tropicais, foi calculado, de acordo com a fórmula:

$$\text{IET (Pt)} = 10 \times [6 - \ln (80,32/\text{Pt}) / \ln 2]$$

Onde: Pt = concentração de fósforo total na superfície ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Oligotrófico = IET < 44

Mesotrófico = IET 44-54

Eutrófico = IET > 54

Os resultados das análises das variáveis abióticas e da clorofila *a* foram submetidos a análises multivariadas, através de Análise de Componentes Principais (ACP) (GOODALL, 1954 *apud* VALENTIN, 2000). Esta análise foi realizada para verificar a relação dos resultados das variáveis abióticas com a distribuição espacial das estações de coleta e distribuição temporal das amostragens. Foi utilizada matriz de covariância, com dados transformados pela amplitude de variação 'ranging' ($[(x-x_{\min})/(x_{\max}-x_{\min})]$).

O cálculo do Coeficiente de Correlação de Pearson e Kendall (*r*) permitiu a avaliação da relação entre os valores da ordenação (posição das unidades amostrais nos eixos) e variáveis individuais (abióticas) utilizadas na construção da ordenação (McCUNE e MEFFORD 1997).

Os dados foram transformados através do programa FITOPAC (SHEPHERD, 1996). As análises multivariadas foram realizadas pelo programa PC-ORD versão 3.1 para Windows (McCUNE e MEFFORD, 1997).

2.4. Caracterização do fitoplâncton

A identificação dos táxons foi feita através de análise do material coletado preservado em formol 4%. As amostras foram examinadas em microscópio binocular com ocular de medição, no aumento de 400x.

A identificação dos organismos seguiu os sistemas de classificação: ROUND (1971) para a Classe Chlorophyceae, SIMONSEN (1979) para as Bacillariophyceae, KOMÁREK e ANAGNOSTIDIS (1986, 1989, 1999) e ANAGNOSTIDIS e KOMÁREK (1988) para Classe Cyanophyceae e BOURRELLY (1981, 1985) para as demais classes.

A determinação da densidade fitoplanctônica foi realizada através da análise do material preservado em lugol acético 1%. O material foi examinado em microscópio invertido, sob aumento de 400x. As contagens dos organismos seguiram o método de UTERMÖHL (1958). Foram utilizadas câmaras de sedimentação de 2 mL para as amostras provenientes das Estações 2 (viveiro) e 3 (efluente) e câmaras de sedimentação de 10 mL para as demais estações de coleta. O tempo de sedimentação foi de aproximadamente três horas para cada centímetro de altura da câmara, de acordo com LUND *et al.* (1958). Cada célula, colônia, cenóbio ou filamento foi considerado como indivíduo.

A contagem de cada amostra foi finalizada seguindo dois critérios: a) quando o táxon mais abundante atingiu o número de 100 indivíduos; b) gráfico de estabilização do número de táxons, obtido a partir de táxons novos adicionados com o número de campos contados.

A densidade, expressa em org.mL⁻¹, foi determinada para cada táxon de cada amostra, de acordo com a fórmula de WEBER (1973):

$$\text{org.mL}^{-1} = (\text{Na/s.c}).(1/h).(F)$$

Onde: Na = número total de indivíduos do táxon 'a' contados na amostra

s = área do campo (mm²) no aumento de 400x

c = número de campos contados

h = altura da câmara de sedimentação (mm)

F = fator de correção para mililitro (10³ mm³.mL⁻¹)

Considerou-se táxons abundantes e dominantes, de acordo com o critério de LOBO e LEIGHTON (1986): táxons abundantes, aqueles que apresentaram densidade acima da densidade média da amostra e, táxons dominantes, aqueles que apresentaram densidade acima de 50% da densidade total da amostra.

Os táxons considerados abundantes foram classificados em grupos funcionais, de acordo com REYNOLDS *et al.* (2002). Os autores classificam as algas planctônicas em associações, de acordo com o conhecimento da ecologia das espécies e suas adaptações.

Com os resultados das contagens dos organismos, a Frequência de Ocorrência (F), expressa em porcentagem (%), foi calculada, seguindo a fórmula:

$$F = (Pa/P).100$$

Onde: Pa = número de amostras em que o táxon 'a' está presente
P = número total de amostras (36)

Foram considerados como constantes os táxons que apresentaram Frequência de Ocorrência $F \geq 50\%$; comuns, quando $10\% \leq F < 50\%$ e raras, quando $F < 10\%$.

Com o cálculo da Frequência de Ocorrência, obteve-se a lista de táxons descritores, sendo considerados aqueles que apresentaram $F \geq 50\%$.

Da mesma forma que os resultados das análises das variáveis abióticas e Clorofila *a*, os resultados da Frequência de Ocorrência dos táxons descritores também foram submetidos a análises multivariadas, através de Análise de Componentes Principais (ACP) (GOODALL, 1954 *apud* VALENTIN, 2000). Esta análise foi realizada para verificar a relação do comportamento da comunidade fitoplanctônica, em termos de frequência de ocorrência, com a distribuição espacial das estações de coleta e a distribuição temporal das amostragens. Foi utilizada matriz de covariância, com transformação dos dados por $[(\log(x + 1))]$.

O cálculo do Coeficiente de Correlação de Pearson e Kendall (r) permitiu a avaliação da relação entre os valores da ordenação (posição das unidades amostrais nos eixos) e variáveis individuais (bióticas – ocorrência dos táxons

descritores) utilizadas na construção da ordenação (McCUNE e MEFFORD 1997).

Os dados foram transformados através do programa FITOPAC (SHEPHERD, 1996). As análises multivariadas foram realizadas pelo programa PC-ORD versão 3.1 para Windows (McCUNE e MEFFORD, 1997).

2.5. Ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata*

O procedimento dos ensaios de toxicidade seguiu as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 12648 – Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae) (ABNT, 2005). Todos os ensaios foram realizados no Laboratório de Exotoxicologia Aquática do Instituto de Pesca (SP).

A espécie escolhida foi *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korschikov) Hindak, anteriormente denominada *Selenastrum capricornutum* (Figura 8). Também se encontram trabalhos nos quais esta alga é denominada como *Raphidocelis subcapitata* (RODRIGUES *et al.*, 2003; MA *et al.*, 2006). Segundo COMAS (1996), *Ankistrodesmus subcapitatus* Korschikov e *Kirchneriella subcapitata* Korschikov constituem sinônimos de *Raphidocelis subcapitata*. No presente estudo, denominou-se *Pseudokirchneriella subcapitata*, como em ABNT (2005). É uma espécie cosmopolita e comum em ambientes mesotróficos a eutróficos (TORGAN, 2002).

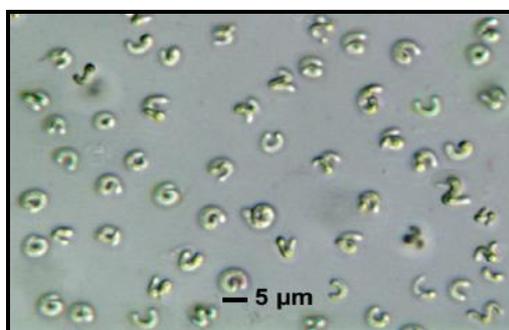


Figura 8. Imagem fotográfica da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, sob aumento de 400x, em microscópio ótico comum.

O meio de cultivo utilizado foi o L. C. Oligo, preparado a partir de sete soluções, descritas de acordo com o Anexo 2. Para o preparo de 1000 mL de meio de cultivo, 1 mL das soluções 1, 2, 3, 4 e 7 e 0,5 mL das soluções 5 e 6 foram pipetados para um erlenmeyer de 2 litros. Então, água destilada foi adicionada até que o volume de 1000 mL fosse atingido. Após 1 hora de agitação, o meio foi autoclavado por 15 minutos a 121°C e utilizado apenas após esfriar.

O método de ensaio foi o estático, ou seja, a amostra não foi renovada e os organismos-teste permaneceram expostos à mesma solução-teste, durante todo o período do ensaio (KNIE e LOPES, 2004). O período de exposição foi de 72 horas, durante o qual as algas permaneceram em incubadora, sob condições constantes de agitação a 175 rpm, iluminação de ± 4.500 lux de intensidade e temperatura a $\pm 25^{\circ}\text{C}$.

Foram realizadas seis baterias de ensaios, cada uma correspondendo a cada campanhas amostrais (nov/06, dez/06, jan/07, fev/07, mar I/07 e mar II/07). Em cada bateria de ensaios, foram realizados ensaios testes com seis amostras, em triplicata, cada uma correspondendo a cada uma das estações de coleta (E1 - afluente; E2 - viveiro; E3 - efluente; E4 - zona de mistura; 05 - montante da zona de mistura e E6 - jusante da zona de mistura).

Três dias antes de cada bateria de ensaios, um pré-cultivo foi montado, a fim de que as células, que seriam expostas às amostras, estivessem em fase exponencial de crescimento (Anexo 3).

O pré-cultivo foi montado com 1.000 mL de meio de cultivo L. C. Oligo e 50 mL de suspensão de *Pseudokirchneriella subcapitata*, mantido em erlenmeyer de 2 litros, sob condições semelhantes às dos ensaios (temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, iluminação de ± 4.500 lux e aeração constantes).

No dia do início dos ensaios, o inóculo (células algais que foram expostas às amostras) foi preparado pela centrifugação de 100 mL do pré-cultivo, a 1.500 rpm, durante 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido em 100 mL de meio de cultivo. Este procedimento foi repetido e a densidade de células da suspensão resultante foi determinada através de contagem em câmara de Neubauer (Anexo 4).

O inóculo foi preparado a partir desta suspensão, de maneira que sempre contivesse 1×10^5 células e volume entre 0,1 e 1 mL, seguindo a seguinte fórmula:

$$V_i = (V_f \times C_i) / N$$

Onde: V_i = volume do inóculo (mL)

V_f = volume final da solução teste (mL)

C_i = concentração inicial do recipiente teste (cels.mL⁻¹)

N = número de células da suspensão (cels.mL⁻¹)

Então, com um inóculo de 1×10^5 células, volume final da solução teste de 50 mL e estimando-se uma densidade algal da suspensão igual a 2×10^7 cels.mL⁻¹, obtém-se:

$$V_i = (50 \times 1 \times 10^5) / 2 \times 10^7 = 0,25.$$

Ou seja, neste exemplo, o volume do inóculo é de 0,25 mL da suspensão preparada.

Para as Estações 1 (afluente), 2 (viveiro), 4 (zona de mistura), 5 (montante da zona de mistura) e 6 (jusante da zona de mistura) os recipientes-teste foram preparados adicionando o inóculo (1×10^5 células) a 50 mL de amostra bruta. Para a Estação 3 (efluente), o inóculo foi adicionado às diluições da amostra, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Volume da amostra para o preparo das soluções-teste com efluente (ABNT, 2005).

Concentração da solução-teste (%)	Fator de diluição	Volume da amostra (mL)	Volume do meio de cultura (mL)	Volume final (mL)
100	1	50	-	50
50	2	25	25	50
25	4	12,5	37,5	50
12,5	8	6,25	43,75	50
6,25	16	3,1	46,9	50
3,1	32	1,55	48,45	50
0 (Controle)	-	-	50	50

Todos os recipientes-teste consistiram em erlenmeyers de 125 mL, contendo 50 mL de solução-teste (amostra + inóculo), com três repetições, cobertos com filme plástico e levados, imediatamente após o preparo, para a incubadora (Figura 9). Após 72 horas de exposição, a densidade celular de cada recipiente foi determinada, através de contagem em câmara de Neubauer.



Figura 9. Imagem fotográfica dos recipientes-teste no interior da incubadora.

A validação do ensaio foi feita de acordo com as recomendações da ABNT (2005). Foi considerado válido o ensaio que: a) após as 72 horas de

exposição, obtivesse biomassa algácea média do controle, 16 vezes maior que a biomassa inicial; e b) apresentasse, no término do ensaio, o coeficiente de variação da biomassa algácea, das repetições do controle, menor ou igual a 20%.

Os resultados das contagens em câmara de Neubauer foram analisados estatisticamente pelo programa Toxtat 3.3 (GULLEY *et al.*, 1991). Todos passaram nos testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, permitindo a aplicação do teste de Tukey para verificação da existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Para os resultados dos ensaios com amostras brutas, o Teste de Tukey foi aplicado de duas maneiras: a) a fim de verificar as diferenças significativas entre os resultados dos ensaios das amostras coletadas no mesmo mês (Exemplo: entre resultados das Estações 1, 2, 3, 4, 5 e 6 no mês de novembro) e b) a fim de verificar as diferenças significativas entre os resultados dos ensaios de uma mesma estação nos diferentes meses de coleta (Exemplo: entre os resultados dos meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro, março I e março II da Estação 1).

Para os resultados dos ensaios com a diluição do efluente (E3), o Teste de Tukey foi aplicado a fim de se verificar as diferenças significativas entre as diluições do efluente coletado a cada mês, ou seja, entre as concentrações de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1% e o controle de um mesmo mês.

Os resultados dos ensaios com a diluição do efluente (E3) foram expressos em CEO (Concentração de efeito observado), considerando a menor concentração da amostra que apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle, e CENO (Concentração de efeito não observado), considerando a maior concentração da amostra que não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle.

3. RESULTADOS

3.1. Manejo do viveiro durante a engorda de tilápia do Nilo

A Tabela 2 mostra o número de indivíduos no viveiro, bem como o peso médio por indivíduo e quantidade de ração fornecida ao longo do período estudado.

Verificou-se o gasto total de 3.650 kg de ração para produção de 2.120 kg de peixe, a uma conversão alimentar de 1,72:1, resultando uma produtividade de 14.133 kg de peixe/ha/ciclo e taxa de sobrevivência de 93%.

Tabela 2. Dados biométricos e quantificação do manejo alimentar registrados durante o ciclo de produção de tilápia (*Oreochromis niloticus*) no presente estudo (Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba).

Data	Número de indivíduos no viveiro	Peso aproximado por indivíduo (g)	Peso total (ton)	% de ração	Quantidade de ração diária (kg)
20/out/06	2.585 juvenis*	118,15	0,305	3,0	9,2
23/out/06	1.166 juvenis**	262,86	0,612	2,5	7,7
24/out/06	3.751 juvenis	NC	NC	2,5	16,8
06/dez/06	3.500 juvenis***	335,35	1,173	2,0	23,5
04/jan/07	3.500 tilápias	474,38	1,660	1,8	29,9
02/fev/07	3.500 tilápias	569,45	1,99	1,8	35,9
28/fev/07	3.163 tilápias****	662,85	2,096	1,5	31,4
13/mar/07	Despesca total	670	2,119	0	0

*Primeiro povoamento; **Segundo povoamento; ***Estimativa de perda de 251 indivíduos; ****Despesca parcial de 337 tilápias; NC=não calculado

3.2. Variáveis abióticas e clorofila *a*

A Figura 10 mostra a precipitação acumulada mensal e o número de dias com chuva registrados durante o período de estudo, de acordo com os dados do Instituto Nacional de Meteorologia, Estação de Taubaté, a 30 km de Pindamonhangaba. Os menores valores de precipitação acumulada e número de dias com chuva foram registrados em janeiro. O maior valor de precipitação acumulada foi registrada em dezembro e no mês de março ocorreu o maior número de dias com chuva.

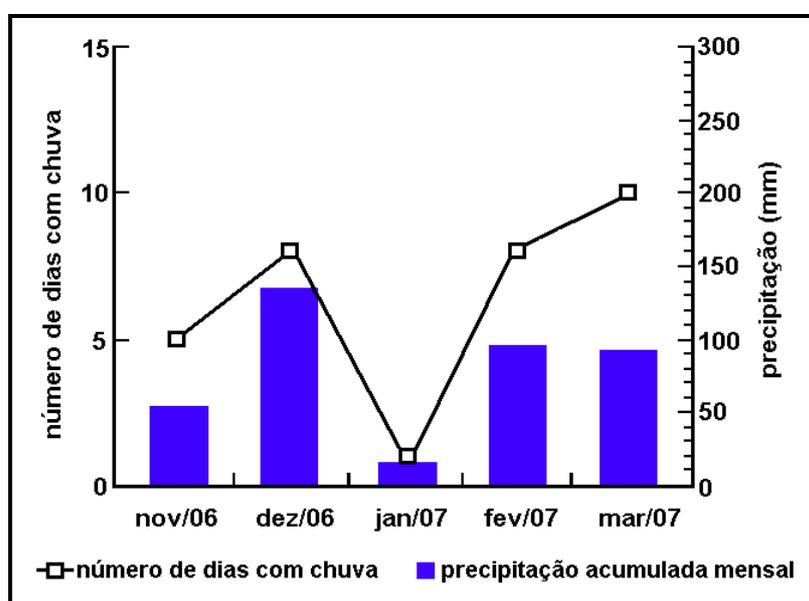


Figura 10. Precipitação acumulada mensal e número de dias com chuva registrados durante o período de estudo (Instituto Nacional de Meteorologia, Estação de Taubaté-SP).

Informações sobre o clima do dia e do dia anterior de cada amostragem podem ser verificadas no Anexo 5.

A Tabela 3 registra os dados de Vazão ($L.s^{-1}$) nas Estações 1 (afluente), 3 (efluente) e 5 (corpo d'água receptor) no momento de cada coleta. Os maiores valores de vazão ocorreram em fevereiro para as Estações 1 e 3 e em janeiro para a Estação 5, enquanto que, os menores valores, em novembro para as Estações 1 e 3, e na última coleta de março para a Estação 5.

Tabela 3. Vazão ($L.s^{-1}$) medida no Afluentes (E1), Efluente (E3) e no Corpo receptor (E5) ao longo do período de estudo.

Coleta	Vazão ($L.s^{-1}$)		
	E1	E3	E5
nov/06	1,40	0,86	79
dez/06	2,14	1,95	180
jan/07	3,22	3,19	2040
fev/07	3,77	3,28	316
mar I/07	2,88	2,22	143
mar II/07	3,12	2,00	36
Média	2,76	2,25	465,67
Desvio padrão	0,85	0,90	777,28
CV (%)	30,8	39,9	166,9

A Tabela 4 apresenta os valores médios das variáveis abióticas e clorofila *a*, sendo que os valores absolutos medidos em cada estação durante os meses de estudo estão registrados no Anexo 6.

Os menores valores de temperatura da água, para todas as estações de coleta, foram medidos em novembro, com mínima de $21,2^{\circ}C$ na Estação 6. Os maiores valores foram medidos em dezembro e em março I, com máxima de $31,3^{\circ}C$ em dezembro na Estação 2. Em todas as amostragens, as Estações 2 e 3 apresentaram as temperaturas mais altas.

Os maiores valores de pH foram registrados em novembro, com valor máximo de 6,84, medido na Estação 5. Os menores valores de pH foram medidos em dezembro, sendo que o mais ácido, de 5,04, foi registrado na Estação 6.

A Estação 2 e a Estação 4 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio para alcalinidade. O valor máximo ($36,61 \text{ mgCaCO}_3.L^{-1}$) foi

registrado em fevereiro na Estação 2. O valor mínimo (18,54 mgCaCO₃.L⁻¹) foi registrado em janeiro na Estação 6.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão das variáveis abióticas e Clorofila *a* e limites permitidos pela Resolução CONAMA 357/2005 para água doce de classe 2*.

Variáveis abióticas	Estações de coleta						CONAMA
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
Temperatura da água (°C)	26,93±3,05	28,26±2,80	27,66±2,58	25,26±2,39	24,62±2,10	25,20±2,27	***
pH	6,24±0,53	6,2±0,53	6,23±0,52	6,18±0,55	6,16±0,53	5,90±0,72	6,0 a 9,0
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	22,36±3,93	27,44±5,01	24,75±1,49	22,35±2,61	23,96±4,67	23,03±4,08	***
Dureza (mg.L ⁻¹)	17,16±2,05	19,14±1,02	18,99±1,58	18,66±0,98	17,16±1,62	19,14±3,47	***
Condutividade (µS.cm ⁻¹)	66,17±9,28	72,83±8,89	75,00±8,22	68,33±10,42	66,33±10,56	80,83±19,58	***
STD (mg.L ⁻¹)	42,20±5,76	45,83±4,22	47,50±3,83	43,83±5,85	43,00±6,75	51,17±9,47	≤ 500
Turbidez (UNT)	11,50±7,76	36,53±7,08	33,75±12,33	45,08±59,24	56,28±81,85	48,73±69,99	≤ 100
Matéria orgânica (mg.L ⁻¹)	12,23±21,04	23,07±23,82	20,39±29,91	27,36±35,73	29,22±44,99	34,03±60,17	***
OD (mg.L ⁻¹)	6,19±0,81	6,19±1,23	5,21±0,66	7,18±0,35	7,59±0,36	7,38±0,63	≥ 5 a 20 °C
% Saturação de O ₂	105,37±14,93	108,17±24,5	91,54±15,62	118,42±5,14	123,98±7,22	121,48±6,30	***
Fósforo total (mg.L ⁻¹)	0,04±0,02	0,21±0,12	0,25±0,09	0,13±0,11	0,05±0,05	0,07±0,02	≤ 0,1 (lótico); ≤ 0,050 (intermediário)
Ortofósforo (µg.L ⁻¹)	5,85±1,59	27,38±22,75	19,01±13,04	9,07±4,08	18,87±7,69	13,60±4,19	***
Nitrogênio total (mg.L ⁻¹)	0,20±0,12	1,10±0,91	1,12±1,18	0,33±0,17	0,26±0,17	0,34±0,20	≤1,27 µg.L ⁻¹ (lênico e efluente)
Nitrogênio amoniacal total (mg.L ⁻¹)	0,52±0,07	0,83±0,59	0,86±0,59	0,59±0,15	0,58±0,09	0,61±0,09	≤ 3,7 **
Nitrito (µg.L ⁻¹)	4,95±1,95	41,27±90,11	45,89±90,46	9,99±9,48	24,97±36,53	13,85±10,82	≤ 0,001
Nitrato (µg.L ⁻¹)	0,02±0,01	0,02±0,02	0,03±0,02	0,09±0,08	0,05±0,02	0,07±0,03	≤ 0,01
Clorofila <i>a</i> (µg.L ⁻¹)	2,87±3,13	52,62±34,60	60,03±43,79	4,25±4,06	2,87±2,41	3,03±2,99	≤ 30

*Categoria de água destinada ao consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas e à recreação de contato primário; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer; à aquicultura e atividade de pesca; **para pH≤7,5; ***Valores não disponíveis na Resolução CONAMA 357/2005.

As Estações 2 e 6 apresentaram os maiores valores médios de dureza, enquanto que as Estações 1 e 5 apresentaram os menores valores médios. O maior valor ($25,74 \text{ mg.L}^{-1}$) foi medido em fevereiro na Estação 6, enquanto que, o menor valor de dureza ($13,86 \text{ mg.L}^{-1}$), em março I na Estação 1.

Os maiores valores de condutividade elétrica, em todas as estações de coleta, ocorreram em dezembro, com máximo de $100 \mu\text{S.cm}^{-1}$, em E6. Os menores valores ocorreram, também em todas as estações de coleta, no mês de janeiro, com mínimo de $55 \mu\text{S.cm}^{-1}$, em E1 e E5.

Os maiores valores de sólidos totais dissolvidos foram registrados, para todas as estações de coleta, em dezembro. Os menores valores foram registrados em janeiro, exceto para E3, onde o menor valor foi medido em fevereiro.

As maiores concentrações de matéria orgânica ocorreram em dezembro, para E1, E2 e E3, e em janeiro, para as Estações 4, 5 e 6. O valor máximo ($152,50 \text{ mg.L}^{-1}$) foi registrado em dezembro na Estação 6. A Estação 1 apresentou o menor valor médio, com mínimo de $0,33 \text{ mg.L}^{-1}$, medido em março II.

As Estações 5 e 3 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio de oxigênio dissolvido. O valor máximo ($8,65 \text{ mg.L}^{-1}$) foi registrado em novembro na Estação 6, e o valor mínimo ($4,26 \text{ mg.L}^{-1}$), em janeiro na Estação 3.

As Estações 5 e 3 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio de % de saturação de O_2 . O maior valor (180,93%) ocorreu em fevereiro na Estação 5, enquanto que, o menor valor (72,33%), em janeiro na Estação 3.

As Estações 3 e 1 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio de fósforo total. O valor máximo ($0,379 \text{ mg.L}^{-1}$) foi medido em

março II na Estação 3, e o valor mínimo ($0,022 \text{ mg.L}^{-1}$) em fevereiro na Estação 1.

As Estações 2 e 1 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio de ortofosfato, com máximo de $61,41 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, medido em março I na Estação 2, e mínimo de $3,56 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, medido no mesmo mês na Estação 1.

Em novembro foram registradas as menores concentrações de nitrogênio total para todas as estações de coleta, exceto para E1. O valor mínimo ($0,037 \text{ mg.L}^{-1}$) ocorreu em dezembro na Estação 1. A Estação 3 apresentou o maior valor médio, com máximo de $3,426 \text{ mg.L}^{-1}$, medida em fevereiro.

As Estações 3 e 1 apresentaram, respectivamente, o maior e o menor valor médio de nitrogênio amoniacal total. A maior concentração ($1,87 \text{ mg.L}^{-1}$) foi registrada em março I na Estação 2, e a menor concentração ($0,39 \text{ mg.L}^{-1}$), em março I na Estação 4 e em março II na Estação 3.

Destaca-se que a denominação de nitrogênio amoniacal total contempla tanto sua forma não ionizada (amônia, NH_3), como sua forma ionizada (amônio, NH_4^+). Estas formas predominam em função dos valores de pH, sendo que, a forma não ionizada (NH_3) prevalece quando $\text{pH} > 10$, e a forma ionizada (NH_4^+), quando o $\text{pH} < 8,5$ (MAINARDES-PINTO e MERCANTE, 2003). Portanto, pode-se afirmar que, no presente estudo, o nitrogênio amoniacal foi predominante sob a forma de amônio (NH_4^+), devido aos valores ácidos de pH registrados.

As Estações 3 e 1 também apresentaram, respectivamente, o maior e menor valor médio de nitrito. A maior concentração de nitrito ($229,15 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) ocorreu em março II na Estação 3, enquanto que, a menor concentração ($2,73 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), foi registrada em janeiro nas Estações 1, 2 e 3.

A Estação 4 apresentou o maior valor médio de nitrato, enquanto que as Estações 1 e 2, os menores valores médios. A concentração máxima ($0,217$

$\mu\text{g.L}^{-1}$) foi medida em novembro na Estação 2. A concentração mínima ($0,018 \mu\text{g.L}^{-1}$) foi medida em fevereiro na Estação 5.

As Estações 2 e 3 apresentaram os maiores valores médios de clorofila *a*, com máximo de $137 \mu\text{g.L}^{-1}$, medido em março II na Estação 3. As Estações 1 e 4 apresentaram os menores valores médios, com mínimo, de $0,9 \mu\text{g.L}^{-1}$, registrado em novembro e março II na Estação 1 e em novembro na Estação 4.

A Tabela 5 registra os resultados dos cálculos do Índice de Estado Trófico das seis estações de coleta ao longo de todas as amostragens realizadas.

Tabela 5. Índice de Estado Trófico dos locais de amostragem ao longo do período de estudo.

Amostragem	E1	E2	E3	E4	E5	E6
nov/06	51	67	66	45	53	49
dez/06	49	75	76	47	66	57
jan/07	51	74	74	69	58	64
fev/07	41	44	76	44	81	53
mar I/07	45	80	78	54	61	59
mar II/07	62	80	82	44	62	56
Média	50	70	75	51	64	56

Os resultados dos cálculos do IET indicaram que as Estações 1 e 4 classificaram-se como mesotróficos, enquanto as Estações 2, 3, 5 e 6, eutróficos.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) das variáveis abióticas e Clorofila *a* resumiu 61% da variabilidade conjunta dos dados. De toda a variação, 36% foi explicada pelo Eixo 1, onde houve a separação das unidades amostrais em função da distribuição espacial das estações de coleta. O Eixo 2 explicou 25% da variação dos resultados em função da distribuição temporal das amostragens (início e fim do período de estudo) (Figura 11).

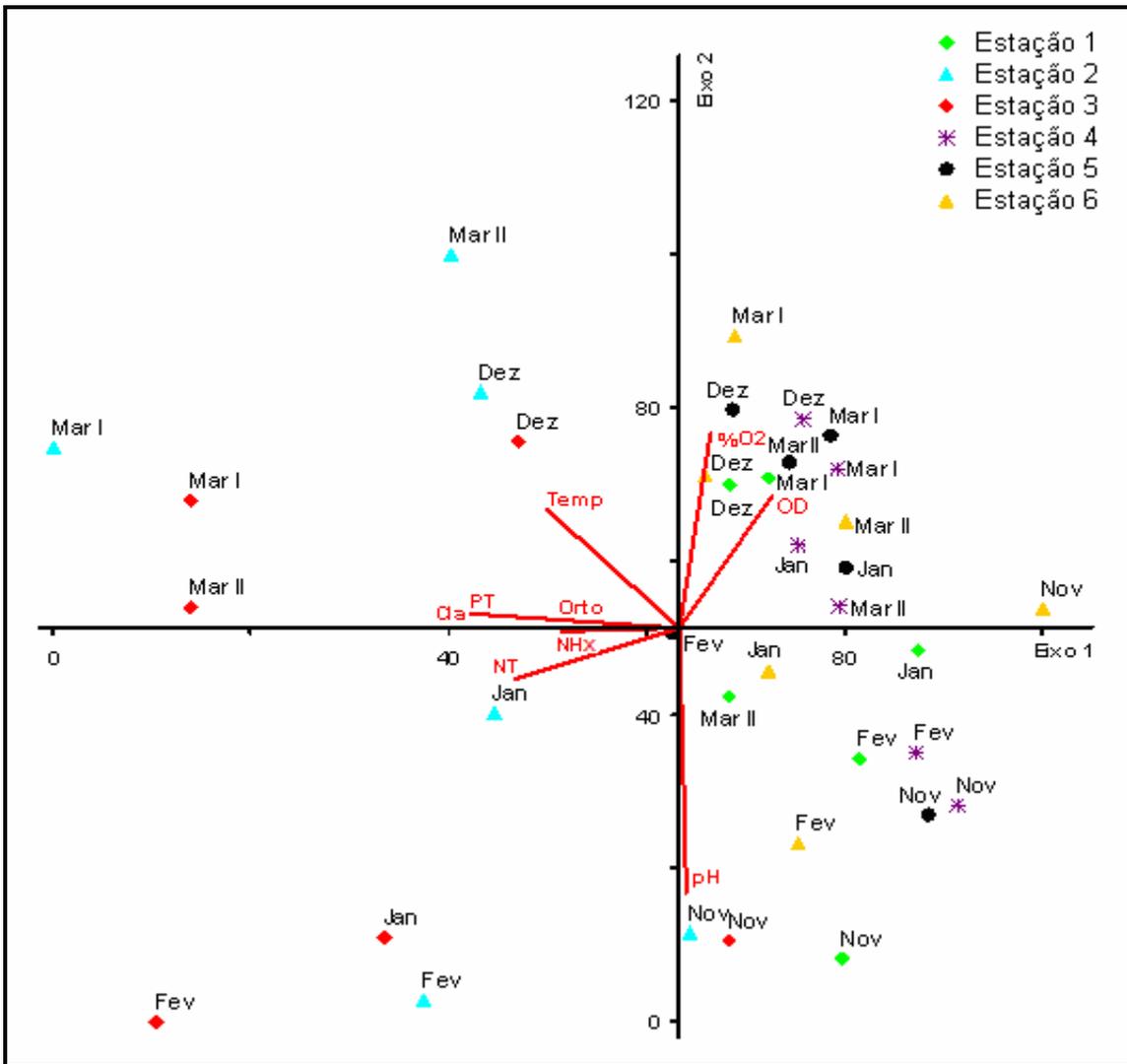


Figura 11. Ordenação biplot, pela ACP, das unidades amostrais (meses de coleta) e das variáveis abióticas. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com a estação de coleta. Correlação dos vetores conforme Tabela 6.

Conforme ilustra a Figura 11, todas as unidades amostrais referentes às Estações 2 (viveiro) e 3 (efluente), exceto as de novembro, posicionaram-se no lado negativo do Eixo 1, associadas aos maiores valores de clorofila *a*, nitrogênio total, fósforo total, nitrogênio amoniacal total, ortofosfato e temperatura da água. As unidades amostrais referentes às outras estações de coleta (E1, E4, E5 e E6) posicionaram-se do lado positivo do Eixo 1, associadas aos maiores valores de pH, % de saturação de O₂ e oxigênio dissolvido.

Os valores de coeficiente de correlação de Pearson e Kendall (Tabela 6) mostraram que as variáveis nitrogênio total, fósforo total, nitrogênio amoniacal total, ortofosfato e clorofila *a* apresentaram maior correlação com o Eixo 1, enquanto que, as variáveis de pH e % de saturação de O₂ tiveram maior correlação com o Eixo 2. As variáveis de temperatura da água e oxigênio dissolvido tiveram correlação semelhante com os dois eixos de ordenação.

Tabela 6. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as principais variáveis abióticas e os dois primeiros eixos de ordenação (N = 36).

Variáveis abióticas	Abreviações	Correlação	
		Eixo 1	Eixo 2
Nitrogênio total	NT	-0,711	-0,358
Fósforo total	PT	-0,802	0,186
Nitrogênio amoniacal total	NHx	-0,602	-0,092
Ortofosfato	Orto	-0,611	0,020
Clorofila <i>a</i>	Cl _a	-0,835	-0,002
pH	pH	0,153	-0,820
Oxigênio dissolvido	OD	0,535	0,579
% de saturação de O ₂	%O ₂	0,306	0,703
Temperatura da água	Temp	-0,639	0,549
Varição explicada		36%	25%

3.3. Caracterização do fitoplâncton

Foi registrado um total de 147 táxons, distribuídos entre as Classes: Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanobacteria, Cryptophyceae, Crysophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Zygnemaphyceae e Xanthophyceae.

Conforme ilustra a Figura 12, a classe Chlorophyceae foi a mais expressiva, contribuindo com 48% da riqueza total de organismos. A Classe Euglenophyceae foi a segunda mais expressiva, com 16% da riqueza total, seguida das Classes Zygnemaphyceae, com 10%; Cyanobacteria, com 9%; Bacillariophyceae, com 8%; Xanthophyceae, com 4%; Cryptophyceae 3%; e Crysophyceae e Dinophyceae com 1% cada.

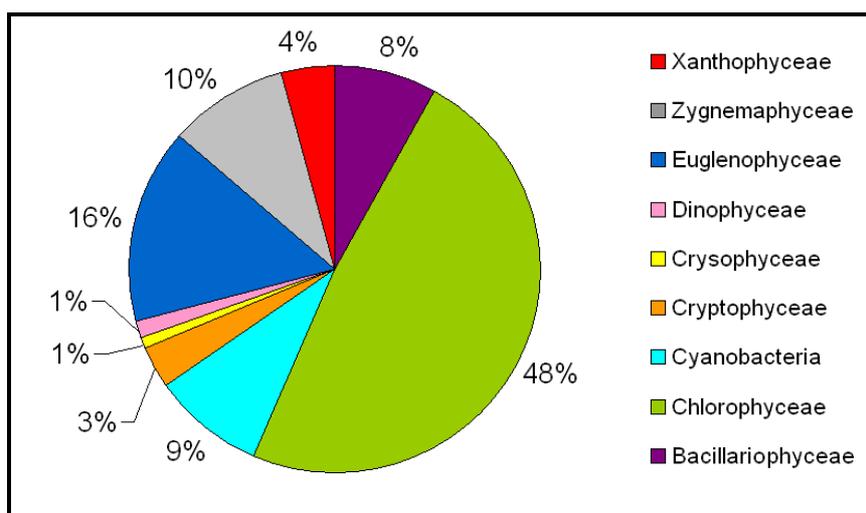


Figura 12. Contribuição das Classes taxonômicas para a riqueza de táxons de todo o período de estudo.

A Figura 13 ilustra a contribuição das Classes taxonômicas para a riqueza de cada estação de coleta, ao final do período de estudo.

A Classe Chlorophyceae foi a mais expressiva em todos os locais de amostragem, contribuindo com mais de 40% das riquezas das Estações 1, 4 e 5, e com mais de 50% das riquezas nas Estações 2, 3 e 6.

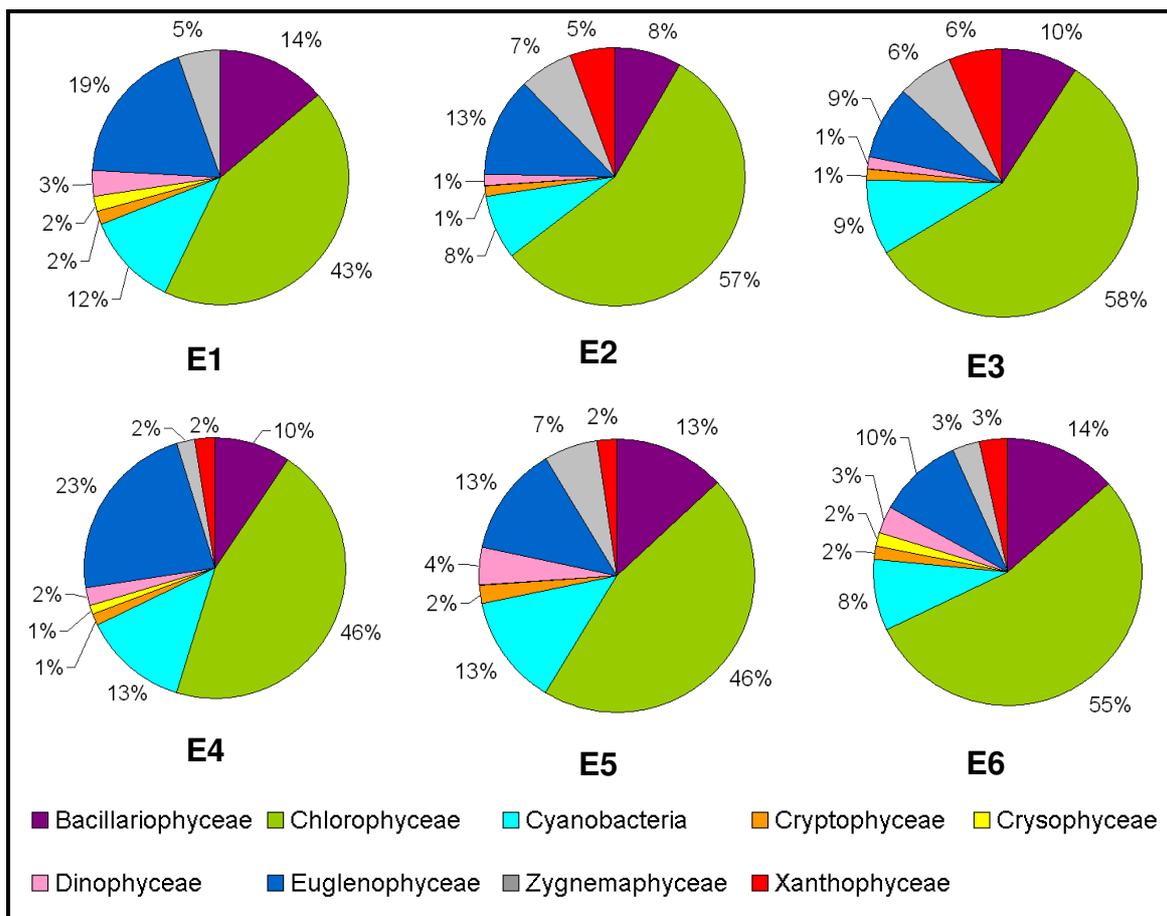


Figura 13. Contribuição das Classes taxonômicas para a riqueza de táxons de cada estação de coleta, ao final do período de estudo.

A Classe Euglenophyceae apresentou maior contribuição para as riqueza das Estações 1 e 4. A Classe Zygnemaphyceae, para as Estações 2 e 5. A Classe Cyanobacteria, para as Estações 4 e 5. A Classe Bacillariophyceae, para as Estações 5 e 6. A Classe Xanthophyceae, para as Estações 2 e 3. A Classe Cryptophyceae apresentou contribuições semelhantes para todos os locais de amostragens. A Classe Crysophyceae contribuiu apenas para a riqueza das Estações 1, 4 e 6. A Classe Dinophyceae apresentou maior contribuição para a riqueza das Estações 1 e 5.

Os resultados ilustrados nas Figuras 12 e 13 devem ser observados com a ressalva de que os organismos foram identificados até gênero e, quando possível, também até espécie. Na Classe Bacillariophyceae, a grande maioria

dos organismos foi identificada apenas até gênero, sendo que, espécies diferentes, pertencentes a um mesmo gênero, foram agrupadas em um mesmo táxon. Por exemplo: espécies diferentes pertencentes ao gênero *Nitzschia* foram agrupadas num único táxon, *Nitzschia* spp.. Já na Classe Euglenophyceae, houve maior possibilidade, para organismos de um mesmo gênero, da identificação até espécie. Por exemplo: *Phacus curvicauda* e *Phacus tortus*, ambos do mesmo gênero, mas considerados em táxons diferentes, pela possibilidade da identificação desses organismos até espécie.

A Figura 14 ilustra a variação da densidade de organismos (org.mL^{-1}) de cada estações de coleta ao longo das seis amostragens realizadas durante o período de estudo. Destaca-se a diferença nas escalas dos gráficos de cada local de amostragem, com os maiores valores registrados nas Estações 2 e 3 e os menores, na Estação 5.

Os maiores valores de densidade de organismos da Estação 1 foram registrados nas amostragens de março II e janeiro, acima de 6.000 e 4.000 org.mL^{-1} , respectivamente. Nas outras amostragens, foram registrados valores abaixo de 2.000 org.mL^{-1} , sendo que a densidade mais baixa foi registrada em novembro.

Os valores de densidade de organismos da Estação 2 e da Estação 3 foram semelhantes. Ambas estiveram acima de 50.000 org.mL^{-1} em todas as amostragens, exceto em dezembro. Neste mês, a densidade de organismos registrada, nas duas estações de coleta, foi abaixo de 10.000 org.mL^{-1} , a menor de todo o período. Os valores mais altos de densidade de E2 e E3 foram verificados em março I, acima de 90.000 org.mL^{-1} .

Os valores mais altos de densidade de organismos da Estação 4 foram registrados em dezembro e novembro, com valores acima de 12.000 e 4.000 org.mL^{-1} , respectivamente. Nas outras amostragens, os valores de densidade de organismos estiveram abaixo de 2.000 org.mL^{-1} .

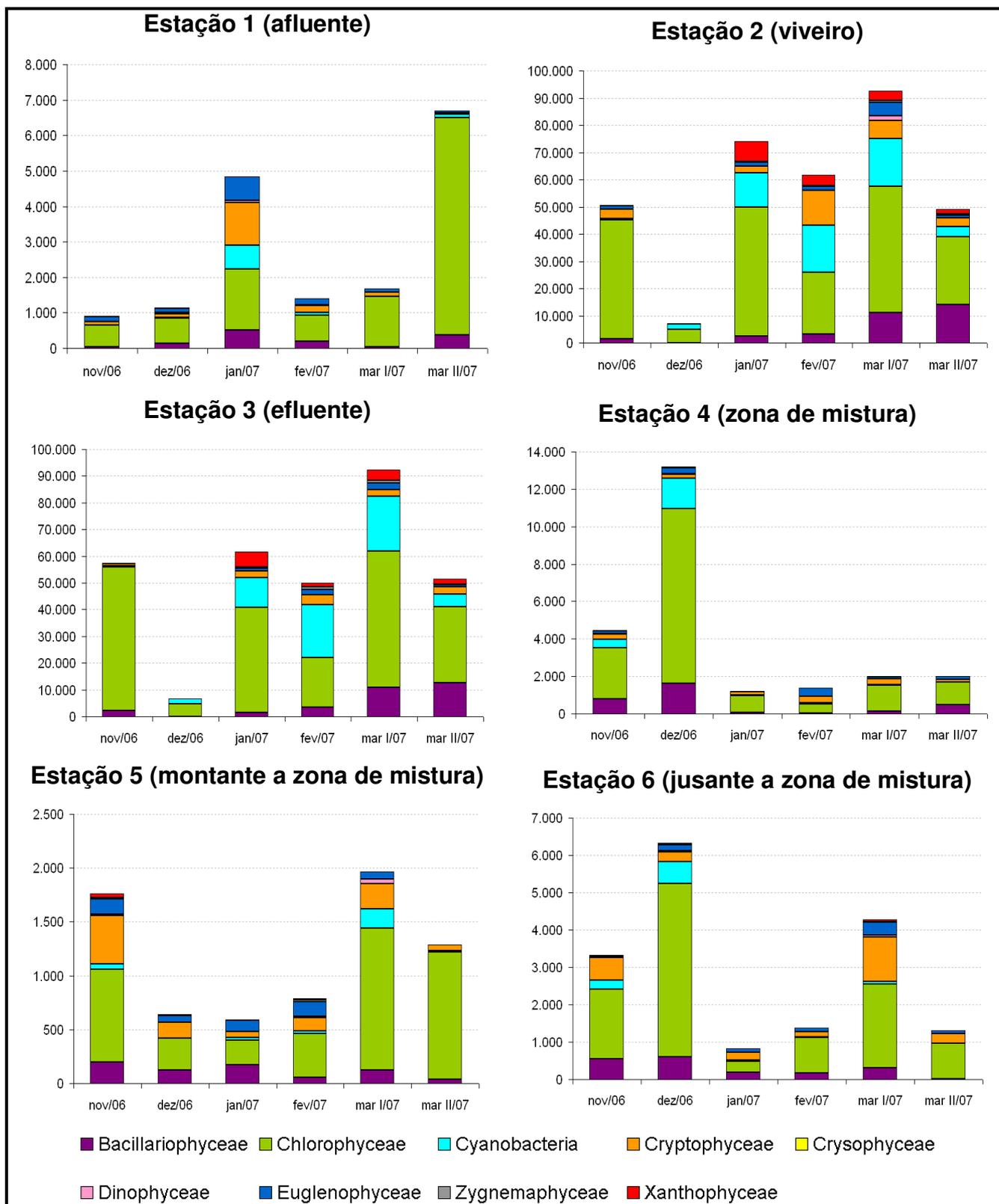


Figura 14. Densidade de organismos (org.mL^{-1}) de cada estação de coleta ao longo das amostragens realizadas durante o período de estudo.

Os maiores valores de densidade de organismos da Estação 5 foram registrados em março I e novembro, acima de 1.500 org.mL⁻¹. Os menores valores foram registrados em dezembro, janeiro e fevereiro, entre 500 e 1.000 org.mL⁻¹.

Os maiores valores de densidade de organismos da Estação 6 foram registrados em dezembro e março I, acima de 6.000 e de 4.000 org.mL⁻¹, respectivamente. A densidade de organismos mais baixa, abaixo de 1.000 org.mL⁻¹, foi verificada em janeiro.

A Figura 15 ilustra a contribuição das Classes taxonômicas na composição da densidade de organismos de cada amostragem.

A Classe Chlorophyceae foi a mais representativa, em termos de densidade de organismos nas amostragens de todas as estações de coleta.

As Classes Cryptophyceae e Euglenophyceae foram mais representativas, em termos de densidade, nas Estações 1, 4, 5 e 6. A Classe Cyanobacteria e Xanthophyceae apresentaram suas maiores contribuições nas Estações 2 e 3.

A contribuição da Classes Bacillariophyceae para a composição da densidade de organismos foi semelhante para todas as estações de coleta, variando em seus valores conforme a amostragem.

As Classes Zygnemaphyceae, Dinophyceae e Crysophyceae contribuíram com 1% ou menos para a densidade de organismos das seis estações de coleta, apresentando pouca ou nenhuma representatividade em suas composições ao longo das amostragens.

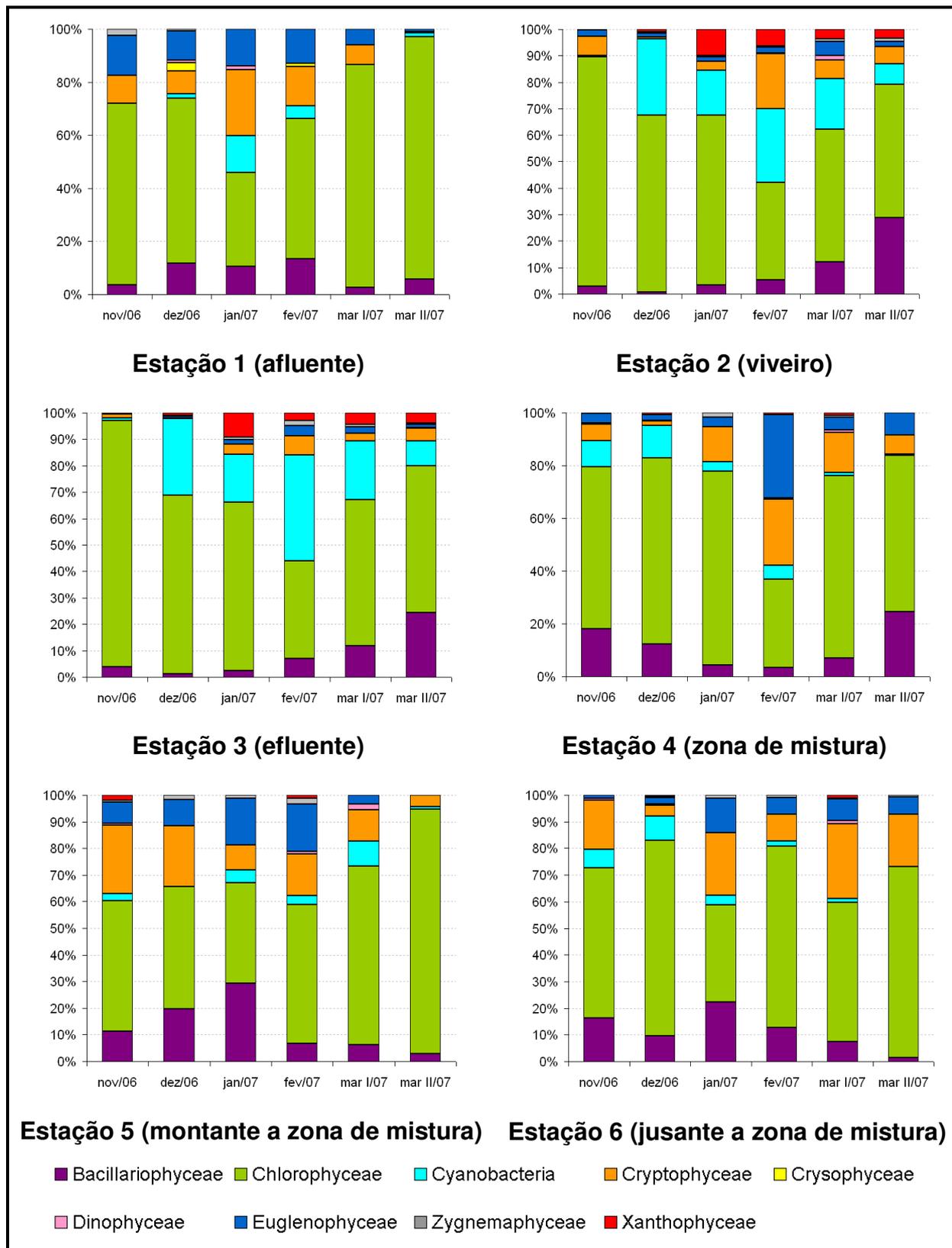


Figura 15. Contribuição das Classes taxonômicas para a composição da densidade de organismos ao longo das amostragens de cada estação de coleta.

Dos táxons registrados nas amostragens de todas as estações de coleta, quatro clorófitas foram consideradas dominantes em diferentes amostragens. Em novembro, *Eutetramorus* spp. foi dominante em E3. Em março I, *Chlorella* spp. foi dominante em E1 e em março II, *Asteracys* spp. foi dominante em E1 e E5. Nos meses de janeiro e fevereiro não houve nenhum táxon dominante em nenhuma das estações de coleta.

Um total de 18 táxons foram considerados abundantes na Estação 1, sendo os que apresentaram maior densidade: *Asteracys* sp. e *Chlorella* spp.. Esses táxons também foram os que apresentaram maior densidade na Estação 4, onde 26 táxons foram considerados abundantes.

A Estação 2 apresentou 29 táxons abundantes, dos quais destacam-se: *Eutetramorus* spp., *Chlorella* spp. e *Aphanocapsa delicatissima*. Esses três táxons também foram os que apresentaram maior densidade na Estação 3, que apresentou um total de 31 táxons considerados como abundantes.

Os táxons *Chlorella* spp. e *Cryptomonas* spp. foram os que apresentaram maior densidade nas estações 5 e 6. Nessas estações de coleta, 11 e 26 táxons, respectivamente, foram considerados abundantes.

Na Tabela 7 estão registrados os grupos funcionais, segundo REYNOLDS *et al.* (2002), de todos os táxons considerados abundantes.

A densidade total de cada táxon considerado abundante em cada estação de coleta e seu respectivo grupo funcional estão registrados no Anexo 7.

Tabela 7. Grupos funcionais fitoplanctônicos, segundo REYNOLDS *et al.* (2002), dos táxons considerados abundantes nas amostragens de todo o período de estudo.

Associação	Habitat	Representantes típicos	Tolerantes a	Sensíveis a
A	Lagos limpos, pobres em nutrientes e com boa mistura vertical	<i>Urosolenia</i> , <i>Cyclotella comensis</i>	Deficiência de nutrientes	pH alto
B	Pequenos-médios lagos mesotróficos, com mistura vertical	<i>Aulacoseira subarctica</i> , <i>Aulacoseira islandica</i>	Baixa disponibilidade de luz	pH alto, depleção de Sílica e estratificação
D	Águas rasas, incluindo rios, ricos em nutrientes e com alta turbidez	<i>Synedra acus</i> , <i>Nitzschia</i> spp., <i>Stephanodiscus hantzschii</i>	Águas turbulentas	Depleção de nutrientes
N	Epilímnio mesotrófico	<i>Tabellaria</i> , <i>Cosmarium</i> , <i>Staurodesmus</i>	Deficiência de nutrientes Moderada	Estratificação, pH alto
P	Epilímnio eutrófico	<i>Fragillaria crotonensis</i> , <i>Aulacoseira granulata</i> , <i>Closterium aciculare</i>	disponibilidade de luz e deficiência de Carbono	Estratificação e Depleção de Sílica
S1	Águas com mistura e turbidez	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Limnothrix redekei</i> , <i>Pseudoanabaena</i>	Baixíssima disponibilidade de luz	Águas turbulentas
Z	Águas com mistura e baixa turbidez	<i>Synechococcus</i> Picoplâncton procariotas	Baixa disponibilidade de nutrientes	Predação e baixa disponibilidade de luz
X1	Águas rasas com mistura em condições eutróficas	<i>Chlorella</i> , <i>Ankyra</i> , <i>Monoraphidium</i>	Estratificação	Deficiência de nutrientes e animais filtradores
X2	Camadas limpas com mistura em lagos rasos e meso-eutróficos	<i>Plagioselmis</i> <i>Chrysochromulina</i>	Estratificação	Animais filtradores
Y	Usualmente lagos pequenos e ricos em nutrientes	<i>Cryptomonas</i>	Baixa disponibilidade de luz	fagotróficos
F	Epilímnio limpo	Clorofíceas coloniais, como <i>Botryococcus</i> , <i>Pseudosphaerocystis</i> , <i>Coenochloris</i> , <i>Oocystis lacustris</i>	Baixa disponibilidade de nutrientes e alta turbidez	Deficiência de CO ₂
J	Águas rasas de lagoas e rios eutróficos	<i>Pediastrum</i> , <i>Coelastrum</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Golenkinia</i>		Diminuição da disponibilidade de luz
K	Colunas curtas e ricas em nutrientes	<i>Aphanothece</i> , <i>Aphanocapsa</i>		Alta mistura
Lo	Epilímnio de verão em lagos mesotróficos	<i>Peridinium</i> , <i>Woronichinia</i> , <i>Merismopedia</i>	Segregação de nutrientes	Mistura da água alta ou prolongada
W1	Lagoas pequenas e orgânicas	Euglenóides, <i>Synura</i> , <i>Gonium</i>	Alta DBO	Predação
W2	Lagos mesotróficos rasos	<i>Trachelomonas</i>	?	?

A Tabela 8 registra a Frequência de Ocorrência dos táxons registrados, calculada com os resultados das contagens dos organismos.

Tabela 8. Frequência de ocorrência dos táxons registrados.

Táxons		Frequência de Ocorrência (%)	
Bacillariophyceae			
1	<i>Achnantindium</i> spp.	13,89	Comum
2	<i>Aulacoseira granulata</i>	36,11	Comum
3	<i>Aulacoseira</i> spp.	19,44	Comum
4	<i>Amphora</i> spp.	38,89	Comum
5	<i>Cyclotella</i> spp.	91,67	Frequente
6	<i>Cymbella</i> spp.	5,56	Rara
7	<i>Fragillaria</i> spp.	5,56	Rara
8	<i>Navicula</i> spp.	41,67	Comum
9	<i>Nitzschia</i> spp.	72,22	Frequente
10	<i>Pinullaria</i> spp.	2,78	Rara
11	<i>Suriella</i> spp.	2,78	Rara
Chlorophyceae			
12	<i>Actinastrum aciculare</i>	8,33	Rara
13	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	2,78	Rara
14	<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>	8,33	Rara
15	<i>Ankistrodesmus gracilis</i>	13,89	Comum
16	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	8,33	Rara
17	<i>Asteracys</i> sp.	50,00	Frequente
18	<i>Botryococcus</i> sp.	16,67	Comum
19	<i>Chlamydomonas</i> spp.	33,33	Comum
20	<i>Chlorella</i> spp.	94,44	Frequente
21	<i>Coelastrum astroideum</i>	5,56	Rara
22	<i>Coelastrum pulchrum</i>	8,33	Rara
23	<i>Coelastrum reticulatum</i>	2,78	Rara
24	<i>Coelastrum</i> spp.	33,33	Comum

25	<i>Crucigenia quadrata</i>	30,56	Comum
26	<i>Crucigenia tetrapedia</i>	75,00	Frequente
27	<i>Crucigeniella crucifera</i>	33,33	Comum
28	<i>Crucigeniella</i> spp.	16,67	Comum
29	<i>Dichotomococcus curvatus</i>	30,56	Comum
30	<i>Dictyosphaerium</i> spp.	69,44	Frequente
31	<i>Didymocystis fina</i>	66,67	Frequente
32	<i>Dimorphococcus lunatus</i>	2,78	Rara
33	<i>Eudorina</i> sp.	2,78	Rara
34	<i>Eutetramorus</i> spp.	19,44	Comum
35	<i>Frauceria echdina</i>	2,78	Rara
36	<i>Kirchneriella</i> spp.	11,11	Comum
37	<i>Monoraphidium arcuatum</i>	25,00	Comum
38	<i>Monoraphidium contortum</i>	83,33	Frequente
39	<i>Monoraphidium minutum</i>	47,22	Comum
40	<i>Monoraphidium</i> sp.	58,33	Frequente
41	<i>Nephrocytium aghardianum</i>	5,56	Rara
42	<i>Oocystis</i> spp.	27,78	Comum
43	<i>Pandorina morum</i>	2,78	Rara
44	<i>Pediastrum duplex</i>	88,89	Frequente
45	<i>Pediastrum tetras</i>	2,78	Rara
46	<i>Raphidocelis contorta</i>	16,67	Comum
47	<i>Rayssiella</i> sp.	30,56	Comum
48	<i>Sc. arcuatus f. gracilis</i>	5,56	Rara
49	<i>Scenedesmus bicaudatus</i>	5,56	Rara
50	<i>Scenedesmus bijugus</i>	61,11	Frequente
51	<i>Scenedesmus opoliensis</i>	16,67	Comum
52	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	16,67	Comum
53	<i>Scenedesmus schroeteri</i>	11,11	Comum
54	<i>Scenedesmus</i> spp.	16,67	Comum
55	<i>Schroederia spiralis</i>	2,78	Rara
56	<i>Tetraedron caudatum</i>	72,22	Frequente

57	<i>Tetraedron incus</i>	2,78	Rara
58	<i>Tetraedron komarekii</i>	38,89	Comum
59	<i>Tetraedron minimum</i>	44,44	Comum
60	<i>Tetraedron trigonum</i>	27,78	Comum
61	<i>Tetrallantos langerheimii</i>	16,67	Comum
62	<i>Tetrastrum heteracantum</i>	13,89	Comum
63	<i>Treubaria</i> spp.	11,11	Comum
64	<i>Westella botryoides</i>	63,89	Frequente
Cyanobacteria			
65	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	66,67	Frequente
66	<i>Aphanocapsa</i> sp.	5,56	Rara
67	<i>Bacullaria</i> sp.	2,78	Rara
68	<i>Chroococcus</i> spp.	11,11	Comum
69	<i>Merismopedia</i> spp.	61,11	Frequente
70	<i>Oscillatoria</i> spp.	30,56	Comum
71	<i>Pseudoabaena</i> spp.	8,33	Rara
72	<i>Romeria gracilis</i>	27,78	Comum
73	<i>Spirulina</i> spp.	8,33	Rara
74	<i>Synechococcus</i> sp.	19,44	Comum
75	<i>Synechocystis</i> sp.	22,22	Comum
76	Filamentosa não identificada	5,56	Rara
Cryptophyceae			
77	<i>Cryptomonas</i> spp.	97,22	Frequente
Chrysophyceae			
78	<i>Dinobryon sertularia</i>	11,11	Comum
Dinophyceae			
79	<i>Gymnodinium</i> spp.	33,33	Comum
80	<i>Peridinium</i> spp.	19,44	Comum
Euglenophyceae			
81	<i>Euglena acus</i>	55,56	Frequente
82	<i>Euglena</i> spp.	50,00	Frequente
83	<i>Lepocinclis</i> spp.	5,56	Rara

84	<i>Phacus cochleatus</i>	8,33	Rara
85	<i>Phacus curvicauda</i>	2,78	Rara
86	<i>Phacus suecicus</i>	11,11	Comum
87	<i>Phacus tortus</i>	2,78	Rara
88	<i>Strombomonas</i> spp.	5,56	Rara
89	<i>Trachelomonas armata</i>	11,11	Comum
90	<i>Trachelomonas similis</i>	11,11	Comum
91	<i>Trachelomonas volvocina</i>	36,11	Comum
100	<i>Trachelomonas</i> spp.	69,44	Frequente
Zygnemaphyceae			
101	<i>Closterium</i> spp.	27,78	Comum
102	<i>Cosmarium majae</i>	38,89	Comum
103	<i>Cosmarium</i> spp.	2,78	Rara
104	<i>Eutrastrum binale</i>	8,33	Rara
105	<i>Euastrum</i> spp.	5,56	Rara
106	<i>Haplotenium minutum</i>	2,78	Rara
107	<i>Straurastrum</i> spp.	5,56	Rara
Xantophyceae			
108	<i>Goniochloris mutica</i>	44,44	Comum
109	<i>Tetradriella jovetti</i>	22,22	Comum
110	<i>Tetraplekton torsun</i>	11,11	Comum
111	Xantofíceia não identificada 1	5,56	Rara
112	Xantofíceia não identificada 2	5,56	Rara

Um total de 19 táxons foi considerado como Frequentes ($F \geq 50\%$); 11 táxons da Classe Chlorophyceae, 3 da Classe Euglenophyceae, 2 da Cyanobacteria, 2 da Bacillariophyceae e 1 da Cryptophyceae.

Os táxons considerados comuns ($10\% \leq F \leq 50\%$) totalizaram 47; 25 deles foram da Classe Chlorophyceae, 5 da Bacillariophyceae, 5 da Cyanobacteria, 4 da Euglenophyceae, 3 da Xanthophyceae, 2 da Dinophyceae, 2 da Zygnemaphyceae e 1 da Crysophyceae.

Os táxons considerados como Raros ($F < 10\%$) totalizaram 38; 17 da Classe Chlorophyceae, 5 da Classe Cyanobacteria, 5 da Euglenophyceae, 5 da Zygnemaphyceae, 4 da Bacillariophyceae e 2 da Xanthophyceae.

Nota-se que o número de táxons utilizados para o cálculo da Frequência de ocorrência, 104 táxons, não corresponde ao número total de táxons identificados, 147 táxons. Isto ocorreu por que alguns dos táxons observados durante a identificação (análise da amostra concentrada, fixada em formol) não foram registrados nas contagens (análise da amostra bruta, fixada em lugol).

Alguns dos táxons com Frequência de Ocorrência $F \geq 50\%$ foram selecionados como 'táxons descritores' e seus valores de densidade de cada amostragem foram utilizados nas análises multivariadas.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) dos táxons descritores resumiu 73% da variabilidade total dos dados em seus dois primeiros eixos. Praticamente toda a variação foi explicada pelo Eixo 1 (63% de explicabilidade), onde houve a separação das unidades amostrais em função da distribuição espacial das estações de coleta. O Eixo 2 explicou apenas 10% da variação dos resultados dos táxons descritores em função da distribuição temporal das estações de coleta.

Conforme ilustra a Figura 16, as unidades amostrais referentes às Estações 2 (viveiro) e 3 (efluente) posicionaram-se no lado negativo do Eixo 1, associadas aos maiores valores de densidade dos táxons descritores. A maioria das unidades amostrais referentes às outras estações de coleta (E1, E4, E5 e E6) posicionaram-se do lado positivo do Eixo 1.

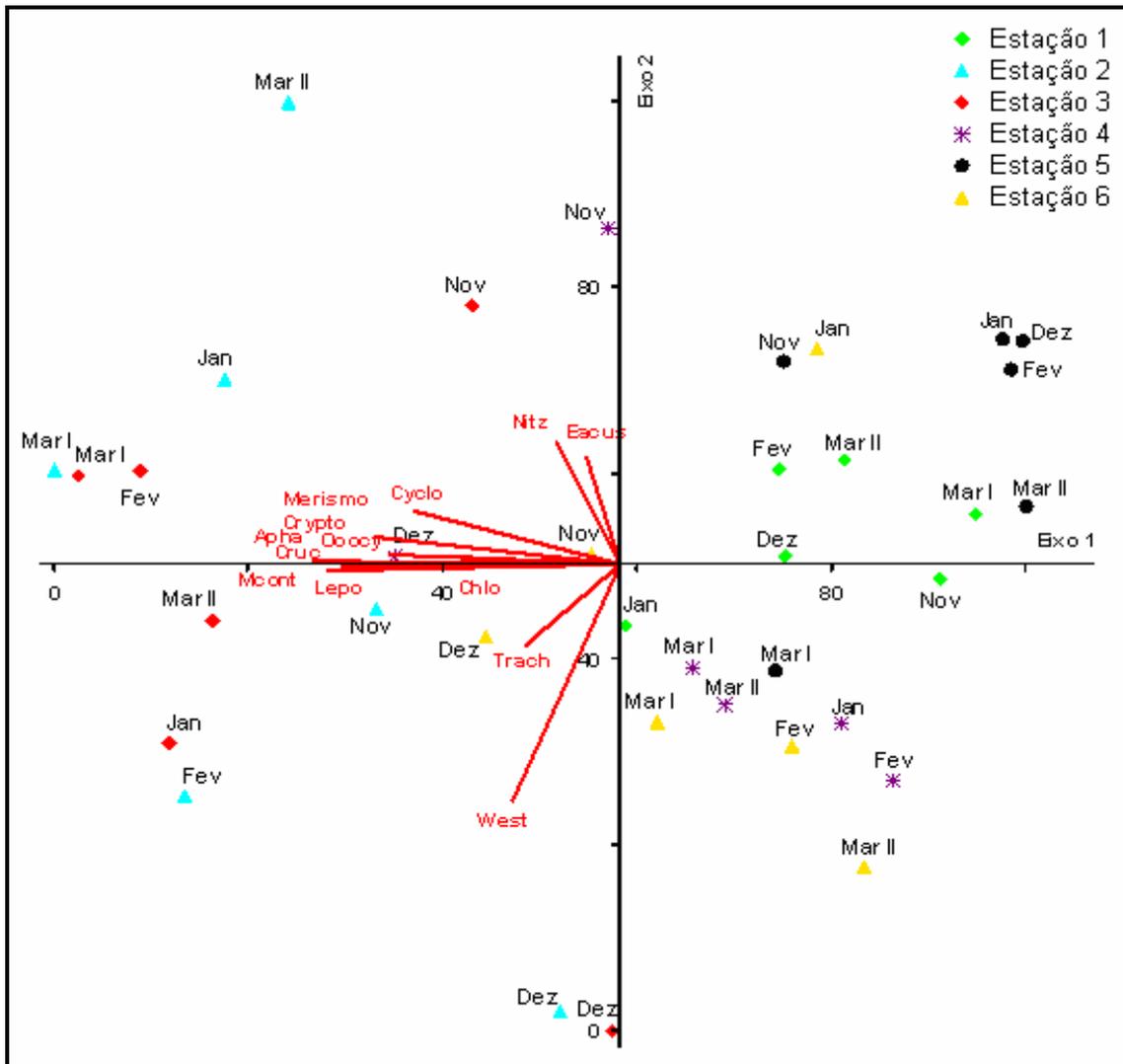


Figura 16. Ordenação biplot, pela ACP, das unidades amostrais (meses de coleta) e dos táxons descritores. As unidades amostrais estão identificadas de acordo com a estação de coleta. Correlação dos vetores conforme Tabela 9.

Os coeficientes de correlação de Pearson e Kendall (Tabela 9) mostraram que os resultados de frequência de ocorrência da maioria dos táxons teve maior relação com o Eixo 1. Apenas os resultados da frequência de ocorrência da espécie *Westella botryoides* apresentaram maior relação com o Eixo 2.

Os resultados da densidade dos táxons *Nitzchia* spp., *Trachelomonas* spp. e da espécie *Euglena acus* tiveram relação semelhante com os dois eixos de ordenação.

Tabela 9. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis biológicas (táxons descritores com base na Frequência de Ocorrência) e os dois primeiros eixos de ordenação (N = 36).

Táxons	Abreviações	Correlação	
		Eixo 1	Eixo 2
<i>Cyclotella</i> spp.	Cyclo	-0,771	0,340
<i>Nitzschia</i> spp.	Nitz	-0,431	0,515
<i>Chlorella</i> spp.	Chlo	-0,718	0,216
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	Cruc	-0,919	-0,122
<i>Monoraphidium contortum</i>	Mcont	-0,895	-0,087
<i>Oocystis</i> spp.	Oocy	-0,841	0,245
<i>Westella botryoides</i>	West	-0,555	-0,716
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	Apha	-0,940	0,084
<i>Merismopedia</i> spp.	Merismo	-0,917	0,062
<i>Cryptomonas</i> spp.	Crypto	-0,816	0,150
<i>Euglena acus</i>	Eacus	-0,313	0,478
<i>Lepocinclis</i> spp.	Lepo	-0,847	-0,006
<i>Trachelomonas</i> spp.	Trach	-0,520	-0,416
Variação explicada		63%	10%

3.4. Ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Todos os ensaios foram considerados válidos, de acordo com os critérios da ABNT (2005). Os cálculos para a validação dos ensaios podem ser verificados no Anexo 8. A densidade algácea registrada em cada repetição no final de todos os ensaios com amostras brutas e com diluição de efluente encontra-se registrada no Anexo 9.

Contrariamente ao que é esperado na maioria dos ensaios ecotoxicológicos realizados com *Pseudokirchneriella subcapitata*, os resultados revelaram um fenômeno de crescimento nas culturas de algas submetidas aos testes.

A Figura 17 mostra a média do crescimento algáceo nos ensaios com amostra bruta.

Na análise feita por estações de amostragem, foi verificado que houve maior crescimento algáceo, com diferença significativa, em relação ao controle, nas estações 2 e 3 nos meses de novembro, janeiro e fevereiro; nas estações 4 e 5 em dezembro; e nas estações 3, 4 e 6 na primeira coleta de março (mar I). Na segunda coleta de março (mar II), não houve diferença significativa, em relação ao controle, entre as estações amostrais. O controle apresentou diferença significativa a E2 e E3, apenas em novembro.

Na análise feita por período amostral, o crescimento algáceo dos ensaios com amostras da Estação 1 apresentou diferença significativa, em relação ao controle, em fevereiro e na segunda coleta de março (mar II); apenas em março II para a Estação 2; em dezembro, fevereiro, março I e março II nas estações 4 e 5; e em fevereiro e março I e março II na Estação 6. Os resultados dos ensaios com amostras da Estação 3 não apresentaram diferenças significativas entre si ao longo dos meses estudados, assim como ocorreu com o grupo controle.

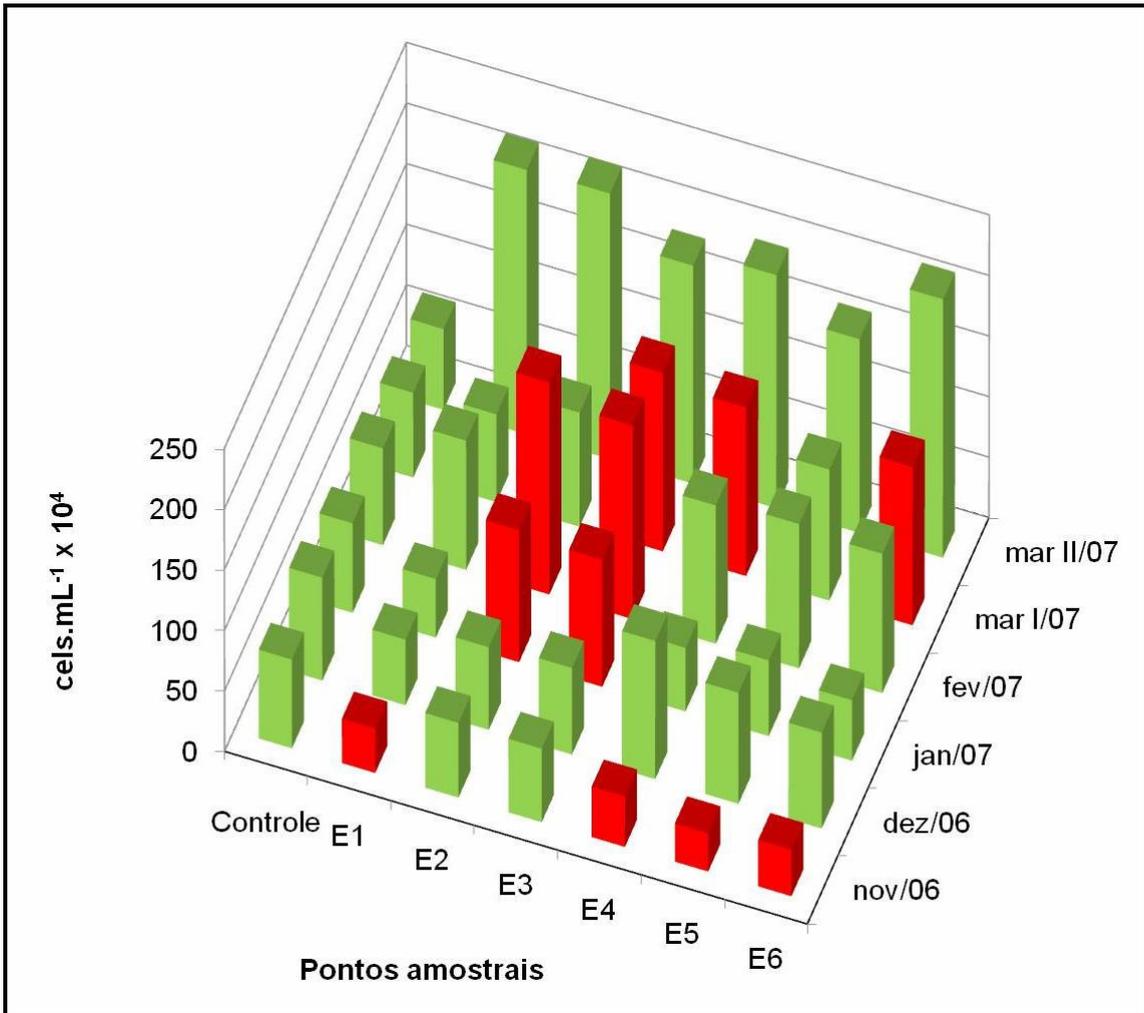


Figura 17. Média do crescimento algáceo ($\text{cels.mL}^{-1} \times 10^4$) nos ensaios com amostras brutas. Barras vermelhas indicam diferença significativa, em relação ao controle, nos resultados dos ensaios de cada campanha amostral.

A Figura 18 ilustra a variação do crescimento algáceo dos ensaios das estações 2 e 3 e da concentração de nitrogênio total e fósforo total nas respectivas amostragens.

Foi verificado que o crescimento algáceo apresentou um padrão crescente, assim como as concentrações de fósforo total. No entanto, exceto pela amostragem de março II, esse crescimento variou de forma mais semelhante às concentrações de nitrogênio total, aumentando continuamente até fevereiro e sofrendo queda na amostragem seguinte.

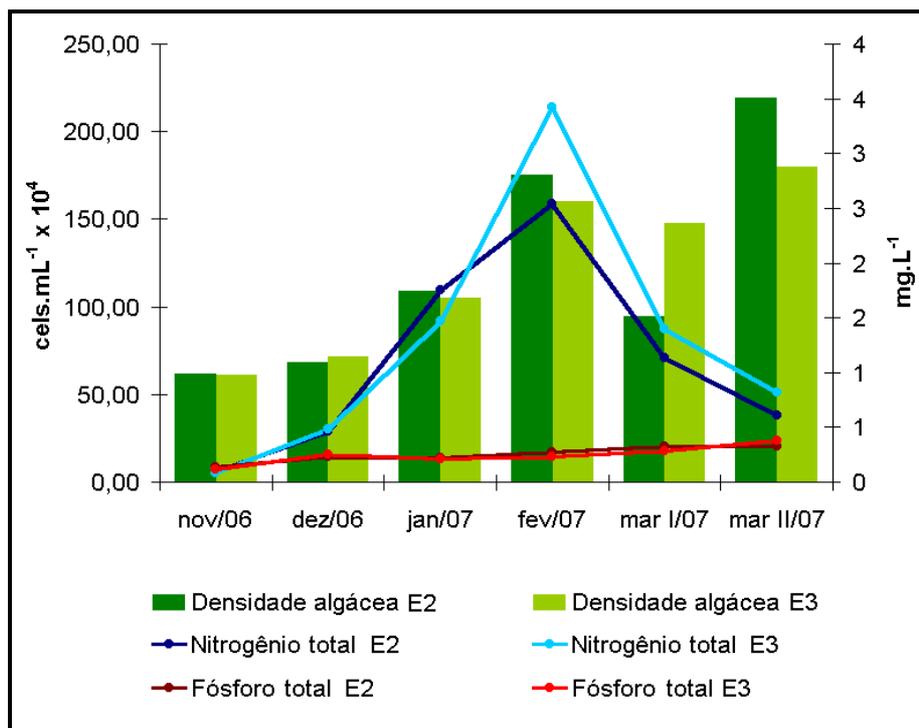


Figura 18. Variação do crescimento algáceo (cels.mL⁻¹ x 10⁴) nos ensaios com amostras das estações 2 e 3 e concentrações de nitrogênio total (mg.L⁻¹) e fósforo total (mg.L⁻¹) nas respectivas amostragens.

Conforme ilustra a Figura 19, nos ensaios com diluição do efluente, foram verificadas diferenças significativas, em relação ao grupo controle, nas concentrações de 25% e 50% no mês de novembro; 50% e 100% em janeiro e março I; e apenas na concentração de 100% em fevereiro e março II. Os resultados dos ensaios com amostras do mês de dezembro não apresentaram diferenças significativas entre as diluições.

Dessa forma, obteve-se CEO (Concentração de efeito observado) de 25% e CENO (Concentração de efeito não observado) de 12,5% no mês de novembro, CEO 50% e CENO 25% em janeiro e março I, CEO 100% e CENO 50% em fevereiro e março II.

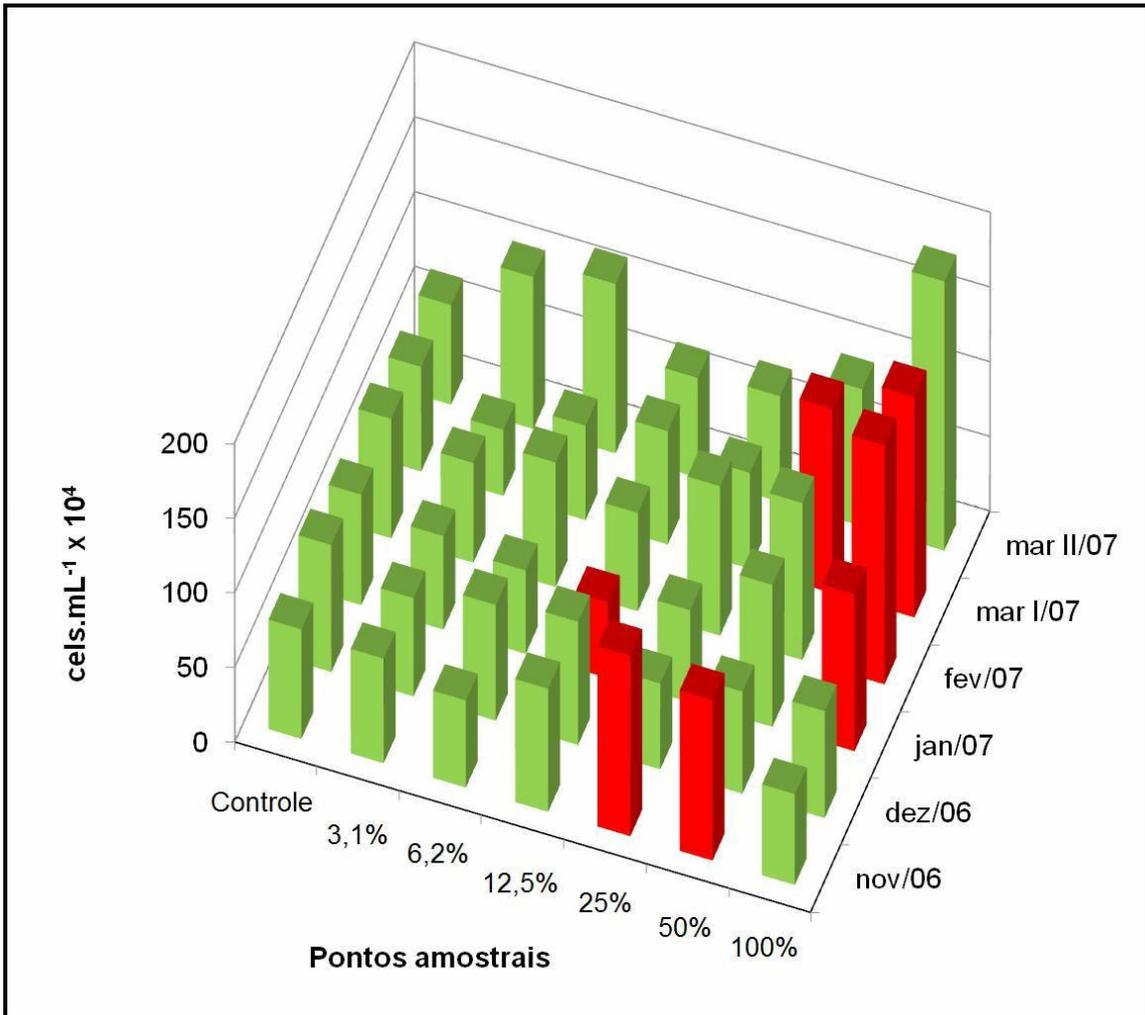


Figura 19. Média do crescimento algáceo ($\text{cels.mL}^{-1} \times 10^4$) nos ensaios com diluição de efluente. Barras vermelhas indicam diferença significativa, em relação ao controle, nos resultados dos ensaios de cada campanha amostral.

4. DISCUSSÃO

4.1 Variáveis abióticas e clorofila *a*

Os valores de temperatura da água registrados no viveiro (E2) foram de mínima de 23,8°C em novembro e máxima de 31,3°C em dezembro. Embora as temperaturas recomendadas para o cultivo de peixes em ambientes tropicais e subtropicais estejam entre 26,0°C e 28,0°C (BOYD, 1990), valores semelhantes foram registrados por TOLEDO e CASTRO (2001), em viveiros da estação de piscicultura de Alta Floresta, Mato Grosso (mínima de 21,7°C e máxima de 35,6°C); por PAGGI e SIPAÚBA-TAVARES (2007), também no estado de Mato Grosso (mínima de 25,1°C e máxima de 33,2°C); e por MERCANTE *et al.* (2006) em estudo com 30 pesqueiros na Região Metropolitana de São Paulo (mínima de 23,8°C e máxima de 30,0°C, na estação chuvosa).

Os valores de pH do efluente (E3) estiveram entre 5,59 e 6,75. Estes valores estão dentro dos padrões recomendados pela Resolução CONAMA 357/2005 para as condições de lançamento de efluentes. De acordo com esta Resolução, o pH deve estar na faixa entre 5,0 e 9,0 (Tabela 4).

A Resolução CONAMA 357/2005, também recomenda que para águas de Classe 2, as quais contemplam, entre outras atividades, águas destinadas à aquicultura e atividade de pesca, o pH deve estar na faixa entre 6,0 e 9,0. As águas do viveiro (E2) estiveram dentro desta faixa apenas nas amostragens de novembro, janeiro e fevereiro. Os valores medidos nas amostragens de dezembro, março I e março II foram de 5,43; 5,91 e 5,88, respectivamente, estando abaixo, portanto, dos padrões recomendados.

Esses valores, além de estarem fora dos padrões recomendados pela Resolução CONAMA 357/2005, também podem ser prejudiciais para os organismos cultivados. Segundo SIPAÚBA-TAVARES (1996), se a água de um viveiro de piscicultura for mais ácida que 6,2 ou mais alcalina que 9,5 por um longo período, consequências negativas podem ocorrer na reprodução e no

crescimento dos peixes. Segundo ESTEVES (1998), valores ácidos de pH podem provocar alterações em vários processos fisiológicos, sendo a absorção e transporte de oxigênio, regulação iônica e equilíbrio ácido-base, os mais importantes.

De maneira geral, as amostragens realizadas em dezembro, que apresentaram os valores mais ácidos de pH, também apresentaram as mais altas Temperaturas da água e os maiores valores de condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos e matéria orgânica (Anexo 6). Nesse mês também foi registrado maior valor de precipitação acumulada de todo o período de estudo (Figura 10).

Altos valores de condutividade elétrica indicam elevadas taxas de decomposição (SIPAÚBA-TAVARES, 1994). A quantidade de sólidos totais existentes nos viveiros é ocasionada pela quantidade advinda de alimentação natural da água de abastecimento do tanque, somada aos teores adicionados através da fertilização (adubação e calagem dos tanques), arraçoamento e produtividade primária (fitoplâncton) (SILVA *et al.*, 2005).

Assim, a ressuspensão do sedimento do fundo, provocada pelas chuvas, possivelmente, implicou no aumento da concentração de sólidos totais dissolvidos e de matéria orgânica na coluna d'água. As chuvas também podem ter interferido nesses fatores através da lixiviação da matéria orgânica do solo e, com as altas temperaturas, essas condições favoreceram os processos de decomposição, refletindo nos altos valores de condutividade elétrica e na acidez do pH.

Em estudo com a variação diária de parâmetros limnológicos em viveiros de piscicultura, PÁDUA *et al.* (1997) afirmaram que as altas temperaturas proporcionam condições para uma alta taxa de reciclagem da matéria orgânica (decomposição microbiana). Os organismos heterotróficos, como bactérias, interferem no pH da água, abaixando-o. Intensos processos de decomposição e respiração têm como consequência a liberação de dióxido de carbono (CO₂)

e, assim, a formação de ácido carbônico e íons de hidrogênio, provocando a diminuição do pH.

Essas condições observadas em dezembro se repetiram na amostragem de março I, quando também foram obtidos valores ácidos de pH e altos valores de temperaturas da água, condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos. Os valores de matéria orgânica não foram altos como os valores medidos em dezembro, provavelmente, devido à menor precipitação acumulada em março (Figura 10), provocando uma ressuspensão de sedimento e lixiviação de matéria orgânica do solo menos intensa.

A relação entre as chuvas e a acidez das águas de viveiros de piscicultura também foi discutida por MERCANTE *et al.* (2006). Os autores realizaram estudo com as variáveis abióticas de trinta lagos de pesque-pague na Região Metropolitana de São Paulo nas estações seca e chuvosa. Neste estudo, foi verificado que, na estação chuvosa, 88% dos pesqueiros apresentaram valores de pH abaixo de 6,0. Segundo os mesmos autores isso esteve relacionado às chuvas, que diluíram as concentrações de cálcio, bem como ao maior aporte de matéria orgânica lixiviada do solo, interferindo na produção de CO₂ e, conseqüentemente, de ácido carbônico (H₂CO₃⁻) e outros compostos de características ácidas.

Os valores de alcalinidade das amostragens de março I (final do ciclo de cultivo) também podem ter sido influenciados pelas chuvas, através da diluição das concentrações de cálcio na água, como observado no estudo de MERCANTE *et al.* (2006). Em março I foram registrados os menores valores de Alcalinidade de todo o período para o E1 (18,46 mgCaCO₃.L⁻¹), E2 e E3 (22,56 mgCaCO₃.L⁻¹) e E4 (20,51 mgCaCO₃.L⁻¹). Em dezembro, quando foi registrada a maior precipitação acumulada, as chuvas não tiveram efeito nos valores de alcalinidade de E2 e E3, provavelmente, por que a calagem, realizada em outubro, ainda era recente.

A alcalinidade refere-se à concentração de bases na água e sua capacidade em resistir às mudanças de pH para menos (poder tampão) (SILVA *et al.*, 2005). De acordo com SIPAÚBA-TAVARES (1994), a alcalinidade recomendada para cultivo deve estar acima de $20 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, estando a faixa ideal entre 200 e $300 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, pois um bom aporte de carbonato de cálcio mantém o equilíbrio entre bicarbonatos (HCO_3^-) e gás carbônico livre (CO_2), minimizando as variações de pH.

A alcalinidade do viveiro (E2) apresentou-se sempre acima de $20 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, com o valor mínimo registrado em março I ($22,56 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), e o valor máximo registrado em fevereiro ($36,61 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$).

Os maiores valores de oxigênio dissolvido e % de saturação de O_2 foram registrados nas estações localizados no corpo receptor (E4, E5 e E6). Isto pode estar associado às baixas temperaturas registradas nesses locais, uma vez que a solubilidade do oxigênio aumenta conforme a temperatura diminui (VINATEA-ARANA, 1997).

Da mesma forma, as altas temperaturas da água medidas em E2 e E3 podem ter diminuído a solubilidade do oxigênio no viveiro, resultando em valores menores de OD e % de saturação de O_2 .

Os valores mínimos de oxigênio dissolvido foram registrados em janeiro na Estação 3 ($4,26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), em fevereiro na Estação 2 ($4,73 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e na Estação 3 ($4,68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Esses valores estão abaixo do limite mínimo recomendado pela Resolução CONAMA 357/2005, de $5,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Baixos valores de oxigênio dissolvido também foram observados por SOUZA *et al.* (2000), em estudo com manejo alimentar e tempo de residência em viveiros de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Os autores afirmaram que os menores valores de Oxigênio Dissolvido, observados em um dos viveiros de seu estudo, ocorreram devido ao fornecimento diário de ração, que, somado aos produtos de excreção dos peixes, criaram um suprimento contínuo de

nutrientes, aumentando os processos de respiração e, conseqüentemente, levando a uma alta taxa de decomposição.

Portanto, os baixos valores de oxigênio dissolvido medidos em E2 e E3 também podem estar associados ao consumo de oxigênio pelos processos de decomposição da ração não consumida, uma vez que nesse mês também foi registrada a maior quantidade de ração fornecida de todo o período (Tabela 2).

BACCARIN *et al.* (2000), em estudo sobre nutrientes em tanques de tilápia vermelha, também registraram baixos valores de OD. Os autores afirmaram que a renovação contínua da água, que retira o excesso de matéria orgânica, diminuindo os processos de decomposição que consomem oxigênio, não foi suficiente para manter bons níveis de oxigênio dissolvido.

Da mesma forma, a renovação da água do viveiro estudado, possivelmente, não foi suficiente na remoção desse excesso de matéria orgânica, levando às altas taxas de decomposição, consumindo o oxigênio e, assim, contribuindo para os baixos valores de OD.

Deve-se destacar que os valores de oxigênio dissolvido sofrem variações ao longo do dia. As taxas de OD tendem a ser mais elevadas durante o dia, devido aos processos de fotossíntese que ocorrem somente no período diurno, e podem sofrer quedas bruscas à noite, por causa da respiração dos organismos do viveiro (MERCANTE *et al.*, 2007). As baixas concentrações de oxigênio dissolvido obtidas sugerem que os níveis de oxigênio no viveiro (E2) podem ter atingido níveis críticos durante a noite, uma vez que todas as amostragens foram realizadas por volta das 10 horas da manhã.

As estações 2 e 3 também apresentaram altas concentrações de fósforo total, nitrogênio total, ortofosfato, nitrogênio amoniacal total e clorofila *a*, em relação às outras estações de coleta. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por SCHNECK *et al.* (2007). Os autores também observaram, em estudo com impactos causados por efluentes de piscicultura, que os fatores

físicos e químicos mais pronunciados foram aqueles diretamente associados ao manejo do viveiro, verificando altas concentrações de fósforo, nitrogênio e Clorofila *a*.

Uma vez que a água de abastecimento (E1) não apresentou valores altos para tais fatores, pode-se deduzir que isto se deve à interferência causada pelo manejo. A entrada de compostos orgânicos e inorgânicos, através de adubos, fertilizantes e ração, elevou os níveis de nitrogênio e fósforo em E2 e E3, o que favoreceu a intensificação dos processos fotossintéticos, refletindo no aumento da concentração de clorofila *a*.

Em todas as amostragens, exceto em novembro, a zona de mistura (E4) também apresentou valores de fósforo total acima do limite, de 0,1 mg.L⁻¹, recomendado pela Resolução CONAMA 357/2005 para ambientes lóticos. A Estação 5 apresentou valores acima deste limite em janeiro e março I e a Estação 6, em dezembro, janeiro e março I.

As concentrações de nitrogênio total das estações 2 e 3 estão, possivelmente, associadas às quantidades de ração fornecida (Tabela 2), uma vez que variaram de forma semelhante. Segundo PEREIRA e MERCANTE (2004), em piscicultura intensiva, a principal fonte de compostos nitrogenados incorporados à água é a alimentação.

Tanto as concentrações de nitrogênio total de E2 e E3 quanto à quantidade de ração fornecida aumentaram continuamente até fevereiro, quando atingiram seus valores máximos (2,539 mg.L⁻¹, 3,426 mg.L⁻¹ e 35,9 kg, respectivamente). Em março, a quantidade de ração fornecida diminuiu para 31,4 kg, e as concentrações de nitrogênio total de E2 e E3 também sofreram queda, diminuindo para 1,133 mg.L⁻¹ e 1,396 mg.L⁻¹, respectivamente.

Dentre os compostos nitrogenados medidos em E2 e E3 (nitrogênio amoniacal Total, nitrito e nitrato), o nitrogênio amoniacal total apresentou as maiores concentrações. Isto também foi observado por SIPAÚBA-TAVARES *et*

al. (1999), que atribuíram esse fato às taxas de decomposição de matéria orgânica, excreção dos peixes e ração não consumida, normalmente altas em viveiros de piscicultura.

As maiores concentrações de nitrogênio amoniacal total de E2 e E3 foram registradas nas amostragens de fevereiro e março I (final do ciclo de cultivo). Nesses meses também foram registradas as maiores quantidades de ração fornecida durante todo o estudo (Tabela 2) e as maiores concentrações de ortofosfato e clorofila *a* (Anexo 6).

De acordo com SIPAÚBA-TAVARES (2001), a maioria das algas assimila nitrogênio preferencialmente na forma amoniacal, por ser energeticamente mais viável, enquanto que, segundo SILVA *et al.* (2005), a forma predominante do fósforo nos tanques de piscicultura é o ortofosfato, prontamente assimilável pelo fitoplâncton.

Esses fatores sugerem que o aumento da concentração de nitrogênio amoniacal e ortofosfato foi favorecida pela entrada de nutrientes da ração, o que contribuiu para proliferação das algas, refletindo no aumento dos níveis de clorofila *a*.

As estações 2 e 3 apresentaram valores médios para clorofila *a* de 52,62 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 60,03 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Em todas as amostragens do viveiro e do efluente, exceto em novembro (E2 e E3) e dezembro (apenas para E3), os valores medidos estavam acima do limite máximo recomendado pela Resolução CONAMA 357/2005, de 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Os valores de clorofila *a* encontrados nas estações localizados no corpo receptor (E4, E5 e E6) foram baixos, quando comparados aos valores de E2 e E3. Segundo SOUZA *et al.* (2000), o constante fluxo de água carrega os nutrientes e, conseqüentemente, a densidade fitoplanctônica, refletida nos valores de clorofila *a*, diminui. Por isso, a vazão do corpo receptor contribuiu para esses valores medidos em E4, E5 e E6, uma vez que a vazão média do

corpo receptor foi de 465,67 L.s⁻¹, bastante alta quando comparada à vazão média da Estação 3, de 2,22 L.s⁻¹ (Tabela 3).

A Análise dos Componentes Principais (ACP) incluiu a relação dos fatores: temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido, % de saturação de O₂, Fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total e clorofila *a*, com a distribuição espacial (Eixo 1) e temporal (Eixo 2) das amostragens.

O Eixo 1 resumiu 36% da variabilidade conjunta dos dados, enquanto que o Eixo 2, 25% (Tabela 6). Isto significa que 36% da variabilidade dos resultados desses fatores é explicada em função da distribuição espacial das amostragens (localização das estações de coleta), e 25% em função da distribuição temporal das amostragens.

Conforme ilustra a Figura 11, a ACP mostrou que as condições das águas das estações 2 e 3 foram semelhantes, posicionando todas as amostragens dessas estações, exceto de novembro, no lado negativo do Eixo 1, associadas aos maiores valores de: nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, fósforo total, ortofosfato, clorofila *a* e temperatura da água.

Os coeficientes de correlação de Pearson e Kendall (Tabela 6) mostraram que os fatores: nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, fósforo total, ortofosfato e clorofila *a* estiveram fortemente associados à distribuição espacial das amostragens, representada pelo Eixo 1. Isto se deve à fertilização, ao arraçoamento e à taxa de excreção dos organismos, que interferem na variabilidade desses resultados, diferenciando a qualidade da água de E2 e E3 das outras estações de coleta.

As amostragens de novembro de E2 e E3 foram as únicas dessas estações que se posicionaram no lado positivo do Eixo 1, indicando semelhança com as unidades amostrais posicionadas do mesmo lado deste eixo.

Isto ocorreu por que, em novembro, início do ciclo de cultivo, a interferência do manejo ainda não era intensa. A quantidade de ração fornecida e as taxas de excreção dos organismos e decomposição de matéria orgânica ainda não eram suficientes para diferenciar, em termos de nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, fósforo total, ortofosfato e clorofila *a*, a qualidade da água de E2 e E3 das outras estações de coleta.

A ACP também mostrou que as condições das águas das estações 1, 4, 5 e 6 são semelhantes, posicionando todas as amostragens referentes a essas estações no lado positivo do Eixo 1. Na Figura 11, os vetores referentes ao oxigênio dissolvido, % de saturação de O₂ e pH encontram-se associados às amostragens em que foram registrados seus maiores valores.

Os coeficientes de correlação de Pearson e Kendall referentes ao pH e % de Saturação de O₂ mostraram que a distribuição espacial das amostragens, representada pelo Eixo 1, teve pouca relação na variação de seus resultados. Por outro lado, também mostraram a alta relação desses fatores com a distribuição temporal das amostragens, posicionando seus vetores próximos ao Eixo 2.

Com esses resultados, a ACP demonstra que as águas das estações 2 e 3 se diferenciaram das outras estações de coleta, devido aos altos valores de nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, fósforo total, ortofosfato e clorofila *a* registrados nesses locais de amostragem. Com o arraçoamento, adição de fertilizantes e excreção dos peixes cultivados, o manejo do viveiro interferiu diretamente em tais fatores e, por isso, a localização das estações de coleta (Eixo 1) apresentou maior explicabilidade (36%) na variação dos resultados.

4.2. Caracterização do fitoplâncton

A Classe Chlorophyceae foi a mais expressiva, em termos de riqueza (Figura 12). Dos 147 táxons registrados durante todo o período estudado, 71 foram desta classe, corroborando com TUCCI *et al.* (2006). Segundo estes autores, diversos estudos, em corpos d'água de diferentes condições climáticas, ambientais e graus de trofia, demonstraram que as clorofíceas são amplamente distribuídas nas águas continentais brasileiras e quase sempre são dominantes em número de táxons.

A Classe Chlorophyceae também foi a mais representativa, em todas as estações de coleta, em termos de densidade (Figura 15). A elevada abundância de organismos desta classe também foi observada por MATSUZAKI *et al.* (2004), em um lago de pesque-pague, e por MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES (2006), em viveiro de piscicultura.

As análises qualitativas e quantitativas demonstraram uma clara distinção das estações 2 e 3 (viveiro e efluente) em relação às outras estações de coleta. As águas do viveiro e do efluente destacaram-se principalmente pela densidade de organismos, quase dez vezes superior aos valores registrados nos outros locais de amostragem (Figura 14).

Diversos autores discutem sobre como o manejo de viveiros de piscicultura contribui para o aumento no aporte de nutrientes na água e, conseqüentemente, na proliferação de microalgas (SIPAÚBA-TAVARES, 1994; MAINARDES-PINTO e MERCANTE, 2003; MERCANTE *et al.*, 2004; MACEDO e SIPAÚBA-TAVARES, 2005; PAZ *et al.*, 2005; CASTRO *et al.*, 2006).

Dessa forma, os altos valores de densidade fitoplanctônica de E2 e E3 refletem as mudanças nos aspectos abióticos causadas pela interferência do manejo do viveiro (ver capítulo 4.1). Uma vez que a água de abastecimento (Estação 1) apresentou baixos valores de densidade de organismos, é possível inferir que foi o aumento nas concentrações de nutrientes (principalmente

nitrogênio e fósforo), que contribuiu para o desenvolvimento do fitoplâncton no viveiro.

Além dos altos valores de densidade total de organismos, as estações 2 e 3 também apresentaram maior representatividade das Classes Cyanobacteria e Xanthophyceae, em relação às outras estações de coleta.

A Classe Cyanobacteria foi a segunda mais expressiva nas estações 2 e 3, em termos de densidade de organismos (Figura 15). Isto pode estar relacionado com as estratégias adaptativas deste grupo. De acordo com SANT'ANNA *et al.* (2006), as cianobactérias possuem adaptações, que possibilitam seu intenso desenvolvimento em ambientes eutróficos, entre elas: habilidade de armazenar fósforo no interior de suas células, tornando-se capazes de realizar divisão celular mesmo quando esse nutriente se torna limitante; capacidade de fixar nitrogênio atmosférico; habilidade de migrar na coluna d'água graças à presença de aerótopos (vesículas de gás) nas células, que lhes permitem se posicionar na zona eufótica para aproveitar a luz e os nutrientes disponíveis de forma mais eficiente.

A Classe Xanthophyceae apresentou maior contribuição para a riqueza (Figura 13) e para a densidade de organismos em E2 e E3 (Figura 15), onde também foram registrados os maiores valores de temperatura e de concentração de fósforo (Tabela 4). Esses resultados corroboram com BOVO-SCOMPARIN *et al.* (2005), que verificou a correlação positiva entre a densidade de xantofíceas e a temperatura, e entre sua biomassa e a disponibilidade de fósforo.

Além das xantofíceas, as altas temperaturas registradas em E2 e E3 também podem ter favorecido o aumento da densidade de algas de todos os grupos. A temperatura interfere na taxa de multiplicação dos organismos, controlando as reações enzimáticas que ocorrem no interior das células (ALAM *et al.*, 2001). Em todas as amostragens, as estações 2 e 3 apresentaram as temperaturas mais altas. Isto pode ter interferido na velocidade dessas reações

enzimáticas, acelerando o metabolismo celular e, conseqüentemente, contribuindo para o aumento da densidade fitoplanctônica.

Outro fator que contribui para a distinção das estações 2 e 3, em relação aos outros locais de amostragem, são as características de ambiente lótico de E1, E4, E5 e E6. A água da Estação 1 tinha origem do Reservatório do Borba (ambiente lêntico), mas era canalizada, por toda a distância do reservatório até o viveiro. O excedente desse reservatório desaguava no Ribeirão do Borba (ambiente lótico), onde as estações 4, 5 e 6 estavam localizados.

Segundo RODRIGUES *et al.* (2007), os ambientes lóticos fornecem habitats que estão sujeitos a constantes mudanças e, nestes ambientes, a manutenção e o desenvolvimento do fitoplâncton podem ocorrer, porém raramente são mantidos por um longo período, pois são transportados continuamente à jusante. Os mesmos autores concluem que na medida em que o ambiente se torna lótico, a abundância e a riqueza fitoplanctônicas tendem a diminuir. Isto explica as baixas densidades de organismos das estações 1, 4, 5 e 6, em relação a E2 e E3.

Esse mesmo fator, possivelmente, explica a razão de a Classe Cryptophyceae ter tido maior representatividade, em termos de densidade, nas estações 1, 4, 5 e 6 (Figura 15). TUCCI *et al.* (2006) afirma que organismos desta classe são considerados como oportunistas e indicam alterações nas características ambientais, na medida em que essas alterações levam à exclusão de outros grupos e as criptofíceas ocupam os novos nichos.

Ou seja, a mudança de ambiente lêntico para lótico provocou alterações na comunidade de algas, com aumento da representatividade de criptofíceas nas estações 1, 5 e 6, devido à sua alta taxa de reprodução e maior adaptabilidade à mistura turbulenta da coluna d'água (SILVA *et al.*, 2001).

A Classe Euglenophyceae também apresentou maior representatividade nas estações 1, 4, 5 e 6, em relação a E2 e E3 (Figura 15). De acordo com

GIANI *et al.* (1999), a capacidade de locomoção das euglenofíceas as tornam capazes de se aproveitar dos nutrientes das camadas mais profundas e, em seguida, voltar para a região eufótica. Como esses locais de amostragem possuem características de ambiente lótico, a Classe Euglenophyceae pode ter sido favorecida por sua adaptação locomotora.

Portanto, em termos de densidade fitoplanctônica, as estações 2 e 3 apresentaram os valores mais altos devido à entrada de nutrientes causada pelo manejo do viveiro. Com isso, as altas concentrações de nitrogênio e fósforo promoveram o desenvolvimento das algas.

Por outro lado, as características do corpo d'água receptor provocaram a queda dos valores de densidade de organismos devido à mudança de ambiente lântico (Reservatório do Borba, no caso de E1 e E5, e viveiro, no caso de E4 e E6) para lótico (corpo d'água). Essas alterações na comunidade levaram à diminuição da representatividade, ou mesmo à exclusão, de alguns grupos, (como Xanthophyceae e Zygnemaphyceae, de E3 para E4), enquanto outros, como os flagelados (Cryptophyceae e Euglenophyceae), foram favorecidos por suas adaptações. Assim, as estações 1, 4, 5 e 6 apresentaram baixos valores de densidade de organismos (Figura 14), com maior representatividade de criptofíceas e euglenofíceas (Figura 15).

Deve-se destacar que a origem das águas da Estação 5 (Ribeirão do Borba) é o excedente do reservatório, à montante, do próprio ribeirão. Como este reservatório não foi incluído no desenho amostral, não foi possível discutir, de forma consistente, as causas das variações na estrutura das comunidades desses locais de amostragem. Da mesma forma ocorre com a Estação 1 (a água de abastecimento que era canalizada deste reservatório até o viveiro).

As estações 2 e 3 apresentaram valores de densidade de organismos semelhantes em todas as amostragens. Os menores valores foram registrados em dezembro, quando também foram registrados os maiores valores de sólidos totais dissolvidos.

Em dezembro, também foi registrada a maior precipitação acumulada (Figura 10). Possivelmente, as chuvas tiveram um efeito de diluição no viveiro, refletindo em baixos valores de densidade fitoplanctônica. Também podem ter favorecido a ressuspensão do sedimento do fundo, contribuindo em maiores valores de sólidos totais dissolvidos, o que diminuiria a penetração de luz na zona eufótica e, conseqüentemente, menores valores de densidade de algas.

Os maiores valores de densidade de E2 e E3 foram registrados na amostragem de março I. Nesta amostragem, também foram verificados os maiores valores de temperatura da água, nitrogênio amoniacal total, fósforo total e ortofosfato.

Como já foi citado no capítulo 4.1, a maioria das algas assimila nitrogênio preferencialmente na forma de amoniacal, por ser energeticamente mais viável (SIPAÚBA-TAVARES, 2001), e o ortofosfato, forma predominante do fósforo nos viveiros de piscicultura, é prontamente assimilável pelo fitoplâncton (SILVA *et al.*, 2005). Portanto, pode-se inferir que os altos valores de nitrogênio amoniacal total, fósforo total e ortofosfato contribuíram diretamente para o aumento nos valores de densidade verificados em março I. Esse aumento foi também favorecido pelas altas temperaturas da água (Anexo 6).

Não houve semelhança entre as variações de densidade da Estação 1 com a Estação 2. As alterações físicas e químicas do viveiro (capítulo 4.1), causadas pelo arraçoamento, excreção dos peixes e decomposição de matéria orgânica, refletiram diretamente nos valores de densidade fitoplanctônica do viveiro ao longo das amostragens. Assim, o manejo do viveiro interferiu nas características da água de tal forma que as variações da densidade de algas da Estação 2 se mostrou diferente daquela da Estação 1.

As estações 4, 5 e 6 apresentaram os menores valores de densidade de organismos na amostragem de janeiro. Possivelmente, devido ao alto valor de

vazão registrado neste mês (Tabela 3). Segundo SOUZA *et al.* (2000), o constante fluxo de água carrega os nutrientes e, conseqüentemente, a densidade fitoplanctônica diminui.

Na amostragem de dezembro, a Estação 4 apresentou os maiores valores de densidade de organismos. Esses resultados não eram esperados, uma vez que, em dezembro, tanto E3, quanto E5, apresentou baixos valores de densidade, em relação às outras amostragens.

A Estação 4 (zona de mistura) é resultado da mistura da dinâmica de seus contribuintes (E3 e E5), constituindo um local de características heterogêneas. Por isso, as razões dos altos valores de densidade registrados na amostragem de dezembro não foram conclusivas.

A Estação 6 apresentou a variação dos valores de densidade de maneira relacionada tanto a E4 quanto a E5. Nota-se que assim como E4, os maiores valores foram registrados em dezembro. E, assim como E5, houve aumento da densidade de organismos de fevereiro para março I, com queda logo na amostragem seguinte. Dessa forma, foi demonstrado que a estrutura do fitoplâncton de E6 está sob influência direta das características da Estação 4 e da Estação 5.

A classificação dos táxons abundantes em grupos funcionais, segundo REYNOLDS *et al.* (2002), evidenciou as características eutróficas das estações 2 e 3. Também mostrou que lançamento direto do efluente no corpo d'água promoveu o aumento no número de táxons pertencentes a associações frequentes em locais eutróficos.

De todos os grupos funcionais registrados no período de estudo, a associação X1 apresentou os maiores valores de densidade em todos os locais de amostragem (Anexo 7).

Segundo REYNOLDS (1997), os organismos pertencentes à associação X1 são nanoplanctônicos, sendo potencialmente de crescimento rápido e de alta produtividade, dominando rapidamente os ambientes com alta disponibilidade de nutrientes e de luz. O mesmo autor afirma que as espécies X1 estão associadas com as clorofíceas do grupo J, tipicamente, em águas rasas e eutróficas.

Nas estações 2 e 3 foram observadas as maiores incidências de táxons da associações X1 e J, com altos valores de densidade de *Chlorella* spp., *Monoraphidium contortum*, *Monoraphidium minutum* e *Treubaria* spp. (associação X1) e de *Crucigenia tetrapedia*, *Dictyosphaerium* spp., *Scenedesmus* spp. e *Tetraedron minimum* (associação J). Esses resultados, portanto, apontam para as características eutróficas de E2 e E3, provocadas pelo aumento na concentração de nutrientes, consequentes do manejo do viveiro.

Outro fator, que influi na alta densidade de tais espécies no viveiro, é que a tilápia do Nilo também se alimenta do fitoplâncton. De acordo com FIGUEREDO e GIANI (2005), as algas não podem ser selecionadas visualmente pela tilápia, mas a habilidade de certas espécies de evitar a ingestão ou a digestão pode levar a mudanças na estrutura do fitoplâncton. Ou seja, a exclusão das espécies mais vulneráveis representa uma vantagem para o desenvolvimento de espécies capazes de escapar da predação.

FIGUEREDO e GIANI (2005), em seu estudo sobre as interações ecológicas entre a tilápia do Nilo e o fitoplâncton, verificaram que as clorofíceas de tamanho reduzido escapavam passivamente da predação dos peixes, tornando-se dominantes. Isto ocorreu por que a tilápia do Nilo não é capaz de se alimentar de espécies menores do que 8 μm (TURKER *et al.*, 2005).

Portanto, pode-se inferir que a alta densidade de clorofíceas nanoplanctônicas nas estações 2 e 3 ocorreu devido às suas características de

rápido crescimento e alta produtividade. Rapidamente puderam dominar o ambiente, favorecidas pela alta concentração de nitrogênio e fósforo e por seu tamanho reduzido, que lhes permitiu evitar a predação dos peixes.

A alta densidade de *Aulacoseira granulata* e *Aphanocapsa delicatissima*, associações P e K, respectivamente, nas estações 2 e 3, reforçam as características eutróficas desses locais de amostragem. Ambas são espécies, normalmente, encontradas em locais enriquecidos com nutrientes (Tabela 7).

As associações X1 e J também ocorreram em altos valores de densidade nas estações 4 e 6. No entanto, em menor escala do que em E2 e E3, uma vez que apresentaram densidade reduzida de táxons de ambas as associações. Isto indicaria condições menos eutróficas nas estações 4 e 6, em relação a E2 e E3.

As estações 1 e 5 apresentaram abundância da associação X1, mas baixíssima de J, o que indicaria condições mais pobres em nutrientes do que as encontradas em E4 e E6.

Outro fato que indica menor concentração de nutrientes em E1 e E5 é a presença da associação Z, considerada abundante apenas nesses locais de amostragem. A associação Z, representada por gêneros como *Synechococcus* e *Synechocystis*, é típica de águas mais oligotróficas (REYNOLDS, 1997).

Com isso, ao compararmos E1 (água de abastecimento) com E3 (efluente), verifica-se que o aporte de nutrientes, promovido pelo manejo do viveiro, favoreceu o aumento na densidade e no número de táxons de algas frequentes em locais eutróficos. Ao compararmos E4, E5 e E6, observa-se que, após o encontro do efluente com o corpo d'água, também houve incremento na densidade fitoplanctônica e no número de táxons de associações X1 e J.

Os resultados da ACP também apontaram para a diferença de E2 e E3, em relação às outras estações. Conforme ilustra a Figura 16, a ACP posicionou

todas as amostragens relativas ao E2 e E3 no lado esquerdo do Eixo 1, associadas aos maiores valores de densidade de todos os táxons descritores. A maioria das amostragens relativas às outras estações foi posicionada do lado direito desse mesmo Eixo.

De toda a variação desses resultados, 63% ocorreram em função da distribuição espacial das amostragens (localização das estações de coleta), representada pelo Eixo 1. A distribuição temporal das amostragens, representada pelo Eixo 2, explicou em apenas 10% da variação desses resultados.

Novamente, as altas concentrações de nutrientes favoreceram o desenvolvimento fitoplanctônico no viveiro, refletindo nos valores de densidade dos táxons descritores, diferenciando as estações 2 e 3 dos outros locais de amostragem. Por isso, 63% da variabilidade dos resultados analisados pela ACP ocorreram em função da localização das estações de coleta (Eixo 1).

4.3. Ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Conforme ilustra a Figura 17, o Teste de Tukey mostrou que, de maneira geral, as diferenças significativas, em relação ao grupo controle, concentraram-se nas estações 2 e 3 (viveiro e efluente). Isto ocorreu devido às altas concentrações de nutrientes nas águas do viveiro, que promoveram maior crescimento algáceo quando *Pseudokirchneriella subcapitata* foi exposta a essas amostras.

Nas outras amostragens, houve apenas diferença significativa, em relação ao controle, nas estações 4 e 5, na amostragem de dezembro e nas estações 4 e 6, na amostragem de março I.

Destaca-se, novamente, que a Estação 4 (zona de mistura) é um local de características heterogêneas, pois recebe influência das águas de E3 e de E5 (Figura 1). Em dezembro, como foram registradas diferenças significativas apenas nas estações 4 e 5, pode-se inferir, que os fatores que contribuíram para o crescimento algáceo nos ensaios da Estação 5 também contribuíram para os resultados obtidos na Estação 4. No entanto, a origem das águas da Estação 5 (Ribeirão do Borba) é o excedente do reservatório à montante do próprio Ribeirão. Como este reservatório não foi incluído no desenho amostral, não foi possível discutir, de forma consistente, as razões do crescimento algáceo obtido nos ensaios com amostras da Estação 5. Da mesma forma ocorre com a Estação 1 (a água de abastecimento que era canalizada deste reservatório até o viveiro).

Na amostragem de março I, foram verificadas diferenças significativas, em relação ao controle, apenas nas estações 3, 4 e 6. Nesta amostragem, não foi verificada diferença significativa, em relação ao controle, na Estação 5, o que indica que os fatores que contribuíram para o crescimento algáceo registrado no ensaio da Estação 3, também contribuíram para os resultados obtidos na Estação 4 e na Estação 6. Ou seja, nesta amostragem, o potencial

do efluente em estimular o crescimento algáceo continuou presente na água, mesmo após seu encontro com o corpo receptor.

O Teste de Tukey também demonstrou que, ao longo dos meses estudados, houve maior crescimento algáceo nos ensaios realizados com amostras coletadas na segunda metade do período de estudo. Isto ocorreu, possivelmente, devido ao acúmulo contínuo de nutrientes na água do viveiro. Com *Pseudokirchneriella subcapitata* sendo exposta a amostras mais enriquecidas, seu crescimento se mostrou mais intenso, resultando em maiores valores de densidade algácea ao final dos ensaios.

Conforme ilustra a Figura 18, o crescimento algáceo dos ensaios com amostras do viveiro e do efluente acompanhou, principalmente, as concentrações de nitrogênio total, aumentando continuamente até fevereiro e sofrendo queda na amostragem seguinte. Esta variação também acompanhou a quantidade de ração fornecida (Tabela 2), que também aumentou continuamente até fevereiro, sofrendo uma pequena queda na amostragem seguinte.

Como já foi citado no capítulo 4.1, em piscicultura intensiva, a principal fonte de compostos nitrogenados incorporados à água é a alimentação (PEREIRA e MERCANTE, 2004).

Portanto, esses resultados sugerem que o crescimento algáceo, observado nos ensaios das estações 2 e 3, foi condicionado pelas concentrações de nitrogênio total, determinadas pela quantidade de ração fornecida.

Os resultados dos ensaios com diluição de efluente mostraram, pelo Teste de Tukey, diferença significativa, em relação ao grupo controle, apenas nas concentrações de 25%, 50% e 100%, em diferentes amostragens (Figura 19). Obteve-se CEO (Concentração de efeito observado) de 25% e CENO (Concentração de efeito não observado) de 12,5% no mês de novembro, CEO

50% e CENO 25% em janeiro e março I, CEO 100% e CENO 50% em fevereiro e março II.

Assim, para uma margem de segurança maior, considerou-se CEO de 25% e CENO de 12,5%. Ou seja, no sistema estudado, infere-se que a pluma, de efeito estimulante da produção primária do efluente, pode-se estender até onde esse efluente encontrar-se naturalmente diluído em 12,5% de sua concentração inicial.

Na maioria dos trabalhos realizados com *Pseudokirchneriella subcapitata*, os autores observaram inibição de crescimento em seus resultados (RODRIGUES *et al.*, 2003; GUÉGUEN *et al.*, 2004; DELLAMATRICE e MONTEIRO, 2006; IVANOVA e GROUDEVA, 2006; MA *et al.*, 2006). No entanto, os resultados observados no presente estudo foram de estimulação de crescimento, e não de inibição. Isto ocorreu, possivelmente, devido às características mesotróficas e eutróficas das amostras analisadas (Tabela 5).

O arraçoamento, a excreção dos peixes e a decomposição de matéria orgânica promoveram o aumento da concentração de nutrientes na água. Assim, quando *Pseudokirchneriella subcapitata* foi exposta às amostras do viveiro e do efluente, houve estímulo de crescimento de algas, e não inibição.

O crescimento observado nos ensaios com amostras das estações 4 e 6 também pode ter sido promovido pelos nutrientes ainda presentes na zona de mistura e à jusante dela, uma vez que o efluente do viveiro era descartado sem tratamento.

As estações 1 e 5 não estiveram sob influência das águas do viveiro, devido ao sentido do fluxo da água do sistema (Figura 1). No entanto, conforme o Índice de Estado Trófico calculado (Tabela 5), as águas de E1 e E5 são mesotróficas e eutróficas, respectivamente. Isto significa que as amostras

provenientes desses locais de amostragem possuíam características nos aspectos físicos e químicos capazes de estimular o crescimento algáceo.

Portanto, a inibição do crescimento algáceo não foi observada nos ensaios por causa das características mesotróficas (E1 e E4) e eutróficas (E2, E3, E5 e E6) das águas do sistema estudado (Tabela 5). Essas características promoveram o crescimento algáceo, quando *Pseudokirchneriella subcapitata* foi exposta às amostras coletadas.

No entanto, de acordo com MAXIMINIANO *et al.* (2005), além de altos teores de matéria orgânica, os efluentes de piscicultura podem conter substâncias químicas, prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, que são utilizadas para controle de patógenos e parasitas. Por isso, deve-se considerar também a possibilidade do crescimento algáceo obtido nos ensaios ter mascarado a presença de substâncias de efeito tóxico. Ou seja, a alta concentração de nutrientes do viveiro pode ter sido alta o suficiente para ter estimulado o crescimento das algas a tal ponto que o efeito de inibição não pôde ser detectado apenas com os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados com este tipo de organismo.

MARQUES *et al.* (2008) realizaram ensaios com *Chlorella vulgaris* e *Pseudokirchneriella subcapitata* em águas superficiais de plantação de arroz. Além de concluírem que *Pseudokirchneriella subcapitata* foi mais sensível do que *Chlorella vulgaris*, também obtiveram, em algumas de suas amostragens, estímulo de crescimento algáceo, ao invés de inibição. Os autores atribuíram este crescimento às maiores quantidades de fosfatos e nitratos, presentes nos fertilizantes das plantações. Da mesma forma, no presente estudo, os nutrientes presentes nas amostras estimularam o crescimento de algas nos ensaios, sobrepondo possíveis efeitos de inibição.

Ao mesmo tempo, os ensaios ecotoxicológicos com as amostras brutas foram válidos para demonstrar que o manejo do viveiro contribui diretamente para o crescimento de algas, refletindo em maiores valores, com diferença

significativa, em relação ao controle, nos ensaios das Estações 2 e 3. Os ensaios também demonstraram que os efeitos do enriquecimento da água do viveiro ainda puderam ser detectados no corpo receptor, como foi observado na amostragem de março I.

YAMAGUSHI (2007) realizou ensaios ecotoxicológicos com *Ceriodaphnia dubia* com as mesmas amostras deste estudo. Em seus ensaios com amostras brutas, obteve toxicidade aguda e crônica para todas as estações de coleta. Isso indica que os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata* foram mais eficazes para indicar o incremento de nutrientes como o fator de maior modificação ao longo do fluxo de água no sistema, uma vez que os resultados dos ensaios com *Ceriodaphnia dubia* foram semelhantes para todas as estações.

Já os ensaios ecotoxicológicos com diluição de efluente se mostraram importantes para verificar até que ponto o efluente deveria estar naturalmente diluído no corpo receptor, para que os efeitos de estímulo de crescimento sejam neutralizados. No caso deste estudo, os efeitos de estímulo de crescimento algáceo, provocados pelos nutrientes do viveiro, não seriam detectados, no corpo receptor, a partir da estação em que o efluente se encontra naturalmente diluído em, pelo menos, 12,5% de sua concentração inicial. Esse conhecimento pode servir como uma importante ferramenta para mapear a extensão dos efeitos de eutrofização dos corpos receptores, que constitui um dos maiores impactos ambientais causados pelo lançamento de efluentes de piscicultura.

4.4 Síntese da discussão

- O arraçoamento, a excreção dos peixes e a quantidade de matéria orgânica depositada no fundo do tanque promoveram o aumento da concentração de fósforo total, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, ortofosfato e clorofila *a* nas Estações 2 e 3.
- Tais alterações nos aspectos abióticos refletiram na composição e na estrutura do fitoplâncton, com aumento nos valores de densidade e no número de táxons nas Estações 2 e 3. Nesses locais de amostragem, também foi verificada alta abundância de espécies de associações X1 e J, frequentes em locais eutróficos.
- As características de ambiente lótico das Estações 1, 4, 5 e 6 influíram diretamente nas características do fitoplâncton, com baixos valores de densidade e em maior representatividade de organismos oportunistas.
- No corpo receptor, houve incremento nos valores de densidade fitoplanctônica e no número de espécies frequentes em locais eutróficos, após seu encontro com o efluente.
- A Análise de Componentes Principais (ACP) dos fatores abióticos e Clorofila *a* e a ACP dos táxons descritores demonstraram que a localização das estações de coleta teve maior influência na variabilidade dos resultados. As maiores concentrações de fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal total, clorofila *a* e os maiores valores de densidade dos táxons descritores estiveram associados às amostragens das Estações 2 e 3. A entrada de nutrientes, que ocorre em função do manejo do viveiro, eleva a concentração de tais fatores abióticos e, conseqüentemente, favorece o desenvolvimento do fitoplâncton, diferenciando as características dessas estações dos outros locais de amostragem.

- Os ensaios ecotoxicológicos realizados com *Pseudokirchneriella subcapitata* confirmaram o potencial das águas das Estações 2 e 3 em estimular o crescimento algáceo.
- Os ensaios ecotoxicológicos com amostras brutas também demonstraram que o potencial do efluente em estimular o crescimento algáceo ainda pôde ser detectado no corpo receptor, como foi observado na amostragem de março I.
- Os ensaios ecotoxicológicos com diluição do efluente mostraram que, neste estudo, o potencial do efluente em provocar estímulo de crescimento algáceo se estende até o momento em que o mesmo encontrar-se naturalmente diluído em, pelo menos, 12,5% de sua concentração inicial.

5. CONCLUSÕES

A realização deste trabalho permitiu concluir que o manejo do viveiro provocou alterações nas características físicas e químicas da água, principalmente nas concentrações de nitrogênio e fósforo.

Tais alterações refletiram diretamente na estrutura do fitoplâncton, que variou conforme as características ambientais de cada local de amostragem. Por isso, a análise qualitativa e quantitativa da comunidade de microalgas constituiu uma ferramenta útil na caracterização ambiental do sistema estudado.

Neste estudo, também verificou-se que o efluente provocou o incremento na abundância e na riqueza fitoplanctônica à jusante do local onde o mesmo é lançado no o corpo receptor.

Os ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata* demonstraram ser uma ferramenta viável na determinação do potencial do efluente de piscicultura em estimular o crescimento algáceo nos corpos receptores e, assim, estimar a extensão dos riscos de eutrofização do meio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. 2005. *Ecotoxicologia aquática Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)* NBR 12648. Associação Brasileira de Normas Técnicas. São Paulo. 24 p.
- ANAGNOSTIDIS, K. & KOMÁREK, J. 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 3: Oscillatoriales. *Algological Studies* 50(53):327-472.
- APHA; AWWA; WEF, 2005, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21^a ed. APHA – American Public Health Association, AWWA – Federation. Washington, D. C. 1085p.
- BACCARIN, A. E.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D.; COLHERINHAS, P. F. Níveis de nitrogênio e fósforo na água de tanques de cultivo de tilápia vermelha submetidas a diferentes manejos alimentares. *Acta Scientiarum*. 22(2):485-489.
- BEYRUTH, Z.; TUCCI-MOURA, A.; FERRAGUT, C.; MENEZES, L. C. B. 1998. Caracterização e variação sazonal do fitoplâncton de tanques de aquicultura. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 10(1):21-36.
- BOURRELLY, P. 1981. *Les algues d'eau douce: initiation à la systématique, 2: les algues jaunes et brunes, les Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées*. Volume 2. Paris: Éditions N. Boubée. 517p.
- BOURRELLY, P. 1985. *Les algues d'eau douce: initiation à la systématique, 3: les algues bleues et rouges, les Eugléniens, Peridiniens, et Cryptomonadines*. Volume 3. (Ed. rev. aum.) Paris: Éditions N. Boubée. 606p.
- BOVO-SCOMPARIN, V. M.; BORGES, P. A. F.; TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C. 2005. Xanthophyceae planctônicas da planície de inundação do alto rio Paraná. *Acta Scientiarum* 27(1):9-20.
- BOYD, C. E. 1981. *Water quality in warmwater fish ponds*. Agricultural Experiment Station, Auburn University, Auburn, Alabama. 359p.
- BOYD, C. E. 1990. *Water quality in ponds for aquaculture*. Auburn University, Alabama. Birmingham Publishing Co. Alabama, 482 p.
- BURFORD, M. A. e PEARSON, D. C. 1998. Effect of different nitrogen sources on phytoplankton composition in aquaculture ponds. *Aquat. Microb. Ecol.* 15:277-284.
- CACERES, E. J. 1996. Algas como modelos experimentales. *In: IV CONGRESSO LATINO-AMERICANO, II REUNIÃO IBERO-AMERICANA, VII REUNIÃO BRASILEIRA DE FICOLOGIA*. 1996. *Anais*. Caxambu, MG.
- CAMARGO, J. A. e ALONSO, A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environmental International*. 32:831-849.

- CAO, L.; WANG, W.; YANG, Y.; YANG, C.; YUAN, Z.; XIONG, S.; DIANA, J. 2007. Environmental impact of aquaculture and countermeasures to aquaculture pollution in China. *Env. Sci. Pollut. Res.* 14(7):452-462.
- CARLSON, R.C. 1977. A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography* 22 (2):361-369.
- CASTAGNOLLI, N. e CYRINO, J. E. 1986. *Piscicultura nos trópicos*. Editora Manole LTDA. São Paulo. 152p.
- CASTELLANI, D. e BARRELLA, W. 2005. Caracterização da piscicultura na Região do Vale do Ribeira – SP. *Cienc. Agrotec., Larvas*, 29 (1): 168-176.
- CASTRO, P. M. G.; MARUYAMA, L. S.; MENEZES, L. C. B.; MERCANTE, C. T. J. 2006. Perspectivas da atividade de pesqueiros no Alto Tietê: Contribuição à gestão de usos múltiplos da água. *B. Inst. Pesc.* São Paulo. 32(1):1-14.
- COMAS, A. G. 1996. Las Chlorococcales dulciaquícolas de Cuba. 1996. *Bibliotheca Phycologica*, Stuttgart, v. 99, 192p.
- CONAMA. 2005. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente. 23p.
- DELLAMATRICE, P. M. e MONTEIRO, R. T. R. 2006. Toxicidade de resíduos têxteis tratados por microorganismos. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.* 1(1):63-66.
- ESTEVES, F. A. 1998 *Fundamentos de limnologia*. 2ª. ed. Rio de Janeiro. Interciência. 602p.
- FAO. 2007. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Food And Agriculture Organization of the United Nations. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. 180p.
- FARIA, A.C.E.A.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; FURUYA, W.M. 2001. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e variáveis físicas e químicas em tanques experimentais submetidos a diferentes adubações orgânicas. *Acta Scientiarum*. 23(2):291-297.
- FIGUEREDO, C. C. e GIANI, A. 2005 Ecological interactions between Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) and the phytoplanktonic community of the Furnas Reservoir (Brazil). *Freshwater Biology*. 50(8):1391-1403.
- FIGUEIREDO, M.C.B.; ARAUJO, L.F.P.; GOMES, R.B.; ROSA, M. F.; PAULINO, W. D.; MORAIS, L. de F. S. 2005. Environmental impacts of inland shrimp farming effluents. *Eng. Sanit. Ambient.* 10(2):167-174.
- GONZALEZ, M.A., PARRA, O.O., CIFUENTES, A.S. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas em laboratório. In: ALVEAL, K.; FERRARIO, M. E.; OLIVEIRA, E. C.; SAR, E (eds). 1995. *Manual de Métodos Ficológicos*. Universidad de Concepción, Chile. p. 219-250.

GUÉGUEN, C.; GILBIN, R.; PARDOS, M.; DOMINIK, J. 2004. Water toxicity and metal contamination assessment of a polluted river: the Upper Vistula River (Poland). *Applied Geochemistry*. 19:153-162.

GULLEY, D. D., BOELTER, A. M., BERGMAN, H. L., 1991, *TOXTAT 3.3.: Fish Physiology and Toxicology Laboratory*. Dept. Zool. and Physiol., Univ. WY, Laramie, WY.

IVANOVA, I e GROUDEVA, V. 2006. Use of *Selenastrum capricornutum* growth inhibition test for testing toxicity of metal ions in soil and water. *Biotechnol & Biotechnol. Eq.* 20(1):179-183.

KNIE, J. L. W. & LOPES, E. W. B. 2004. *Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis, FATMA/GTZ.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1986. Modern approach to the classification system of cyanophyte, 2: Chroococcales. *Algological Studies* 43:157-226.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 4: Nostocales. *Algological Studies* 56:247-345.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1999. Cyanoprokaryota. 1. Teil Chroococcales. In: Ettl, H., Gärtner, G.; Heynig, H. & Möllenhauer, D. (Ed.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. vol. 19/1, p. 1-548.

KUBITZA, F. 1998. *Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados*. Campo Grande. 66p.

LOBO, E. e LEIGHTON, G. 1986. Estruturas de las fitocenosis planctónicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. *Revista de Biología Marinha*. 22(1):143-170.

LUND, J. W. G.; KIPLING, C; LECREN, E. D. 1958. The invert microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia*. 11:143-170.

MA, J.; WANG, S.; WANG, P.; MA, L.; CHEN, X.; XU, R. 2006. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63:456-462.

MACEDO, C. F. e SIPAÚBA-TAVARES, L. H. 2005. Comunidade planctônica em viveiros de criação de peixes, em disposição sequencial. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 31(1): 22-27.

MAINARDES-PINTO, C. S. R e MERCANTE, C. T. J. 2003. Avaliação de variáveis limnológicas e suas relações com uma floração de Euglenaceae pigmentada em viveiro povoado com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus), São Paulo, Brasil. *Acta Scientiarum* 25(2):323-328.

- MARKER, A. F. H.; NUSCH, H.; RAI, H.; RIEMANN, B. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standartization of methods: conclusion and recommendations. *Arch. Hydrobiok. Belh.* 14:91-106.
- MARQUES, C. R.; ABRANTES, N.; FIGUEIREDO, D. R.; PEREIRA, M. J.; GONÇANLVES, F. 2008. Are *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella vulgaris* affected by environmental samples from a rice field?. *Water Air Soil Pollut.* 189:49-59.
- MATSUZAKI, M.; MUCCI, J.L.N.; ROCHA, A.A. 2004. Comunidade fitoplanctônica de um pesqueiro na cidade de São Paulo. *Rev. Saúde Pública.* 38(5):679-686.
- MATTHIENSEN, A.; YUNES, J.S.; CODD, G.A. 1999. Occurrence, distribution and toxicity of cyanobacteria from the Patos Lagoon estuary, Southern Brazil. *Rev. Bras. Biol.* 59(3):361-376.
- MAXIMIANO, A. A.; FERNANDES, R. O.; NUNES, F. P.; ASSIS, M. P.; MATOS, R. V.; BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.. 2005. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: Demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. *Ciência & Saúde Coletiva*, 10(2): 483-491.
- McCUNE, B. e MEFFORD, J. J. 1997. *PC-ord. Multivariate analysis of ecological data*, version 3.0. Oregon MjM Softwater Design, 47p.
- MERCANTE, C. T. J.; CABIANCA, M. A.; SILVA, D.; COSTA, S. V.; ESTEVES, K. E. 2004, Water quality in fee-fishing ponds located in the metropolitan region of São Paulo city, Brazil: an analysis of the eutrophication process. *Acta Limnol. Bras.*, 16 (1): 95-102.
- MERCANTE, C. T. J.; MARTINS, Y. K.; CARMO, C. F.; OSTI, J. S.; MAINARDES-PINTO, C. S. R.; TUCCI, A. 2007. Qualidade da água em viveiro de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. *Bioikos.* 21(2):79-88.
- MERCANTE, C. T. J.; SILVA, D.; COSTA, S. V. 2006. Avaliação da qualidade da água de pesqueiros na Região Metropolitana de São Paulo por meio do uso de variáveis abióticas e Clorofila. In: ESTEVES, K. E. e SANT'ANNA, C. L. (Org.). 2006. *Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo. Um estudo na Região Metropolitana de São Paulo.* São Paulo. RiMa Editora. 240p.
- MULLER-FEUGA, A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology.* 12:527-534.
- PÁDUA, D. M. C.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; SILVA, P. C.; PADUA, J. T. 1997. Variação diurna de parâmetros limnológicos em viveiros de piscicultura. *Anais Esc. Agron. e Vet.* 57(1):93-102.

PAGGI, L. C. e SIPAÚBA-TAVARES, L. H. 2007. Water quality evaluation through limnologic survey in a fish culture system in the Paranaíba region (Mato Grosso, Brazil). *Acta Limnol. Bras.* 19(4):463-472.

PAZ, M. F.; DE LUCA, S. J.; SHINMA, E. A., 2005, Desenvolvimento sustentável e a qualidade das águas de efluentes de sistemas aquícolas. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES, Campo Grande, 2005. *Anais*.

PEREIRA, L. P. F. e MERCANTE, C. T. J. 2004. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. *B. Inst. Pesca.* São Paulo. 31(1):81-88.

PESSOA, E. V. e RIBEIRO, S. de M. P. 2005. Caracterização da comunidade planctônica da estação de piscicultura Osmar Fontanele (Sobral/CE). In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2005. ABES, Campo Grande. *Anais*.

RIBEIRO, M. A. G.; KUBO, E.; MAINARDES-PINTO, C. S. R. 1997. Efeito do adubo orgânico e da dosagem de fertilizante químico no aumento do fitoplâncton e zooplâncton. *B. Inst. Pesca.* São Paulo. 24(único):57-64.

RODRIGUES, L. H. R.; ARENZON, A.; RAYA-RODRIGUES, M. T.; FONTOURA, N. F. 2003. Avaliação da sensibilidade de *Raphidocelis subcapitata* (Chlorococcales, Chlorophyta) ao sulfato de cobre e sulfato de zinco através de ensaios de toxicidade crônica. *Biociências*, Porto Alegre, 11(2):137-133.

ROJICKOVÁ-PADRTOVÁ, R. e MARSÁLEK, B. 1999. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. *Chemosphere.* 38(14):3329-3338.

ROUND, F.E. 1971. The taxonomy of the Chlorophyta II. *British Phycological Journal* 6(2):235-264.

SARTORY e GROBELLAR.1984. Extraction of chlorophyll a from a freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiology.* 114:177-187.

SHEPHERD, G. J. 1996. *FITOPAC 1: Manual de usuário*. Departamento do Botânica, Unicamp. Campinas. 95p.

SILVA, N. A., LIMA, E. B. N. R., ZEILHOFER, P., MECCA, M. J., 2005, Avaliação da qualidade da água de pisciculturas: ferramentas de análises e impactos associados à atividade. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES, Campo Grande, 2005. *Anais*.

SMITH, D. W. 1988. Phytoplankton and catfish culture: a review. *Aquaculture.* 74:167-189.

- SIMONSEN, R. 1979. The diatom system: ideas on phylogeny. *Bacillaria* 2:9-71.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. 1994. Limnologia aplicada à aquicultura. *Boletim Técnico FUNEP*. São Paulo. 1:1-72.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. 1996. Variação diurna de alguns parâmetros limnológicos em três viveiros de piscicultura submetidos a diferentes tempos de residência. *Acta Limnol. Bras.* 8:29-36.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BACCARIN, A. E.; BRAGA, F. M. de S. 2006. Limnological parameters and plankton community responses in Nile tilapia ponds under chicken dung and NPK (4-14-8) fertilizers. *Acta Limnol. Bras.* 18(3):335-346.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H., MORAES, M.A.G. de; BRAGA, F.M. de S., 1999, Dynamics of some limnological characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) culture tanks as function of handling. *Rev. Bras. Biol.*, 59 (4): 543-551.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. e ROCHA, O., 2001, *Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos*. Rima Editora, São Carlos, 106p.
- SCHNECK, F.; TORGAN, L. C.; SCHWARZBOLD., A. 2007. Epilithic diatom community in a high altitude stream impacted by fish farming in southern Brazil. *Acta. Limnol. Bras.* 19(3):341-355.
- SOUZA, V. L.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; URBINATI, E. C. 2000. Manejo alimentar e tempo de residência da água em viveiros de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Ciência Animal Brasileira*. 1(2):115-121.
- SOUZA JR., D. I. 2004. A degradação da bacia do Rio Paraíba do Sul. *Engevista*. 6(3):99-105.
- TAKINO, M.; MAIER, M. H.; SANTOS, D. C. 1985. Limnologia da Represa do Borba, Pindamonhangaba, São Paulo, Brasil I. Qualidade da água. *B. Inst. Pesca*. 12(2):67-76.
- TERZIYSKI, D.; GROZEV, G.; KALCHEV, R.; STOEVA, A. 2007. Effect of organic fertilizer on plankton primary productivity in fish ponds. *Aquacult. Int.* 15:181-190.
- TOLEDO, J. J. e CASTRO, J. G. D. 2001. Parâmetros físico-químicos da água em viveiros da estação de piscicultura de Alta Floresta, Mato Grosso. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. 1(3).
- TOLEDO Jr, A. P.; TALARICO, M.; CHINEZ, S. J.; AGUDO, E. G. 1983. A aplicação de modelos simplificados para a avaliação e processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. In: 12º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA, Rio de Janeiro: Engevix,. p.1-34.

- TORGAN, L. C. 2002. *Identificação de microalga (Chlorophyceae-Chlorococcales) do banco de cultivo do Departamento de Ecologia/UFRGS*. Porto Alegre, Fundação Zoobotânica, Relatório técnico.
- TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L.; GENTIL, R. C.; AZEVEDO, M. T. de P. 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea*. 32(2):147-175.
- TURKER, H.; EVERSOLE, A. G.; BRUNE, D. E. 2003. Filtration of green algae and cyanobacteria by Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in the Partitioned Aquaculture System. *Aquaculture*. 215:93-101.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen phytoplankton: methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9:1-38.
- VALENTIN, J. L. 2000. *Ecologia Numérica: Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. Ed. Interciência, Rio de Janeiro. 117p.
- VALENTI, W. C. 2002. Aqüicultura sustentável. *In: Congresso de Zootecnia, 12º, Vila Real, Portugal, 2002, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais... p. 111-118.*
- VIDOTTI, E.C. e ROLLEMBERG, M.C.E. 2004. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. *Quím. Nova*. 27(1):139-145.
- VINATEA-ARANA, L. 1997. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura*. Florianópolis: UFSC.
- VONSHAK, A. e MASKE, H. 1989. Algas: Técnicas de crescimento e produção de biomassa. *In: COOMBS, J. e HALL, D.O. 1989. Técnicas de bioprodutividade e fotossíntese*. Universidade Federal do Ceará. 292 p.
- WEBER, C. I. 1973. Plankton. *In: NATIONAL ENVIRONMENTAL RESEARCH CENTER OFFICE OF RESEARCH AND DEVELOPMENT U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY CINCINNATI (Ed.). 1973. Biological field and laboratory methods for measuring the quality of surface water and effluents*. p. 1-17.
- YAMAGUISHI, R. B. 2007. *Análise ecotoxicológica em viveiro de produção de tilápia (Oreochromis niloticus), utilizando o cladóceros Ceriodaphnia dubia como organismos teste*. Tese de mestrado. Instituto de Pesca de São Paulo. São Paulo. 84p.
- ZAGATTO, P. A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. Editora RIMA. 478p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Composição da ração fornecida durante o ciclo de cultivo (Informações de rótulo).

Nutrientes	mg.kg ⁻¹ de ração	Conteúdo
Ácido fólico	0,8	
Ácido pantotênico	15,0	Farelo de soja;
Biotina	0,4	Farelo de trigo;
Cobalto	0,1	Farinha de carne e ossos;
Cobre	3,0	Farinha de peixe;
Colina	400,0	Farinha de vísceras;
Ferro	40,0	Milho moído;
Inositol	50,0	Óleo de soja degomado ou purificado;
Iodo	1,0	Soja integral extrusada;
Manganês	5,0	Sorgo integral moído.
Niacina	15,0	
Selênio	0,2	
Vitamina A	3.000 UI.kg ⁻¹	
Vitamina B 1	5,0	
Vitamina B 12	10.000 mcg	Cálcio (Máx) = 3,0000%
Vitamina B 2	8,0	Extrato Etéreo (Min) = 5,0000%
Vitamina B 6	6,0	Fósforo (Min) = 0,8000%
Vitamina C	1.2000,0	Matéria Fibrosa (Máx) = 6,0000%
Vitamina D 3	1.500 UI.kg ⁻¹	Matéria Mineral (Máx) = 12,0000%
Vitamina E	60,0	Proteína Bruta (Min) = 28,0000%
Vitamina K	2,0	Umidade (Máx) = 12,0000%
Zinco	60,0	

Anexo 2. Soluções para preparo do meio de cultura L. C. Oligo (ABNT, 2005).

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	Nitrato de cálcio tetrahidratado $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4.000	Dissolver e completar para 100 mL com água processada
2	Nitrato de potássio KNO_3	10.000	Dissolver e completar para 100 mL com água processada
3	Sulfato de magnésio heptahidratado $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.000	Dissolver e completar para 100 mL com água processada
4	Fosfato de potássio dibásico K_2HPO_4	4.000	Dissolver e completar para 100 mL com água processada
5	Sulfato de cobre pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	30	Dissolver e completar para 1.000 mL com água processada
	Molibdato de amônia tetraidratado $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	60	
	Sulfato de zinco heptahidratado $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	60	
	Cloreto de cobalto hexahidratado $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	60	
	Nitrato de magnésio tetraidratado $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	60	
6	Ácido cítrico $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	60	Dissolver e completar para 1.000 mL com água processada
	Ácido bórico H_3BO_3	60	
	Citrato de ferro pentaidratado $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.625	
6	Cloreto férrico hexaidratado $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	625	Dissolver e completar para 1.000 mL com água processada
	Sulfato de ferro heptaidratado $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	625	
7	Bicarbonato de sódio NaHCO_3	15.000	Dissolver e completar para 1.000 mL com água processada

Anexo 3: Fases de crescimento de cultura de algas.

De acordo com SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA (2001), o cultivo de algas é composto por distintas fases de crescimento:

- a) Fase de indução ou *lag*: a maioria das células é viável, mas não está em condições de se dividir imediatamente.
- b) Fase exponencial ou *log*: as células começam a se dividir a uma taxa constante. A taxa de crescimento é máxima nessa fase e varia conforme a espécie algal.
- c) Fase de redução do crescimento: ocorre diminuição da taxa de crescimento.
- d) Fase estacionária: a população não aumenta, pois a taxa de crescimento é compensada pela taxa de mortalidade.
- e) Fase de senescência ou de declínio: a taxa de mortalidade é maior que a taxa de reprodução e formação de células novas.

As diferentes fases de crescimento durante a evolução do cultivo de algas podem ser observadas na Figura 20.

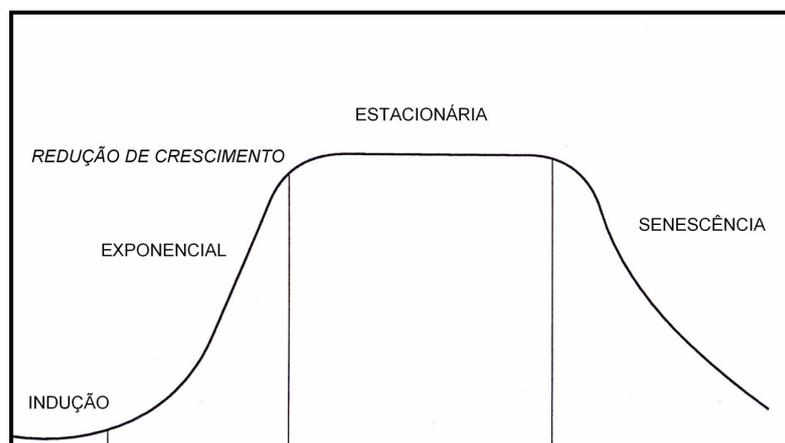


Figura 20. Fases da curva de crescimento de algas em sistema de cultivo estático (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).

Anexo 4: Contagem em Câmara de Neubauer (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).

A Câmara de Neubauer (Figura 21) consiste em uma grossa lâmina de vidro retangular, com um lado em forma de H, formando duas depressões laterais com uma profundidade de 0,1 mm. A área total de cada retículo da Câmara é de 9 mm². Os quatro cantos do quadrado (1 mm x 1 mm) são subdivididos em 61 quadrados e o centro do quadrado (1 mm x 1 mm) é subdividido em 25 quadrados menores, cada um contendo uma área de 0,04 mm² (0,2 mm x 0,2 mm) (Figura 22).

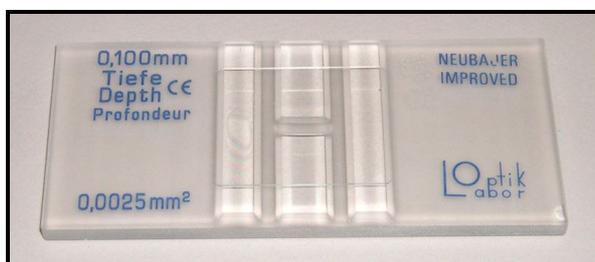


Figura 21. Imagem fotográfica da Câmara de Neubauer.

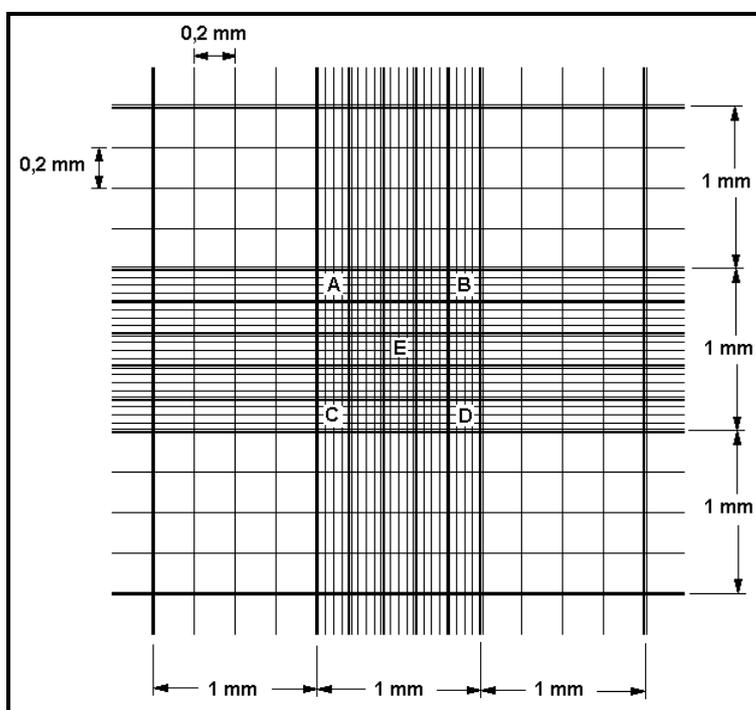


Figura 22. Esquema da área de contagem dos retículos da Câmara de Neubauer (área total: 9 mm²) (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 2001).

Preenchimento da câmara:

Limpar a câmara e colocar a lamínula, deve estar livre de sujeira, fibra de algodão ou gordura. Colocar a lamínula na área central marcada, observar contra luz e apertar até que se visualize os anéis de Newton (como pequenos arco-íris na borda da lamínula).

Usando uma pipeta de Pasteur limpa, colocar uma gota de amostra bem homogeneizada na parte em 'V' da ranhura da superfície central da lâmina. Encher ambas as câmaras. Verificar se ocorre igualdade na distribuição das células no microscópio. Se ocorrerem bolhas e má distribuição, repetir o procedimento anterior. Deixar as células se sedimentarem por 3 a 5 minutos, antes de realizar a contagem.

Contagem:

Para células pequenas e populações densas, as contagem são feitas apenas nas áreas A, B, C, D e E (Figura 22), do centro do bloco. As contagens devem ser feitas nos dois retículos da câmara.

Cálculo:

Quando as células são contadas somente nos cinco quadrados do centro do bloco, a seguinte fórmula deve ser utilizada:

$$\text{cels.mL}^{-1} = \frac{\text{número de células contadas nos dois retículos}}{10 \times 4 \times 10^{-6}}$$

Onde: 10 = dez quadrados contados nos dois retículos (5 em cada)
 4×10^{-6} = volume que equivale à área dos pequenos quadrados.

Anexo 5: Informações sobre o clima registradas no momento de cada coleta.

	Condições do tempo no momento da amostragem	Temperatura do ar							Desvio Padrão
		E1	E2	E3	E4	E5	E6	Média	
nov/06	Ausência de sol, chuva e vento, Nublado. Chuva fraca no dia e no dia anterior.	23,5	24	24,0	22,0	22,0	22,0	22,9	1,02
dez/06	Sol, ausência de chuva, poucas nuvens e vento fraco. Sem chuva no dia anterior.	30,5	30,5	30,5	28,0	28,0	28,0	29,2	1,37
jan/07	Ausência de sol, ventos fortes com chuva fraca. Nublado, chuva forte no dia anterior.	24	25,0	25,0	22,5	22,5	22,5	23,6	1,24
fev/07	Sol, ausência de chuva e de ventos, poucas nuvens. Chuva forte no dia anterior	26,5	26,5	26,5	21,0	21,0	21,0	23,7	3,01
mar I/07	Sol, ausência de chuva, de nuvens e de ventos. Sem chuva no dia anterior.	31,7	31,7	31,7	29,7	29,7	29,7	30,7	1,10
mar II/07	Sol, ausência de chuva, de nuvens e de ventos. Sem chuva no dia anterior.	30,0	30,0	30,0	26,0	26,0	26,0	28,0	2,19

Anexo 6: Fatores abióticos medidos em cada estação de coleta ao longo do período de estudo.

Fator abiótico	Coleta	Estações de coleta					
		E1	E2	E3	E4	E5	E6
Temperatura da água (°C)	nov/06	22,0	23,8	23,5	21,1	20,7	21,3
	dez/06	29,8	31,3	30,3	28,1	26,8	27,6
	jan/07	25,4	27,0	26,8	25,0	24,8	24,8
	fev/07	26,1	27,1	26,5	24,7	24,8	24,6
	mar I/07	29,9	30,5	29,9	26,5	25,9	27,2
	mar II/07	28,3	29,8	29,0	26,2	24,7	25,7
pH	nov/06	6,56	6,70	6,75	6,81	6,84	6,68
	dez/06	5,41	5,43	5,59	5,43	5,47	5,04
	jan/07	6,62	6,57	6,49	6,18	6,21	6,01
	fev/07	6,72	6,68	6,74	6,81	6,71	6,64
	mar I/07	5,78	5,91	5,67	5,78	5,85	5,08
	mar II/07	6,32	5,88	6,11	6,07	5,89	5,97
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	nov/06	27,26	27,26	27,26	27,26	20,45	27,26
	dez/06	26,79	28,85	24,73	22,67	32,98	22,67
	jan/07	20,61	24,73	24,73	20,61	20,61	18,54
	fev/07	22,56	36,61	24,61	20,51	22,56	28,71
	mar I/07	18,46	22,56	22,56	20,51	22,56	20,51
	mar II/07	18,46	24,61	24,61	22,56	24,61	20,51
Dureza (mg.L ⁻¹)	nov/06	19,80	19,80	19,80	19,80	19,80	19,80
	dez/06	17,82	18,82	18,90	18,90	17,82	17,82
	jan/07	17,82	19,80	19,80	17,82	17,82	15,84
	fev/07	17,82	17,82	19,80	17,82	15,84	25,74
	mar I/07	13,86	19,80	19,80	17,82	15,84	17,82
	mar II/07	15,84	19,80	15,84	19,80	15,84	17,82

Fator abiótico	Coleta	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	nov/06	71	74	73	72	72	75
	dez/06	70	83	84	79	77	100
	jan/07	55	62	63	57	55	58
	fev/07	58	70	69	59	56	99
	mar I/07	80	83	83	81	78	83
	mar II/07	63	65	78	62	60	70
Sólidos totais dissolvidos ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	nov/06	46	48	48	47	47	49
	dez/06	50	50	50	50	50	60
	jan/07	36	40	41	37	36	38
	fev/07	40	40	40	40	40	60
	mar I/07	40	50	50	50	50	50
	mar II/07	41	42	51	40	39	46
Turbidez (UNT)	nov/06	6,60	40,60	29,00	11,50	10,80	8,80
	dez/06	-	-	-	-	-	-
	jan/07	6,70	30,90	32,30	133,00	178,00	153,00
	fev/07	22,70	30,20	22,50	27,70	30,50	25,40
	mar I/07	-	-	-	-	-	-
	mar II/07	10,00	44,40	51,20	8,10	5,80	7,70
Matéria orgânica ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	nov/06	6,00	19,67	13,33	5,67	7,33	3,00
	dez/06	55,00	69,00	81,00	52,00	41,00	42,00
	jan/07	3,33	13,33	11,00	89,50	116,00	152,50
	fev/07	4,40	6,40	7,00	10,33	1,00	3,33
	mar I/07	4,33	4,97	3,00	3,33	5,33	2,00
	mar II/07	0,33	25,33	7,00	3,33	4,67	1,33
Oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	nov/06	5,20	5,09	5,20	7,47	7,48	8,64
	dez/06	5,70	6,00	6,00	6,80	7,10	7,00
	jan/07	7,47	6,48	4,26	7,58	7,62	7,28
	fev/07	6,51	4,73	4,68	7,07	7,38	6,98
	mar I/07	6,50	6,70	6,10	7,40	7,90	7,20
	mar II/07	5,73	8,15	5,53	6,76	8,08	7,20

Fator abiótico	Coleta	E1	E2	E3	E4	E5	E6
% de saturação de O ₂	nov/06	80,92	81,92	83,20	114,02	113,54	132,62
	dez/06	102,13	109,24	108,80	117,96	120,55	120,51
	jan/07	123,74	110,30	72,33	124,65	124,86	119,29
	fev/07	109,17	80,71	78,97	115,57	180,93	113,47
	mar I/07	116,47	121,17	109,30	124,86	131,99	123,02
	mar II/07	99,78	145,65	97,42	113,50	132,08	120,08
Fósforo total (mg.L ⁻¹)	nov/06	0,043	0,134	0,118	0,050	0,028	0,036
	dez/06	0,038	0,234	0,251	0,119	0,031	0,064
	jan/07	0,042	0,219	0,205	0,068	0,154	0,105
	fev/07	0,022	0,270	0,236	0,337	0,027	0,049
	mar I/07	0,029	0,327	0,283	0,088	0,054	0,074
	mar II/07	0,079	0,330	0,379	0,095	0,026	0,059
Ortofosfato (µg.L ⁻¹)	nov/06	7,85	12,74	10,30	20,40	15,19	13,36
	dez/06	6,32	6,93	6,62	21,01	6,62	17,64
	jan/07	5,40	6,68	8,46	17,03	12,44	13,66
	fev/07	4,78	49,17	29,27	5,40	4,17	13,66
	mar I/07	3,56	61,41	39,07	20,40	9,07	17,33
	mar II/07	7,32	27,38	20,40	28,97	6,93	6,01
Nitrogênio total (mg.L ⁻¹)	nov/06	0,059	0,093	0,084	0,066	0,044	0,042
	dez/06	0,037	0,466	0,485	0,159	0,054	0,172
	jan/07	0,314	1,755	1,471	0,376	0,444	0,395
	fev/07	0,296	2,539	3,426	0,434	0,312	0,626
	mar I/07	0,221	1,133	1,396	0,471	0,397	0,381
	mar II/07	0,252	0,604	0,816	0,446	0,327	0,422
Nitrogenio amoniaco total (mg.L ⁻¹)	nov/06	0,55	0,56	0,49	0,76	0,70	0,57
	dez/06	0,47	0,52	0,45	0,60	0,65	0,58
	jan/07	0,45	0,45	0,59	0,54	0,50	0,51
	fev/07	0,48	1,21	1,51	0,49	0,46	0,58
	mar I/07	0,64	1,87	1,70	0,39	0,57	0,76
	mar II/07	0,53	0,40	0,39	0,84	0,62	0,67

Fator abiótico	Coleta	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Nitrito ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	nov/06	4,15	4,99	4,71	4,99	3,58	6,12
	dez/06	8,39	4,71	3,30	5,28	5,84	6,97
	jan/07	2,73	2,73	2,73	5,28	3,30	8,39
	fev/07	4,43	5,84	4,15	4,71	4,43	7,25
	mar I/07	4,15	4,15	31,28	10,93	94,03	32,13
	mar II/07	5,84	225,19	229,15	28,74	38,63	22,24
Nitrito ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	nov/06	0,029	0,217	0,067	0,054	0,059	0,059
	dez/06	0,023	0,046	0,027	0,059	0,067	0,073
	jan/07	0,013	0,014	0,013	0,039	0,044	0,023
	fev/07	0,006	0,035	0,026	0,028	0,018	0,034
	mar I/07	0,016	0,007	0,009	0,236	0,055	0,093
	mar II/07	0,009	0,011	0,017	0,125	0,086	0,115
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	nov/06	0,9	20,9	20,9	0,9	2,7	0,9
	dez/06	1,8	38,2	24,6	1,8	0,9	0,9
	jan/07	1,8	72,8	72,8	9,1	3,6	6,4
	fev/07	9,1	90,0	61,0	9,1	7,3	7,3
	mar I/07	2,7	92,8	51,0	4,6	0,9	1,8
	mar II/07	0,9	81,9	137,1	-	1,8	0,9

Anexo 7: Densidade total (org.mL⁻¹) e Grupo funcional (REYNOLDS *et al.*, 2002) dos táxons considerados abundantes em cada estação de coleta.

Grupo	Táxons	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Bacillariophyceae							
	<i>Achnantridium</i> spp.			10.328,6			
P	<i>Aulacoseira granulata</i>		17.912,6	7.053,9			279,5
	<i>Aulacoseira</i> spp.				908,7		229,8
B	<i>Cyclotella</i> spp.	523,8	12.204,2	10.210,1	1.60,6	389,5	836,4
A	<i>Cymbella</i> spp.	361,1					
D	<i>Navicula</i> spp.				198,2		
D	<i>Nitzschia</i> spp.	223,1		1.895,1	244,7	190,5	340,9
Chlorophyceae							
	<i>Asteracys</i> sp.	4.803,7	4.121,0	2.213,5	3.597,7		589,7
X2	<i>Chlamydomonas</i> spp.	138,6					
X1	<i>Chlorella</i> spp.	3.273,4	31.231,0	39.373,6	3.428,9	2.649,3	3.093,6
J	<i>Coelastrum</i> spp.				170,9		
J	<i>Crucigenia quadrata</i>				474,6		258,1
J	<i>Crucigenia tetrapedia</i>	120,9	26.117,4	34.640,6	1.846,5		1.175,2
J	<i>Crucigeniella crucifera</i>		1.588,5				
J	<i>Crucigeniella</i> sp.				350,1		
	<i>Dichotomococcus curvatus</i>		3.431,8	4.752,0			
J	<i>Dictyosphaerium</i> spp.		2.583,8	1.962,7	387,3		638,5
	<i>Didymocystis fina</i>			4.101,2	348,9		174,6
	<i>Eutetramorus</i> spp.		34.894,0	42.950,1	336,9		
X1	<i>Monoraphidium contortum</i>	118,9	17.374,6	17.202,6	1.104,4	125,1	447,2
X1	<i>M. griffithii</i>		3.124,0	4.723,7			
X1	<i>M. minutum</i>		2.020,2	2.851,1			244,8
F	<i>Oocystis</i> spp.	2.044,6	15.909,9	14.589,5	1.510,5	945,2	2.210,0
J	<i>Sc. arcuatus</i> f. <i>gracilis</i>		13.105,8	7.436,7	326,1		119,3
J	<i>Scenedesmus</i> spp.	186,0	6.798,1	4.414,9	281,9	122,4	118,2
	<i>Schroederia spiralis</i>			1.572,3	191,4		174,6
J	<i>Tetraedron komarekii</i>				533,2		207,3
	<i>T. minimum</i>		2.959,9	2.285,2			
	<i>T. trigonum</i>		5.908,4	3.696,4			
	<i>Tetrallantos langerheimii</i>		1.039,1				
	<i>Treubaria</i> spp.		2.096,4	2.273,8			
	<i>Westella botryoides</i>		4.138,0	5.433,3	224,7	74,5	743,3

Cyanobacteria							
K	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	165,4	31.205,5	32.955,0	996,0		469,9
Lo	<i>Merismopedia</i> spp.		15.527,5	19.274,5	197,3		108,8
S1	<i>Pseudoanabaena</i> spp.		1.006,3				
	<i>Romeria gracilis</i>		5.602,9	6.010,1	756,8		216,9
Z	<i>Synechococcus</i> spp.	303,6					
Z	<i>Synechocystis</i> spp.	198,0				74,5	
Cryptophyceae							
Y	<i>Cryptomonas</i> spp.	1.758,5	28.657,1	11.937,6	1.441,1	1.068,1	2.660,9
Euglenophyceae							
W1	<i>Euglena acus</i>	176,0					
W1	<i>Euglena</i> spp.		2.741,2				
W1	<i>Lepocinclis</i> spp.	476,4	5.196,1	2.863,1	516,1	155,9	272,7
W2	<i>Trachelomonas volvocina</i>	196,7				242,5	
W2	<i>Trachelomonas</i> spp.	281,6		1.355,7	386,7		259,2
Zygnemaphyceae							
N	<i>Cosmarium majae</i>		1.616,1	1.896,5			
Xanthophyceae							
	<i>Goniochloris mutica</i>		14.876,0	5.737,2			
	Xantofíceas não identificadas 1			5.418,5			

Anexo 8: Validação dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Densidade inicial de todos os recipiente-teste no início de cada ensaio		volume algáceo do inóculo/volume da solução-teste 1×10^5 cels/50 mL = 2000 cels.mL ⁻¹					
Densidade algácea das repetições do controle ao final dos ensaios (cels.mL ⁻¹ x 10 ⁴)	Repetição	nov/06	dez/06	jan/07	fev/07	mar I/07	mar II/07
		A	72,5	82,5	75	80	75
	B	80	70	72,5	71,5	77,5	67,5
	C	67,5	87,5	67,5	67,5	57,5	70
Média (cels.mL ⁻¹ x 10 ⁴)		73,3	80	74	73,3	70	66,7
Desvio Padrão		6,29	9,01	6,56	6,29	10,90	3,82
Coefficiente de variação (%)		8,6	11,3	8,9	8,6	15,6	5,7
O ensaio é valido quando	<p>Densidade final for, no mínimo, 16 vezes > densidade inicial $16 \times \text{densidade inicial} = 16 \times 2000 = 32000 = 3,2 \times 10^4$ cels.mL⁻¹</p> <hr/> <p>Coefficiente de variação das repetições do controle for menor que 20%</p>						

Anexo 9: Densidade algácea (cels.mL⁻¹ x 10⁴) registrada em cada repetição ao final dos ensaios ecotoxicológicos com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Organismo-teste: *Pseudokirchneriella subcapitata*

Substância-teste: Amostra de água superficial de atividade de piscicultura

Duração do teste: 72 horas em incubadora

Amostragem	Réplicas	Controle	Estações de coleta										
			E1	E2	E4	E5	E6	E3					
								100%	50%	25%	12,5%	6,2%	3,1%
Nov/06	A	72,5	22,5	60	62,5	27,5	37,5	55	100	137,5	90	55	77,5
	B	80	42,5	70	32,5	30	35	70	105	127,5	85	57,5	62,5
	C	67,5	45	55	30	37,5	42,5	57,5	117,5	97,5	72,5	62,5	70
	Média	73,3	36,7	61,7	41,7	31,7	38,3	60,8	107,5	120,8	82,5	58,3	70
Dez/06	A	87,5	50	72,5	95,0	90,0	75,0	80,0	75,0	42,5	95,0	62,5	70,0
	B	92,5	52,5	67,5	145,0	97,5	85,0	60,0	67,5	52,5	72,5	82,5	52,5
	C	75,0	60,0	65,0	102,5	87,5	77,5	75,0	62,5	77,5	80,0	87,5	75,0
	Média	85,0	54,2	68,3	114,2	91,7	79,2	71,5	68,3	57,5	82,5	77,5	65,8
Jan/07	A	75,0	42,5	110,0	45,0	50,0	45,0	122,5	97,5	60,0	45,0	60,0	55,0
	B	67,0	47,5	115,0	52,5	70,0	40,0	92,5	95,0	67,5	60,0	55,0	70,0
	C	80,0	55,0	102,5	60,0	67,5	65,0	100,0	92,5	57,5	47,5	52,5	62,5
	Média	74,0	48,3	109,2	52,5	62,5	50,0	105,0	95,0	61,7	50,8	55,8	62,5
Fev/07	A	82,5	102,5	192,5	127,5	110,0	107,5	117,5	97,5	100,0	72,5	92,5	60,0
	B	70,0	105,0	142,5	97,5	105,0	140,0	177,5	105,0	92,5	55,0	95,0	75,0
	C	87,5	112,5	190,0	117,5	142,5	97,5	185,0	112,5	107,5	70,0	62,5	65,0
	Média	80,0	106,7	175,0	114,2	119,2	115,0	160,0	105,0	100,0	65,8	83,3	66,7
Mar I/07	A	75,0	70,0	75,0	140,0	110,0	150,0	152,5	102,5	75,0	90,0	77,5	47,5
	B	77,5	87,5	107,5	150,0	102,5	140,0	157,5	145,0	62,5	77,5	47,5	30,0
	C	57,5	60,0	100,0	127,5	112,5	102,5	132,5	122,5	55,0	60,0	65,0	55,0
	Média	70,0	72,5	94,2	139,2	108,3	130,8	147,5	123,3	64,2	75,8	63,3	44,2
Mar II/07	A	62,5	252,5	107,5	237,5	135,0	180,0	100,0	82,5	57,5	57,5	110,0	120,0
	B	67,5	240,0	302,5	157,5	170,0	217,5	135,0	122,5	50,0	85,0	130,0	77,5
	C	70,0	162,5	247,5	182,5	175,0	242,5	305,0	70,0	105,0	57,5	100,0	107,5
	Média	66,7	218,3	219,2	192,5	160,0	213,3	180,0	91,7	70,8	66,7	113,3	101,7

