

DANIELLA DA SILVA

**Revisão do gênero *Planktothrix* Anagnostidis &
Komárek, 1988 (Cyanobacteria/ Oscillatoriales),
no Brasil**

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do
título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE
VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área
de Concentração de Plantas Avasculares e
Fungos em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2009

DANIELLA DA SILVA

**Revisão do Gênero *Planktothrix* Anagnostidis &
Komárek, 1988 (Cyanobacteria/ Oscillatoriales),
no Brasil**

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do
título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE
VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área
de Concentração de Plantas Avasculares e
Fungos em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. CÉLIA LEITE SANT'ANNA

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Biblioteca do Instituto de Botânica

Silva, Daniella

S586r Revisão do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek, 1988
(Cyanobacteria/Oscillatoriales), no Brasil / Daniella da Silva -- São Paulo, 2009.
238 p. il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio
Ambiente, 2009
Bibliografia.

1. Algas. 2. Taxonomia. 3. Filogenia. I. Título

CDU: 582.26

*Aos meus pais, José Daniel e
Maria de Fátima, dedico.*

Agradecimentos

À Deus por permanecer sempre ao meu lado, me dando paz, força e serenidade para seguir os caminhos que tenho escolhido ao longo da vida.

À minha querida orientadora Dra. Célia Leite Sant'Anna. Nestes sete anos de convivência aprendi a admirá-la como profissional e como pessoa, e foi nessa reta final de conclusão da tese que refleti sobre todos estes anos de convivência e fiquei muito contente ao perceber que foram sim, anos de muito aprendizado, muito trabalho e conhecimento, novas experiências, porém, além de toda a bagagem profissional que contribuiu imensamente em minha formação, estabelecemos também um verdadeiro sentimento de carinho.

À Dra. Marli de Fátima Fiore, por ter me recebido prontamente em seu Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA/USP), permitindo que eu aprendesse e realizasse toda a parte laboratorial que envolve o estudo da biologia molecular, além de ter auxiliado tanto nas etapas mais refinadas do processo de inferência filogenética quanto na discussão dos resultados.

À Dra. Vera Regina Werner, pesquisadora da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, pelo fornecimento de amostras da região do Rio Grande do Sul, por atender prontamente aos meus pedidos e questionamentos sempre de forma muito solícita.

À Dra. Ivaneide Alves Soares da Costa, professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, por ter contribuído com amostras do estado do Rio Grande do Norte.

Ao Dr. Armando Augusto Henriques Vieira, professor da Universidade Federal de São Carlos, pelo fornecimento de cepa em cultura.

Ao Dr. Fernando Antônio Jardim, biólogo da Companhia de Saneamento de Minas Gerais, pelo fornecimento de amostras.

À Bárbara Medeiros Fonseca, professora da Universidade Católica de Brasília, pelo fornecimento de amostras.

À Dra. Maria José Dellamano de Oliveira, pelo envio de amostras da região de São Carlos e também pelo pronto auxílio, sempre que necessário.

À bióloga Eveline Pinheiro de Aquino, pelo envio de amostras de Fortaleza.

À doutoranda Anelise Kappes Marques, pelo envio de amostras do Tocantins.

À bióloga Érica Brandes, por ter fornecido amostras de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Ao Dr. Giulliani Alan da Silva Tavares de Lira, pelo envio de amostras de Recife, Pernambuco.

À Doutoranda Janaína Rigonato, pela inestimável ajuda no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA/USP), pelas instigantes discussões, troca de idéias e valiosas contribuições.

Ao Dr. Ricardo Yukio Honda, pela análise crítica de todo o capítulo referente à Biologia Molecular e também pelas discussões esclarecedoras.

À Doutoranda Daniela Bueno Sudatti, pelo auxílio estatístico.

Às pesquisadoras da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica, Dra. Andréa Tucci, Dra. Diclá Pupo Santos, Luciana Retz de Carvalho, Dra. Mutue Toyota Fujii, Dra. Nair Yokoya e Dra. Silvia Maria Pita de Beuclair Guimarães, Dra. Silvia Suzanne Melcher, pelo convívio sempre agradável.

Aos funcionários de Seção de Ficologia do Instituto de Botânica, pelas conversas, companhia e momentos de descontração, especialmente à Neide, Neuzete, Elizete, Manuel e José Domingos.

Aos estudantes e amigos da Seção de Ficologia, Camila Malone, Camila Dogo, Edna, Fernanda, Fernando, Felipe, Kleber Santos, Lilian, Mariana, Marisa, Raquel, Regina, Rodrigo, pelo companheirismo, amizade e troca de conhecimentos.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Doutorado.

A minha estimada família, base de minha vida, pelo amor, carinho, compreensão, dedicação, cuidado e paciência.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desta Tese.

Sumário

Introdução Geral	1
Capítulo 1. Taxonomia do gênero <i>Planktothrix</i> Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales/Cyanobacteria) no Brasil	36
Introdução	39
Material e Métodos	43
Resultados	52
Discussão	89
Literatura Citada	94
Figuras	106
Capítulo 2. Caracterização molecular de linhagens brasileiras de cianobactérias do gênero <i>Planktothrix</i> Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales)	117
Introdução	120
Material e Métodos	127
Resultados	139
Discussão	148
Literatura Citada	154
Anexo 1	165
Capítulo 3. Efeitos da irradiância e temperatura sobre o crescimento de duas espécies brasileiras de <i>Planktothrix</i>: <i>P. agardhii</i> e <i>P. isothrix</i>	174
Introdução	177
Material e Métodos	180
Resultados	186
Discussão	213
Literatura Citada	221
Figuras	227
Considerações Finais	230
Resumo	238
Abstract	239

Introdução Geral

Características gerais das Cianobactérias

A introdução de técnicas moleculares a partir, principalmente, da década de 80 promoveu grandes mudanças nos conceitos taxonômicos. Dessa forma, passou-se a dar ênfase à filogenia e à formação de grupos monofiléticos, o que provocou alterações drásticas nos sistemas de classificação dos seres vivos. Assim, a análise das seqüências de pequena subunidade do RNA ribossômico forneceu a primeira evidência da divisão dos seres vivos em três grandes grupos: os eucariotos e dois tipos diferentes de procariotos oriundos da divisão do Reino Monera (eubactérias e as arqueias) (Woese & Fox 1977, Woese 1987).

No ano de 1990, Woese *et al.*, considerando a evolução desses três grandes grupos a partir de um ancestral comum, criaram um novo sistema de classificação, em que os seres não eram classificados em reinos, mas sim em domínios. Entende-se por domínio cada um dos três clados propostos por Woese *et al.* (1990) para, de certa forma, substituir os reinos. Um clado é um grupo de seres vivos que se relacionam evolutivamente. Assim, foi proposto três grandes domínios: Bacteria, Archaea e Eukarya. Como critérios para esta classificação, Woese *et al.* (1990) utilizaram a comparação genética, como mencionado acima. Este sistema de classificação é mais complexo do que os anteriores, porém é mais rigoroso, uma vez que considera as relações filogenéticas dos seres vivos distribuídos nos três domínios.

A divisão Cyanobacteria pertence ao domínio Bacteria e contém apenas uma classe, Cyanobacteria. São conhecidas como “cianobactérias” por serem procariontes ou como “algas-azuis” devido a sua pigmentação (Riviers 2006). São autotróficos e representam os mais antigos organismos capazes de realizar fotossíntese oxigênica, de essencial importância para a evolução da vida na terra. Apesar de apresentarem características fotossintéticas semelhantes à de algas e plantas superiores, sua organização estrutural e bioquímica assemelha-se a de bactérias gram-negativas (Stanier & Cohen-Bazire 1977).

As cianobactérias pertencem a um antigo grupo de organismos existentes no planeta há 3,5 bilhões de anos, desde o surgimento da vida na terra. O Período Pré-Cambriano ou Era Proterozóica (2,5 bilhões a 542 milhões de anos) foi denominado a Era das Cianobactérias, pois desse período datam seus mais abundantes registros fósseis, a partir dos quais se observou vasta diversidade de cianobactérias (Schopf 1968, Mur 1976, Zhang 1981, Knoll 2008).

Estes organismos antigos foram capazes de desenvolver grande variedade de estratégias ao longo da evolução, adaptando-se assim às mudanças que estavam ocorrendo em seu ambiente físico (Dvornyk & Nevo 2003). Graças a essa capacidade de adaptação, as cianobactérias atuais puderam colonizar praticamente qualquer habitat da terra, apresentando ampla distribuição ecológica e colonizando desde sistemas aquáticos até os terrestres, incluindo ambientes extremos como deserto, neve e fontes termais (Boyer *et al.* 2002, Garcia-Pichel *et al.* 2003, Steunou *et al.* 2006). Assim, estes organismos fotossintéticos podem ser considerados como os de maior amplitude de habitats (Badger *et al.* 2006).

O talo das cianobactérias pode ser unicelular, colonial ou filamentoso e neste caso, com ou sem ramificações. O conjunto formado pela fileira de células envolvida por bainha mucilaginosa é denominado filamento. A fileira de células, quando não envolvida pela bainha de mucilagem, é denominada “tricoma” (Riviers 2006, Sant’Anna *et al.* 2006).

O modo de vida das cianobactérias pode ser planctônico, bentônico, epi, peri ou endofítico, epi ou endolítico, epi ou endozóico, subaéreo ou terrestre. Podem formar talos microscópicos ou formar massas macroscópicas sobre o substrato ou flutuando na água. Todavia, ambientes de água doce são os mais propícios ao crescimento das cianobactérias onde a maioria das espécies desenvolve-se melhor em condições neutro-alcalinas (pH de 6 a 9) e temperaturas entre 15 e 30°C (Mur *et al.* 1999, Sant’Anna *et al.* 2006).

A organização celular é do tipo procarionte. A respiração ocorre no plasmalema e tilacóides. No centro (nucleoplasma), as células contêm o genoma e plasmídeos circulares e os ribossomos estão dispersos no citoplasma (Rodriguez-López & Vásquez 1968, Riviers 2006, Lee 2008) e uma série de grânulos que contêm substâncias de reserva cuja abundância está relacionada às condições ambientais. Estes grânulos podem ser de polifosfatos (reserva de fósforo) (Healey 1982, Van Den Hoek 1995), de cianoficina (reserva de compostos nitrogenados) (Simon 1987, Lee 2008), de glicogênio e de poli-β-hidroxibutirato (reserva de carbono) (Shively 1988, Castenholz 2001). Também podemos encontrar outras estruturas denominadas carboxisomos ou corpos poliédricos que acumulam ribulose 1,5 bifosfato carboxilase (Smith 1982, Orús *et al.* 1995) e aerótopos ou vesículas de gás que permitem a flutuação e o deslocamento na coluna d’água (Walsby 1975, Whiton & Potts 2000).

Em função da constituição de sua parede celular, as cianobactérias são consideradas bactérias gram negativas, entretanto, seu envoltório é consideravelmente mais espesso que o das demais bactérias assim classificadas, exibindo grande variação de acordo com a espécie, podendo atingir até 700 nm de espessura (Hoiczyk & Hansel 2000). Assim, com base na composição e organização estrutural diferenciada da parede celular, alguns autores consideram as cianobactérias entre as bactérias gram positivas ou ainda em um terceiro grupo

filogeneticamente diverso (Stewart *et al.* 2006). A estrutura da parede é complexa e compõe-se de uma dupla camada lipídica externa com carotenóides protetores de estresse oxidativo, além do sáculo de mureína constituído de peptidoglicanas, do espaço periplasmático e da membrana plasmática (Dignum *et al.* 2005). Externamente à parede celular, muitos representantes do grupo secretam polissacarídeos que formam desde uma mucilagem parcialmente hidrossolúvel fracamente associada às células até uma bainha de estrutura fibrilar (por vezes cristalina) fortemente unida às mesmas (Hoiczky 1998, Lee 2008). Sua função está associada à proteção contra dessecação, agentes antibacterianos (antibióticos, fagos, anticorpos, surfactantes etc) e predação por protozoários. Além disso, os exopolissacarídeos ainda exercem atividade aderente em substratos sólidos, floculam partículas de argila em águas turvas aumentando a disponibilidade luminosa, captam elementos essenciais como ferro e cálcio e imobilizam metais deletérios aos organismos (De Philips & Vicenzini 1998). Alguns gêneros de cianobactérias possuem a capacidade de produzir celulose. A função desta relaciona-se a proteção contra o dessecação, ligação com o organismo simbiote nas relações simbióticas e motilidade dos hormogônios (Nobles *et al.* 2001).

As cianobactérias apresentam os fotossistemas I e II e uma cadeia de transporte de elétrons semelhante a dos organismos eucariontes (Stewart 1980, Schmetterer 1994). O sistema fotossintético é constituído pela clorofila a, c-ficoeritrina, aloficocianina e c-ficocianina, localizadas em ficobilissomos hemidiscóides ou hemisféricos sobre os tilacóides, que por sua vez, constituem prolongamentos da membrana plasmática, localizados na periferia celular. Além das ficobilinas, ainda ocorrem como pigmentos acessórios as xantofilas e carotenos. Algumas cianobactérias contêm ainda clorofila b em adição à clorofila a (*Prochlorococcus*, *Prochlorothrix*, *Prochloron*) e outras como a cianobactéria *Acaryochloris marina*, contém clorofila d (Miyashita *et al.* 2003, Miller *et al.* 2004, Lee 2008).

Algumas cianobactérias são estritamente fototróficas, outras o são de modo facultativo: são fototróficas quando em presença de luz, mas podem crescer na obscuridade utilizando uma fonte de carbono orgânico. Outras, enfim, são capazes de utilizar uma fonte de carbono orgânico tanto quanto de carbono inorgânico, mas apenas em presença de luz. Como possuem os dois fotossistemas, podem utilizar tanto a água como doadora de elétrons, quanto H_2S_2 , H_2 ou compostos orgânicos (Riviers 2006).

Em algumas cianobactérias as células vegetativas diferenciam-se em células especializadas, proporcionando grande ajuda na adaptação aos diferentes habitats em que se encontram. Assim, destacam-se os heterocitos e acinetos (Gómez 2008).

Os heterocitos são células especializadas que contêm a enzima nitrogenase responsável pela fixação do nitrogênio atmosférico transformando-o em amônia. A diferenciação dos heterocitos a partir de células vegetativas é irreversível e ocorre geralmente em condições de deficiência de fontes nitrogenadas (Whitton 1992, Whitton & Potts 2000). Heterocitos possuem uma envoltura espessa para impedir a difusão do O₂ que inibe a ação da nitrogenase (Cardemil & Wolk 1981), assim como grânulos polares no sítio de união com as células vegetativas. A fixação de nitrogênio utiliza carbono como fonte de energia que é transferido para o interior dos heterocitos. O nitrogênio fixado é, por sua vez, transferido para o interior das células vegetativas (Calijuri *et al.* 2006).

Já os acinetos são células de resistência ou esporos com paredes espessas e que acumulam reservas de proteína sob a forma de numerosos grânulos de cianoficina (Stainer & Cohen-Bazire 1977, Lee 2008). Geralmente, a indução da formação de acinetos ocorre sob condições ambientais desfavoráveis e, em muitos casos, por limitação de fósforo. Além disso, podem se formar também pela limitação de luz ou de carboidratos como fonte de energia (Nichols & Adams 1982). Os acinetos são altamente resistentes ao dessecação podendo permanecer nos sedimentos por muitos anos. Podem apresentar-se isoladamente ou vários dispostos em série ao longo do tricoma (Whitton 1987, Komárek & Anagnostidis 1989, Whitton & Potts 2000).

Embora jamais formem estruturas propulsoras como flagelos, algumas espécies de cianobactérias possuem capacidade de movimentos deslizantes e oscilantes proporcionados pela extrusão de mucilagem ou pela atividade de estruturas conhecidas como “pili”, formados por microfibrilas protéicas externas que movimentam-se (Riviers 2002, Magar & Pedley 2005, Lee 2008).

A reprodução nas cianobactérias é sempre assexuada e ocorre por simples divisão celular, pela produção de baeocitos ou exocitos, pela fragmentação do tricoma ou colônia e também pela formação de hormocitos ou hormogônios (fragmentos móveis). Neste último caso, ocorrem estritamente em cianobactérias filamentosas a partir da morte de uma ou mais células intercalares denominadas necridios (Economou-Amilli *et al.* 1984), ou pela separação de duas células contíguas (Wood *et al.* 1986). Este conjunto de células divide-se origina novos filamentos (Fay 1983, Whitton 1992, Lee 2008). Como em outras bactérias, pode ocorrer ainda um fenômeno conhecido como parassexualidade que se dá por transformação (passagem de um fragmento de DNA de uma célula doadora a uma célula receptora, com substituição de partes homólogas de DNA) (Riviers 2006, Lee 2008).

As cianobactérias são microorganismos de grande importância ecológica, pois estão intimamente relacionadas a diversos processos ecológicos tais como produção primária e

fertilidade de corpos d'água e dos solos (Rai 1990). Além disso, desenvolvem diversas relações simbióticas em ambientes marinhos, como por exemplo, as associações com esponjas, algas e ascídias e também em ambientes terrestres onde observam-se associações com fungos (líquens), briófitas, pteridófitas, cicadácias e angiospermas (Carpenter 2002, Osborne & Bergman 2002, Lee 2008).

Em decorrência da produção de vasta gama de metabólitos secundários bioativos, as cianobactérias possuem grande potencial de aplicação farmacológica. Podem igualmente ser utilizados como herbicidas, antifúngicos, fertilizantes agrícolas, no tratamento de efluentes e também como alimento (Skulberg 2000, Jha & Prasad 2006).

É importante ressaltar ainda que em ambientes com níveis tróficos elevados (altas concentrações de fósforo e nitrogênio), as cianobactérias muitas vezes tornam-se dominantes, formando florações frequentes. Estas florações são consideradas indesejáveis, pois as cianobactérias são relativamente pobres como base para a cadeia trófica aquática, têm hábito de crescimento maciço, algumas espécies podem produzir metabólitos que conferem sabor e odor à água, ou ainda, podem produzir compostos tóxicos tanto para os organismos aquáticos e quanto para o ser humano (Pearl & Tucker 1995).

Sistema de Classificação das Cianobactérias

As cianobactérias foram primeiramente classificadas de acordo com o sistema binomial proposto por Carolus Linnaeus em 1753, que realizou o primeiro trabalho extensivo de categorização, ainda utilizado nos dias de hoje. Acredita-se que *Byssus filamentis plumosis natantibus* corresponda à *Aphanizomenon flos-aquae*, descrito por Lineu em *Species Plantarum* (Willén & Willén 1999; Vermelho *et al.* 2007). Inúmeros representantes do grupo foram descritos e agrupados sob várias denominações durante a segunda metade do século XVIII e século XIX.

A sistemática do grupo Cyanobacteria passou por muitas mudanças desde seu primeiro registro. Diversas denominações foram empregadas ao longo do século XIX tais como: Myxophyceae (Walroth 1833), Gloeosipheae (Kutzing 1843), Phycocchromophyceae (Rabenhorst 1965) e finalmente a designação mais amplamente conhecida pelos botânicos, Cyanophyceae em 1874, por Sachs (Kichner 1898, Drews 2000).

A partir da segunda metade do século XIX, as cianobactérias foram incluídas no Código de Nomenclatura Botânica por serem tratadas como um grupo especial de algas de modo que a sua taxonomia passou a seguir os moldes botânicos, ou seja, baseada em descrições morfológicas de amostras da natureza e nomenclatura de acordo com o código

mencionado. Em 1875, com o trabalho de Thuret, iniciou-se a descrição taxonômica do grupo, sendo que os trabalhos de Bornet & Flauhault (1886-1888) e Gomont (1892) são considerados as primeiras monografias taxonômicas de nomenclatura válida para os grupos de cianobactérias filamentosas heterocitadas e homocitadas, respectivamente. Portanto, estes trabalhos são considerados os “starting point” destes grupos de cianobactérias.

Em seguida, em 1898, destacou-se o sistema elaborado por Kichner que abrangia todas as formas cocóides (unicelulares e coloniais) e filamentosas conhecidas até aquele momento.

Em 1932, Geitler realizou uma revisão taxonômica exaustiva e atualizada de tudo que havia sido descrito até então. Esse sistema reconheceu cerca de 1300 espécies, distribuídas em 145 gêneros, 20 famílias e 3 ordens.

Ao longo de todo o século XX, outros sistemas foram propostos: Frémy (1930a,b), Elenkin (1936, 1938, 1949), Huber-Pestalotzi (1938), Fritsch (1945), Hollerbach *et al.* (1953), Desikachary (1959, 1973), Starmach (1966a,b), Golubić (1967, 1969, 1979), Kondratieva (1968) e Bourrelly (1970). Estes sistemas ficaram conhecidos como sistemas “Geitlerianos”, considerando os critérios botânicos tradicionais para a classificação, isto é, diferentes caracteres morfológicos foram usados para separar grupos relacionados (Anagnostidis & Komárek 1985).

No período de 1956 a 1981, os autores Drouet & Daily (Drouet 1968, 1973, 1978, 1981, Drouet & Daily 1956) propuseram um novo sistema de classificação para as cianobactérias que ficou conhecido como sistema “Drouetano”. Neste sistema, as mais de 2.000 espécies conhecidas e distribuídas em 145 gêneros foram drasticamente reduzidas para 62 espécies pertencentes a 24 gêneros inicialmente e em 9 gêneros posteriormente (Anagnostidis & Komárek 1985, Litvaitis 2002). Este novo sistema baseava-se na hipótese de que a maioria das espécies de cianobactérias era na realidade ecofenos ou ecótipos, considerando a variação morfológica como simples expressão diferenciada de um mesmo genótipo em resposta as variações ambientais. O sistema de Drouet, porém, nunca obteve aceitação ampla e caiu em desuso por desconsiderar a ampla variabilidade morfológica e genética existente entre as cianobactérias.

Na atualidade, Anagnostidis & Komárek (1985, 1988, 1990) e Komárek & Anagnostidis (1986, 1989, 1999, 2005) realizaram diversas revisões e atualizações para o grupo. O sistema de classificação proposto por esses autores segue a tradição botânica, onde as cianobactérias distinguem-se principalmente de acordo com suas diferenças morfológicas, apesar dos autores agruparem a essas obras dados ecológicos, fisiológicos, ultraestruturais, biogeográficos e poucas informações genéticas. Assim, a partir de características

essencialmente morfológicas do talo, tipo de divisão celular e produção de células diferenciadas, 2.800 espécies de cianobactérias são conhecidas (Sant'Anna *et al.* 2006, Melcher 2007). Todas elas distribuídas nas 4 ordens seguintes (tabela 1):

Ordem Chroococcales: Talos exclusivamente unicelulares ou coloniais (Komárek & Anagnostidis 1986, 1999).

Ordem Oscillatoriales: Talos exclusivamente filamentosos, homocitados (Anagnostidis & Komárek 1988, Komárek & Anagnostidis 2005).

Ordem Nostocales: Talos filamentosos, heterocitados, sem ramificação ou com ramificações falsas (Komárek & Anagnostidis 1989).

Ordem Stigonematales: Talos filamentosos, heterocitados, com ramificações verdadeiras (Anagnostidis & Komárek 1990).

Com o reconhecimento das características bacterianas desse grupo, a partir da década de 70, surgiu um novo sistema de classificação, baseado nos critérios estabelecidos pelo Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica. As primeiras abordagens foram feitas por Stainer & Cohen-Bazire (1977), seguido de Waterbury & Stainer (1977) e Rippka *et al.* (1979). Assim, considerando as cianobactérias como organismos procariontes e baseando-se em estudos ultraestruturais, bioquímicos e moleculares, passaram a classificá-las como bactérias.

A diferença do sistema tradicional e o sistema bacteriológico é que este último baseia-se em algumas características morfológicas, fisiológicas, citológicas e bioquímicas de cultivos axênicos: composição de pigmentos, análise de ácidos graxos, crescimento heterotrófico, atividade nitrogenásica, composição nucleotídica do DNA e tamanho do genoma (Wilmotte 1994). Além disso, o sistema bacteriológico requer como referência taxonômica básica amostras vivas que são cultivadas e mantidas em uma das coleções oficiais existentes no mundo.

Tabela 1. Sistema de Classificação Botânica segundo Komárek & Anagnostidis (1986, 1989, 1999, 2005) e Anagnostidis & Komárek (1988, 1990).

Ordens	Famílias
Chroococcales	Gloeobacteraceae, Synechococcaceae, Merismopediaceae, Microcystaceae, Chroococcaceae, Entophysalidaceae, Hydrococcaceae, Chamaesiphonaceae, Dermocarpellaceae, Xenococcaceae, Hyellaceae
Oscillatoriales	Pseudanabaenaceae, Schizotrichaceae, Borziaceae, Phormidiaceae, Gomontiellaceae, Oscillatoriaceae
Nostocales	Scytonemataceae, Microchaetaceae, Rivulariaceae, Nostocaceae
Stigonematales	Chlorogloeopsaceae, Capsosiraceae, Stigonemataceae, Fischerellaceae, Borzinemataceae, Loriellaceae, Nostochopsaceae, Mastigocladaceae

Nos dias de hoje, o sistema de classificação publicados por Rippka *et al.* (1979) no Bergey's Manual of Bacteriology (Boone & Castenholz 1989) foram revisados na nova versão deste manual (Boone & Castenholz 2001), utilizando para isto interpretações filogenéticas baseadas nas seqüências do gene que codifica para o RNA ribossômico do gene 16S (RNAr 16S). Esta última edição inclui informações revisadas tanto de fontes bacteriológicas como fisiológicas que permitiram distinguir 5 subseções (I-V) equivalentes às ordens estabelecidas na literatura botânica. Este sistema de classificação encontra-se na tabela 2.

Tabela 2. Sistema de Classificação Bacteriológica das Cianobactérias, segundo Boone & Castenholz (2001).

Ordens		Gêneros
Subseção I Unicelular ou colonial, divisão por fissão binária em 1 a 3 planos ou por <i>budding</i>	Chroococcales	<i>Chamaesiphon, Chroococcus,</i> <i>Cyanobacterium, Cyanobium, Cyanothece,</i> <i>Dactylococcopsis, Gloeobacter, Gloeocapsa,</i> <i>Gloeotheca, Microcystis, Prochlorococcus,</i> <i>Prochloron, Synechococcus, Synechocystis</i>
Subseção II Unicelular ou colonial, divisão por fissão múltipla ou em conjunto com fissão binária	Pleurocapsales	
	<u>Subgrupo I</u>	<i>Cyanocystis, Dermocarpella, Stanieria,</i> <i>Xenococcus</i>
	<u>Subgrupo II</u>	<i>Chroococcidiopsis, Myxosarcina,</i> <i>Pleurocapsa, Hyella, Solentia</i>
Subseção III Filamentoso, não heterocitado	Oscillatoriales	<i>Arthrospira, Borzia, Crinalium, Geitlerinema,</i> <i>Leptolyngbya, Limnothrix, Lyngbya,</i> <i>Microcoleus, Oscillatoria, Planktothrix,</i> <i>Prochlorothrix, Pseudanabaena, Spirulina,</i> <i>Starria, Symploca, Trichodesmium,</i> <i>Tychonema</i>
Subseção IV Filamentoso, heterocitado, não ramificado	Nostocales	
	<u>Subgrupo I</u>	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizomenon,</i> <i>Cyanospira, Cyndrospermopsis,</i> <i>Cyndrospermum,</i>
	<u>Subgrupo II</u>	<i>Nodularia, Nostoc, Scytonema</i> <i>Calothrix, Rivularia, Tolypothrix</i>
Subseção V Filamentoso, heterocitado, ramificado	Stigonematales	<i>Chlorogloeopsis, Fischerella, Geitleria,</i> <i>Iyengariella, Nostochopsis, Stigonema</i>

A aplicação de técnicas moleculares como seqüenciamento gênico, ultraestrutura (disposição dos tilacóides no interior celular; Komárek & Kaštovský 2003) e caracterização

ecofisiológica (vesículas de gás, adaptações a condições específicas pelos organismos filamentosos (Whitton 1987, Lundgren *et al.* 2001, Komárek 2003), permitiu obter numerosas e importantes características taxonômicas nas últimas décadas. A grande disponibilidade de informações fez surgir a necessidade de adaptar o sistema de classificação cianobacteriano atual, incorporando todos os dados disponíveis até o momento. Neste sentido, Hoffmann *et al.* (2005) propuseram um novo sistema de classificação para os organismos cianoprocariontes que reflete melhor as relações evolutivas destes organismos (tabela 3).

Sistemática Molecular das Cianobactérias

Nos últimos anos muitos pesquisadores começaram a utilizar as técnicas moleculares para tentar responder questões relacionadas à taxonomia, dinâmica populacional e evolução das cianobactérias. Neste contexto, observa-se atualmente amplo emprego de técnicas moleculares na tentativa de solucionar problemas taxonômicos envolvendo o grupo (Wilmotte & Golubic 1991, Turner 1997, Giovannoni *et al.* 1988, Gómez 2008) o que, por sua vez, tornou possível a reconstrução das relações de parentesco entre as cianobactérias e destas com outros procariontes (Wilmotte 1994).

De acordo com Wilmotte (1994), a sistemática molecular cria uma base de dados comparativamente significativa para genes ou proteínas específicas que auxiliam nas situações onde a variabilidade morfológica é limitada ou então onde a homologia dessas características não é clara. Os estudos capazes de incorporar dados moleculares e morfológicos fornecem descrições e interpretações de diversidade biológica ainda mais completa do que quando estudadas isoladamente (Wilmotte *et al.* 1994, Moffitt *et al.* 2001). Dessa forma, a taxonomia polifásica (uso integrado das características genéticas, morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, ecológicas) (Komárek 2006a, b) tem sido recomendada para a classificação das cianobactérias e muitos trabalhos estão sendo publicados usando essa abordagem (Lehtimäki *et al.* 2000, Fiore *et al.* 2005, Gaylarde *et al.* 2004, Hoffmann *et al.* 2005, Rajaniemi-Wacklin 2005, Marques 2006, Bauer 2007, McGregor 2007, Gómez 2008, Furtado *et al.* 2009, Honda 2009).

Tabela 3. Sistema de Classificação polifásica modificado de Hoffmann *et al.* (2005).

	Ordens	Famílias	Gêneros
*G	(Gloeobacterales) Cocóide, sem tilacóides	Gloeobacteraceae	<i>Gloeobacter</i>
Synechococcophycideae	(Synechococcales) Cocóide, unicelular ou colonial; tilacóides paralelos à superfície da célula	Synechococcaceae Cocóide	<i>Aphanothece</i> (tipo celular pequeno), <i>Cyanobium</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Prochlorococcus</i>
		Merismopediaceae Cocóide	<i>Aphanocapsa</i> , <i>Synechocystis</i> (células pequenas)
		Chamaesiphonaceae Cocóide/heteropolar	<i>Chamaesiphon</i> subg. <i>Euchamaesiphon</i>
		(Acaryochloridaceae) Cocóide	<i>Acaryochloris</i>
	Pseudanabaenales Filamentosa; tilacóides paralelos à superfície da célula; filamentos finos	Pseudanabaenaceae Filamentosa	<i>Geitlerinema</i> , <i>Halomicronema</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Prochlorothrix</i> , <i>Pseudanabaena</i>
		Schizotrichaceae Filamentosa	<i>Schizothrix</i>
Oscillatorioephyceae	Chroococcales Cocóide/filamentosa Arranjo radial dos tilacóides; unicelular ou colonial	(Cyanobacteriaceae) Cocóide	<i>Aphanothece stagnina</i> (tipo celular alargado), <i>Cyanobacterium</i> , <i>Cyanothece</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Myxobakteron</i>
		Mycrocystaceae Cocóide	<i>Microcystis</i>
		Gomphophaeriaceae Cocóide	<i>Snowella</i> , <i>Woronichinia</i>
		Prochloraceae Cocóide	<i>Prochloron</i>
		Chroococcaceae Cocóide	<i>Chroococcus</i>
		Entophysalidaceae Polarizada	<i>Cyanoarbor</i>
		Stichosiphonaceae Polarizada	<i>Chamaecalyx</i> , <i>Chamaesiphon</i> subg. <i>Godlewskia</i>
		Dermocarpellaceae Polarizada	<i>Cyanocystis</i> , <i>Dermocarpella</i> , <i>Stanieria</i>
		Spirulinaceae Filamentosa	<i>Holospirulina</i> , <i>Spirulina</i>
		Xenococcaceae Polarizada	<i>Chroococcidiopsis</i> , <i>Myxosarcina</i> , <i>Xenococcus</i>

*G = Gloeobacterophycidae

Tabela 3. Sistema de Classificação polifásica segundo Hoffmann *et al.* (2005), modificado *cont.*

Ordem	Família	Gêneros
Chroococcales Cócide/filamentosa Arranjo radial dos tilacóides, unicelular ou colonial	Hydrococcaceae Polarizada	<i>Hyella, Pleurocapsa</i>
Oscillatoriohyphycideae	Borziaceae Necridios –	<i>Borzia, Komvophoron</i>
	Phormidiaceae Necridios +	<i>Arthrospira, Microcoleus, Phormidium, Planktothrix, Symploca, Trichodesmium, Tychonema</i>
	Oscillatoriales Filamentosa, arranjo radial dos tilacóides, filamentos largos	Ammatoideaceae <i>Ammatoidea</i>
	Gomontiellaceae Necridios +	<i>Crinalium, Starria</i>
	Oscillatoriaceae Necridios +	<i>Blennothrix, Hormoscilla, Lyngbya, Oscillatoria</i>
Nostochophycideae	Scytonemataceae Isopolar, falsas ramificações	<i>Scytonema</i>
	(Symphyonemataceae) Ramificações verdadeiras	<i>Symphyonema</i> , “Y-Stigonematales”
	Borzinemataceae	<i>Borzinema</i>
	Rivulariaceae Heteropolares	<i>Calothrix, Gloeothrichia, Rivularia</i>
	Microchaetaceae Heteropolares	<i>Microchaete, Spirirestis, Tolypothrix</i>
	Nostocales Filamentosa, heterocitado	Nostocaceae Isopolar, sem ramificações <i>Anabaena-plancônica, Anabaena-bentônica, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Cyndrospermopsis, Cyndrospermum, Nodularia, Nostoc, Trichormus</i>
	Chlorogloeopsidaceae Ramificações verdadeiras simples	<i>Chlorogloeopsis</i>
	Hapalosiphonaceae Ramificações verdadeiras	<i>Fischerella, Mastigocladus</i> , “T-Stigonematales”
	Loriellaceae	<i>Loriella</i>
	Stigonemataceae Ramificações verdadeiras, multiseriadas	<i>Stigonema</i>

De acordo com Amann *et al.* (1995), a filogenia baseada em comparações de seqüências de fragmentos correspondentes de DNA, considera que as diferenças entre as posições dos nucleotídeos refletem a história evolutiva do organismo. Em estudos filogenéticos é útil examinar seqüências que evoluíram em diferentes níveis para solucionar diferentes partes da filogenia. Algumas seqüências são mais conservadas comparando-se os mais diversos organismos e podem ser utilizadas para unir grupos distintos, outras variam tanto que podem ser utilizadas para separar não só espécies como também linhagens.

Técnicas moleculares envolvendo o seqüenciamento do RNAr são comumente utilizadas para investigar relações evolutivas entre diferentes gêneros de cianobactérias (Turner 1997, Fox *et al.* 1992).

Carl Woese e seus colaboradores (Woese 1987, Woese *et al.* 1990) foram responsáveis pelo início do uso de dados do seqüenciamento do RNAr para avaliar as relações evolutivas entre bactérias (Turner 1997). O objetivo de seu estudo foi implementar um sistema de classificação taxonômica bacteriana comparando genes homólogos podendo assim inferir sobre relações evolutivas (Woese *et al.* 1975). De acordo com Woese (1987), Lane *et al.* (1985) e mais tarde Wilmotte *et al.* (1994), os genes que codificam para os RNA ribossômicos apresentam propriedades que os tornam de ampla utilização em estudos evolutivos, tais como: universalidade (encontradas em todos os organismos), constância funcional, combinação de regiões conservadas (mudanças lentas no tempo) com regiões variáveis.

Nas cianobactérias e procariontes em geral, os genes *rrs*, *rrl* e *rrf* que codificam para os RNAs ribossômicos 16S, 23S, 5S, respectivamente, se encontram organizados em um operon (figura 1) presente normalmente em cópia única ou múltiplas cópias do genoma cianobacteriano (Iteman *et al.* 2000, Boyer *et al.* 2001). Para inferir relações filogenéticas foi escolhido o gene *rrs* que codifica a subunidade menor do ácido ribonucléico de aproximadamente 1.500 pares de bases, devido ao seu tamanho e elevado grau de conservação, mas com variabilidade em maior ou menor grau em diferentes regiões da molécula características de um bom marcador filogenético (Lane *et al.* 1985, Woese 1987, Ludwig & Klenk 2001).

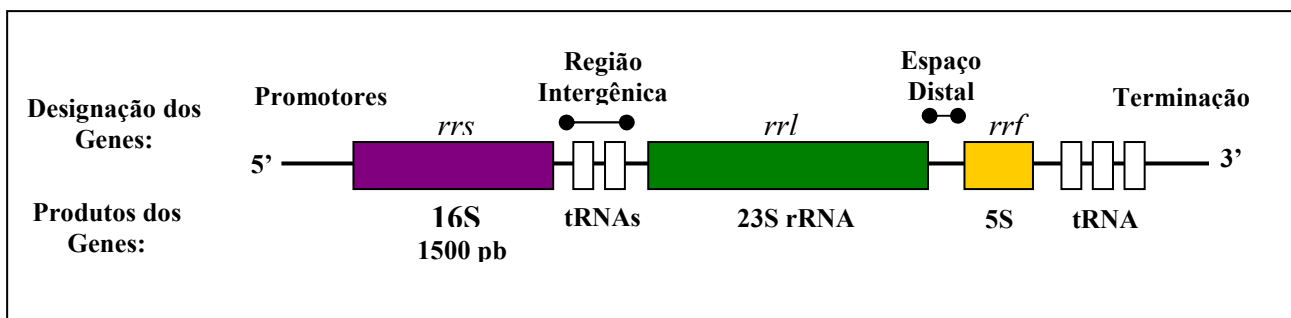


Figura 1. Esquema do operon do RNAr em procariontes (Marques 2006).

O gene RNAr 16S tem sido utilizado intensivamente para classificação de novos organismos procarióticos e foi recomendado como sendo um parâmetro chave para a taxonomia destes organismos (Stackebrandt *et al.* 2002, Case *et al.* 2007). Ele é considerado uma boa ferramenta de comparação, pois tem volume robusto de dados passíveis de comparação (Ludwig & Klenk 2001, Konstantinidis & Tiedje 2005).

De acordo com Vandamme *et al.* (1996) é comum a utilização da região do RNAr 16S para a maioria dos estudos de inferências filogenéticas para bactérias, sendo que a similaridade acima de 97% entre fragmentos indica que as linhagens pertencem a uma mesma espécie. Porém, segundo Honda (2009), esse valor não é definitivo, e ainda salienta que outros genes constitutivos (por exemplo: *cpcBA*, *gyrB*, *rbcLX*, *tufA*, *rpoB*) também são recomendados e utilizados para filogenia, pois são também conservados e pouco sujeitos a transferência lateral, inserção/deleção ou recombinação.

Os trabalhos de Woese *et al.* (1975) e Bonen *et al.* (1979) marcam o início dos estudos de RNAr 16S para cianobactérias e confirmam a estrutura bacteriana destes organismos. Vários outros estudos têm sido publicados desde então (Lane *et al.* 1985, Giovannoni *et al.* 1988, Nelissen *et al.* 1992, 1994, 1995a, 1995b, Wilmotte *et al.* 1992, 1993, 1994, Palinska *et al.* 1996, Neilan *et al.* 1997, Turner 1997, Garcia-Pichel *et al.* 1998, Honda *et al.* 1999, Otsuka *et al.* 1999, Ishida *et al.* 2001, Boyer *et al.* 2002, Suda *et al.* 2002, Casamatta *et al.* 2003, Thacker & Paul 2004, Ashelford 2005, Rajanieme-Wacklin *et al.* 2005, Svenning *et al.* 2005, Marques 2006, Palinka *et al.* 2006, Rajanieme-Wacklin 2006, Gómez 2008, Fiore *et al.* 2009, Furtado *et al.* 2009, Honda 2009). A grande maioria dos pesquisadores citados, entre outros, também tem empregado o gene que codifica para o RNAr 16S para proporcionar nova percepção das relações filogenéticas dos gêneros cianobacterianos dentro das ordens propostas por Komárek & Anagnostidis (1989) e Hoffmann *et al.* (2005).

Ecofisiologia das Cianobactérias

As cianobactérias são extremamente interessantes no que diz respeito ao estudo das relações entre atividades biológicas e fatores ecológicos, pois ocorrem freqüentemente em condições extremas e adaptam-se eficientemente a diversas mudanças nas condições ambientais (Hašler *et al.* 2003). Tanto a presença quanto a intensidade de crescimento das espécies de cianobactérias são determinadas pelo seu requerimento ecológico ótimo, influenciados principalmente por fatores como luz, temperatura e nutrientes (Collier *et al.* 1978, Reynolds 1984). O estudo da biologia, particularmente autoecologia, de determinadas espécies e o reconhecimento de suas reações diante os diversos fatores ambientais pode ter grande importância para explicar, por exemplo, o fenômeno das florações (Hašler *et al.* 2003).

Muitos gêneros pertencentes ao grupo das Oscillatoriales têm sido selecionados para a realização de estudos ecofisiológicos, devido principalmente a ampla distribuição em sistemas aquáticos hipereutróficos, entretanto, ainda pouco se sabe sobre a cinética de crescimento da grande maioria das espécies (Romo 1994).

Para Fogg & Thake (1987), a partir de estudos experimentais de culturas uniespecíficas é possível estudar os fatores relevantes em separado, para revelar importantes variáveis ambientais e mecanismos fisiológicos que podem influenciar o crescimento das espécies.

Há muitos estudos referentes às relações entre crescimento e irradiância em cianobactérias do grupo das Oscillatoriales. Pouličková *et al.* (2004) observaram, por exemplo, que a luz determina a posição dos tricomas do gênero *Planktothrix* na coluna d'água em virtude da escala de luz, ou seja, tricomas maiores e mais largos concentram-se, na maior parte das vezes, na região mais profunda dos lagos, enquanto que, os tricomas menores e mais finos permanecem na superfície.

Muitos autores concordam que o aumento da temperatura provoca aumento da taxa de crescimento de muitos organismos fitoplanctônicos, entretanto, tal situação acaba promovendo a substituição dos grupos taxonômicos, tais como clorofíceas e diatomáceas por grupos de cianobactérias favorecidas e mais adaptadas às variações das condições ecológicas (Reynolds 1984, Canale & Vogel 1974, Konopka & Brock 1978, Pechar 1995).

Sabe-se também que a ocorrência de grandes biomassas de cianobactérias no verão está relacionada a vários fatores: altas temperaturas desse período (Foy *et al.* 1976), tolerância a diferentes intensidades de luz possibilitada pela sua habilidade de deslocamento na coluna d'água (Scheffer *et al.* 1997), tolerância a altos valores de pH combinados com a capacidade

de utilizar bicarbonatos como fonte de carbono (Shapiro 1984), e boa adaptação em baixas razões N:P (Smith 1983).

De acordo com Hašler *et al.* (2003), é importante salientar que muitas vezes o ótimo fisiológico para crescimento das cepas no laboratório, geralmente não condizem com o ótimo ecológico em condições naturais.

Romo (1994), Albertano & Kovačik (1996) e Latala & Msiewicz (2000) realizaram estudos e observaram que o aumento da intensidade luminosa promovia aumento no nível das concentrações de carotenóides e pigmentos fotossintetizantes, comprovando desta forma a real influencia do fator irradiância.

Outra questão bastante relevante diz respeito à morfologia. Segundo Whiton & Peat (1969), o aumento da temperatura promoveu um aumento no diâmetro dos tricomas de *Limnothrix redekei* e o comprimento mostrou-se bastante variável. Segundo Thompson *et al.* (1991), a mudança no volume celular de acordo com a intensidade luminosa é um fenômeno comum nas algas e cianobactérias. Outras vezes, a observação do encurtamento do tricoma talvez seja um mecanismo para redução da energia para manutenção das células sob condições depletivas de nutrientes e altas temperaturas e irradiâncias (Romo 1994).

Diante dos vários estudos realizados por diversos grupos de pesquisadores sobre a ecofisiologia das cianobactérias, fica evidente a importância de se reconhecer o padrão de crescimento das mesmas sob diferentes condições ambientais, visando principalmente a remediação de situações como florações potencialmente tóxicas causadas pela eutrofização dos corpos d'água.

Ordem Oscillatoriales

As cianobactérias da ordem Oscillatoriales caracterizam-se por serem microorganismos filamentosos homocitados (sem heterocitos e acinetos), com bainha mucilaginosa facultativa e com divisão celular em um único plano (Castenholz 2001). De acordo com a última revisão realizada por Komárek & Anagnostidis (2005), o grupo distingue-se das demais cianobactérias principalmente por apresentar organismos filamentosos homocitados, entretanto, características como presença e ausência de bainha, aspecto do filamento, falsas ramificações e conteúdo ou quantidade de pigmentos celulares, são também bastante relevantes. Em relação às espécies, os principais critérios taxonômicos empregados são: dimensões celulares, forma da célula (especialmente as células terminais dos tricomas), constrições dos septos transversais e inclusões celulares (granulações e aerótopos), além de características ambientais.

As oscilatoriáceas geralmente apresentam tricomas isopolares, que algumas vezes estreitam-se em direção ao ápice. A célula terminal pode diferir na forma em relação às células adjacentes e as suas características são utilizadas para a diferenciação interespecífica. Pode ainda desenvolver modificação adicional no seu exterior como, por exemplo, uma membrana espessada ou caliptra (Castenholz 2001, Whitton 2002, Komárek & Anagnostidis 2005). Os tricomas podem formar hormogônios, estruturas de reprodução com mobilidade facultativa e, alguns membros ainda produzem falsas ramificações (Anagnostidis & Komárek 1988, Komárek & Anagnostidis 2005). Todos os gêneros e provavelmente todas as espécies, apresentam mobilidade facultativa. Muitas formas planctônicas contêm aerótopos que podem localizar-se em todo o protoplasma ou apenas próximos às paredes (Komárek & Anagnostidis 2005).

As cianobactérias da ordem Oscillatoriales aparecem em grande diversidade de habitats, desde sistemas aquáticos até terrestres, podendo ser planctônicas ou bentônicas, fazer parte do perifíton, de crostas biológicas terrestres ou constituindo tapetes microbianos (Sheath & Müller 1997, Mcknight *et al.* 1999, Vincent 2000, Casamatta *et al.* 2005, Taton *et al.* 2003, 2006).

Classificação Taxonômica de Oscillatoriales

A monografia de Maurice Gomont – “Monographie des Oscillatoriées” (Gomont, 1892), é considerada o primeiro manual de classificação taxonômica das Oscillatoriales, ou seja, marca o início do conhecimento deste grupo com nomenclatura válida. O autor reconheceu 15 gêneros dentro da família Oscillatoriaceae caracterizados principalmente pelo tipo de bainha mucilaginosa e pela disposição dos tricomas dentro da mesma. Anos depois, já no século XX, Geitler (1925, 1932) realizou distinções genéricas neste grupo baseadas principalmente nas propriedades da bainha, morfologia dos tricomas, dimensões celulares e habitat. Assim, a família Oscillatoriaceae passou a apresentar 25 gêneros. Em seguida, os trabalhos de Frémy (1930a,b), Elenkin (1936-1949), Fritsch (1945, 1949), Desikachary (1959), Starmach (1966a,b), Kondrateva (1968) apresentaram diversos estudos taxonômicos com base na morfologia, descrevendo vários outros gêneros, assim como revisões no sistema de classificação. Alguns taxonomistas optaram pela redução drástica do número de gêneros e espécies (Drouet, 1968, 1981; Bourrelly 1970, 1985) ou então pela busca de outros critérios que permitiam sua classificação (Anagnostidis & Komárek 1985, 1988).

Nos últimos anos, Anagnostidis & Komárek (1988) e Komárek & Anagnostidis (2005) realizaram revisões importantes da Ordem Oscillatoriales, com a introdução de novos

critérios taxonômicos, como proporções celulares e padrões de divisão celular, presença ou ausência de aerótopos e mobilidade, além de características ambientais. O resultado foi a transferência de um grande número de espécies para novas entidades genéricas, distribuídas entre as famílias Pseudanabaenaceae, Schizotrichaceae, Borziaceae, Phormidiaceae, Gomontiellaceae e Oscillatoriaceae.

Família Phormidiaceae Anagnostidis et Komárek 1988

A família Phormidiaceae é descrita pelas seguintes características diacríticas (Anagnostidis & Komárek, 1988, Komárek & Anagnostidis 2005):

- Divisão celular sempre perpendicular ao eixo longitudinal do tricoma. As células-filhas crescem até mais ou menos o tamanho da célula-mãe antes da próxima divisão;
- Tricomas podem apresentar motilidade;
- A reprodução ocorre através da desintegração do tricoma, muitas vezes com o auxílio de necrídio originando os hormogônios que podem ser móveis ou não;
- As células são geralmente isodiamétricas, podendo ser também mais longas ou curtas do que largas;
- São capazes de formar bainha que são sempre abertas nas extremidades e podem ser lameladas ou não, assim como conter um tricoma ou mais;
- Ramificação falsa muito rara, restrita ao gênero *Pseudophormidium*;
- Ocorrência de aerótopos restrita aos gêneros *Planktothrix* e *Trichodesmium*;
- Alguns grupos podem apresentar poros (função ainda desconhecida) na parede celular (*Symploca*).

A morfologia das células e o padrão de divisão celular de Phormidiaceae constituem-se os principais caracteres que a distingue da família mais próxima, Oscillatoriaceae, cujas células mostram-se discóides e apresentam rápida sequência de divisão celular.

Phormidiaceae destaca-se, dentre as demais famílias da ordem Oscillatoriales, por apresentar o maior número de gêneros (20) que são classificados em três subfamílias: Phormidioideae Anagnostidis et Komárek (11), Microcoleoideae Hansgirg (6) e Ammatoideoideae (Elenkin) Anagnostidis et Komárek (3), as quais diferem pela ocorrência de tricomas heteropolares ou isopolares, pelo número de tricomas por bainha e pelos tricomas alargados ou estreitados no ápice.

Subfamília Phormidioideae Anagnostidis et Komárek 1988

A subfamília Phormidioideae caracteriza-se por apresentar tricomas solitários, arrançados dentro de uma bainha, podendo formar feixes. Os tricomas variam de 3-14 (18) µm de largura, geralmente são retos, às vezes espiralados, constrictos ou não, com motilidade facultativa. A bainha pode estar presente ou não, contendo obrigatoriamente apenas um tricoma, falsa ramificação rara. Podem apresentar poros na parede celular. A reprodução ocorre por fragmentação do tricoma formando hormogônios móveis (Anagnostidis & Komárek 1988, Komárek & Anagnostidis 2005).

Gênero *Planktothrix* Anagnostidis et Komárek 1988

O gênero *Planktothrix*, classificado na Ordem Oscillatoriales, família Phormidiaceae e subfamília Phormidioideae, tem como espécie tipo *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek e caracteriza-se por apresentar espécies planctônicas com aerótopos. Na subfamília Phormidioideae, além de *Planktothrix*, o outro gênero que apresenta estas mesmas características é *Trichodesmium* Ehrenberg, mas diferenciam-se principalmente pelo modo de vida e pela morfologia do tricoma.

Assim, *Trichodesmium* é o gênero mais próximo morfologicamente de *Planktothrix*, mas difere deste pelos tricomas em fascículos ou feixes envoltos por mucilagem formando colônias flutuantes, enquanto que os tricomas de *Planktothrix* são sempre solitários.

Desta forma, Anagnostidis & Komárek (1988) e Komárek & Anagnostidis (2005) incluíram no gênero *Planktothrix* as Oscillatoriales caracterizadas por tricomas solitários, livre-flutuantes, planctônicos, quase retos ou irregularmente ondulados ou curvos, isopolares, cilíndricos, constrictos ou não, raramente metafítico, relativamente longos (acima de 4 mm), com (2) 3-12 (15) µm de largura, imóveis ou ocasionalmente com movimento delicado (tremulante, deslizante), levemente atenuado ou não em direção ao ápice, algumas vezes com caliptra terminal. Bainha geralmente ausente ou presente em condições de estresse ou em cultura; falsa ramificação ausente. Células ligeiramente mais curtas do que largas ou até isodiamétricas, raramente mais longas do que largas; aerótopos distribuídos pelo protoplasma; células apicais, quando bem desenvolvidas, são arredondadas ou cônicas, algumas vezes com caliptra ou espessamento. Reprodução por desintegração do tricoma com auxílio de necrídios, formando hormogônios imóveis, ocasionalmente móveis no bentos.

No mundo todo, cerca de 13 espécies de *Planktothrix* são conhecidas (Komárek 2003a, Komárek & Anagnostidis 2005) e a maioria é planctônica em águas continentais,

apenas algumas podem ser perfiticas. O gênero é considerado um dos mais importantes em relação à formação de florações, abundância e dominância, além de produção de toxinas (microcistinas e mais recentemente saxitoxina) e de geosmina, substância que reduz a qualidade da água e a torna imprópria ao consumo humano e até mesmo à recreação (Sivonen & Jones 1999, Pomati *et al.* 2000, Prati *et al.* 2002, Komárek & Komárkova 2004, Welker & Christiansen 2004, Tonk *et al.* 2005, Schober & Kurmayer 2006, Jüttner & Watson 2007, Rohrlack & Utkilen 2007).

No Brasil, há registros de ocorrência na literatura de quatro espécies: *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Santos 2008), *P. isothrix* (Skuja) Komárek et Komarková (Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008), *P. rubescens* (De Candole ex Gomont) Anagnostidis et Komárek (Bicudo & Ventrice 1968, Senna 1982, Franceschini 1983, Werner & Rosa 1992), *P. planctonica* (Elenkin) Anagnostidis et Komárek (Werner 1988, Werner 2002).

Literatura Citada

- Albertano, P. & Kovačik, L.** 1996. Light and temperature responses of terrestrial sciaphilous strains of *Leptolyngbya* sp. In cross-gradient cultures. Archiv für Hydrobiologie/Algological Studies 83: 17-28.
- Amann, R.L., Ludwig, W. & Schleifer, K.** 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbial Reviews, Washington, 59(1): 149-169.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1985. Modern approach to the classification system of cyanophytes .1.Introduction. Archiv für Hydrobiologie Supplement 71/Algological Studies 38/39: 291-302.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 80(1-4)/Algological Studies 50-53: 327-472.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1990. Modern approach to the classification-system of cyanophytes .5. Stigonematales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 86/Algological Studies 59: 1-73.
- Ashelford, K.E.** 2005. At least one in twenty 16S rRNA sequence records currently held in public repositories estimated to contain substantial anomalies. Applied and Environmental Microbiology 71(12): 7724-7736.
- Badger, M., Price, G.D. & Long, B.M.** 2006. The environmental plasticity and ecological genomics of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism. Journal of Experimental Botany 57: 249–265.
- Bauer, K.** 2007. Diazotrophy and diversity of benthic cyanobacteria in tropical coastal zones. Dissertação de Mestrado, Stockholm University, Stockholm.
- Bicudo, C.M.E. & Ventrice, M.R.** 1968. Algas do Brejo da Lapa. Parque Nacional do Itatiaia, Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Botânica, Fortaleza, Anais, Sociedade Botânica do Brasil, 3-30.
- Bonen, L., Doolittle, W.F. & Fox, G.E.** 1979. Cyanobacterial evolution: results of 16S ribosomal ribonucleic acid sequence analyses. Canadian Journal of Biochemistry, Ottawa, 57: 879-888.
- Boone, D.N. & Castenholz, R.W.** 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2^a ed, vol. 3 (Eds.) Springer-Verlag, New York.
- Boone, D.R. & Castenholz, R.W.** 2001. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria, 2^a ed, vol 1, 721 p.

- Bornet, E. & Flahault, C.** 1886-1888. Revision des Nostocaceas heterocystës. Annales des Sciences Naturelles, Botanique 7(3): 323-381, (4): 343-373, (5): 51-129, (7): 171-262.
- Bourrely, P.** 1970. Note sur la famille des Oscillatoriacées-Schweiz. Z. Hydrol 32: 519-522.
- Bourrely, P.** 1985. Les algues d'eau douce, vol. III-2ed, N. Boubée & Cie., Paris, 606 p.
- Boyer, S.L., Flechtner, V.R. & Johansen, J.R.** 2001. Is the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in cyanobacteria. Molecular Biology and Evolution 18: 1057-1069.
- Boyer, S.L., Johansen, J.R., Flechtner, V.R. & Howard, G.L.** 2002. Phylogeny and genetic variance in terrestrial *Microcoleus* (cyanophyceae) species based on sequence analysis of the 16S rRNA gene and associated 16S–23S ITS region. Journal of Phycology 38: 1222-1235.
- Calijuri, M.C., Alves, M.S.A. & Santos, A.C.A.** 2006. Cianobactérias e Cianotoxinas em Águas Continentais. Ed. Rima, São Carlos, 118 p.
- Canale, R.P. & Vogel, A.H.** 1974. Effects of temperature on phytoplankton growth. ACSE, Journal of the Environmental Engineering Division 100: 231-241.
- Cardemil, L. & Wolk, L.P.** 1981. Isolated heterocysts of *Anabaena variabilis* synthesize envelope polysaccharide. Biochimica et Biophysica Acta 671: 265-276.
- Carpenter, E.J.** 2002. Marine Cyanobacterial Symbioses. Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy 102B(1):15–18.
- Casamatta, D.A., Vis, M.L. & Sheath, R.G.** 2003. Cryptic species in cyanobacterial systematics: a case study of *Phormidium retzii* (Oscillatoriales) using RAPD molecular markers and 16S rDNA sequence data. Aquatic Botany 77: 295-309.
- Casamatta, D., Johansen, J.R., Vis, M.L. & Broadwater, S.T.** 2005. Molecular and morphological characterization of ten polar and Near-polar strains within the oscillatoriales (cyanobacteria). Journal of Phycology 41: 421–438.
- Case, R.J., Boucher, Y., Dahlof, I., Holmstrom, C., Doolittle, W.F. & Kjelberg, S.** 2007. Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. Applied and Environmental Microbiology 73: 278-288.
- Castenholz, R.W.** 2001. General characteristics of the Cyanobacteria. In: E. Garrity, D.R. Boone & R.W. Castenholz (eds.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, New York, vol. 1, pp. 474-487.
- Collier, B.C., Cox, G.W., Johnson, A.W. & Miller, P.C.** 1978. Ekologia dynamiczna (Dynamic ecology). PWRil, Warszawa, 544 p.
- Costa, I.A.S.** 2003. Dinâmica de Populações de Cianobactérias em um Reservatório Eutrofizado no Semi-Árido Nordeste Brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

- De Philippis, R. & Vicenzini, M.** 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS Microbiology Reviews* 22: 151-175.
- Desikachary, T.V.** 1959. Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research, Monographs on algae, New Delhi.
- Desikachary, T.V.** 1973. Status of classical taxonomy. *In*: N.G. Carr & B.A. Whitton (eds). The Biology of Blue-green algae, Bot. Monogr., Blackwell Sci. Publ., Oxford-London-Edinburgh-Boston-Melbourne, 9: 473-481.
- Dignum, M., Matthijs, H.C.P, Pel, R., Laanbroek, H.J. & Mur, L.R.** 2005. Nutrient limitation to freshwater cyanobacteria-tools to monitor phosphorus limitation at individual level. *In*: J. Huisman, H.C.P. Matthijs and P.M. Visser (eds.). Harmful Cyanobacteria. Dordrecht, Springer, The Netherlands, pp. 65-86.
- Drews, G.** 2000. The roots of microbiology and the influence of Ferdinand Cohn on microbiology of the 19th century. *FEMS Microbiology Reviews* 24(3):225-249.
- Drouet, F.** 1968. Revision of the classification of the Oscillatoriaceae. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, monograph 15, 370 p.
- Drouet, F.** 1973. Revision of the Nostocaceae with cylindrical trichomes (formerly Scytonemataceae and Rivulariaceae). New York & London: Hafner, pp. 11-292.
- Drouet, F.** 1978. Revision of the Nostocaceae with constricted trichomes. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 57(258) 42 figs.
- Drouet, F.** 1981. Summary of the classification of the blue-green algae. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 66: 133-209.
- Drouet, F. & Daily, W.A.** 1956. Revision of the coccoid Myxophyceae. *Butler University Botanical Studies* 12: 1-218, 377 figs.
- Dvornyk, V. & Nevo, E.** 2003. Genetic polymorphism of Cyanobacteria under permanent natural stress: a lesson from the "Evolution Canyons". *Research in Microbiology* 154: 79-84.
- Economou-Amilli, A., Anagnostidis, K. & Roussomoustakaki, M.** 1984. Structural aspects of the adaptation of some blue-green algae and diatoms to desiccation. *In*: N.S. Margaris, M. Arianoutsou-Faraggitaki & W.C. Oechel (eds.). Being alive on lands. The Hague-Boston-Lancaster, pp. 103-114.
- Elenkin, A.A.** 1936-1949. Monographia algarum cyanophycearum aquidulcium et terrestrium in finibus. URSS inventarum [Sinezelenye vodorosli SSSR], Pars spec. 2(1-2), 1908 pp., Izd. AN SSSR, Moskva-Leningrad.
- Fay, P.** 1983. The Blue-greens (Cyanophyta-Cyanobacteria). The Institute of Biology's Studies in Biology n° 160. (Ed. E. Arnold) Ltd. London.

- Fiore, M.F., Genuário, D.B., Silva, C.S.P. ShiShido, T.K., Moraes, L.A.B., Cantúcio Neto, R. & Silva-Stenico, M.E.** 2009. Microcystin production by a freshwater spring cyanobacterium of the genus *Fischerella*. *Toxicon*, Oxford, doi: 10.1016/j.toxicon.2009.02.010.
- Fiore, M.F., Neilan, B.A., Copp, J.N., Rodrigues, J.L.M., Tsai, S.M., Lee, H. & Trevors, J.T.** 2005. Characterization of nitrogen-fixing cyanobacteria in the Brazilian Amazon floodplain. *Water Research*, New York, 39: 5017-5026.
- Fogg, G.E. & Thake, B.** 1987. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. University of Wisconsin Press, Madison and Milwaukee 269 p.
- Fox, G.E., Wisotzkey, J.D. & Jurtshuk, P., Jr.** 1992. How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 42: 166-170.
- Foy, R.H., Gibson, C.E. & Smith, R.V.** 1976. The influence of daylength, light intensity and temperature on the growth rates of planktonic blue-green algae. *British Phycology Journal* 11: 151-163.
- Franceschini, I.** 1983. Levantamento das Nostocophyceae do Rio Seco, Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- Frémy, P.** 1930a. Les Myxophycées de l'Afrique équatoriale française. *Archives Botanique Mémoires* 3(2): 1-508, 362 figs.
- Frémy, P.** 1930b. Les Myxophycées de Madagascar. *Annales de Cryptogamie Exotique* 3: 200-230, Plates IV-XII.
- Fritsch, F.E.** 1945. The structure and reproduction of the algae. Volume II. Foreword, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Myxophyceae., 2 folded maps. Cambridge: University Press, Vol. 2, pp 939, 336 figs.
- Fritsch, F.E.** 1949. The lime-encrusted *Phormidium* community of British streams. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 10: 141-144.
- Furtado, A.L.F.F., Calijuri, M.C., Lorenzi, A.S., Honda, R.Y., Genuário, D.B. & Fiore, M.F.** 2009. Morphological and Molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. *Hydrobiologia* 627: 195-209.
- García-Pichel, F., Johnson, S.L., Youngkin, D. & Belnap, J.** 2003. Small-Scale vertical distribution of bacterial biomass and diversity in biological soil crusts from arid lands in the Colorado Plateau. *Microbial Ecology* 46: 312-321.

- Garcia-Pichel, F., Nubel, U. & Muyzer, G.** 1998. The phylogeny of unicellular, extremely halotolerant cyanobacteria. *Archives of Microbiology* 169: 469-482.
- Gaylarde, C., Gaylarde, P., Copp, J. & Neilan, B.** 2004. Plyphasic detection of cyanobacteria in terrestrial biofilms. *Biofouling*, Chur, 20: 71-79.
- Geitler, L.** 1925. Cyanophyceae. *In: Pascher's Süßwasserflora*, G. Fischer-Verl., Jena 12: 1-450.
- Geitler, L.** 1932. Cyanophyceae. *In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* 14. Akad. Verlagsgesell, Leipzig.
- Giovannoni, S.J., Turner, S., Olsen, G.J., Barns, S., Lane, D.J., & Pace, N.R.** 1988. Evolutionary relationships among cyanobacteria and green chloroplasts. *Journal of Bacteriology* 170: 3584-3592.
- Golubić, S.** 1967. Algenvegetation der Felsen. *Die Binnengewässer*, Schweizerbart, Verlagsbuchh, Stuttgart, 23: 183 p.
- Golubić, S.** 1969. Tradition and revision in the system of the Cyanophyta. *Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 17: 752-756.
- Golubić, S.** 1979. Cyanobacteria (blue-green algae) under the bacteriological code? An ecological objection. *Taxon* 28: 387-389.
- Gómez, E.B.** 2008. Caracterización Morfológica, Genética y Fisiológica de Cianobacterias dominantes en sistemas fluviales. Tese de Doutorado, Universidad Autónoma de Madrid, Espanha.
- Gomont, M.M.** 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique* 7(15): 263-368, (16): 91-264.
- Hašler, P., Pouličková, A. & Vařeková, Š.** 2003. Comparative studies on two strains of the genus *Planktothrix* (Cyanophyta, Cyanoprokaryota). *Algological Studies* 108: 15-29.
- Healey, F.P.** 1982. Phosphate. *In: The Biology of Cyanobacteria*. N. G. Carr & B. A. Whitton (eds.). Blackwell Scientific Publisher, Oxford, 19, pp. 105-124.
- Hoffmann, L., Komárek, J. & Kaštovský, J.** 2005. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state 2004. *Algological Studies* 117: 95-115.
- Hoiczky, E.** 1998. Structural and Biochemical Analysis of the Sheath of *Phormidium uncinatum*. *Journal of Bacteriology* 3923-3932.
- Hoiczky, E. & Hansel, A.** 2000. Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope. *Journal of Bacteriology* 182:1191-1199.
- Hollerbach, M.M., Kosinskaja, E.K. & Poljanskij, V.I.** 1953. Sinezelenye vodorosli. (Blue-green algae). *In: Opredelitel' presnovodnykh vodoroslej SSSR* 2. (eds). pp. 1-625.

- Honda, D., Yokota, A. & Sugiyama, J.** 1999. Detection of seven major evolutionary lineages in cyanobacteria based on the 16S rRNA gene sequence analysis with new sequences of five marine *Synechococcus* strains. *Journal of Molecular Evolution* 48: 723-739.
- Honda, R.Y.** 2009. Caracterização morfológica e molecular de cianobactérias do gênero *Anabaena* isoladas de corpos d' água brasileiros. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba, São Paulo.
- Huber-Pestalozzi, G.** 1938. Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. 1. Die Binnengewässer 16: 1-342.
- Ishida, T., Watanabe, M.M., Sugiyama, J. & Yokota, A.** 2001. Evidence for polyphyletic origin of the members of the orders of Oscillatoriales and Pleurocapsales as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters* 201: 79-82.
- Iteman, I., Rippka, R., De Marsac, N.T. & Herdman, M.** 2000. Comparison of conserved structural and regulatory domains within divergent 16S rRNA-23S rRNA spacer sequences of cyanobacteria. *Microbiology* 146: 1275-1286.
- Jha, M.N. & Prasad, A.N.** 2006. Efficacy of new inexpensive cyanobacterial biofertilizer including its shelf-life. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 22:73-79.
- Jüttner, F. & Watson, S.B.** 2007. Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. *Applied and Environmental Microbiology* 73(14): 4395-4406.
- Kirchner, O.** 1898. Schizophyceae. *In*: A. Engler and K. Prantl (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten*. 1(1A): 4-92.
- Knoll, A.H.** 2008. Cyanobacteria and Earth History. *In*: A. Herrero & E. Flores (eds.), *The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution*, Casiter Academic Press, pp. 1-19.
- Komárek, J.** 2003. Planktic oscillatoriale cyanoprokaryotes (short review according to combined phenotype and molecular aspects). *Hydrobiologia* 502: 367-382.
- Komárek, J.** 2006a. The modern classification of cyanoprokaryotes (cyanobacteria). *Oceanological and Hydrobiological Studies (Gdansk), Supplement* 34, 3: 5-17.
- Komárek, J.** 2006b. Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae* 21(4):349-375.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 1986. Modern approach to the classification system of Cyanophytes 2 Chroococcales. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 73, 2 *Algological Studies* 43: 247-345.

- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 1989. Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4 Nostocales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 82, 3 Algological Studies 36: 247-345.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 1999. Cyanoprokariota: Chroococcales. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa 1^a edición vol. 19/1 (Ed. G. Fischer), Jena Stuttgart Lübeck Ulm, Germany, pp. 545.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 2005. Cyanoprokariota, 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, G. Gärdner, L. Krienitz & M. Schagul (eds.). Subwasserflora von mitteleuropa, Band 19/2. Spektrum Akademischer Verlag, 759 p.
- Komárek, J. & Kaštovský, J.** 2003. Coincidences of structural and molecular characters in evolutionary lines of cyanobacteria. Archiv für Hydrobiologie 148, 4 Algological Studies 109: 305-325.
- Komárek, J. & Komárková, J.** 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. Czech Phycology, Olomouc, 4: 1-18.
- Kondratieva, N.V.** 1968. Sin'ozeleni vodorosti-Cyanophyta. [Blue-green algae-Cyanophyta]. In: Vozn. Prsnov. Vodorost., Vid. 'Nauka dumka', Kiev, Ukr.RSR 1, 2: 524 p.
- Konopka, A. & Brock, T.D.** 1978. Effect of temperature on blue-green algae (cyanobacteria) in Lake Mendota. Applied and Environmental Microbiology 36: 572-576.
- Konstantinidis, K.T. & Tiedje, J.M.** 2005. Towards a genome-based taxonomy for prokaryotes. Journal of Bacteriology 187(18): 6258-6264.
- Kützing, T.F.** 1843. Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Leipzig, 458 p.
- Lane, D.J., Pace, B., Olsen, G.J., Stahl, D.A., Sogin, M.L. & Pace, N.R.** 1985. Rapid Determination of 16S Ribosomal RNA Sequences for Phylogenetic Analyses. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 82: 6955-6959.
- Latala, A. & Misiewicz, S.** 2000. Effects of light, temperature and salinity on the growth and chlorophyll a content of Baltic cyanobacterium *Phormidium amphibium*. Archiv für Hydrobiologie/Algological Studies 100: 157-180.
- Lee, R.E.** 2008. Phycology. Cambridge University Press, Fourth Edition, 547 p.
- Lehtimäki, L., Lyra, C., Soumalainen, S., Sundman, P., Rouhiainen, L., Paulin, L., Salkinoja-Salonen, M. & Sivonen, K.** 2000. Characterization of Nodularia strains, cyanobacteria from brackish waters, by genotypic and phenotypic methods. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Reading, 50: 1043-1053.
- Litvaitis, M.K.** 2002. A molecular test of cyanobacterial phylogeny: inferences from constraint analyses. Hydrobiologia 468: 135-145.

- Ludwig, W. & Klenk, H.** 2001. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. *In: Bergey's Manual of Systematics Bacteriology*. Second Edition. Springer-Verlag. Berlin, pp. 49-65.
- Lundgren, P., Sodereback, E., Singer, A., Carpenter, E.J. & Bergamnn, B.** 2001. *Katagnymene*: characterization of a novel marine diazotroph. *Journal of Phycology*, Baltimore, 37: 1052-1062.
- Magar, V & Pedeley, T.J.** 2005 Average nutrient uptake by a self-propelled unsteady squirmer. *Journal of Fluid Mechanics* 539: 93–112.
- Marques, K.N.** 2006. Análise morfológica e molecular de cianobactérias isoladas de efluentes de uma mina de urânio desativada com ênfase em *Aphanothece* e sua capacidade de bio sorção do ^{226}Ra . Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, CENA, Piracicaba, São Paulo.
- McGregor, G.B.** 2007. Freshwater Cyanoprokaryota of North-Eastern Australia. I: Oscillatoriales. Australian Biological Resources Study. II. Title (Series: Flora of Australia Suppementary Series, n. 24), 124 p.
- McKnight, D.M., Niyogi, D.K., Alger, A.S., Bomblies, A., Conovitz, P.A. & Tate, C.M.** 1999. Dry valley streams in Antarctica: ecosystems waiting for water. *Bioscience* 49: 985-95.
- Melcher, S.S.** 2007. Estudos morfológicos e moleculares de cianobactérias potencialmente tóxicas dos gêneros *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* e *Raphidiopsis* (Nostocales). Tese de Doutorado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Miller, S.R., Augustine, S., Olson, T.L., Blankenship, R.E. Selker, J. & Wood, A.M.** 2004. Discovery of a free-living chlorophyll d-producing cyanobacterium with a hybrid proteobacterial/cyanobacterial small subunit rRNA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(3): 850-855.
- Miyashita, H., Ikemoto, H., Kurano, N., Miyachi, S. & Chihara, M.** 2003. *Acaryochloris marina* gen. et sp. nov. (cyanobacteria), an oxygenic photosynthetic prokaryote containing chl *d* as a major pigment. *Journal of Phycology* 39:1247-53.
- Moffit, M.C., Blackburn, S.I. & Neilan, B.A.** 2001. rRNA sequences reflect the ecophysiology and define the toxic cyanobacteria of the genus *Nodularia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 505-512.
- Mur, L.R., Skulberg, O.M. & Utkilen, H.** 1999. Cyanobacteria in the environment. *In: Chorus, I. & Bartram, J. (eds.). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: E & FN Spon, Chap. 2, pp. 15-40.
- Mur, M.D.** 1976. Proterozoic microfossils from the Amelia Dolomite, McArthur Basin, Northern Territory. *Alcheringa* 1: 143-158.

- Neilan, B.A., Jacobs, D., Del Dot, T., Blackall, L.L., Hawkins, P.R., Cox, P.T. & Goodman, A.E.** 1997. rRNA sequences and evolutionary relationships among toxic and nontoxic cyanobacteria of the genus *Microcystis*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47:693-697.
- Nelissen, B., Mordant, P., Jonniaux, S.L., De Wachter, R. & Goffeau, A.** 1995a. Phylogenetic classification of the major super family of membrane transport facilitators, as deduced from yeast genome sequencing. *FEBS Letters*, Amsterdam, 337: 232-236.
- Nelissen, B., Van De Peer, Y., Wilmotte, A. & De Wachter, R.** 1995b. An early origin of plastids within the cyanobacterial divergence is suggested by evolutionary trees based on complete 16S rRNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, Chicago, 12: 1166-1173.
- Nelissen, B., Wilmotte, A., De Baere, R., Van De Peer, Y., Haes, F., Neefs, J.M. & De Wachter, R.** 1992. Phylogenetic study of cyanobacteria on the basis 16S ribosomal RNA sequences. *Belgium Journal of Botany*, Brussels, 125: 210-213.
- Nelissen, B., Wilmotte, A., Neefs, J. M. & Dewachter, R.** 1994. Phylogenetic-relationships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal-RNA gene sequence-analysis. *Systematic and Applied Microbiology* 17: 206-210.
- Nichols, J.M. & Adams, D.G.** 1982. Akinetes. *In*: N. G. Carr & B. A. Whitton (eds.). *The Biology of Cyanobacteria*. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, vol.19, pp.387-412.
- Nobles, D.R., Romanovicz, D.K. & Brown Jr., R.M.** 2001. Cellulose in Cyanobacteria. Origin of Vascular Plant Cellulose Synthase? *Plant Physiology* 127:529-542.
- Orús, M.I., Rodríguez-Buey, M.L., Martínez, F. & Marco, E.** 1995. ogénesis and ultraestructure of carboxysomes from wild type and mutans of *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *Plant Physiology* 107: 59-116.
- Osborne, B. & Bergman, B.** 2002. Commentaries on cyanobacterial symbioses: introduction and overview. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 102B(1):1-2.
- Otsuka, S., Suda, S., Li, R.H., Watanabe, M., Oyaizu, H., Matsumoto, S. & Watanabe, M.M.** 1999. Phylogenetic relationships between toxic and non-toxic strains of the genus *Microcystis* based on 16S to 23S internal transcribed spacer sequence. *FEMS Microbiology Letters* 172:15-21.
- Palinska, K.A., Liesak, W., Rhiel, E. & Krumbein, W.E.** 1996. Phenotype variability of identical genotypes: the need for a combined approach in cyanobacterial taxonomy demonstrated on *Merismopedia* like isolates. *Archives of Microbiology*, Heidelberg, 166: 224-233.

- Palinska, K.A., Thomasius, C.F., Marquardt, J. & Golubic, S.** 2006. Phylogenetic evaluation of cyanobacteria preserved as historic herbarium exsiccate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 2253–2263.
- Pearl, H.W. & Tucker, C.S.** 1995. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. *Journal of World Aquaculture Society* 26(2): 109-131.
- Pechar, L.** 1995. Long term changes in fish pond management as “unplanned ecosystem experiment”. *Water Science and Technology* 32(4): 187-196.
- Pomati, F., Sacchi, S., Rosseti, C. & Giovannardi, S.** 2000. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: Molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of Phycology* 36: 553-562.
- Pouličková, A., Hašler, P. & Kitner, M.** 2004. Annual Cycle of *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anag. & Kom. Nature Population. *International Review of Hydrobiology* 89(3): 278-288.
- Prati, M., Molteni, M., Pomati, F., Rosseti, C. & Bernardini, G.** 2002. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon*, 40: 267-272.
- Rabenhorst, L.** 1865. *Flora europaea algarum aquae dulcis et submarinae. Sectio II. Algas phycochromaceas complectens*, Leipzig, pp. 319, 71 figs.
- Rai, A.M.** 1990. *Handbook of symbiotic cyanobacteria*. CRC-PRESS, Boca-Raton, Florida 253 p.
- Rajaniemi-Wacklin, P.** 2006. Biodiversity and phylogeny of planktic cyanobacteria in temperate freshwater lakes. *Dissertação (Academic Dissertation in Microbiology) Department of Applied Chemistry and Microbiology*.
- Rajaniemi-Wacklin, P., Rantala, A., Mugnai, M.A., Turucchia, S., Ventura, S., Komarková, J., Lepistö, L. & Sivonen, K.** 2005. Correspondence between phylogeny and morphology of *Snowella* spp. And *Woronochinia naegeliana*, cyanobacteria commonly occurring in lakes. *Journal of Phycology*, Baltimore, 42: 226-232.
- Riviers, B.** 2002. *Biologie et phylogénie des algues. Tome 1*. Paris: Ed. Berlin, 352 p.
- Reviers, B.** 2006. *Biologia e Filogenia das Algas*, Porto Alegre, Ed. Artmed, 280 p.
- Reynolds, S.C.** 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, Uk 270 p.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B. Herdman, M. & Stanier, R. Y.** 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
- Rodríguez-López, M. & Vázquez, D.** 1968. Comparative studies on cytoplasmic ribosomes from algae. *Life Sciences* 7: 327-336.

- Rohrlack, T. & Utkilen, H.** 2007. Effects of nutrient and light availability on production of bioactive anabaenopeptins and microviridin by the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. *Hydrobiologia* 83: 231-240.
- Romo, S.** 1994. Seasonal variation in size of the cyanophytes *Planktothrix agardhii*, *Pseudoanabaena galeata* and *Geitlerinema* sp. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 25: 2221-2225.
- Sachs, J.** 1874. *Lehrbuch der Botanik*, 4th ed. W. Engelmann, Leipzig.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M.T.P.** 1995. Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. *Nova Hedwigia* 60: 19-58.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M.T.P.** 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia* 71: 359-385.
- Sant'Anna, C.L., Azevedo, M.T.P., Agujaro, L., Carvalho, M.C., Carvalho, L.R. & Souza, R.C.R.** 2006. Manual Ilustrado para: Identificação e Contagem de Cianobactérias Planctônicas de Águas Continentais Brasileiras. Sociedade Brasileira de Ficologia, Ed. Interciência, 58 p.
- Sant'Anna, C.L., Melcher, S.S., Carvalho, M.C., Gemelgo, M.P. & Azevedo, M.T.P.** 2007. Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 30 (1): 1-17.
- Santos, K.R.S.** 2008. Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas ("salina", "salitrada" e "baía") do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. Dissertação, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L.R. & Van Nes, E.H.** 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology* 78(1): 272-282.
- Schmetterer, J.** 1994. Cyanobacterial respiration. *In: The Molecular Biology of Cyanobacteria*. A. Bryant (ed.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 409-435.
- Schober E. & Kurmayer R.** 2006. Evaluation of different DNA sampling techniques for the application of the real-time PCR method for the quantification of cyanobacteria in water. *Letters in Applied Microbiology* 42: 412-417.
- Schopf, J.W.** 1968. Microflora of the Bitter Springs Formation, Late Precambrian, central Australia. *Journal of Paleontology* 42: 651-688.
- Senna, P.A.C.** 1982. Nostocophyceae do Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Shapiro, J.** 1984. Blue-green dominance in lakes: the role and management significance of pH and CO₂. *International Review of Hydrobiology* 69: 765-780.

- Sheath, R.G. & Müller, K.M.** 1997. Distribution of stream macroalgae in four high arctic drainage basins. *Artic* 50(4): 355-364.
- Shively, J.M.** 1988. Inclusions: granules of polyglucose, polyphosphate, and poly- β -hydroxybutyrate. *In*: L. Packer & A. N. Glazer (eds.). *Methods in Enzymology. Cyanobacteria*. Academic Press, Inc. New York, vol. 167, pp. 195-203.
- Simon, R.D.** 1987. Inclusion bodies in the cyanobacteria: cyanophycin, polyphosphate, polyhedral bodies. *In*: P. Fay & C. Van Baalen (eds.). *The Cyanobacteria*. Elsevier Science Publishers, Oxford, pp. 199-225.
- Sivonen, K. & Jones, G.** 1999. Cyanobacterial toxins. *In*: I. Chorus & J. Bartram (eds.). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, UK: WHO, E & FN Spon, pp. 41-112.
- Skulberg, O.M.** 2000. Microalgae as a source of bioactive chemicals, experience from cyanophyte research. *Journal of Applied Phycology* 12:341-348.
- Smith, A.J.** 1982. Modes of cyanobacterial carbon metabolism. *In*: *The Biology of Cyanobacteria*. N. G. Carr & B. A. Whitton (eds.). Blackwell Scientific Publishers, Oxford, vol.19, pp. 47-85.
- Smith, V.H.** 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science* 221: 669-671.
- Stackebrandt, E., Frederischen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A.D., Kämpfer, P., Maiden, M.C.J., Nesme, X., Rosseló-Mora, R., Swings, J., Trüper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C. & Whitman, W.B.** 2002. Report of the Ad Hoc Committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, 52: 1043-1047.
- Stanier, R.Y. & Cohen-Bazire, G.** 1977. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology* 31: 225-274.
- Starmach, K.** 1966a. Cyanophyta-Sinice. Glaucophyta-Glaukofity. *In*: *Flora słodkowodna Polski*. Tom 2. Starmach, K. (eds). Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Naukowe, 807 p.
- Starmach, K.** 1966b. Cyanophyta-Sinice. *In*: *Flora słodkowodna Polski*. 2. (eds). Warszawa: PAN, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, 753 p.
- Steunou, A.S., Bhaya, D., Bateson, M.M., Melendrez, M.C., Ward, D.M., Brecht, E., Peters, J.W., Kuhl, M. & Grossman, A.R.** 2006. *In situ* analysis of nitrogen fixation and metabolic switching in unicellular thermophilic cyanobacteria inhabiting hot spring microbial mats. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103(7): 2398-2403.
- Stewart, I., Schluter, P.J. & Shaw, G.R.** 2006. Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health – a review. *Environmental Health: A Global Access Science Source* 5(7): 1-23 pp.

- Stewart, W.D.P.** 1980. Some aspects of structure and function in N₂-fixing cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology* 34: 497-538.
- Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnaraporn, N., Liu, Y & Day, J.G.** 2002. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoriod cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577-1595.
- Svenning, M.M., Eriksson, T. & Rasmussen, U.** 2005. Phylogeny of symbiotic cyanobacteria within the genus *Nostoc* based on 16S rDNA sequence analyses. *Archives of Microbiology* 183: 19-26.
- Taton, A., Grubisic, S., Brambilla, E., de Wit, R. & Wilmotte, A.** 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Applied and Environmental Microbiology* 69(9): 5157–5169.
- Taton, A., Grubisic, S., Ertz, D., Hodgson, D.A., Piccardi, R., Biondi, N., Tredici, M.R., Mainini, M., Losi, D., Marinelli, F. & Wilmotte, A.** 2006. Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *Journal of Phycology* 42(6): 1257-1270.
- Thacker, R.W. & Paul, V.J.** 2004. Morphological, chemical, and genetic diversity of tropical marine cyanobacteria *Lyngbya* spp. and *Ssymploca* spp. (oscillatoriales). *Applied and Environmental Microbiology* 70(6): 3305–3312.
- Thompson, P.A., Harrison, P.J. & Parslow, J.S.** 1991. Influence of irradiance on cell volume and carbon quota for ten species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology* 27: 351-360.
- Thuret, G.** 1975. Essai the classification des Nostochinées. *Annales des Sciences Naturelles Botanique* 6(1): 372-382.
- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O.F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. & Huisman, J.** 2005. The Microcystin composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5177-5181.
- Tucci, A., Sant’Anna, C.L., Gentil, R.C. & Azevedo, M.T.P.** 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea* 33(2): 147-175.
- Turner, S.** 1997. Molecular systematics of oxygenic photosynthetic bacteria. *Plant Systematics and Evolution* 11: 13-52.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K. & Swings, J.** 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Review* 60:407-438.
- Van den Hoek, D.G., Mann, H. & Jahns, M.** 1995. *Algae: introduction to phycology*. Cambridge University Press. 623 p.

- Vermelho, A.B., Bastos, M.C.F. & Sá, M.H.B.** 2007. Bacteriologia Geral. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 582 p.
- Vincent, W.F.** 2000. Cyanobacterial dominance in the polar regions. *In*: B.A. Whitton & M. Potts (eds.). The Ecology of Cyanobacteria. Kluwer Academic Publ., pp. 321-340.
- Wallroth, C.F.W.** 1833. Flora Cryptogamica Germaniae 2 Algas et fungos. Norimbergae [Nürberg]: Schragius [J.L. Schrag], 923 p.
- Walsby, A.E.** 1975. Gas vesicles. Annual Review of Plant Physiology 26: 427-439.
- Waterbury, J.B. & Stainer, R.Y.** 1977. Two unicellular cyanobacteria which reproduce by budding. Arch. Microbiol. 115: 249-257.
- Welker, M. & Christiansen, G.** 2004. Diversity of coexisting *Planktothrix* (Cyanobacteria) chemotypes deduced by mass spectral analysis of microcystins and other oligopeptides. Arch. Microbiol. 182: 288-298.
- Werner, V.R.** 1988. Cianofíceas planctônicas da Lagoa de Tramandaí e da Lagoa do Armazém, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia, Sér.. Bot., Porto Alegre 37: 33-70.
- Werner, V.R.** 2002. Cyanophyceae/Cyanobacteria no sistema de lagoas e lagunas da planície costeira do Estado do rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo.
- Werner, V.R. & Rosa, Z.M.** 1992. Cyanophyceae da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biologia 52 (3): 481-502.
- Whitton, B.A.** 1987. The biology of Rivulariaceae. *In*: The Cyanobacteria. P. Fay & C. Van Baalen (eds.). Elsevier, Oxford, pp. 513-534.
- Whitton, B.A.** 1992. Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. *In*: Photosynthetic Prokaryotes. N. H. Mann & N. G. Carr (eds.). Biotechnology Handbooks. Plenum Press. London, vol.6, pp. 1-51.
- Whitton, B.A.** 2002. Phylum Cyanophyta. *In*: The freshwater algal flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae. D. M. John, B. A. Whitton & A. J. Brook (eds.). Cambridge University Press, UK, pp. 25-122.
- Whitton, B.A. & Peat, A.** 1969. On *Oscillatoria redekei* Van Goor. Arch. Microbiol. 68: 362-376.
- Whitton, B.A. & Potts, M.** 2000. Introduction to the Cyanobacteria. *In*: Whitton, B. A. & Potts, M. (eds.). The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space. Dordrecht: Kluwer Academic., pp. 1-11.
- Willén, T. & Willén, E.** 1999. *Byssus flos-aquae* L. Algological Studies 94: 377-382.

- Wilmotte, A.** 1994. Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. *In: The Molecular Biology of Cyanobacteria*. D. A. Bryant (ed.). Kluwe Academic Publishers, The Netherlands, pp. 1-25.
- Wilmotte, A. & Golubić, S.** 1991. Morphological and genetic criteria in the taxonomy of Cyanophyta/Cyanobacteria. *Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud.* 64: 1-24.
- Wilmotte, A., Neefs, J. M. & De Wachter, R.** 1994. Evolutionary affiliation of the marine nitrogen-fixing cyanobacterium *Trichodesmium* sp. strain NIBB-1067, derived by 16S ribosomal RNA sequence analysis. *Microbiology* 140(8): 2159-2164.
- Wilmotte, A., Turner, S., Van de Peer, Y. & Pace, N.R.** 1992. Taxonomic study of marine oscillatoriaceas strains (Cyanobacteria) with narrow trichomes. II. Nucleotide sequence analysis of the 16S ribosomal RNA. *J Phycol* 28: 828-838.
- Wilmotte, A., Van der Auwera, G. & de Wachter, R.** 1993. Structure of the 16S ribosomal RNA of the thermophilic cyanobacterium *Chlorogloeopsis* HTF (*Mastigocladus laminosus* HTF) strain PCC7518, and phylogenetic analysis. *FEMS Microbiol Lett* 317: 96-100.
- Woese, C.R.** 1987. Bacterial evolution. *Microbiology Review* 51: 221-71.
- Woese, C.R. & Fox, G.E.** 1977 Phylogenetic Structure of the Prokaryotic Domain: The Primary Kingdoms, *PNAS* 74(11): 5088-5090.
- Woese, C.R., Klander, O. & Wheelis, M.L.** 1990. Towards a natural systems of organisms: Proposal for the domains Archea, Bacteria e Eukarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, Washington 87(12): 4576-4579.
- Woese, C.R., Sogin, M.L., Bonen, L. & Stahl, D.** 1975. Sequence studies on 16S ribosomal RNA from blue-green algae. *Journal of Molecular Evolution*, New York, 4: 307-315.
- Wood, P., Peat, A. & Whitton, B.A.** 1986. Influence of phosphorous status on fine structure of the cyanobacterium (blue-green alga) *Calothrix parietina*. *Cytobios* 47: 89-99.
- Zhang, Y.** 1981. Proterozoic Stromatolite Microfloras of the Gaoyuzhuang Formation (Early Sinian: Riphean), Hebei, China. *Journal of Paleontology* 55: 485-506.

Capítulo 1

Taxonomia do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales/Cyanobacteria) no Brasil¹

Silva, D.^{1,2} & Sant'Anna, C.L.²

¹Parte da Tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica.

²Seção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, 01061 - 970 São Paulo, SP,
Brasil.

Resumo - Taxonomia do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales/Cyanobacteria) no Brasil. A diferenciação exata das diversas espécies pelos métodos tradicionais de microscopia óptica está sujeita a grandes dificuldades, entretanto, constituiu-se o ponto de partida para a elaboração de um sistema de classificação eficiente. Os ambientes de água doce do Brasil, principalmente aqueles que sofrem grande aporte de nutrientes, são bastante propícios ao desenvolvimento das espécies de *Planktothrix*. Entretanto, trabalhos dedicados exclusivamente aos estudos das espécies deste gênero ainda são escassos no Brasil. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo o levantamento taxonômico das espécies de *Planktothrix* com base em estudos detalhados das características morfológicas de amostras da natureza, herbário e cultura. Foram registradas quatro espécies: *P. agardhii*, *P. isothrix*, *P. rubescens* e *P. planctonica*. Verificou-se que as características morfométricas quando observadas e analisadas em conjunto auxiliaram de forma efetiva a diferenciação, identificação e caracterização das espécies do gênero *Planktothrix*. Para as características métricas analisadas (largura do tricoma e comprimento celular), os materiais herborizados e os cultivados não sofrem mudanças métricas significativas quando comparadas com material da natureza, ou seja, são estáveis. Constatou-se que as espécies de *Planktothrix* são bem delimitadas pelo fenótipo. Assim, apesar da distinção inter-específica ser complexa, uma análise morfométrica apurada da população permite a separação entre as espécies do gênero.

Palavras-Chave: *Planktothrix*, levantamento taxonômico, Brasil

Abstract - Taxonomy of the genus *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales / Cyanobacteria) in Brazil. The accurate differentiation of various species by traditional methods of optical microscopy is subject to great difficulties; however, it constitutes the starting point for the development of an effective classification system. The Brazilian freshwater environments, especially those who suffer a large input of nutrients, are highly suitable for the development of *Planktothrix* species. In spite of that, works devoted exclusively to the study of the species of this genus are still scarce in Brazil. Thus, this work aims the taxonomic survey of the *Planktothrix* species based on detailed studies of morphological characteristics of material from nature, herbarium and culture. Four species were recorded: *P. agardhii*, *P. Isothrix*, *P. rubescens* and *P. planctonica*. It was observed that the morphometric characteristics, when analyzed as a set, helped effectively the differentiation, identification and characterization of *Planktothrix* species. For the analyzed metric characteristics (trichome width and cell length), the herbarium and culture material do not suffer significant changes when compared with material from nature. Based on these results, it is possible to say that *Planktothrix* species are well defined by the phenotype. Thus, despite the complex distinction inter-specific, a good morphometric analysis of the population permits the distinction between the species of the genus.

Keywords: *Planktothrix*, taxonomic survey, Brazil

Introdução

Nos últimos anos, a introdução de técnicas modernas, tais como sequenciamento gênico, promoveu ampla evolução dos métodos e critérios dos sistemas de classificação das cianobactérias. Assim, atualmente está se tornando comum o uso do chamado sistema de classificação polifásico que agrega, interpreta e analisa em conjunto, informações morfológicas, ultraestruturais, bioquímicas, ecofisiológicas e genéticas. Este tipo de abordagem tornou possível a catalogação e compreensão da vasta biodiversidade das cianobactérias, com identificações taxonômicas cada vez mais precisas (Komárek 2006a, b).

De modo geral, as cianobactérias são ainda pouco conhecidas (Komárek & Komarková-Legnerová 2002), apesar de constituírem um grupo bastante estudado devido ao sucesso competitivo e ubiquidade de várias de suas espécies (Villena & Romo 2003). Sabe-se também que a diversidade de espécies de cianobactérias, particularmente nas regiões tropicais, é consideravelmente maior do que a registrada em literatura (Komárek & Cromberg 2001).

O grupo das cianobactérias filamentosas está distribuído em ecossistemas terrestres e de água doce de todo mundo, sendo que o gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek é considerado um dos mais importantes em relação à formação de florações, abundância e dominância e produção de toxinas. Além disso, espécies desse gênero produzem geosmina, substância que reduz a qualidade da água e a torna imprópria ao consumo humano e até mesmo à recreação (Sivonen & Jones 1999, Pomati *et al.* 2000, Prati *et al.* 2002, Suda *et al.* 2002, Komárek & Komárková 2004, Welker & Christiansen 2004, Cox *et al.* 2005, Tonk *et al.* 2005, Schober & Kurmayer 2006, Jüttner & Watson 2007).

Segundo Suda *et al.* (2002) e Komárek & Komarková (2004), as espécies do gênero *Planktothrix* eram originalmente classificadas como *Oscillatoria* devido, principalmente, ao fato de apresentarem características muito semelhantes à *Oscillatoria*: tricomas solitários, ausência de bainha, de heterocitos e de acinetos. Apesar destas semelhanças, havia um grupo de espécies classificadas como *Oscillatoria* que apresentava uma peculiaridade, ou seja, presença de aerótopos dispostos irregularmente no conteúdo celular (Welker & Christiansen 2004). E ainda, as espécies típicas de *Oscillatoria* apresentam ciclo de vida planctônico bastante diferente, além de diferenças ultraestruturais e fenotípicas (Komárek & Komárková 2004).

Dessa forma, o grupo de espécies com aerótopos, como *Oscillatoria agardhii* Gomont, *O. rubescens* DeCandole ex Gomont, *O. agardhii* var. *isothrix* Skuja e *O. raciborskii* Elenkin, foi incluído em *Planktothrix*, gênero descrito por Anagnostidis &

Komárek em 1988 que apresenta como espécie tipo *Planktothrix agardhii* Anagnostidis & Komárek 1988, conhecida originalmente como *Oscillatoria agardhii* Gomont 1892.

Planktothrix tem agora o status de gênero também na nova edição de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Boone & Castenholz 2001).

Assim, o gênero *Planktothrix* foi separado de *Oscillatoria*, considerando as diferenças ultraestruturais, a estratégia de vida e a morfologia, o que foi comprovada também em nível molecular por meio do seqüenciamento do gene 16S rRNA (Rippka & Herdman 1992, Castenholz 2001, Suda *et al.* 2002).

De acordo com Komárek & Komárková (2004), o gênero *Planktothrix* representa, nos dias atuais, um grupo único estreitamente delimitado e bem distinto também a partir de características morfológicas tradicionais. No mundo todo, cerca de treze espécies de *Planktothrix* são conhecidas, muitas delas formadoras de florações (Komárek 2003, Kurmayer *et al.* 2004).

É importante ressaltar que a taxonomia do gênero *Planktothrix* ainda é problemática e bastante difícil, principalmente devido à grande variabilidade morfológica e imprecisão taxonômica, de modo que investigações taxonômicas adicionais são sempre necessárias (Komárek 2003). Komárek & Komárková (2004) ressaltam ainda que a diversidade intragenérica é complicada e a identificação das espécies é bastante difícil.

Como os tricomas de *Planktothrix* não produzem células acessórias, tais como acinetos e heterocitos, a forma, tamanho e largura dos tricomas, a mucilagem (ausente ou presente em condições extremas ou cultura), a constrição celular (presente ou ausente) e o formato das células apicais são características fundamentais para a identificação das suas morfoespécies (Komárek & Komárková 2004).

Além do mais, as células de todas as espécies de *Planktothrix* são capazes de produzir aerótopos (Walsby 2001), cuja principal função é a de controlar a flutuabilidade e a migração dos tricomas na coluna de água em resposta às condições ambientais. As vantagens associadas à flutuação incluem redução da perda por sedimentação, melhor aproveitamento da luz e acesso aos nutrientes, fatores que estão relacionados à facilidade de migração (Reynolds *et al.* 1981, Oliver & Ganf 2000).

Segundo Neilan *et al.* (1995), a diferenciação exata das diversas espécies e linhagens pelos métodos tradicionais de microscopia óptica está sujeita a grandes dificuldades, entretanto, constitui-se o ponto de partida para a elaboração de um sistema de classificação eficiente, promovendo ao mesmo tempo amplo conhecimento do grupo em nível específico e registro geográfico.

No mundo todo, espécies do gênero *Planktothrix* tem sido objeto de investigações de cunho toxicológico (Skulberg & Skulberg 1985, Carmichael *et al.* 1988, Eriksson *et al.* 1988, Sivonen *et al.* 1989, , Sivonen 1990, Nogueira & Vasconcelos 2001, Kurmayer *et al.* 2004, Cox *et al.* 2005, Tonk *et al.* 2005, Rohrlack & Utikilen 2007, Kosol *et al.* 2009) ecofisiológico (Walsby & Klemmer 1974, Jewson 1976, Ahlgren 1978, Konopka 1981, Persson 1981, Robarts & Zohary 1987, Ducobu *et al.* 1998, Walsby *et al.* 1998, Bright & Walsby 2000, Coles & Jones 2000, Davis & Walsby 2002, Walsby & Schanz 2002, Davis *et al.* 2003, Hašler & Pouličková 2003, Hašler *et al.* 2003, Kangro & Nöges 2003, Nöges *et al.* 2003, Pouličková *et al.* 2004, Walsby 2005, Nagai *et al.* 2007, Oberhaus *et al.* 2007, Lelková *et al.* 2008) e molecular (Pomati *et al.* 2000, Lyra *et al.* 2001, Moffit *et al.* 2001, Suda *et al.* 2002, Zwart *et al.* 2005). Nos últimos anos, principalmente *P. agardhii*, *P. rubescens* e mais recentemente *P. isothrix* tornaram-se amplamente distribuídas em corpos de água meso a eutróficos e, devido ao seu potencial tóxico, rápida expansão geográfica e ecologia ainda pouco conhecida, estas espécies são objetos de intensos estudos científicos.

Entretanto, no que diz respeito à caracterização morfológica dos representantes do gênero *Planktothrix*, poucos são os trabalhos dedicados a descrições detalhadas das espécies do gênero. Os trabalhos florísticos, em sua maioria, apenas registram a ocorrência das espécies sem levar em conta a variabilidade morfológica existente dentro do gênero e as implicações taxonômicas decorrentes de tal fato. Na tabela 1 podemos observar os trabalhos de maior relevância taxonômica, ou seja, aqueles com ilustrações e descrições morfométricas para as espécies do gênero, inclusive trabalhos com descrições originais e aqueles que promoveram revisão para o gênero e suas espécies.

Sabe-se que os ambientes de água doce do Brasil, principalmente aqueles que sofrem grande aporte de nutrientes, são bastante propícios ao desenvolvimento das espécies de *Planktothrix*, contribuindo de forma consistente com a distribuição global deste gênero. Entretanto, trabalhos dedicados exclusivamente aos estudos das espécies de *Planktothrix* ainda são escassos no Brasil e a maioria das informações é proveniente de levantamentos de floras regionais e de listagem de espécies. A tabela 1 mostra que os trabalhos taxonômicos mais relevantes para a taxonomia do grupo foram realizados por autores estrangeiros (Anagnostidis & Komárek 1988, Suda *et al.* 2002, Komárek & Komárková 2004, Komárek & Anagnostidis 2005) e principalmente a partir de materiais da região temperada. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo o levantamento taxonômico do gênero *Planktothrix* com base em estudos detalhados das características morfológicas de amostras da natureza, herbário e cultura, com a proposta de conhecer a diversidade de espécies e a distribuição das mesmas em águas continentais brasileiras.

Tabela 1. Principais estudos morfométricos e taxonômicos do gênero *Planktothrix*.

Referência	Título	Resultados
Gomont (1892)	Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées)	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria agardhii</i> (<i>Planktothrix agardhii</i>)
Geitler (1925, 1932)	Cyanophyceae	Descrição e ilustração de <i>Oscillatoria agardhii</i>
Kiselev (1947)	Morfologii, ekologii, sistematike I geografičeskomu rasprostraneniju sinezelenoj vodorosli	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria arnoldii</i> (<i>Planktothrix arnoldii</i>) e <i>Oscillatoria geitleri</i> (<i>Planktothrix geitleri</i>)
Skuja (1948, 1956)	Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden; Taxomische und biologische Studien über das Phytoplankton Schwedischer Binnengewasser	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria agardhii</i> var. <i>isothrix</i> (<i>Planktothrix isothrix</i>); Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria mougeotii</i> var. <i>clathrata</i> (<i>Planktothrix clathrata</i>)
Elenkin (1949)	Monographia algarum cyanophycearum aquidulcium et terrestrium in finibus URSS inventarum [Sinezelenye vodorosli SSSR].	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria ornata</i> f. <i>planctonica</i> (<i>Planktothrix planctonica</i>)
Pringsheim (1965)	<i>Oscillatoria agardhii</i> var. <i>suspense</i> nov. var. Kleine Mitteilungrn über	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria agardhii</i> var. <i>suspensa</i> (<i>Planktothrix suspensa</i>)
Faridi & Khalil (1974)	A new species of <i>Oscillatoria</i> (Cyanophyceae) from Pakistan.	Descrição e ilustração original de <i>Oscillatoria zahidii</i> (<i>Planktothrix zahidii</i>)
Compère (1974)	Algues de la region du lac Tchad, 2: Cyanophycées	Descrição e ilustração das espécies <i>Oscillatoria agardhii</i> , <i>Oscillatoria mougeotii</i> e <i>Oscillatoria rubescens</i>
Anagnostidis & Komárek (1988)	Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales	Descrição de <i>Planktothrix</i> como novo gênero, inserção de 14 espécies derivadas de novas combinações
Suda <i>et al.</i> (2002)	Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria.	Emenda para a descrição do gênero e para as espécies <i>P. agardhii</i> e <i>P. rubescens</i> ; descrição de uma nova espécie: <i>P. pseudagardhii</i> e transferência da espécie <i>P. raciborskii</i> para o novo gênero <i>Planktothricoides</i> , tornando-se <i>Planktothricoides raciborskii</i>
Komárek & Komárková (2004)	Taxonomic review of the cyanoprokaryotoc genera <i>Planktothrix</i> and <i>Planktothricoides</i>	Apresentação de chave de identificação, descrição e ilustração para todas as espécies dos gêneros conhecidas até o momento
Komárek & Anagnostidis (2005)	Cyanoprokariota, 2. Teil: Oscillatoriales.	Descrição e ilustração do gênero e suas espécies

Material e Métodos

Amostras de campo e de Herbários - Vinte e nove amostras de campo foram analisadas e estão apresentadas na tabela 2.

Foram analisadas também 27 amostras depositadas no herbário do Instituto de Botânica: “Maria Eneyda P. K. Fidalgo” (SP) e 6 amostras do herbário do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul: “Prof. Dr. Alarich R. H. Schultz” (HAS) (tabelas 3 e 4). O herbário do Museu Nacional do Rio de Janeiro, por estar em reforma geral, não pode nos enviar amostras.

Tabela 2. Lista de amostras analisadas, provenientes de diferentes regiões do país, depositadas no Herbário do Instituto de Botânica (SP) (“Maria Eneyda P. K. Fidalgo”).

Localidade	Nº de herbário	Data	Enviadas por
Reservatório de Abastecimento, Belo Horizonte, MG	SP400.705	10/05/2006	F. Jardim
Reservatório de Abastecimento, Belo Horizonte, MG	SP400.706	01/06/2006	F. Jardim
Açude Passagem das Traíras, Natal, RN	SP400.707	10/03/2007	I.A.S Costa
Açude Passagem das Traíras, Natal, RN	SP400.708	12/03/2007	I.A.S Costa
Açude Armando Ribeiro Gonçalves, Itajá, RN	SP400.709	12/03/2007	I.A.S. Costa
Açude Marechal Dutra, Natal, RN	SP400.710	12/03/2007	I.A.S. Costa
Lago do Zoológico, Sapucaia do Sul, RS	SP400.711	05/01/2006	V.R. Werner
Lago do Zoológico (ponto 1), Sapucaia do Sul, RS	SP400.712	15/02/2007	V.R. Werner
Lago do Zoológico (ponto 2), Sapucaia do Sul, RS	SP400.713	15/02/2007	V.R. Werner
ETE * (Ipanema), Porto Alegre, RS	SP400.714	21/02/2006	V.R. Werner
ETE * (Ipanema), Porto Alegre, RS	SP400.715	07/03/2008	V.R. Werner
ETE * (Belém Novo), Porto Alegre, RS	SP400.716	06/06/2003	V.R. Werner
ETE * (Lami), Porto Alegre, RS	SP400.717	05/06/2005	V.R. Werner
Lago Guaíba, Porto Alegre, RS	SP400.718	11/01/2006	V.R. Werner
Lago Guaíba, Porto Alegre, RS	SP400.719	19/02/2005	V.R. Werner
Lago Guaíba, Porto Alegre, RS	SP400.720	13/03/2007	V.R. Werner
Lagoa de Estabilização, Boa Vista, RR	SP400.721	18/08/2008	V.R. Werner
Lagoa Baía da Sede Nhumirim, Corumbá, MS	SP400.722	28/08/2006	K.R.S. Santos
Lagoa de Maturação, Fortaleza, CE	SP400.723	18/04/2006	E.P. Aquino
Lagoa de Maturação, Fortaleza, CE	SP400.724	19/04/2006	E.P. Aquino
Reservatório Carpina, Recife, PE	SP400.725	11/11/2008	C.T. Gomes & G. Lira
Reservatório Barra Bonita, São Carlos, SP	SP400.726	21/09/2004	M.J. Dellamano-Oliveira
Reservatório Barra Bonita, São Carlos, SP	SP400.727	10/05/2002	M.J. Dellamano-Oliveira
Reservatório Barra Bonita, São Carlos, SP	SP400.728	24/11/2003	M.J. Dellamano-Oliveira
Reservatório Ibirité (ponto 1), Belo Horizonte, MG	SP400.729	18/10/2007	E. Brandes
Reservatório Ibirité (ponto 2), Belo Horizonte, MG	SP400.730	18/10/2007	E. Brandes
Lagoa de Estabilização, Brasília, DF	SP400.731	13/09/2006	B.M. Fonseca
Córrego Mestre, Brasília, DF	SP400.732	13/09/2006	B.M. Fonseca
Reservatório Água Fria, Palmas, TO	SP400.733	04/04/2007	A.K. Marques

* ETE = Estação de Tratamento de Esgoto

Tabela 3. Lista de amostras examinadas do Herbário do Instituto de Botânica (SP) (“Maria Eneyda P. K. Fidalgo”).

Táxon	Nº de herbário	Localidade	Data de coleta
<i>Oscillatoria agardhii</i>	SP239025	Billings, SP	23.08.78
<i>Oscillatoria agardhii</i>	SP239026	Billings, SP	23.08.78
<i>Planktothrix agardhii</i>	SP365415	Lago da Garças, SP	17.09.97
<i>P. agardhii</i>	SP365616	Billings, SP	07.11.02
<i>P. agardhii</i>	SP399772	Billings, SP	07.01.04
<i>P. agardhii</i>	SP365634	Billings, SP	24.03.04
<i>P. agardhii</i>	SP365635	Billings, SP	24.03.04
<i>P. agardhii</i>	SP365621	Represa Taiaçupeba, SP	18.05.04
<i>P. agardhii</i>	SP365622	Represa Taiaçupeba, SP	18.05.04
<i>P. agardhii</i>	SP365628	ETE Rio Gde do Sul, SP	11.03.05
<i>P. agardhii</i>	SP390786	Lago dos Bambus III, SP	12.09.05
<i>P. agardhii</i>	SP390785	Lago dos Bambus II, SP	12.09.05
<i>P. agardhii</i>	SP390784	Lago dos Bambus I, SP	12.09.05
<i>P. agardhii</i>	SP390787	Lago dos Bambus I, SP	17.10.05
<i>P. agardhii</i>	SP390788	Lago dos Bambus II, SP	17.10.05
<i>P. agardhii</i>	SP390789	Lago dos Bambus III, SP	17.10.05
<i>P. agardhii</i>	SP371188	Lago dos Bambus I, SP	13.02.06
<i>P. agardhii</i>	SP371189	Lago dos Bambus II, SP	13.02.06
<i>P. isothrix (mougeotii)</i>	SP365634	Billings, SP	24.03.04
<i>P. isothrix (mougeotii)</i>	SP365635	Billings, SP	24.03.04
<i>P. isothrix</i>	SP399775	Billings, SP	30.11.04
<i>P. isothrix</i>	SP390784	Lago dos Bambus I, SP	12.09.05
<i>P. isothrix</i>	SP390785	Lago dos Bambus II, SP	12.09.05
<i>P. isothrix</i>	SP390786	Lago dos Bambus III, SP	12.09.05
<i>P. isothrix</i>	SP390787	Lago dos Bambus I, SP	17.10.05
<i>P. isothrix</i>	SP390788	Lago dos Bambus II, SP	17.10.05
<i>P. isothrix</i>	SP390789	Lago dos Bambus III, SP	17.10.05

Tabela 4. Lista de amostras do Herbário do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (HAS) (“Prof. Dr. Alarich R. H. Schultz”).

Táxon	Nº de herbário	Localidade	Data de coleta
<i>Planktothrix planctonica</i>	HAS6585	Lagoa Tramandaí, RS	23.08.78
<i>Planktothrix planctonica</i>	HAS6585	Lagoa Tramandaí, RS	23.08.78
<i>Planktothrix planctonica</i>	HAS25753	Lagoa do Peixe-Talhamar, RS	17.09.97
<i>Planktothrix planctonica</i>	HAS25753	Lagoa do Peixe-Talhamar, RS	07.11.02
<i>Planktothrix rubescens</i>	HAS16352	Arroio do Taim, RS	07.01.04
<i>Planktothrix rubescens</i>	HAS16352	Arroio do Taim, RS	24.03.04

Materiais Tipo - Analisou-se material tipo de uma espécie do gênero *Planktothrix* (*Planktothrix agardhii*) solicitado ao Museu de História Natural de Paris. Os demais tipos foram solicitados, mas não tivemos retorno. Assim, todas as espécies registradas foram comparadas ou com o material tipo, no caso de *Planktothrix agardhii*, ou com as obras originais.

Estudo em Cultura – No laboratório de Culturas de Algas e Cianobactérias do Instituto de Botânica de São Paulo as amostras coletadas da natureza foram isoladas utilizando-se duas técnicas:

Plaqueamento: placas de Petri com meio de cultura BG-11 sólido (Rippka *et al.* 1979), com cicloheximida (responsável pela destruição das células eucariotas) e, na câmara de fluxo laminar, a amostra foi homogeneizada e cerca de três gotas de material foram espalhadas nas placas. Aproximadamente 10 dias após a inoculação, estas placas foram examinadas para verificar se houve crescimento. Quando constatado o crescimento de massas de organismos, pequenas frações destas massas foram retiradas com o auxílio de espátula e inoculadas em tubos de ensaio contendo meio líquido. Após o crescimento do material isolado, procedeu-se à identificação e à inclusão do mesmo no Banco de culturas de Cianobactérias. As cepas uniespecíficas, não axênicas, foram mantidas em triplicata.

“Pescaria”: este método consiste em inocular 1 tricoma da amostra da natureza em tubos de ensaio com meio BG-11 líquido. Com esta finalidade, uma lâmina de vidro foi flambada e nela foram colocadas 1 gota de amostra e várias gotas de meio de cultura (Rippka *et al.* 1979). Com o auxílio de microscópio e usando-se micro-pipeta, um tricoma de *Planktothrix* foi retirado da gota, transferido para outra gota com meio de cultivo e assim sucessivamente, até conseguir isolar um tricoma apenas que foi transferido para um tubo de ensaio com o meio BG 11 líquido. A partir deste processo conseguimos isolar cepas clonais de *Planktothrix*.

As cepas de *Planktothrix*, mantidas em triplicata nos tubos de ensaio, foram repicadas a cada 30 dias. O tubo mais antigo foi descartado e, das duas amostras restantes, aquela que apresentou melhor estabilidade foi utilizada no repique. O repique foi realizado em dois tubos com meios de cultura limpos e autoclavados e mantidos por mais 30 dias com temperatura, luz e foto-período controlados.

Todas as cepas estudadas foram mantidas em meio BG-11 (tabela 5), em sala com condições controladas: temperatura $22 \pm 1^\circ\text{C}$, irradiância $40 - 50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo 14 - 10h claro-escuro (Azevedo & Sant’Anna 2003).

Tabela 5. Meio de Cultura BG-11, conforme Rippka *et al.* (1979).

Macronutrientes (mM) - Soluções estoque	Quantidade (g/L)
NaNO ₃	150,0
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	4,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5
CaCl ₂ .2H ₂ O	3,6
EDTA	0,1
Na ₂ CO ₃	2,0
Citrato férrico amoniacal	0,6
Ácido cítrico	0,6
Solução de metais traço	(*)

(*) A composição dos metais traços compreende:

Micronutrientes (µM) – Soluções estoque	Quantidade (g/L)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222
CO(NO ₃ O) ₂ .6H ₂ O	0,0494
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0790
Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,39

Estas soluções foram diluídas em 1 L de água bideionizada e armazenadas no freezer

Para preparar 1 L de meio de cultura BG-11 é preciso:

- 10 mL da solução de EDTA
- 10 mL da solução de citrato férrico amoniacal
- 1 mL da solução de metais traços
- 10 mL da solução de NaNO₃
- 10 mL da solução de K₂HPO₄.3H₂O
- 10 mL da solução de MgSO₄.7H₂O
- 10 mL da solução de CaCl₂.2H₂O
- 10 mL da solução de Na₂CO₃
- 1 mL da solução de Ácido cítrico

pH do meio de cultura: 7, 4

Assim, oito cepas de *Planktothrix* foram isoladas de seu ambiente natural e foram mantidas no banco de Culturas de Cianobactérias da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica. A tabela 6 apresenta as dez cepas estudadas.

Estudo Taxonômico - As análises morfométricas das amostras da natureza, herbário e cultura foram feitas ao microscópio binocular Zeiss Axioskop-2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com contraste de fase, ocular micrometrada, câmara clara e câmara digital Sony acoplada. Utilizou-se também o programa Carl Zeiss AxioVision Rel. 4.6.3, para aferições métricas a partir de fotografias digitais. Trinta indivíduos e 20-30 medidas de cada característica métrica de interesse taxonômico foram analisados. Todas as diferentes espécies foram descritas e ilustradas com desenhos e/ou fotografias.

A fim de evidenciar algumas características morfológicas importantes para caracterização dos táxons utilizou-se, quando necessário, nanquim e cloreto de zinco iodado, respectivamente, para evidenciar bainha mucilaginosa e septos.

O sistema de classificação adotado é o de Hoffmann *et al.* (2005). As espécies foram identificadas conforme Komárek & Anagnostidis (2005).

Revisão da Literatura Brasileira - Todas as espécies de *Planktothrix* citadas para o Brasil foram analisadas, comparadas com a literatura atual e reavaliadas. Para esta finalidade, foram considerados apenas trabalhos publicados e Dissertações/Teses que apresentam descrições e/ou ilustrações. Trabalhos que apresentam somente listagens de espécies não foram incluídos, pois não há dados para confirmar a identificação.

Tabela 6. Cepas estudadas de *Planktothrix* mantidas no Banco de Cultura de Cianobactérias do Instituto de Botânica.

Táxon	Linhagem	Origem Geográfica	Ano de isolamento
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC205	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix</i> sp.	SPC370	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC383	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix</i> sp.	SPC609	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix</i> sp.	SPC621	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix</i> sp.	SPC690	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix isothrix</i>	SPC788	Lago do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, SP	2000
<i>Planktothrix tropicalis</i>	BB013	Reservatório Barra Bonita, São Carlos, SP	2000

Distribuição Geográfica – Foi realizada com base em levantamento bibliográfico em bibliotecas e internet, além de comunicações pessoais.

Análise Estatística – As características métricas foram descritas estatisticamente através do cálculo de média aritmética e desvio-padrão como medidas de, respectivamente, tendência central e grau de dispersão absoluta dos dados. Para comparação das médias de diâmetro do tricoma e comprimento celular entre material da natureza, cultura e herbário foi utilizado a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey (Sokal & Rohlf 1979). O programa estatístico utilizado foi o STATISTICA 7.0.

Resultados

Descrição Morfológica

Cyanobacteria

Oscillatorioephyceae

Oscillatoriales

Phormidiaceae

Phormidioideae

Gênero *Planktothrix* Anagnostidis et Komárek 1988

O gênero *Planktothrix* pertence a Ordem Oscillatoriales, família Phormidiaceae, subfamília Phormidioideae e tem como espécie tipo *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek.

Apresenta tricomas solitários, livre-flutuantes, planctônicos, quase retos ou irregularmente ondulados ou curvos, isopolares, cilíndricos, constrictos ou não, curtos ou longos, 3,8-10 µm de largura, imóveis ou ocasionalmente com movimento delicado (tremulante, deslizante), levemente atenuado ou não em direção ao ápice, algumas vezes com caliptra terminal. Bainha geralmente ausente, bainha inconspícua apenas em material herborizado. Células ligeiramente mais curtas do que largas ou até isodiamétricas, algumas vezes mais longas do que largas; aerótopos distribuídos pelo protoplasma, geralmente irregulares e rosados; células apicais, quando bem desenvolvidas, são arredondadas, cônicas, capitadas, atenuadas, subcilíndricas, algumas vezes com caliptra ou espessamento. Reprodução por desintegração/quebra do tricoma, formando hormogônios imóveis ou móveis no bentos.

Considerando os três tipos de materiais nos quais o presente estudo taxonômico baseou-se, isto é, amostras coletadas na natureza, amostras depositadas em herbários e material de cultura, registrou-se a ocorrência de quatro espécies de *Planktothrix* para o Brasil, quais sejam: *Planktothrix agardhii*, *P. isothrix*, *P. rubescens* e *P. planctonica*.

A seguir, é apresentada uma chave de identificação das espécies com base em caracteres morfométricos:

Chave para identificação das espécies de *Planktothrix* encontradas no Brasil

1. Tricomas ondulados ou algumas vezes espiralados..... *P. planctonica*
1. Tricomas retos ou apenas levemente curvos..... 2
 2. Tricomas não atenuados em direção ao ápice ou apenas muito levemente; célula apical geralmente arredondada, sem caliptra..... *P. isothrix*
 2. Tricomas atenuados em direção ao ápice; célula apical geralmente cilíndrica, capitada, com ou sem caliptra..... 3
 3. Tricomas verde-azulados, verde-claro ou verde-acastanhados; largura menor que 6 μm *P. agardhii*
 3. Tricomas avermelhados; largura maior que 6 μm *P. rubescens*

As quatro espécies podem ser descritas como segue:

Planktothrix agardhii (Gomont) Anagnostidis et Komárek, Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud. Suppl. 80 (1-4): 416. 1988.

Basônimo: *Oscillatoria agardhii* Gomont, Ann. Sci. Nat. Bot Series 7 (15):205. 1892.

Figuras 1 - 26

Tricomas solitários, planctônicos, retos, freqüentemente atenuados, não constrictos, 3,8-6,5 μm (média=5,5) de largura, geralmente imóveis, às vezes tremulantes ou deslizantes, bainha ausente. Células isodiamétricas, mais curtas que largas ou mais longas que largas antes da divisão celular, 1,4-3,6 μm (média=2,6) de comprimento; conteúdo celular verde-azulado, verde-claro ou verde-acastanhado, com muitos aerótopos, alongados ou irregulares, dispostos por toda a célula ou só na periferia. Parede celular conspícua, às vezes espessada, ocasionalmente irregular. Célula apical atenuada, capitada, semi-cilíndrica, 3,0-5,5 μm de largura, 3,8-4,3 μm de comprimento, presença de caliptra ou espessamento apical.

Material examinado: BRASIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília, Lagoa de Estabilização, 13-09-2006, *B.M. Fonseca s.n.* (SP400731), Brasília, Córrego Mestre, 13-09-2006, *B.M. Fonseca s.n.* (SP400732); FORTALEZA: Ceará, Lagoa de Maturação, 19-IV-2006, *E. Aquino s.n.* (SP400723, SP400724); MINAS GERAIS: Belo Horizonte, Reservatório de Abastecimento, 10-V-2006, *F. Jardim s.n.* (SP400705), 01-VI-2006, *F. Jardim s.n.* (SP400706), Reservatório Ibirité, 18-10-2007, *E. Brandes s.n.* (SP400729, SP400730); MATO GROSSO DO SUL: Corumbá, Pantanal da Nhecolândia, Fazenda Nhumirim, lagoa: Baía da Sede Nhumirim, 28-VIII-2006, *K.R.S. Santos s.n.* (SP390923, SP400722), 16-XI-2006, *K.R.S. Santos s.n.* (SP390926); PERNAMBUCO: Recife, Reservatório Carpina, 11-XI-2008, *C.T. Gomes & G. Lira s.n.* (SP400725); RIO GRANDE DO NORTE: Itajá, Açude Armando Ribeiro Gonçalves, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400709), Natal, Açude Marechal Dutra, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400710), Natal, Açude Passagem das Traíras, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400707, SP400708); RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, ETE (Ipanema), 21-II-2006, *V.R. Werner s.n.* (SP400714), 07-III-2008, *V.R. Werner s.n.* (SP400715), Porto Alegre, ETE (Belém Novo), 06-VI-2003, *V.R. Werner s.n.* (SP400716), Porto Alegre, ETE (Lami), 05-VI-2005, *V.R. Werner s.n.* (SP400717), Porto Alegre, Lago Guaíba, 19-V-2005, *V.R. Werner s.n.* (SP400718), 11-VI-2006, *V.R. Werner s.n.* (SP400719), 13-III-2007, *V.R. Werner s.n.* (SP400720), Sapucaia do Sul, Lago do Zoológico, 05-I-2006, *V.R. Werner s.n.* (SP400711), Sapucaia do Sul, Lago do Zoológico (ponto I), 15-II-2007, *V.R. Werner s.n.* (SP400712), Sapucaia do Sul, Lago do Zoológico (ponto II), 15-II-2007, *V.R. Werner s.n.* (SP400713); RORAIMA: Boa Vista, Reservatório de Abastecimento, 18-08-2008, *V.R. Werner s.n.* (SP400721); SÃO PAULO: Mogi das Cruzes e Suzano, Represa Taiaçupeba, 18-V-2004, *S.S. Melcher s.n.* (SP365621, SP365622), Rio Grande, Estação de captação (ETA, Cachoeirinha), *V.R. Werner s.n.* (P365628), São Bernardo do Campo, Reservatório Billings, 23-VIII-1978, *C. Paro s.n.* (SP239025, SP239026), 07-XI-2002, *C. Paro s.n.* (SP365616), 07-I-2004, *C. Paro s.n.* (SP399772), 24-III-2004, *C. Paro s.n.* (SP365634, SP365635), São Carlos, Reservatório Barra Bonita, 10-V-2002, *M.J. Dellamano-Oliveira s.n.* (SP400728), 24-XI-2003, *M.J. Dellamano-Oliveira s.n.* (SP400729), 21-IX-2004, *M.J. Dellamano-Oliveira s.n.* (SP400730); São Paulo, Lago dos Bambus III, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390786), São Paulo, Lago dos Bambus II, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390785), São Paulo, Lago dos Bambus I, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390784), São Paulo, Lago dos Bambus I, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390787), São Paulo, Lago dos Bambus II, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390788), São Paulo, Lago dos Bambus III, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390789), São Paulo, Lago dos Bambus I, 13-II-2006, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP371188), São Paulo, Lago dos Bambus II, 13-II-2006, *A.G.D.*

Lopes s.n. (SP371189), São Paulo, Lago das Garças, 17-IX-1997, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP365415).

Distribuição Geográfica no Brasil:

Tabela 7. Distribuição Geográfica de *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek no Brasil.

Região Geográfica	Estado	Local	Referências	Citações na Literatura
Norte	Pará	Lago Maicá	Thomasson (1971)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
	Amazonas	Lago Castanho	Uherkovich & Schmidt (1974)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
Nordeste	Ceará	-----	Drouet (1937)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
	Paraíba	Reservatório Linda Flor	Drouet (1937)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
		Açude Soledade	Andrade (2008a)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Açude Acauã	Luna (2008)	<i>Planktothrix agardhii</i>
	Rio Grande do Norte	Reservatório Armando Ribeiro Gonçalves	Costa (2003); Chellappa <i>et al.</i> (2009)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Reservatório Passagem das Traíras	Panosso (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Lago de criação de camarão	M.Santos (2008a)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Reservatório das Galhardeiras	Costa <i>et al.</i> (2009)	<i>Planktothrix agardhii</i>
	Pernambuco	Reservatório Carpina	Moura <i>et al.</i> (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
Centro-Oeste	Distrito Federal	Reservatório Paranoá	Senna (1996)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
	Mato Grosso do Sul	Lago de Inundação: Rio Ivinhema	Scomparin (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Lagoa: Baía da Sede Nhumirim	K.Santos (2008b)	<i>Planktothrix agardhii</i>

Distribuição Geográfica no Brasil:

Tabela 7. Distribuição Geográfica de *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek no Brasil. cont.

Sudeste	São Paulo	Reservatórios Paraibuna e Barra Bonita	Necchi & Branco (1992)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
		Lago das Garças e Reservatório Guarapiranga	Sant'Anna & Azevedo (1995)	<i>Oscillatoria agardhii</i>
		-----	Sant'Anna & Azevedo (2000)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Lago das Garças	Crossetti & Bicudo (2005); Tucci <i>et al.</i> (2006); Gentil <i>et al.</i> (2008); Fonseca & Bicudo (2008)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Lago IAG	Ferragut <i>et al.</i> (2005)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo	Gentil (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Três reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga	Lopes (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Reservatório Billings e Taiaçupeba	Sant'Anna <i>et al.</i> (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Reservatório Billings	Nishimura (2008)	<i>Planktothrix agardhii</i>
Sul	Paraná	Reservatórios de Parigot e de Segredo	Borges (2006)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Rio Paraná: Canal Cortado e Lagoa Clara	Fonseca & Rodrigues (2007)	<i>Planktothrix agardhii</i>
		Reservatório Rosana	Borges <i>et al.</i> (2008)	<i>Planktothrix agardhii</i>
	Rio Grande do Sul	Lago do Zoológico	Werner <i>et al.</i> (2008)	<i>Planktothrix agardhii</i>

Comentários: As populações estudadas concordam com a descrição original da espécie (Gomont 1892) e com a descrição mais recente elaborada por Komárek & Anagnostidis (2005).

Quanto à forma dos tricomas, Geitler (1932), Desikachary (1959), Compère (1974) e Komárek & Anagnostidis (2005) ressaltam o fato dos tricomas serem atenuados em direção ao ápice, o que é bastante freqüente nas populações estudadas no presente trabalho. Entretanto, algumas vezes são retos, principalmente tricomas jovens (figuras 10, 15 e 17).

A variação na largura dos tricomas, assim como a variação do comprimento celular registradas nas amostras analisadas concordam com o material tipo para a espécie (Gomont 1892) (figuras 8-13) e também com os registros brasileiros (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008b) (figuras 5-7).

A constrição do tricoma está ausente na descrição original (Gomont 1892), porém no material tipo examinado registrou-se a ocorrência de tricomas levemente constrictos (figura 13). Para Komárek & Anagnostidis (2005) varia de ausente a muito levemente constricto. No presente trabalho, as populações de *P. agardhii* apresentaram, poucas vezes, leve constrição nos septos transversais (figuras 19, 21 e 22). Santos (2008b), estudando material de uma lagoa do Pantanal Sul Matogrossense, também observou tricomas levemente constrictos. No entanto, maioria dos registros brasileiros citam tricomas sem constrição (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007).

Em relação à célula apical, os registros taxonômicos mundiais descrevem e ilustram uma grande variação morfológica. No entanto, as populações estudadas não apresentaram essa ampla variação, observando-se na grande maioria das vezes ápices típicos e comuns de *P. agardhii* (cilindrico-arredondada, levemente truncada, capitada ou não, com ou sem caliptra ou espessamento como pode ser visto nas figuras 14-26), o que corrobora com os registros brasileiros (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008b).

Através do levantamento bibliográfico, onde inclui-se trabalhos taxonômicos e levantamentos florísticos, pôde ser observado que *P. agardhii* é uma espécie amplamente distribuída em corpos d'água brasileiros ocorrendo de Norte a Sul do país, principalmente em ambientes com alto grau de trofia, causando muitas vezes florações potencialmente tóxicas (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Borges 2006, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Andrade 2008, Santos 2008b). Fato também comprovado pela análise de amostras brutas coletadas por diversos colaboradores de diferentes regiões do

Brasil, para o presente estudo, onde incluí-se os estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Norte e Roraima.

As principais características morfológicas que auxiliaram a identificação e caracterização de *P. agardhii* em relação às demais espécies do gênero foram: atenuação do tricoma; células intermediárias freqüentemente mais longas que largas; forma da célula apical geralmente atenuada, capitada, sub-cilíndrica.

Planktothrix isothrix (Skuja) Komárek et Komárková, Czech Phycology, Olomuc, 4: 1-18. 2004

Basônimo: *Oscillatoria agardhii* var. *isothrix* Skuja, Symb. Bot. Upsal. 9 (3): 1-399. 1948.

Figuras 27 - 44

Tricomas solitários, planctônicos, ocasionalmente bentônicos, retos, não atenuados ou apenas muito levemente; 5,0-7,0 μm (média=5,5) de largura, motilidade ausente ou levemente deslizante, não constrictos ou apenas levemente, bainha ausente. Células mais curtas que largas ou aproximadamente isodiamétricas, 1,8-4,0 μm (média=2,5) de comprimento; conteúdo celular verde oliva, verde acastanhado, verde-azulado ou castanho avermelhado; usualmente com muitos aerótopos, arredondados, alongados, irregulares, dispostos por toda a célula. Parede celular conspícua, às vezes espessada. Célula apical arredondada, sub-esférica, usualmente mais larga que longa, 4,5-6,2 μm de largura e 3,8-5,1 μm de comprimento, sem caliptra.

Material examinado: BRASIL. FORTALEZA: Ceará, Lagoa de Maturação, 18-IV-2006, *E. Aquino s.n.* (SP400723), 19-IV-2006, *E. Aquino s.n.* (SP400724); MINAS GERAIS: Belo Horizonte, Reservatório de Abastecimento, 10-V-2006, *F. Jardim s.n.* (SP400705), 01-VI-2006, *F. Jardim s.n.* (SP400706), Belo Horizonte, Reservatório Ibirité, 18-X-2007, *E. Brandes s.n.* (SP400729, SP400730); MATO GROSSO DO SUL: Corumbá, Pantanal da Nhecolândia, Fazenda Nhumirim, lagoa: Baía da Sede Nhumirim, 28-VIII-2006, *K.R.S. Santos s.n.* (SP390923, 400722), 16-XI-2006, *K.R.S. Santos s.n.* (SP390926); PERNAMBUCO: Recife, Reservatório Carpina, *C.T. Gomes & G. Lira s.n.* (SP400725); RIO GRANDE DO NORTE: Itajá, Açude Armando Ribeiro Gonçalves, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400709), Natal, Açude Marechal Dutra, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400710), Natal, Açude Passagem das Traíras, 12-III-2007, *I.A.S. Costa s.n.* (SP400708); RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, ETE (Ipanema), 21-II-2006, *V.R. Werner s.n.* (SP400714); Porto Alegre, ETE (Belém Novo), 06-VI-2003, *V.R. Werner s.n.* (SP400716); Porto Alegre,

ETE (Lami), 05-VI-2005, *V.R. Werner s.n.* (SP400717); Porto Alegre, Lago Guaíba, 19-V-2005, *V.R. Werner s.n.* (SP400718), 13-III-2007, *V.R. Werner s.n.* (SP400720); SÃO PAULO: São Carlos, Reservatório Barra Bonita, 10-V-2002, *M.J. Dellamano-Oliveira s. n.* (SP400728), 24-XI-2003, *M.J. Dellamano-Oliveira s. n.* (SP400729), 21-IX-2004, *M.J. Dellamano-Oliveira s. n.* (SP400730); São Paulo, Lago dos Bambus I, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390784), São Paulo, Lago dos Bambus II, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390785), São Paulo, Lago dos Bambus III, 12-IX-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390786), São Paulo, Lago dos Bambus I, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390787), São Paulo, Lago dos Bambus II, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390788), São Paulo, Lago dos Bambus III, 17-X-2005, *A.G.D. Lopes s.n.* (SP390789), São Paulo, Represa Billings, 24-III-2004, *C. Paro s.n.* (SP365634, SP365635), São Paulo, Represa Billings, 30-XI-2004, *C. Paro s.n.* (SP399775); TOCANTINS: Palmas, Reservatório, 04-IV-2007, *A.K. Marques s.n.* (SP400735).

Distribuição Geográfica no Brasil:

Tabela 8. Distribuição Geográfica de *Planktothrix isothrix* (Skuja) Komárek & Komarková no Brasil.

Região Geográfica	Estado	Local	Referências	Citações na Literatura
Nordeste	Maranhão	Lago Quebra-Pote	Nogueira <i>et al.</i> (2005)	<i>Planktothrix mougeotii</i>
	Rio Grande do Norte	Lago de criação de camarão	M.Santos (2008a)	<i>Planktothrix mougeotii</i>
Centro-Oeste	Distrito Federal	Reservatório Paranoá	Branco & Senna (1996)	<i>Oscillatoria mougeotii</i>
	Mato Grosso do Sul	Lagoa: Baía da Sede Nhumirim	K.Santos (2008b)	<i>Planktothrix isothrix</i>
Sudeste	São Paulo	-----	Senna (1982)	<i>Oscillatoria mougeotii</i>
		Três reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga	Lopes (2007)	<i>Planktothrix isothrix</i>
		Reservatório Billings	Sant'Anna <i>et. al.</i> (2007)	<i>Planktothrix mougeotii</i>
Sul	Rio Grande do Sul	Lago Guaíba	Maizonave <i>et al.</i> (2004, 2008); Bendati (2005)	<i>Planktothrix mougeotii</i>
		Lago do Zoológico	Werner <i>et al.</i> (2008)	<i>Planktothrix isothrix</i>

Comentários: O material examinado foi identificado de acordo com a descrição original da espécie (Skuja 1948) e o trabalho mais atual e especializado (Komárek & Anagnostidis 2005).

Komárek & Komárková (2004) realizaram uma revisão taxonômica no gênero *Planktothrix* e propuseram uma nova combinação para *P. mougeotii* Bory ex Gomont, de modo que esse nome passou a ser sinônimo de *P. isothrix* (Skuja) Komárek et Komarková. A mudança do epíteto específico ocorreu, pois a partir deste trabalho de 2004 os autores passaram a considerar como obra original e primeira citação da espécie o trabalho de Skuja (1948). Assim ficou definido que *Oscillatoria agardhii* var. *isothrix* Skuja passaria a ser basônimo de *P. isothrix*.

De acordo com a obra original (Skuja 1948), os tricomas de *P. isothrix* são retos e não atenuados (figura 27). Desikachary (1959) e Geitler (1932) também observaram tricomas retos e não atenuados. Entretanto, Komárek & Anagnostidis (2005) observaram em material europeu, tricomas retos e cilíndricos que podem algumas vezes apresentar ligeira atenuação em direção ao ápice, fato também observado em alguns indivíduos analisados no presente estudo (figuras 34, 36 e 44)

No que se refere à largura do tricoma, a variação registrada concorda com diversos trabalhos de cunho taxonômico importantes para a identificação das espécies do gênero (Geitler 1932, Skuja 1948, Desikachary 1959, Komárek & Komárková 2004, Komárek & Anagnostidis 2005).

Quanto à constrição nos septos, observou-se que os tricomas variaram de não constrito a levemente constritos, o que está de acordo com a obra original (Skuja 1948) e com descrições mais atuais, tais como: Komárek & Anagnostidis (2005) e Cronberg & Annadotter (2006) que estudaram, principalmente, material europeu; McGregor (2007) que estudou material australiano; Nguyen *et al.* (2007) avaliaram material vietnamita; Sant'Anna *et al.* (2007) e Santos (2008b) que analisaram material brasileiro de diferentes localidades (figuras 27, 28a, b, 30, 31a, b e 32). Assim, fica evidente que há unanimidade na literatura mundial quanto ao fato de *P. isothrix* apresentar tricomas variando de não constritos à levemente constritos.

A forma da célula apical, característica importante para diferenciação interespecífica de *P. isothrix*, mostrou-se estável, com pouca variação morfológica, sendo comumente arredondada, sub-esférica, nunca capitada e sem caliptra (figuras 33-44), conforme já descrita originalmente (Skuja 1948).

Através do levantamento bibliográfico, onde inclui-se trabalhos taxonômicos e levantamentos florísticos, pôde ser observado que *P. isothrix* era uma espécie pouco citada até o século passado. Porém, a partir de 2000 e principalmente nos últimos anos, intensificaram-

se os registros de ocorrência da espécie para corpos d'água brasileiros de Norte a Sul do país, principalmente em ambientes com alto grau de trofia (Maizonave *et al.* 2004, Nogueira *et al.* 2005, Bendati 2005, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008b). De acordo com as amostras brutas, recebidas por meio de pesquisadores que colaboraram com o presente trabalho, observou-se que *P. isothrix* mostrou-se freqüentemente causadora de florações potencialmente tóxicas, como comprovado por análise de amostras dos Estados de Minas Gerais, Fortaleza, Pernambuco e Tocantins. É importante mencionar ainda, que muitas vezes *P. isothrix* ocorre juntamente com *P. agardhii* tornando difícil a distinção entre as duas espécies e fazendo com que ambas sejam identificadas como *P. agardhii* que é a espécie mais conhecida no país.

Em relação à *P. isothrix*, as principais características morfológicas que auxiliam na sua identificação e caracterização foram: tricomas retos; células intermediárias freqüentemente mais largas que longas; forma da célula apical freqüentemente arredondada, sub-esférica.

Planktothrix rubescens (DeCandole ex Gomont) Anagnostidis et Komárek, Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud. Suppl. 80 (1-4): 416. 1988.

Basônimo: *Oscillatoria rubescens* DeCandole ex Gomont, Ann. Sci. Nat. Bot Series 7 (16):204. 1892.

Figuras 45 - 61

Tricomas solitários, planctônicos, retos ou levemente curvos, sem bainha ou com bainha inconspícua, 6,1-10,0 µm de largura, não constrictos, não atenuados ou apenas levemente atenuados em direção ao ápice. Células curtas, geralmente mais largas que longas 3,0-4,1 µm de comprimento, conteúdo celular avermelhado, rosado e geralmente com granulações em todo protoplasma e/ou nos septos transversais. Célula apical arredondada, arredondada-truncada, capitada ou não, sem espessamento, 6,8-9,0 µm de largura, 4,0-6,1 µm de comprimento, com ou sem caliptra.

Material examinado: BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, Arroio do Taim, 25-VI-1986, *V.R. Werner s.n.* (HAS16352), Porto Alegre, Arroio do Taim, 25-VI-1986, *V.R. Werner s.n.* (HAS16352).

Distribuição Geográfica no Brasil:

Tabela 9. Distribuição Geográfica de *Planktothrix rubescens* (DeCandole ex Gomont) Anagnostidis et Komárek no Brasil.

Região Geográfica	Estado	Local	Referências	Citações na Literatura
Norte	Pará	Rio Arary	Drouet (1937)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
Centro-Oeste	Minas Gerais	Brejo da Lapa	Bicudo & Ventrice (1968)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
	São Paulo	-----	Senna (1982)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
Sudeste	Rio de Janeiro	Baía de Guanabara	Oliveira (1950)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
		Lagoa Rodrigo de Freitas	Oliveira <i>et al.</i> (1957)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
Sul	Rio Grande do Sul	Rio Seco	Franceschini (1983)	<i>Oscillatoria rubescens</i>
		Arroio Taim	Werner & Rosa (1992)	<i>Oscillatoria rubescens</i>

Comentários: O material examinado foi identificado de acordo com a obra original (DeCandole ex Gomont 1892) e com Komárek & Anagnostidis (2005), cujas descrições e ilustrações concordam com os exemplares estudados.

De acordo com os registros brasileiros para *P. rubescens*, o táxon é representado por tricomas retos ou levemente flexuosos, não ou levemente atenuados em direção ao ápice e sempre sem constrição (Bicudo & Ventrice 1968, Franceschini 1983, Werner & Rosa 1992) (figuras 49 – 51), o que concorda com o material presentemente analisado. O mesmo acontece quando comparamos com a descrição original e literatura mundial especializada (DeCandole ex Gomont 1892, Geitler 1932, Compère 1974, Komárek & Anagnostidis 2005).

Na descrição original de *P. rubescens* (DeCandole ex Gomont 1892), a largura dos tricomas varia entre 6-8 µm. No presente trabalho, a largura do tricoma foi um pouco superior, variando entre 6,1-10,0 µm, entretanto, Compère (1974) também descreveu tricomas com larguras superiores a 8 µm, com uma amplitude de variação entre 4-10 µm, o que corrobora as observações feitas por Komárek & Anagnostidis (2005).

Em relação aos trabalhos brasileiros, as medidas da largura do tricoma são muito próximas. Concordam ainda, quanto à proporção largura/comprimento, ou seja, *P. rubescens* é de modo geral caracterizada por células mais largas que longas, também presente na descrição original (DeCandole ex Gomont 1892).

Tanto Gomont (1892) quanto Komárek & Anagnostidis (2005) registraram em seus estudos células apicais arredondadas, truncadas, raramente capitadas, com caliptra convexa, o que concorda totalmente com o material analisado (figuras 53 – 61).

É interessante observar que até 1988, quando foi proposto por Anagnostidis e Komárek a transferência de espécies de *Oscillatoria* com aerótopos para o gênero *Planktothrix*, os trabalhos taxonômicos sobre *P. rubescens* mencionavam os aerótopos como “grânulos grossos” dispersos no protoplasma (DeCandole ex Gomont 1892), ou então não faziam menção (Compère 1974), como é o caso também dos trabalhos brasileiros (Bicudo & Ventrice 1968, Franceschini 1983, Werner & Rosa 1992). No material examinado, que é o mesmo descrito por Werner & Rosa (1992) também não foram observados aerótopos. Este fato pode ser devido a herborização do material que acabou danificando parte do conteúdo celular. No entanto, os grânulos nos septos transversais e a coloração rosada dos tricomas, mencionados na grande maioria dos trabalhos taxonômicos, foram observados.

Através do levantamento bibliográfico pôde ser observado que *P. rubescens* é uma espécie pouco distribuída nos corpos d’água brasileiros, com registros antigos de ocorrência. Porém, com descrição taxonômica equivalente ao material original e atual (DeCandole ex Gomont 1892, Komárek & Anagnostidis 2005), o que não deixa dúvida de sua ocorrência no Brasil. Em região temperada é amplamente distribuída e mencionada como formadora de florações potencialmente tóxicas (Dokulil & Teubner 2000, Davis & Walsby 2002, Davis *et al.* 2003, Kurmayer *et al.* 2004, Oberhaus *et al.* 2007, Kosol *et al.* 2009).

As principais características morfológicas que auxiliaram a identificação e caracterização de *P. rubescens* foram: largura do tricoma; células intermediárias mais largas que longas; grânulos nos septos; coloração (vermelho, devido a presença de ficoeritrina); forma da célula apical arredondado-truncada, capitada ou não.

Planktothrix planctonica (Elenkin) Anagnostidis et Komárek, Arch. Hydrobiol. Suppl. v. 80, n. 1-4, Algol. Studies, v. 50-53, p. 416. 1988.

Basônimo: *Oscillatoria ornata* f. *planctonica* Elenkin, Monogr. Alg. Cyanoph., Pars spec. 2, p. 1265. 1949.

Figuras 62 - 73

Tricomas solitários, cilíndricos, às vezes ondulados ou espiralados, 7,6-10 µm de largura, não ou levemente atenuados, constrictos nos septos transversais. Células geralmente mais largas que longas, 2,8-4,0 µm de comprimento, conteúdo verde-azulado. Célula apical convexa, usualmente arredondada, 5,5-6,5 µm de largura e 3,5-4,0 µm de comprimento, sem caliptra, não capitada.

Material examinado: BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, Lagoa do Peixe-Talhamar, 09-XII-1990, *V.R. Werner s.n.* (HAS25753), Porto Alegre, Lagoa do Peixe-Talhamar, 09-XII-1990, *V.R. Werner s.n.* (HAS25753), Porto Alegre, Lagoa Tramandaí, 22-VIII-1978, *V.R. Werner s.n.* (HAS6585), Porto Alegre, Lagoa Tramandaí, 22-VIII-1978, *V.R. Werner s.n.* (HAS6585).

Distribuição Geográfica no Brasil:

Tabela 10. Distribuição Geográfica de *Planktothrix planctonica* (Elenkin) Anagnostidis et Komárek no Brasil.

Região Geográfica	Estado	Local	Referências	Citações na Literatura
Nordeste	Pernambuco	Estuário Botafogo	Lacerda <i>et al.</i> (2004)	<i>Planktothrix planctonica</i>
	Rio Grande do Norte	Reservatório Mendubim	Rocha (2008)	<i>Planktothrix planctonica</i>
Sul	Rio Grande do Sul	Lagunas Tramandaí e Armazém	Werner (1988)	<i>Oscillatoria ornata</i> var. <i>ornata</i> f. <i>ornata</i>
		Lagoa Itapeva e Laguna do Peixe	Werner (2002)	<i>Planktothrix planctonica</i>

Comentários: O material examinado concorda com a descrição, medidas e ilustrações originais (Elenkin 1949) e literatura mais recente e especializada (Komárek & Anagnostidis 2005).

Anagnostidis & Komárek (1988) transferiram o táxon *Oscillatoria ornata* f. *planctonica* para o gênero *Planktothrix* devido, principalmente, à presença de aerótopos nas células, característica descrita para a espécie *Oscillatoria ornata* f. *planctonica* desde seu registro original (Elenkin, 1949). É importante ressaltar ainda que neste mesmo trabalho, Komárek & Anagnostidis (1988) propuseram outra nova combinação que foi a transferência

da forma típica de *Oscillatoria ornata* Kützing ex Gomont para o gênero *Phormidium* devido a ausência de aerótopos e a divergência na relação comprimento/largura quando comparada com aquela estabelecida para o gênero *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont.

De acordo com a descrição original de Elenkin (1949) (figura 62), os tricomas são levemente tortuosos, com 10-11,5 µm de largura e pouco atenuados em direção ao ápice. Os exemplares observados também apresentam este padrão, sendo apenas um pouco mais estreitos. Entretanto, concordam em relação às características morfométricas, quais sejam, largura do tricoma e comprimento celular, com as descrições de Komárek & Komarková (2004) e Komárek & Anagnostidis (2005).

Werner (1988, 2002), estudando o mesmo material examinado neste trabalho, registrou tricomas mais largos que variaram entre 9,2-11,0 µm. Avaliando o trabalho de 1988, não é possível saber que tipo de material a autora examinou, ou seja, se foram feitas medidas a partir de material vivo, preservado há pouco tempo ou herborizado, entretanto, considerando ano de coleta e ano de publicação do artigo, parece que a análise morfológica foi feita a partir de material herborizado há dez anos. Porém, em 2002, a autora realizou novas coletas, o que deixa a entender que a análise morfológica foi realizada a partir de material vivo ou com pouco tempo de preservação. Esses fatos são mencionados na tentativa de se entender a diferença entre medidas realizadas para um mesmo material, no entanto, não é possível responder com exatidão tal diferença, pois em 1988, Werner parece que também analisou material herborizado. Acredita-se, portanto, que seja apenas uma variação métrica sem muita importância, já que as medidas para largura do tricoma do presente trabalho e as mencionadas em Werner (1988, 2002) tem suporte da literatura especializada (Komárek & Anagnostidis 2005).

Em relação à célula apical, o material observado apresentou pouca variação morfológica, concordando com Elenkin (1949), Komárek & Anagnostidis (2005) e Werner (1988, 2002): a grande maioria das células apicais é convexa, levemente arredondada, sem caliptra. Em pouquíssimos exemplares foi registrado ápice levemente curvo ou espessamento da célula apical (figuras 65 – 73).

É também consenso entre os autores (Elenkin 1949, Werner 1988, 2002, Komárek & Komarková 2004, Komárek & Anagnostidis 2005) que *P. planctonica* apresenta tricomas sempre constrictos, como foi observado no material analisado.

Ressalta-se ainda que as sub-amostras aqui analisadas são aquelas coletadas e examinadas por Werner (1988, 2002), como já dito anteriormente, que mostrou a presença de aerótopos nas células de *P. planctonica* em sua descrição e ilustração. Entretanto, no presente trabalho, não foi possível observar os aerótopos. Provavelmente não resistiram ao processo de

fixação ou então ao tempo de preservação, mas segundo Werner (com. pessoal), o material foi previamente analisado e identificado por Jíri Komárek.

Werner (2002) salientou que *P. planctonica* já havia sido registrada nas lagunas de Tramandaí e Armazém e identificada equivocadamente como *Oscillatoria ornata* f. *ornata* Kützing ex Gomont em seu próprio trabalho (Werner 1988). Neste mesmo trabalho, a autora incluiu equivocadamente a ocorrência de *P. planctonica* para o estado de Minas Gerais (Bicudo & Ventrice 1968) e Rio Grande do Sul (Calegaro *et al.* 1981). Ambos os trabalhos registraram na verdade a ocorrência da forma típica *Oscillatoria ornata* (= *Phormidium ornatum*) (Kützing ex Gomont) Anagnostidis & Komárek.

Através do levantamento bibliográfico pôde ser observado que *P. planctonica* é uma espécie pouco distribuída nos corpos d'água brasileiros, restrita a lagoas e lagunas de água doce e salobra do estado do Rio Grande do Sul. Porém, com descrição taxonômica equivalente ao material original e atual (Elenkin 1949, Komárek & Anagnostidis 2005), o que não deixa dúvida de sua ocorrência no Brasil. De acordo com Komárek & Anagnostidis (2005) há registros de ocorrência de *P. planctonica* em lagos da República Tcheca, Rússia e Ucrânia, o que parece indicar que essa espécie é de ocorrência apenas em áreas temperadas ou subtropicais como é o sul do Brasil.

As principais características morfológicas que auxiliaram a identificação e caracterização de *P. planctonica* foram: tricomas constritos; largura do tricoma; forma da célula apical convexa, usualmente arredondada.

Estudos taxonômicos em material de cultura – Dentre as oito cepas de *Planktothrix*, mantidas no Banco de Cultura de Cianobactérias da Seção de Ficologia, do Instituto de Botânica, três já estavam previamente identificadas em nível específico, portanto, confirmou-se a identificação das mesmas e procedeu-se a identificação taxonômica das demais com base em características morfométricas. As cepas estudadas são descritas a seguir:

Cepas SPC205 e SPC383

Figuras 74 – 76, 80 e 81

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, geralmente atenuados em direção ao ápice, não constritos, 4,1 – 5,6 µm de largura (média=4,9 µm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, 2,2 – 3,2 µm de comprimento (média=2,4 µm), parede celular espessada, às vezes irregular, conteúdo verde-azulado. Célula

apical arredondada, alongada, sub-cilíndrica, capitada ou não, às vezes com espessamento. Motilidade presente.

Comentários: As Cepas SPC 205 e SPC 383 apresentaram características morfométricas muito semelhantes e ambas estão identificadas como *Planktothrix agardhii* em Sant’Anna *et al.* (2000).

Cepa SPC370

Figuras 77 - 79

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, atenuados ou não em direção ao ápice, não constrictos ou muito levemente constrictos, 4,4 – 5,4 μm de largura (média=5,0 μm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, 2,2 – 3,4 μm de comprimento (média=2,6 μm), parede celular às vezes espessada e/ou irregular, conteúdo verde-azulado. Célula apical arredondada, alongada, sub-cilíndrica, capitada ou não, às vezes com espessamento. Motilidade presente.

Cepa SPC609

Figuras 82 e 83

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, atenuados ou não em direção ao ápice, não constrictos, 3,3 – 4,8 μm de largura (média=4,2 μm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, 2,0 – 3,3 μm de comprimento (média=2,9 μm), parede celular às vezes espessada e/ou irregular, não granulada, conteúdo verde-azulado. Célula apical arredondada, alongada, sub-cilíndrica, ocasionalmente capitada, às vezes com caliptra e/ou espessamento. Motilidade presente.

Cepa SPC621

Figura 84

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, às vezes atenuados em direção ao ápice, não constrictos ou muito levemente constrictos, 6,8 – 4,8 μm de largura (média=5,7 μm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, 2– 3,3 μm de comprimento (média=2,6 μm), parede celular às vezes espessada e/ou irregular, conteúdo verde-azulado. Célula apical arredondada, alongada, sub-cilíndrica, ocasionalmente capitada, às vezes com espessamento. Motilidade presente.

Cepa SPC690

Figura 85

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, às vezes atenuados em direção ao ápice, não constrictos, 5,3 – 4,3 μm de largura (média=4,7 μm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, 1,9 – 3,3 μm de comprimento (média=2,6 μm), parede celular às vezes espessada e/ou irregular, conteúdo verde-azulado. Célula apical arredondada, alongada, sub-cilíndrica. Motilidade presente.

Comentários: As cepas SPC 370, SPC 609, SPC 621 e SPC 690 foram identificadas como *Planktothrix agardhii*, pois concordam plenamente com as descrições, medidas e ilustrações de Komárek & Anagnostidis (2005) e com a descrição original da espécie (Gomont 1892).

Cepa BBO13

Figuras 86 - 88

Tricomas solitários, curtos, retos, ligeiramente atenuados ou não em direção ao ápice, não a levemente constrictos, 4,7–6,0 μm de largura (média=5,0 μm). Células quadráticas, mais largas que longas, com aerótopos, 1,9–3,0 μm de comprimento (média=2,5 μm), conteúdo verde-azulado. Célula apical arredondada sem espessamento. Motilidade presente.

Comentários: Esta cepa havia sido identificada como uma nova espécie de *Planktothrix* (*P. tropicalis*) por Dellamano-Oliveira (2006) e Dellamano-Oliveira *et al.* (2008), entretanto, ambos os trabalhos não apresentaram descrição detalhada para a espécie, mas apenas uma fotografia que não possibilitou a observação das características diacríticas. Procedeu-se então a uma nova observação do material que está depositado no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo e também de uma sub-amostra viva do material mantido em cultura na Coleção de Algas da Universidade Federal de São Carlos. Assim, o material examinado foi identificado como *Planktothrix agardhii*, pois concorda plenamente com as descrições, medidas e ilustrações de Komárek & Anagnostidis (2005) e com a descrição original da espécie (Gomont 1892).

Cepa SPC788

Figuras 89 - 91

Tricomas solitários, longos ou curtos, retos, atenuados ou não em direção ao ápice, constrictos, 4,9 – 6,0 μm de largura (média=5,5 μm). Células mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas, com muitos aerótopos irregulares, arredondados, 2,1 – 3,4 μm de comprimento (média=2,8 μm), parede celular espessada, conteúdo verde-azulado, verde-acastanhado. Célula apical arredondada, semi-esférica, mais larga que longa. Motilidade presente.

Comentários: O material examinado foi identificado como *Planktothrix isothrix*, pois concorda plenamente com as descrições e medidas de Komárek & Anagnostidis (2005) e com a descrição original da espécie (Skuja 1948). É importante ressaltar que o material após longo período em cultivo sofreu polimorfismo, como por exemplo, atenuação acentuada, parede celular bastante espessada e constrição evidente dos tricomas, entretanto, não sofreram variações importantes em relação a largura do tricoma e comprimento celular quando comparados com material vivo e herborizado. Essa mudança na morfologia ressalta a importância da herborização de uma sub-amostra a partir da qual se isolou a cepa para que não haja equívocos posteriores quanto a sua real identificação. Constata-se também que algumas espécies, neste caso *P. isothrix*, quando mantidas por longos períodos em meio de cultura, podem vir a sofrer alterações morfológicas importantes.

A tabela 11 apresenta um resumo das principais características morfométricas observadas para cada uma das cepas estudadas.

Tabela 11. Resumo das características morfométricas das cepas estudadas de *Planktothrix*. *Constrições: - (ausente), + (presente)

Táxon	Cepa	Tricomas: forma e largura média	Ápices	*Constrições	Células intermediárias: forma e comprimento médio	Células apicais
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC205	Longos ou curtos, retos; 4,9 µm	Geralmente atenuados	-	mais largas que longas; com aerótopos; 2,8 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas, capitadas
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC370	Longos ou curtos, retos; 5,0 µm	Atenuados ou não	-/+	mais largas que longas; com aerótopos; 2,62 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas, capitadas
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC383	Longos ou curtos, retos ou levemente curvos; 4,94 µm	Atenuados ou não	-	mais largas que longas; com aerótopos; 2,42 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas, capitadas
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC609	Longos ou curtos, retos, 4,2 µm	Atenuados ou não	-	mais largas que longas; com aerótopos; 2,9 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas, ocasionalmente capitadas
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC621	Longos ou curtos, retos, 5,7 µm	Atenuados ou não	-/+	mais largas que longas; com aerótopos; 2,6 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC690	Longos ou curtos, retos ou levemente curvos; 4,7 µm	Geralmente não atenuado	-	mais largas que longas; com aerótopos; 2,6 µm	Arredondadas, alongadas, sub-cilíndricas
<i>Planktothrix isothrix</i>	SPC788	Longos ou curtos, retos; 5,5 µm	Atenuados ou não	+	mais largas que longas, algumas vezes isodiamétricas; com aerótopos; 2,8 µm	Arredondadas, sub-esféricas, mais largas que longas
<i>Planktothrix agardhii</i>	BB013	Retos; 5,0 µm	Atenuados ou não	-/+	mais largas que longas; com aerótopos; 2,5 µm	Arredondadas

Revisão da literatura - Com relação às citações de espécies de *Planktothrix* registradas para o Brasil, algumas considerações são feitas:

Câmara (2007) realizou um estudo onde se propôs a analisar qualitativa e quantitativamente a comunidade fitoplanctônica da Barragem Armando Ribeiro Gonçalves e Estação de Tratamento de Água, do Canal Pataxó/RN, e pôde verificar, de acordo com seus resultados, que ocorrem nestas duas localidades do Canal Pataxó, duas espécies de *Planktothrix*: *P. agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek e *P. rubescens* (DeCandole ex Gomont) Anagnostidis et Komárek. O trabalho aponta ainda, *P. agardhii* como espécie abundante à dominante em diferentes épocas do ano. O fato é que não há neste trabalho descrição taxonômica para a espécie. A autora cita o trabalho de Smith (1950) como primeira publicação válida para a espécie, sendo que, a obra original aceita é de Gomont (1892); as fotos que ilustram *P. agardhii* não são claras e não evidenciam as características diacríticas da espécie, mas evidenciam uma célula semelhante a “heterocisto”, que não ocorre na espécie, nem mesmo na ordem na qual está inserida, já que a ordem Oscillatoriales é caracterizada por tricomas homocitados. De acordo com a autora (Câmara, com. pessoal), a espécie *P. rubescens* foi equivocadamente identificada como tal, e que deve ser considerada como *Oscillatoria* sp.. Entretanto, em 2009, Chellappa *et al.*, publicaram artigo a partir do estudo de Câmara (2007), registrando a ocorrência tanto de *P. agardhii* quanto *P. rubescens*. Porém, deve-se desconsiderar a ocorrência de *P. rubescens* a partir deste trabalho, para a região.

Dellamano-Oliveira (2006), em sua tese sobre a comunidade fitoplanctônica do Reservatório de Barra Bonita e a relação com a composição e quantidade de polissacarídeos extracelulares e agregados gelatinosos, registrou a ocorrência de uma nova espécie de *Planktothrix*: *P. tropicalis*. Neste trabalho não há descrição para a nova espécie citada, apenas um registro fotográfico do aspecto geral do tricoma. A partir deste estudo, a autora e demais colaboradores (Dellamano-Oliveira *et al.* 2008) publicaram o estudo da tese em revista científica especializada com o registro da ocorrência de “*Planktothrix tropicalis*”. Algumas amostras depositadas no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo foram analisadas, inclusive foto e observações registradas pela autora, e chegou-se a conclusão, com base na análise de características morfológicas que trata-se de *P. agardhii*.

Foram ainda encontrados dois trabalhos que fazem referência a duas espécies de *Planktothrix*, que não são comuns no Brasil, quais sejam: *Planktothrix suspensa* (Pringsheim) Anagnostidis et Komárek (Gonçalves & Fernandes 2009) registrada em substrato artificial de um reservatório eutrófico de Vitória, ES; e *Planktothrix prolifica* ([Greville] Gomont) Anagnostidis et Komárek (Fonseca & Rodrigues 2007) registrada em uma planície de inundação do Alto Rio Paraná, PR. Ambos os trabalhos apenas mencionam a ocorrência das

duas espécies, mas não há descrições e/ou ilustrações. O pedido de material para a possível confirmação da espécie foi feito, mas não fomos atendidos e não foi possível confirmar essa identificação. Em relação a *P. prolifica*, tentou-se contato com os autores para maiores informações em relação ao registro de ocorrência e possível envio de material, mas não tivemos retorno. Como não foi possível a análise do material tanto de *P. suspensa* quanto de *P. prolifica* e tampouco há registro taxonômico detalhado, não se considerou as duas espécies como ocorrentes em corpos d'água brasileiros.

De acordo com Komárek & Anagnostidis (2005), os dados de registro taxonômico para *P. prolifica* em regiões tropicais (Paquistão) são problemáticos, e ressaltam o fato que há poucos estudos taxonômicos para *P. suspensa* que foi descrita originalmente para região temperada. Estes autores mencionam também a similaridade desta com *P. agardhii*.

Marques (2006) registrou a ocorrência de *Oscillatoria rubescens*, classificada na família Oscillatoriaceae. Porém, com a nova combinação proposta por Anagnostidis & Komárek (1988), as espécies de *Oscillatoria* providas de aerótopos e com células isodiamétricas, foram incluídas na família Phormidiaceae, no gênero *Planktothrix*, como é o caso de *O. rubescens*, que a partir de então denominou-se *Planktothrix rubescens*. Neste trabalho (Marques 2006), a autora descreveu e ilustrou *P. rubescens*, porém em sua descrição não mencionou a presença de aerótopos e grânulos nos septos transversais (características morfológicas que auxiliam sua distinção interespecífica), e descreveu as células com conteúdo verde-azulado. Segundo Komárek & Anagnostidis (2005) e Suda *et al.* (2002), os tricomas de *P. rubescens* apresentam coloração roxa-avermelhada, marrom-avermelhada, devido a pigmentação da ficoeritrina, o que não corrobora com o descrito em Marques (2006). Analisando tanto a descrição quanto a ilustração de Marques (2006) podemos concluir que trata-se de *Planktothrix isothrix*, porém essa afirmação é feita com cautela pois o referido trabalho apresenta poucos dados taxonômicos.

No trabalho de Santos (2008a), cujo objetivo foi estudar a dinâmica do fitoplâncton e bacterioplâncton em lagos de cultivo de camarão no Rio Grande do Norte, o autor cita como espécie descritora *Planktothrix raciborskii*. A partir do trabalho de Suda *et al.* (2002), que realizaram uma revisão taxonômica de algumas oscillatoriáceas formadoras de florações, ficou definido através do auxílio da análise genética do gene 16S e nova caracterização morfológica, que *Planktothrix raciborskii* não tem relação filogenética tão próxima com as demais espécies de *Planktothrix* para ser mantido nesse gênero. Dessa forma, Suda *et al.* (2002) descreveram um novo gênero: *Planktothricoides*, de forma que, *Planktothrix raciborskii* foi transferido e desde então, é denominado *Planktothricoides raciborskii*.

Os trabalhos de Vieira (2002), Andrade (2008b) e Sampaio (2008), fazem referência a ocorrência de *Planktothrix* sp. e ilustram por meio de fotografia os indivíduos analisados, mas não o descrevem morfológicamente. Em Vieira (2002) e Sampaio (2008), é possível afirmar que trata-se de *Planktothrix*, mas fica difícil fazer uma identificação em nível específico a partir de tão poucos dados. Já em Andrade (2008b), não se pode afirmar que se trata de *Planktothrix*, pois as fotografias não apresentam boa qualidade.

Distribuição geográfica - A partir do levantamento bibliográfico realizado, observou-se que poucos são os trabalhos brasileiros que se dedicam à descrição taxonômica das espécies de *Planktothrix*. A grande maioria faz apenas menção à ocorrência, o que torna difícil a verificação da identificação (tabela 12).

Pela quantidade de trabalhos que fazem menção à ocorrência de *Planktothrix*, tem-se uma idéia de sua amplitude de distribuição em corpos de água brasileiros. Além disso, em grande parte destes trabalhos, *Planktothrix* é referido como dominante e/ou abundante em vários períodos do ano (Chaves 2008, Nishimura 2008, Costa 2009, Gomes 2009).

Assim, considerando o número de trabalhos, principalmente ecológicos, realizados por pesquisadores qualificados em todo Brasil, que fazem referência a ocorrência das espécies de *Planktothrix* e sua relação com ambientes eutrofizados e florações potencialmente tóxicas, tornou-se de grande importância registrá-los no presente trabalho (tabela 8, figuras 1 e 2), para que deste modo, auxiliem trabalhos futuros.

Considerando apenas os trabalhos taxonômicos com descrições detalhadas e ilustrações, o presente trabalho aumentou em 100% o número de citações das espécies de *Planktothrix* para o Brasil (figura 2).

Para os Estados da Paraíba e Goiás, os registros de ocorrências de *P. agardhii* foram feitos a partir de fotografias e descrições enviadas por colegas, respectivamente: Watson Arantes Gama Junior (Iniciação Científica, Universidade Federal de Goiás), Patrícia Campos de Arruda (Mestre, Universidade Estadual da Paraíba).

Para o Estado do Amazonas os registros de ocorrências das espécies *P. agardhii* e *P. isothrix* foram feitos por comunicação pessoal, contando com a colaboração do Dr. Sergio de Melo, pesquisador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Drouet (1937)	Ceará	The Brazilian Myxophyceae	<i>Oscillatoria agardhii</i>	Apenas citação
Drouet (1937)	Pará	The Barzilian Myxophyceae	<i>Oscillatoria rubescens</i>	Apenas citação
Drouet (1937)	Paraíba	The Barzilian Myxophyceae	<i>Oscillatoria agardhii</i>	Apenas citação
Oliveira (1950)	Rio de Janeiro	Levantamento biogeográfico da Baía de Guanabara	<i>Planktothrix rubescens</i>	Apenas citação
Oliveira <i>et al.</i> (1957)	Rio de Janeiro	Observações hidrobiológicas e mortandade de peixes na Lagoa Rodrigo de Freitas	<i>Planktothrix rubescens</i>	Apenas citação
Bicudo & Ventrice (1968)	Minas Gerais	Algas do Brejo da Lapa, Parque Nacional do Itatiaia, Brasil	<i>Planktothrix rubescens</i>	Descrição e ilustração
Thomasson (1971)	Pará	Amazonian algae	<i>Oscillatoria agardhii</i>	Apenas citação
Uherkovich & Schmidt (1974)	Amazonas	Phytoplankton taxa in dem zentralamazonischen Schwemmlandsee Lago do Castanho	<i>Oscillatoria agardhii</i>	Apenas citação
Senna (1982)	São Paulo	Nostocophyceae do município de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil	<i>Planktothrix mougeotii</i> , <i>Planktothrix rubescens</i>	Descrição e ilustração

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Franceschini (1983)	Rio Grande do Sul	Levantamento das Nostocophyceae do Rio Seco, Torres, Rio Grande do Sul	<i>Planktothrix rubescens</i>	Descrição e ilustração
Werner (1988)	Rio Grande do Sul	Cianofíceas planctônicas da Lagoa de Tramandaí e da Lagoa do Armazém, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>Oscillatoria ornata</i> var. <i>ornata</i> f. <i>ornata</i>	Descrição e ilustração
Necchi & Branco (1992)	São Paulo	Preliminary evaluation of primary production in a stream of São Paulo State, southeastern Brazil	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Werner & Rosa (1992)	Rio Grande do Sul	Cyanophyceae da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>Planktothrix rubescens</i>	Descrição e ilustração
Sant'Anna & Azevedo (1995)	São Paulo	Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil	<i>Planktothrix agardhii</i>	Descrição e ilustração
Senna (1996)	Distrito Federal	Cyanophyceae from the eastern region of Distrito Federal, Brazil	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Sant'Anna & Azevedo (2000)	São Paulo	Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil	<i>Planktothrix agardhii</i>	Descrição e ilustração
Vieira (2002)	Amazonas	Toxicidade de cianobactérias e concentração de microcistinas em uma represa de abastecimento público da Região Amazônica do Brasil	<i>Planktothrix</i> sp.	Ilustração

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Werner (2002)	Rio Grande do Sul	Cyanophyceae/Cyanobacteria no sistema de lagoas e lagunas da Planície Costeira do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil	<i>Planktothrix planctônica</i>	Descrição e ilustração
Costa (2003)	Rio Grande do Norte	Dinâmica de populações de cyanophyceae em um reservatório eutrofizado do semi-árido nordestino brasileiro	<i>Planktothrix agardhii</i>	Descrição e ilustração
Lacerda <i>et al.</i> (2004)	Pernambuco	Phytoplankton nyctemeral variation at a Tropical River Estuary (Itamaracá, Pernambuco, Brazil)	<i>Planktothrix planctônica</i>	Apenas citação
Maizonave <i>et al.</i> (2004)	Rio Grande do Sul	Ocorrência de <i>Planktothrix mougeotii</i> (Cyanobacteria) no Lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande Do Sul, Brasil	<i>Planktothrix mougeotii</i>	Apenas citação
Bendati <i>et al.</i> (2005)	Rio Grande do Sul	Ocorrência de floração de cianobactéria <i>Planktothrix mougeotii</i> no lago Guaíba em 2004: atuação do DMAE no abastecimento público	<i>Planktothrix mougeotii</i>	Apenas citação
Crossetti & Bicudo (2005);	São Paulo	Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in shallow eutrophic reservoir	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Ferragut <i>et al.</i> (2005)	São Paulo	Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo)	<i>Planktothrix agardhii</i>	Ilustração e medidas
Borges (2006)	Paraná	Estrutura e Dinâmica do Fitoplâncton nos Reservatórios de Sgredo e Parigot de Souza	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Calijuri (2006)	Rio de Janeiro	Ecologia do fitoplâncton em Lagoas Costeiras	<i>Planktothrix</i> sp.	Apenas citação
Henry <i>et al.</i> (2006)	São Paulo	Fitoplâncton em três lagoas marginais do Rio Paranapanema e em sua desembocadura no Reservatório Jurumirim (São Paulo, Brasil) durante um período prolongado de seca	<i>Planktothrix</i> sp.	Apenas citação
Nogueira <i>et al.</i> (2005)	Maranhão	Composition and temporal changes of phytoplankton community in Lake Quebra-Pote, MA, Brazil.	<i>Planktothrix mougeotii</i>	Apenas citação
Tucci <i>et. al.</i> (2006)	São Paulo	Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico	<i>Planktothrix agardhii</i>	Descrição e ilustração
Fonseca & Rodrigues (2007)	Paraná	Periphytic Cyanobacteria in different environments from the upper Paraná river floodplain, Brazil.	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix prolifica</i>	Apenas citação

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Lopes (2007)	São Paulo	Estudo da comunidade fitoplanctônica como bioindicador de poluição em três reservatórios em série do PEFI, São Paulo, SP	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isoethrix</i>	Apenas citação
Gentil (2007)	São Paulo	Estrutura da comunidade fitoplanctônica de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, em dois períodos: primavera e verão	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Panosso (2007)	Rio Grande do Norte	Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Sant'Anna <i>et. al.</i> (2007)	São Paulo	Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil	<i>Planktothrix mougeotii</i>	Descrição e ilustração
Scomparin (2007)	Mato Grosso do Sul	Variação interanual (2000-2005) da comunidade fitoplanctônica em um lago de inundação isolado do Parque Estadual do rio Ivinhema (MS)	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Andrade (2008a)	Distrito Federal	Cultivo de Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) em efluente do sistema de lagoas de estabilização da estação de tratamento de esgotos de Samambaia-DF	<i>Planktothrix</i> sp.	Ilustração

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Andrade (2008b)	Paraíba	Dinâmica do fitoplâncton, qualidade de água e a percepção ambiental da comunidade de pescadores em açudes da Bacia do rio Taperoá	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Borges <i>et al.</i> (2008)	Paraná	Estrutura do fitoplâncton, em curto período de tempo, em um braço do reservatório de Rosana	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Luna (2008)	Paraíba	Características espaço-temporais do sistema de Açude Acauã-PB, e seu atual índice de estado trófico	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Fonseca & Bicudo (2008)	São Paulo	Phytoplankton seasonal variation in a shallow stratified eutrophic reservoir (Garças Pond, Brazil)	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Gentil <i>et al.</i> (2008)	São Paulo	Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Nishimura (2008)	São Paulo	Ecologia da comunidade fitoplanctônica em dois braços da Represa Billings (São Paulo, SP), com diferentes graus de trofia	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Oscillatoria mougeotii</i>	Apenas citação
Sampaio (2008)	Rio de Janeiro	Cianobactérias como parâmetro de qualidade ambiental: um estudo do complexo lagunar de Jacarepaguá	<i>Planktothrix</i> sp.	Ilustração

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil

cont.

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Rocha (2008)	Rio Grande do Norte	Caracterização limnológica e determinação da capacidade suporte do Reservatório Mendubim, para cultivo de pixes em tanques rede	<i>Planktothrix planctonica</i>	Apenas citação
Santos (2008b)	Mato Grosso do Sul	Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas (“salina”, “salitrada” e “baía”) do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isothrix</i>	Descrição e ilustração
Santos (2008a)	Rio Grande do Norte	Estrutura e dinâmica do fitoplâncton e bacterioplâncton em cultivos de camarão no Rio Grande do Norte: Impacto sobre o ambiente natural	<i>Planktothrix aardhii</i> , <i>Planktothrix mougeotii</i>	Apenas citação
Werner <i>et al.</i> (2008)	Rio Grande do Sul	Florações de cianobactérias associadas à saúde de Anseriformes, (Anatidae) em Lagos do Parque Zoológico	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isothrix</i>	Apenas citação
Chaves (2009)	Rio Grande do Sul	Ocorrência de cianobactérias produtoras de toxinas no Rio dos Sinos (RS) entre os anos de 2005-2008	<i>Planktothrix</i> sp.	Apenas citação
Chellappa <i>et al.</i> (2009)	Rio Grande do Norte	Phytoplankton community: indicator of water quality in the Armando Ribeiro Gonçalves Reservoir and Pataxó Channel, Rio Grande do Norte, Brazil	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação

Tabela 12. Registro de ocorrência das espécies de *Planktothrix* para o Brasil*cont.*

Referência	Estado	Título	Espécie	Tipo de referência
Costa <i>et al.</i> (2009)	Rio Grande do Norte	Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte	<i>Planktothrix agardhii</i>	Apenas citação
Gonçalves & Fernandes (2009)	Espírito Santo	Cianobactérias perifíticas em dois substratos artificiais em um reservatório urbano eutrofizado (Vitória, Espírito Santo): variação temporal em curto prazo	<i>Planktothrix suspensa.</i>	Apenas citação

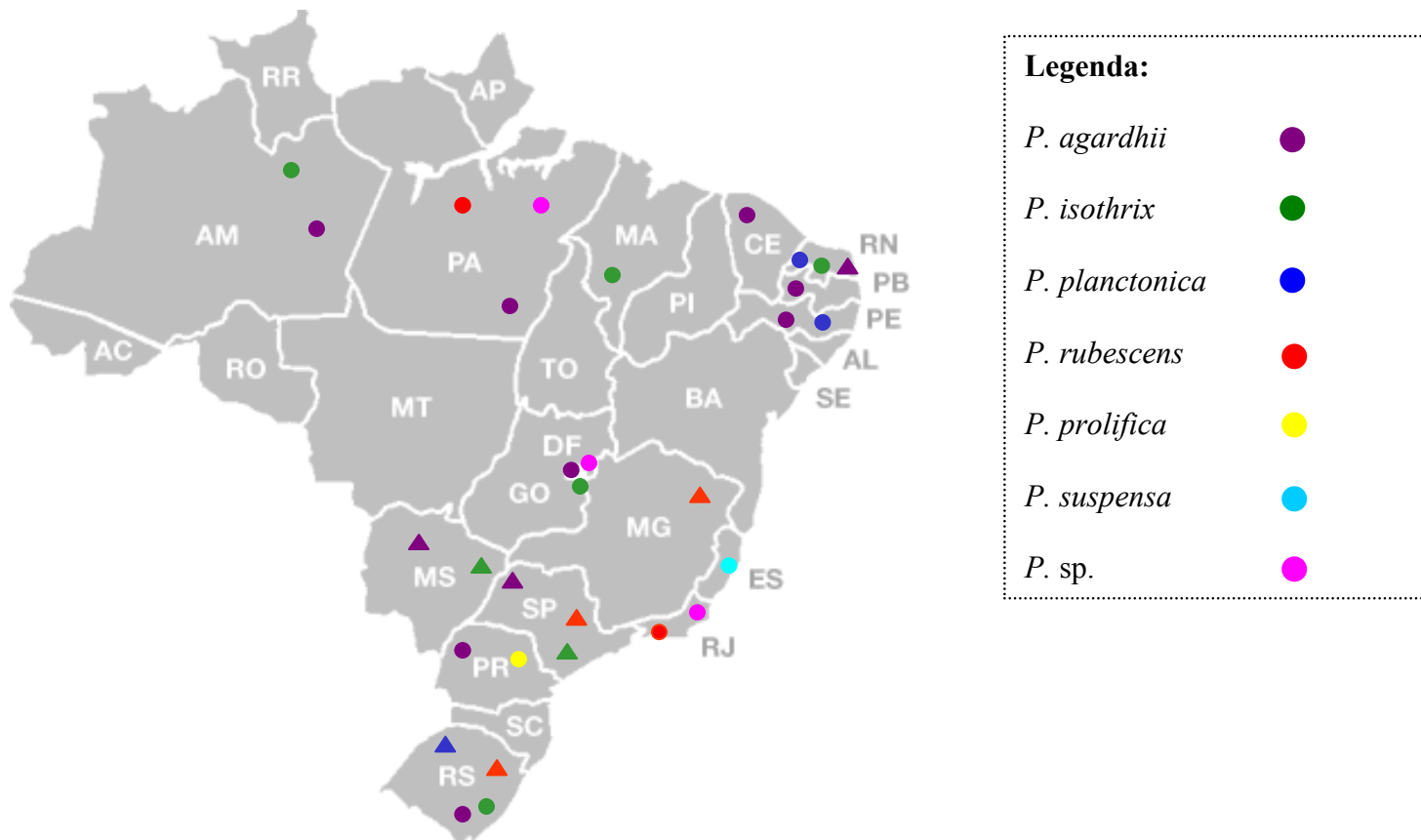


Figura 1. Espécies de *Planktothrix* distribuídas no Brasil antes do presente estudo. círculo = registro de ocorrência; triângulo = descrição.

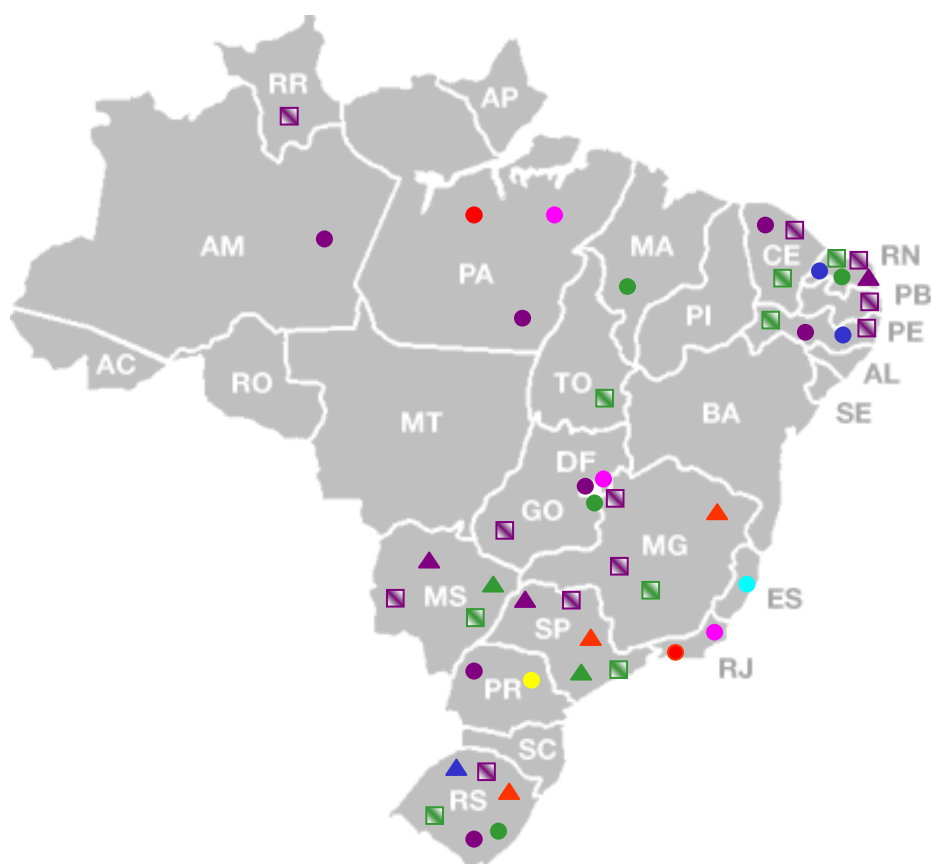


Figura 2. Espécies de *Planktothrix* distribuídas no Brasil após o presente estudo. círculo = registro de ocorrência; triângulo = descrição antes do presente trabalho; quadrado = descrição após o presente estudo.

Análise Estatística – Foram analisadas duas espécies de *Planktothrix*: *Planktothrix agardhii* e *Planktothrix isothrix* que são as espécies mais amplamente distribuídas no Brasil e de grande interesse ecológico por formarem florações e produzirem toxinas. Além disso, são as duas espécies que ocorrem nos três tipos de materiais analisados (herbário, natureza e cultura).

A partir dos dados morfométricos (largura do tricoma e comprimento celular) foram calculados desvio padrão, média, mínimo e máximo, de cada característica analisada, para ambas as espécies e diferentes tipos de amostra (figuras 3-6).

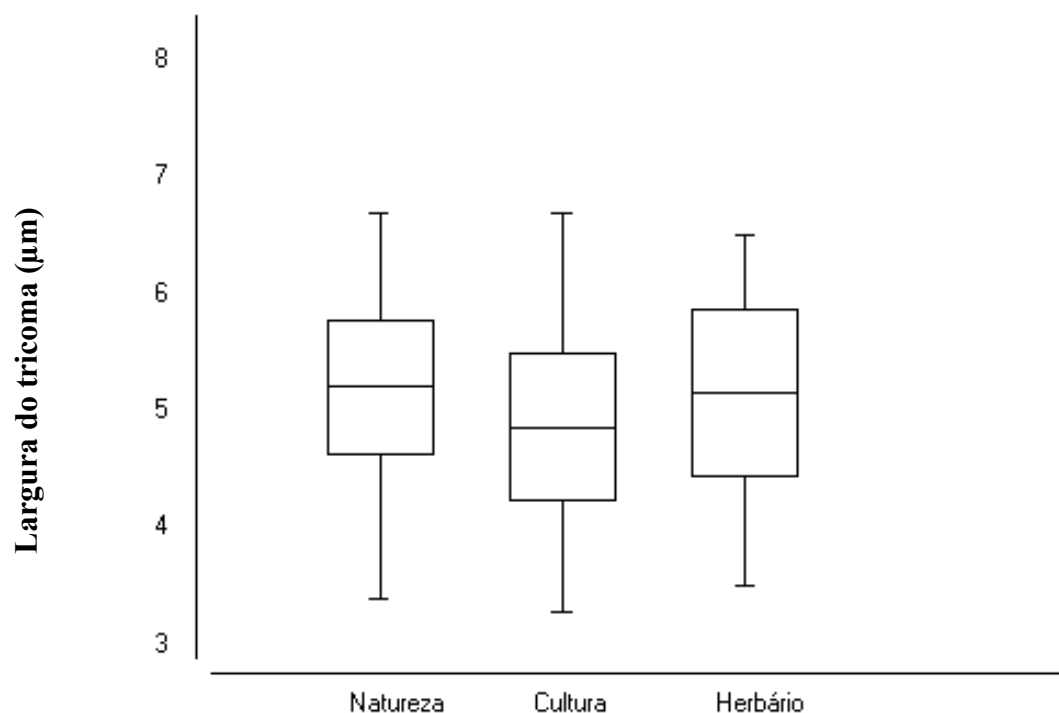


Figura 3. Variação da largura do tricoma de *Planktothrix agardhii*, para as amostras examinadas (natureza; cultura; herbário). Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. Material da natureza (n=92); mat. herbário (n=90); mat. cultura (n=70).

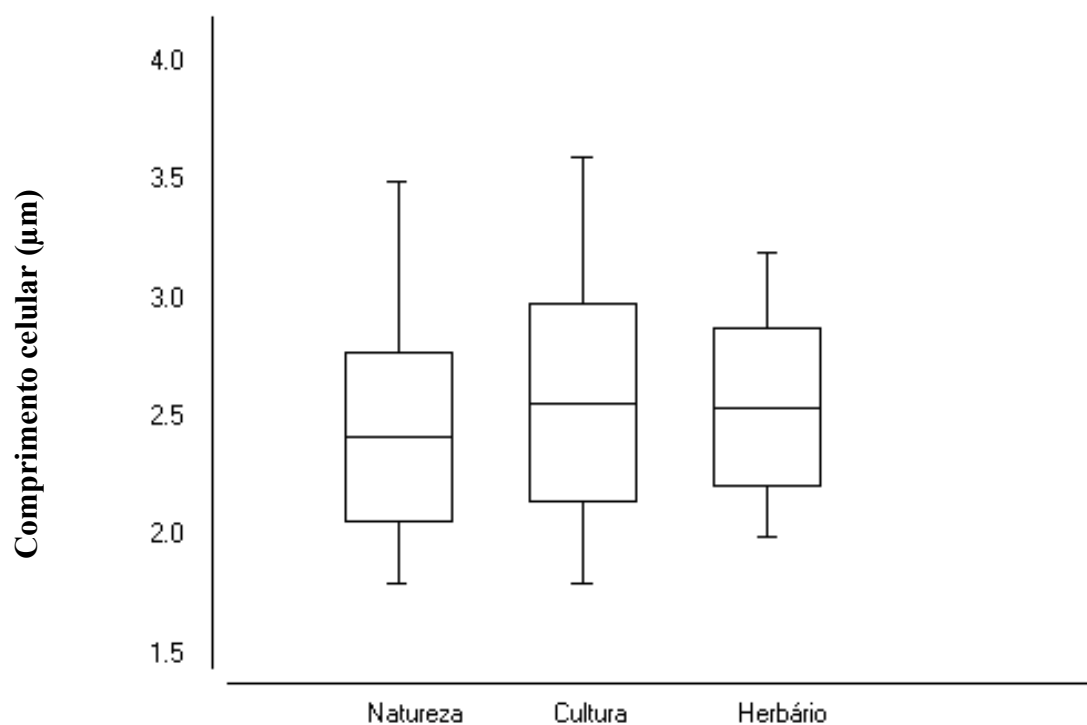


Figura 4. Variação do comprimento celular de *Planktothrix agardhii*, para as amostras examinadas (natureza; cultura; herbário). Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. Material da natureza (n= 540); mat. herbário (n=150); mat. cultura (n=160).

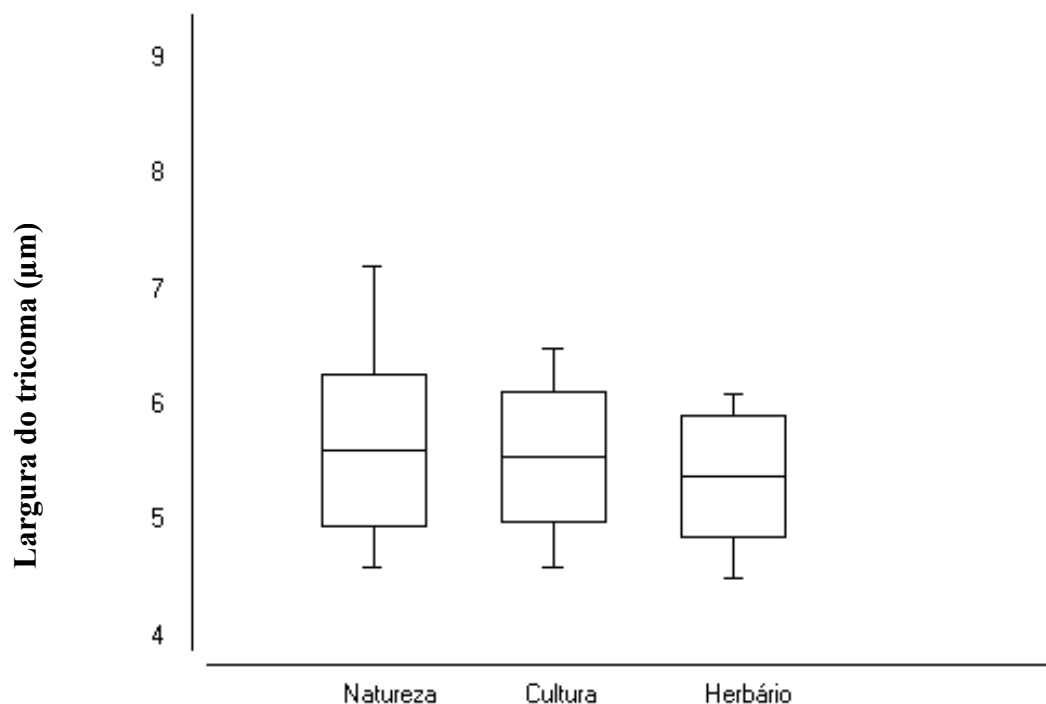


Figura 5. Variação da largura do tricoma de *Planktothrix isothrix*, para as amostras examinadas (natureza; cultura; herbário). Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. Material da natureza (n= 68); mat. herbário (n=49); mat. cultura (n=48).

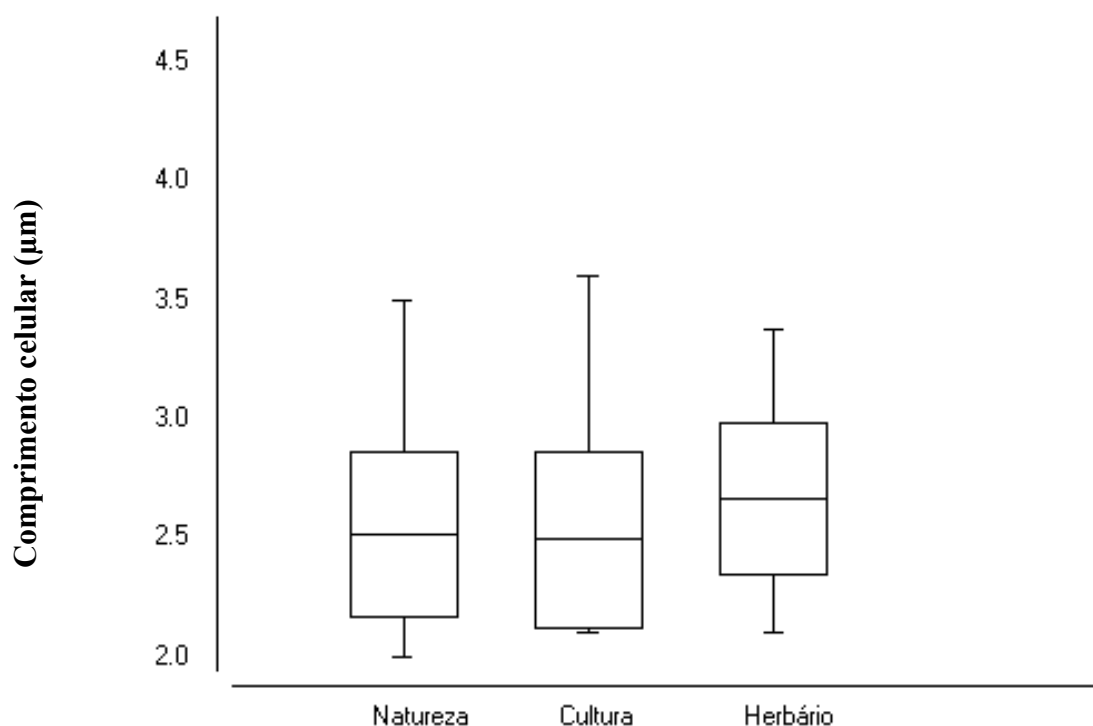
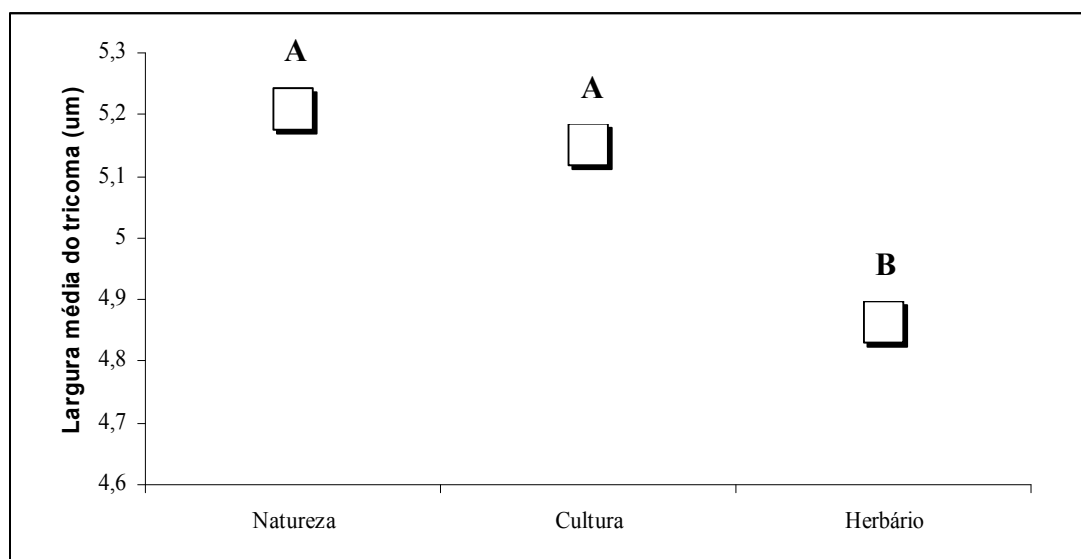


Figura 6. Variação do comprimento celular de *Planktothrix isothrix*, para as amostras examinadas (natureza; cultura; herbário). Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. Material da natureza (n=270); mat. herbário (n=106); mat. cultura (n=70).

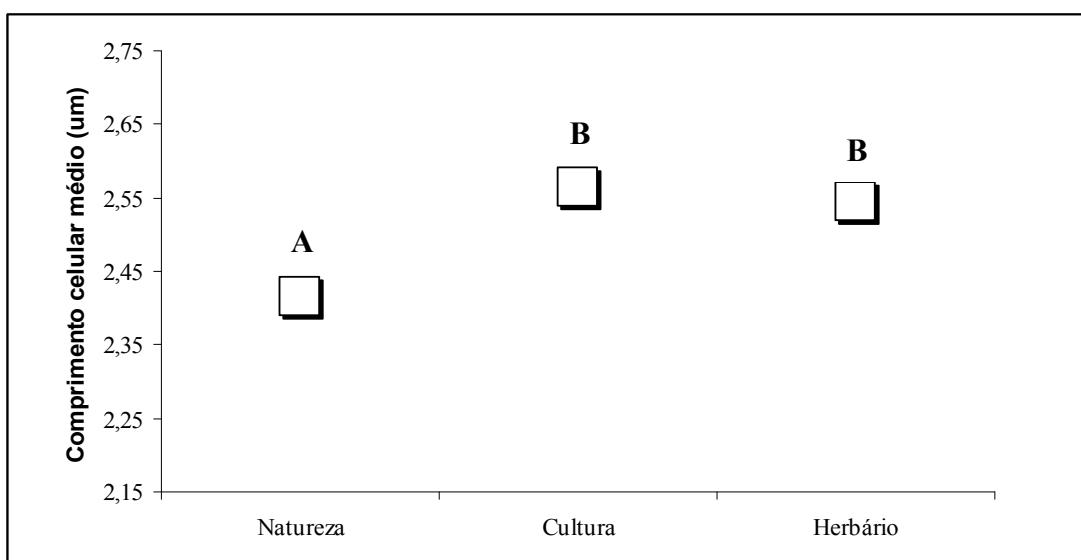
A análise de variância (ANOVA um critério) seguida do teste de Tukey foi a ferramenta estatística utilizada na comparação das médias de diâmetro do tricoma e comprimento celular entre material da natureza, cultura e herbário e os resultados obtidos podem ser observados nos gráficos abaixo (figuras 7-10).



Obs.: letras iguais=média semelhante; letras diferentes=médias diferentes;

Figura 7. Largura média dos tricomas (µm) de *Planktothrix agardhii*, para cada tipo de material analisado. Material da natureza (n=92); mat. herbário (n=90); mat. cultura (n=70).

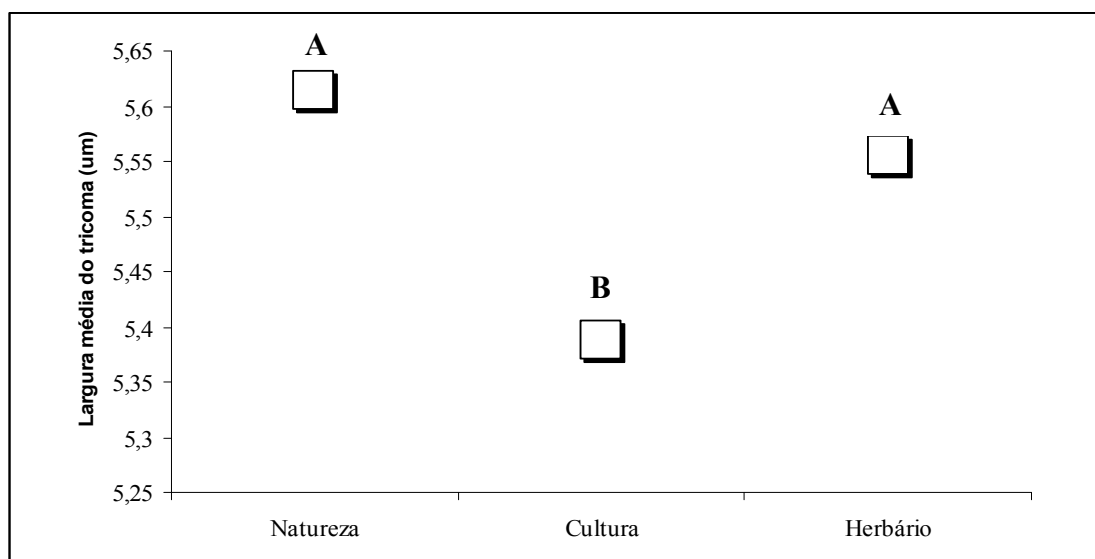
Em relação à largura média dos tricomas de *Planktothrix agardhii*, observa-se que não há diferença entre material da natureza e cultura, entretanto, estes dois tipos de materiais diferiram do material de herbário.



Obs.: letras iguais=média semelhante; letras diferentes=médias diferentes;

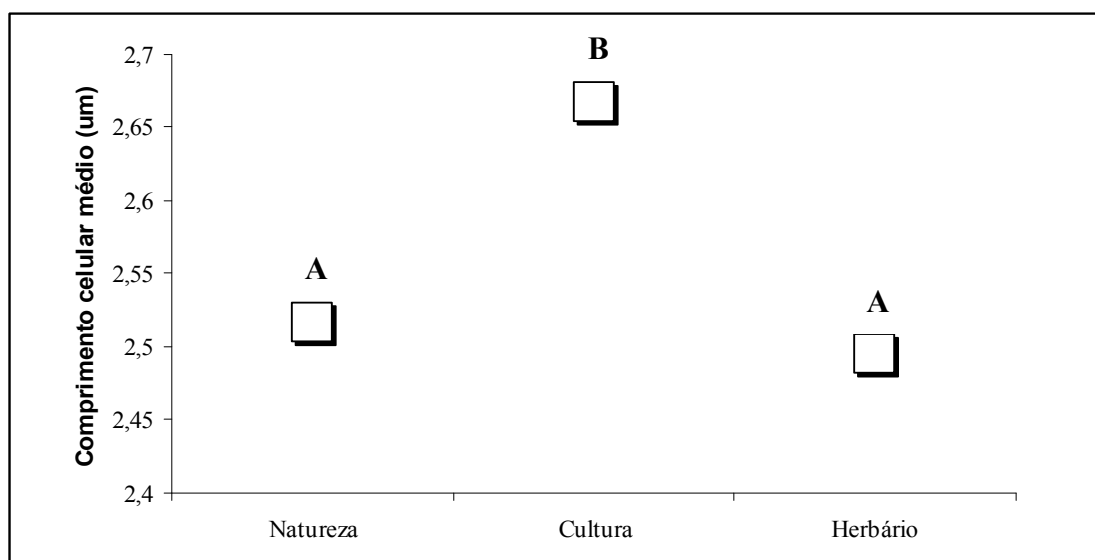
Figura 8. Comprimento celular médio (µm) de *Planktothrix agardhii*, para cada tipo de material analisado. Material da natureza (n= 540); mat. herbário (n=150); mat. cultura (n=160).

Pode-se observar que o comprimento celular médio para o material da natureza é estatisticamente diferente dos demais materiais estudados e que, tanto o material de herbário quanto o material de cultura, apresentam médias de comprimento celular estatisticamente iguais.



Obs.: letras iguais=média semelhante; letras diferentes=médias diferentes;

Figura 9. Largura média dos tricomas (µm) de *Planktothrix isothrix*, para cada tipo de material analisado. Material da natureza (n= 68); mat. herbário (n=49); mat. cultura (n=48).



Obs.: letras iguais=média semelhante; letras diferentes=médias diferentes;

Figura 10. Comprimento celular médio (µm) de *Planktothrix isothrix*, para cada tipo de material analisado. Material da natureza (n=270); mat. herbário (n=106); mat. cultura (n=70).

Para *Planktothrix isothrix* tanto para a característica largura do tricoma quanto para comprimento celular, não houve diferenças significativas entre os materiais da natureza e herbário, entretanto ambos os materiais diferiram do material de cultura.

Considerando a literatura especializada e mais atual (Komárek & Anagnostidis 2005) observamos que taxonomicamente não houve diferenças métricas para as características largura do tricoma e comprimento celular entre os três materiais analisados (natureza, cultura e herbário) para ambas as espécies estudadas (*P. agardhii* e *P. isothrix*), pois de acordo com a descrição original esses valores se sobrepõem. Entretanto, a análise estatística apontou diferenças significativas para as características mencionadas acima para ambas as espécies analisadas.

Discussão

A taxonomia polifásica tem como foco principal utilizar o maior número de informações possíveis a respeito de um organismo, tais como: características morfológicas, moleculares, citológicas, ecológicas e bioquímicas, para sua classificação taxonômica. É considerado um método atual e moderno de trabalhar a classificação das cianobactérias (Gillis *et al.* 2001, Komárek & Anagnostidis 2005). Nesse contexto, a caracterização morfológica dos táxons constitui o ponto de partida para a construção de um sistema de classificação que esteja de acordo com as relações filogenéticas, expresse a diversidade da natureza e que seja coerente do ponto de vista botânico e bacteriológico (2006b).

O elemento básico dos cianoprocariotos da Ordem Oscillatoriales é o filamento, composto obrigatoriamente de uma cadeia unisseriada de células conectadas, e facultativamente com envelope mucilaginoso ou bainha (Komárek & Anagnostidis 2005). Por sua vez, diversos tipos morfológicos de tricomas são conhecidos, tais como: retos, curvos, atenuados ou não, enrolados, espiralados (Komárek & Anagnostidis 2005).

De acordo com Komárek & Anagnostidis (2005), para alguns gêneros, estas formas dos tricomas com certo limite de variação tem valor inter-específico, porém em alguns casos, a tal estrutura pode ser utilizada como uma característica inter-genérica adicional em combinação com outras características. Observou-se que para as espécies de *Plankothrix*, gênero inserido na Ordem Oscillatoriales, a característica morfológica “forma do tricoma” é bastante estável, de modo que, é bastante consistente na avaliação e distinção inter-genérica, porém pouco eficiente na distinção entre as espécies, pois a maioria é caracterizada por tricomas freqüentemente retos ou as vezes levemente atenuados, mas auxilia a distinção inter-específica quando analisada com outras características.

Segundo Anagnostidis (1961, 1968), os tricomas podem ser constrictos, muito levemente constrictos, ou intensamente constrictos e, ainda ressalta, que esta característica pode, em alguns casos, ser utilizada para diferenciar algumas espécies dentro do gênero. O que pôde ser observado a partir da análise das espécies descritas no presente trabalho, é que o caráter “constrição” é bastante instável em nível inter-específico, muitas vezes de difícil visualização e dependente da observação individual de cada pessoa, ou seja, uns podem considerar não constricto enquanto outros levemente constricto. A única espécie que pode realmente ser separada das demais quando observada a constrição da parede celular dos tricomas é *P. planctonica*, pois é a única espécie que apresenta constrição bem evidente e não passível de equívocos.

Desta forma, a constrição entre os septos transversais dos tricomas é uma característica qualitativa que auxilia a distinção entre espécies, porém é bastante variável entre as mesmas. Assim, recomenda-se avaliá-la sempre de modo conjunto com as demais características morfológicas.

A forma da célula é, em certo grau, geneticamente fixa e pode ser usada como uma característica distintiva entre espécies (Komárek & Anagnostidis 2005). De forma geral, o caráter forma das células vegetativas, quando avaliado com demais características fenotípicas auxiliaram a distinção das espécies avaliadas, pois frequentemente cada uma das espécies descritas apresentou um padrão celular (considerando a média dos tricomas observados). *P. agardhii* apresentou em alguns casos célula vegetativa quadrática, enquanto as demais foram frequentemente mais largas que longas, porém com diferenças métricas em relação ao comprimento e largura.

Dentro das células, diferentes tipos de inclusões (grânulos, aerótopos), são considerados estáveis em diversos táxons (Komárek & Anagnostidis 2005). Os grânulos, que podem ser de cianoficina, polifosfato ou carotenóides, geralmente escuros ou transparentes, variam em forma e tamanho, podem estar dispersos na célula e/ou junto aos septos transversais e/ou junto à periferia da célula, auxiliam principalmente na distinção e caracterização intra-genérica (Komárek & Anagnostidis 2005).

As vesículas gasosas (aerótopos) são de tamanho e forma variável e podem ser de cor pálida, brilhante, preto ou avermelhado (efeito óptico). Em muitos gêneros, os aerótopos estão distribuídos por toda a célula (*Planktothrix*, *Trichodesmium*, *Katagnymene*), enquanto que em outros eles tem posição e forma características (*Pseudanabaena*, *Limnothrix*) (Komárek & Anagnostidis 2005). A ocorrência dos aerótopos é reversível e depende das condições ambientais e cultura (Armstrong *et al.* 1983). A flutuação, juntamente com a formação dos aerótopos, muda em resposta a intensidade luminosa (Walsby *et al.* 1983; Utikilen *et al.* 1985). O número de aerótopos aumenta também com o tempo e desenvolvimento celular após a divisão (Meffert & Oberhäuser 1982). Entretanto, a habilidade de formar aerótopos está codificada no genótipo e representa um critério taxonômico importante (Komárek & Anagnostidis 2005).

Para o gênero *Planktothrix*, a presença de aerótopos é característica fundamental na sua distinção intra-genérica dentro da família Phormidiaceae, sendo efetivamente útil na separação com *Phormidium*, gênero com características próximas. Porém, pouco efetiva na diferenciação inter-específica, pois todas as espécies são descritas e caracterizam-se pela presença de aerótopos. Na microscopia óptica não se distingue maiores detalhes, muitas vezes, observa-se apenas presença ou ausência, maiores ou menores quantidades e localização

dentro das células, sendo que essas pequenas diferenças entre as espécies foram inconstantes, deste modo, não serviram para separá-las.

Para Komárek & Anagnostidis (2005), a morfologia, organização ultraestrutural e capacidade de divisão das células terminais são mais ou menos estáveis nas populações naturais, bem como em cultura. Portanto, elas podem ser usadas como características inter-específicas.

Dentre as características qualitativas, o formato das células apicais é uma das principais características que mais auxiliaram na separação inter-específica. *P. agardhii* apresentou predominantemente células apicais sub-cilíndricas, mais longas que largas, atenuadas, espessadas, às vezes capitadas outras com caliptra; enquanto que *P. isothrix* apresentou predominantemente célula apical sub-esférica, arredondada, nunca com caliptra; *P. rubescens* apresentou células apicais mais largas que longas, arredondada-truncada, as vezes com caliptra; e *P. planctonica* tem células apicais constantemente arredondadas sem caliptra. Nossos resultados concordam, portanto, com as afirmações de Komárek & Anagnostidis (2005) no que se refere a caráter que auxilia a distinção inter-específica.

A parede externa da célula apical pode ser mais espessada que a parede das demais células do tricoma. Apesar de serem dependentes das condições ambientais, esse tipo de espessamento geralmente é encontrado em tricomas adultos (Schwabe 1947, Drouet 1968, Shukoviski & Halfen 1976). Esse espessamento da célula apical ocorreu apenas ocasionalmente no presente estudo.

A utilização de características métricas para distinção inter-específica, quando analisadas isoladamente, mostrou-se pouco confiável, pois as medidas de largura do tricoma e comprimento celular apresentam ampla variação e muitas vezes até se sobrepõem para algumas espécies. Anagnostidis & Komárek (1988) afirmaram que a avaliação métrica ainda é utilizada na descrição tradicional das espécies, mas dificilmente pode ser utilizada para a separação dos grupos taxonômicos dentro de Oscillatoriales (Anagnostidis & Komárek 1988).

Segundo Hoffmann (1988), as características morfométricas não são adequadas para a distinção de gêneros de cianobactérias, pois, estando sujeitas a um contínuo de variabilidade, não permitem a delimitação de entidades discretas. Assim sendo, a classificação genérica deveria privilegiar características qualitativas estáveis. Em nível de espécie, o autor considera as características quantitativas apropriadas somente no caso de apresentarem descontinuidade inequívoca.

Dessa forma, conclui-se que as características morfométricas e fisiológicas tais como, forma do tricoma, largura do tricoma, comprimento celular, forma dos aerótopos, coloração celular, parede espessada e/ou irregular ou não, forma da célula apical, quando

observadas e analisadas em conjunto, auxiliaram de forma efetiva na diferenciação e identificação das espécies do gênero *Planktothrix*.

A partir da avaliação morfológica de três tipos de materiais (natureza, cultura, herbário) observou-se que *P. agardhii* mostrou pouca plasticidade morfológica, ou seja, as características diacríticas que a identificam e classificam são estáveis e suficientes para tal caracterização. Para *P. isothrix*, também foi observada pouca variação morfológica, de modo que, as populações avaliadas para material da natureza e herbário, estiveram de acordo com as características morfológicas que a definem, segundo literatura especializada. Quanto ao material da cultura, para *P. isothrix* foram observadas algumas variações morfológicas pouco comuns, como por exemplo, atenuação acentuada, parede celular bastante espessada e constrição evidente dos tricomas, entretanto, não sofreram variações importantes em relação a largura do tricoma e comprimento celular quando comparados com material vivo e herborizado. Assim, é importante ressaltar que em alguns casos, algumas cepas quando mantidas por longos períodos em meio de cultura, podem vir a sofrer alterações morfológicas, fazendo com que ocorram identificações equivocadas a partir deste material.

Komárek & Anagnostidis (2005) comentam que *Planktothrix agardhii* é uma espécie amplamente distribuída em regiões temperadas com poucos registros em regiões tropicais e ocorre no plâncton de lagos e empoçados de água doce podendo formar florações. Atualmente, esta espécie é frequentemente citada como formadora de florações em reservatórios brasileiros (Sant'Anna *et al.* 2007), além de apresentar ampla distribuição no Brasil (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008b). *Planktothrix isothrix* ocorre em água doce, primariamente bentônico, epipélico, secundariamente planctônico, solitário, frequentemente formando florações, distribuído mundialmente em águas estagnadas e lagos eutróficos a hipereutrófico (Komárek & Anagnostidis 2005). Esta espécie é atualmente cada vez mais comum em corpos de água brasileiros (Maizonave *et al.* 2004, 2008, Bendati *et al.* 2005, Lopes 2007, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008b, Werner *et al.* 2008). Ambas as espécies são as mais comuns e amplamente distribuídas no Brasil.

Quanto às características métricas, a análise estatística mostrou diferenças quanto a largura dos tricomas e comprimento celular, tanto para *P. agardhii* quanto *P. isothrix*, para os três materiais avaliados. Quando se comparou a amplitude da variação métrica para o caráter “largura do tricoma” de *P. agardhii* a análise estatística mostrou que a medida dos tricomas herborizados era inferior às medidas dos tricomas dos materiais da natureza e cultura e, portanto, diferentes. Em relação ao caráter “comprimento celular” de *P. agardhii* o material da natureza que diferiu metricamente dos demais tipos de materiais (cultura e herbário), foi

considerado diferente. Já para *P. isothrix* a avaliação estatística das características “largura do tricoma” e “comprimento celular” a partir dos três materiais examinados mostrou que o material da cultura difere metricamente dos materiais da natureza e herbário.

Portanto, ressalta-se que apesar da análise estatística apontar diferenças entre os três materiais (natureza, cultura e herbário) para as características métricas “largura do tricoma” e “comprimento celular”, a amplitude de variação observada está dentro do estabelecido para ambas as espécies e a diferença numérica entre os materiais é pequena ($< 0,5 \mu\text{m}$) sendo pouco significativa e ineficiente na avaliação e distinção taxonômica. Pode-se concluir a partir do presente estudo, que para as características analisadas, os materiais herborizados e os cultivados não sofrem mudanças métricas significativas quando comparadas com material da natureza, ou seja, são estáveis.

A partir das diversas amostras brasileiras analisadas observou-se pouquíssima ou nenhuma variação morfométrica entre os três materiais avaliados (natureza, cultura, herbário) para as duas espécies selecionadas: *P. agardhii* e *P. isothrix*, o que corrobora com Komárek & Komarková (2004), que afirmam que o gênero *Planktothrix* representa, nos dias atuais, um grupo único estreitamente delimitado e bem distinto também a partir de características morfológicas tradicionais.

Dessa forma, conclui-se que *Planktothrix* é bem delimitado pelo fenótipo. Assim, apesar da distinção inter-específica ser complexa, uma análise morfométrica apurada da população permite a separação entre as espécies do gênero.

Literatura Citada

- Ahlgren, G.** 1978. Growth of *Oscillatoria agardhii* Gom. In chemostat culture. II. Dependence of growth constants on temperature. Mit. Int. Ver. Lmnol. 21: 88-102.
- Anagnostidis, K.** 1961. Untersuchungen über die Cyanophyceen einiger Thermen in Griechenland. Inst. Syst. Bot. Pflzengeogr. Univ. Thessaloniki, 322 pp.
- Anagnostidis, K.** 1968. Untersuchungen über die Salz-und Süßwasser-Thiobiocönoson (Sulphutetum) Griechenlands. Wiss. Jahrb. Phys.-math. Fak. Univ. Thessaloniki 10: 406-866.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 80 (1-4) Algological Studies 50-53: 327-472.
- Andrade, A.C.** 2008b. Cultivo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em efluente do sistema de lagoas de estabilização da estação de tratamento de esgotos de Samambaia-DF. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Distrito Federal.
- Andrade, R.S.** 2008a. Dinâmica do fitoplâncton, qualidade de água e a percepção ambiental da comunidade de pescadores em açudes da Bacia do rio Taperoá. Dissertação de Mestrado, Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba.
- Azevedo, M.T.P. & Sant'Anna, C.L.** 2003. *Sphaerocavum*: a new genus of planktic Cyanobacteria from continental water bodies in Brazil. Algological Studies 109: 79-92.
- Bendati, M. M.** 2005. Ocorrência de floração de cianobactéria *Planktothrix mougeotii* no lago Guaíba em 2004: atuação do DMAE no abastecimento público. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Anais. Campo Grande, Mato Grosso do Sul.
- Bicudo, C.M.E. & Ventrice, M.R.** 1968. Algas do Brejo da Lapa. Parque Nacional do Itatiaia, Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Botânica, Fortaleza, Anais, Sociedade Botânica do Brasil, 3-30.
- Boone, D.R. & Castenholz, R.W.** 2001. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria, 2ª ed, vol 1, 721 p.
- Borges, P.A.F.** 2006. Estrutura e Dinâmica do Fitoplâncton nos Reservatórios de Segredo e Parigot de Souza (Estado do Paraná, Brasil). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, Paraná.
- Borges, P.A.F., Train, S. & Rodrigues, L.C.** 2008. Estrutura do fitoplâncton, em curto período de tempo, em um braço do reservatório de Rosana. Acta Scientiarum Biological Sciences 30(1): 57-65.

- Branco, C.W.C. & Senna, P.A.C.** 1996. Phytoplankton composition, community structure and seasonal changes in a tropical reservoir (Paranoá Reservoir, Brazil). *Algological Studies* 81: 69-84.
- Bright, D.I. & Walsby, A.E.** 2000. The daily integral of growth by *Planktothrix rubescens* calculated from growth rate in culture and irradiance in Lake Zürich. *New Phytologist* 146: 301-316.
- Callegaro, V.L.M., Rosa, Z.M. & Werner, V.R.** 1981. Comunidades fitoplanctônicas das lagoas de Tramandaí e do Armazém, Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil, Iheringia, Série Botânica, Porto Alegre 28: 3-16.
- Câmara, F.R.A.** 2007. Demanda Química de Oxigênio, Clorofila a e Comunidade Fitoplanctônica como indicadores da qualidade da água no Canal do Pataxó/RN. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte.
- Castenholz, R.W.** 2001. Oxygenic photosynthetic bacteria. *In*: Boone, D.R. & Castenholz, R.W. (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2^a ed.) vol 1, 721 p.
- Charmichael, W.W., Beasley, V., Bunner, D.L., Eloff, J.N., Falconer, I. & Gorham, P.** 1988. Naming cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon* 26: 971-973.
- Chaves, P. F., de La Rocha, S.B., Dutra, A.M.T. & Yunes, J.S.** 2009. Ocorrência de cianobactérias produtoras de toxinas no Rio dos Sinos (RS) entre os anos de 2005-2008. *Oecologia Brasiliensis* 13(2): 319-328.
- Chellappa, N.T., Câmara, F.R.A. & Rocha, O.** 2009. Phytoplankton community: indicator of water quality in the Armando Ribeiro Gonçalves Reservoir and Pataxó Channel, Rio Grande do Norte, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 69(2): 241-251.
- Coles, J.F. & Jones, R.C.** 2000. Eotosynthesis-light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. *Journal of Phycology* 36: 7-16.
- Compère, P.** 1974. Algues de la region du lac Tchad, 2: Cyanophycées. *Cah. ORSTOM Série Hydrobiologie*, Paris, 8 (3-4): 165-198.
- Costa, I.A.S.** 2003. Dinâmica de Populações de Cianobactérias em um Reservatório Eutrofizado no Semi-Árido Nordeste Brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- Costa, I.A.S., Cunha, S.R.S., Panosso, R., Araújo, M.F.F., Melo, J.L.S. & Eskinazi-Sant'Anna, E.M.** 2009. Dinâmica de Cianobactérias em Reservatórios Eutróficos do Semi-Árido do Rio Grande do Norte. *Oecologia Brasiliensis* 13(2): 382-401.
- Cronberg, G. & Annadotter, H.** 2006. Manual on aquatic cyanobacteria: A photo guide and a synopsis of their toxicology. International Society for the study of Harmful Algae, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, 162 p.

- Crossetti, L.O. & Bicudo, C.E.M.** 2005. Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in a shallow eutrophic reservoir (Garças Pond), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia* 541: 71-85.
- Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R.R., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Codd, G.A. & Bergman, B.** 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce *N*-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 102(14): 5074-5078.
- Davis, P.A., Dent, M., Parker, J., Reynolds, C.S. & Walsby, A.E.** 2003. The annual cycle of growth rate and biomass change in *Planktothrix* spp. In Blelham Tarn, English Lake District. *Freshwater Biology* 48: 852-867.
- Davis, P.A. & Walsby, A.E.** 2002. Comparison of measured growth rates with those calculated from rates of photosynthesis in *Planktothrix* spp. Isolated from Blelham Tarn, English Lake District. *New Phytologist* 156: 225-239.
- Dellamano-Oliveira, M.J.** 2006. Comunidade Fitoplancônica do Reservatório de Barra Bonita e a sua relação com a composição e quantidade de polissacarídeos extracelulares e agregados gelatinosos. Tese de Doutorado, Universidade de São Carlos, São Paulo.
- Dellamano-Oliveira, M. J., Vieira, A.H., Rocha, O., Colombo, V. & Sant'Anna, C. L.** 2008. Phytoplankton taxonomic composition and temporal changes in a tropical reservoir. *Fundamental and Applied Limnology, Archiv für Hydrobiologie* 171(1): 27-38.
- Desikachary, T.V.** 1959. Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research, Monographs on algae, New Delhi.
- Dokulil, M.T. & Teubner, K.** 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 438: 1-12.
- Drouet, F.** 1937. The Brazilian Myxophyceae, I. *American Journal of Botany*, Lancaster, 24(9): 598-608.
- Drouet, F.** 1968. Revision of the classification of the Oscillatoriaceae. *Acad. Nat. Sci. Philadelphia, Monogr.* 15: 370 pp.
- Ducobu, H., Huisman, J., Jonker, R.R. & Mur, L.R.** 1998. Competition between a prochlorophyte and a cyanobacterium under various phosphorus regimes: comparison with the droop model. *Journal of Phycology* 34: 467-476.
- Elenkin, A.A.** 1949. Monographia algarum cyanophycearum aquidulcium et terrestrium in finibus URSS inventarum [Sinezelenye vodorosli SSSR], Pars spec. 2(1-2), 1908 pp., Izd. AN SSSR, Moskva-Leningrad.

- Eriksson, J.E., Meriluoto, J.A.O., Kujari, H.P. & Skulberg, O.M.** 1988. A comparison of toxins isolated from the cyanobacteria *O. agardhii* e *Microcystis aeruginosa*. Comparative Biochemistry and Physiology 89C: 207-210
- Faridi, M.A. & Khalil, Z.** 1974. A new species of *Oscillatoria* (Cyanophyceae) from Pakistan. Biologia (Lahore) 20(1): 65.
- Ferragut, C., Lopes, M.R.M., Bicudo, D.C., Bicudo, C.E.M. & Vercellino, I.S.** 2005. Ficoflórula perifítica e planctônica (exceto Bacillariophyceae) de um reservatório oligotrófico raso (Lago do IAG, São Paulo). Hoehnea 32(2), p. 137-184.
- Fonseca, B.M. & Bicudo, C.E.M.** 2008. Phytoplankton seasonal variation in a shallow stratified eutrophic reservoir (Garcas Pond, Brazil). Hydrobiologia 600: 267-282.
- Fonseca, I. A. & Rodrigues, L.** 2007. Periphytic Cyanobacteria in different environments from the upper Paraná river floodplain, Brazil. Acta Limnologica Brasiliensis 19(1):53-65.
- Franceschini, I.** 1983. Levantamento das Nostocophyceae do Rio Seco, Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- Geitler, L.** 1925. Cyanophyceae. In: Pascher's Süßwasserflora, G. Fischer-Verl., Jena 12: 1-450.
- Geitler, L.** 1932. Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz 14. Akad. Verlagsgesell, Leipzig.
- Gentil, R.C.** 2007. Estrutura da comunidade fitoplanctônica de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, em dois períodos: primavera e verão. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo.
- Gentil, R. C., Tucci, A. & Sant'Anna, C.L.** 2008. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP. Hoehnea 35(2): 265-280.
- Gomes, A.M.A., Sampaio, P.L., Ferrão-Filho, A.S., Magalhães, V.F., Marinho, M.M., Oliveira, A.C.P., Santos, V.B., Domingos, P & Azevedo, S.M. F.O.** 2009. Florações de Cianobactérias tóxicas em uma Lagoa Costeira hipereutrófica do Rio de Janeiro/RJ (Brasil) e suas consequências para saúde humana. Oecologia Brasiliensis 13(2): 329-345.
- Gomont, M.M.** 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). Annales des Sciences Naturelles, Botanique 7(15): 263-368, (16): 91-264.
- Gonçalves, J.S. & Fernandes, V.O.** 2009. Cianobactérias perifíticas em dois substratos artificiais em um reservatório urbano eutrofizado (Vitória, Espírito Santo): variação temporal em curto prazo. IV Simpósio em Ecologia, "Ecologia de Cianobactérias e Saúde Pública", livro de resumos, 24-25 de junho, Vitória, Espírito Santo.

- Hašler, P. & Pouličková, A.** 2003. Diurnal changes in vertical distribution and morphology of a natural population of *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagnostidis et Komárek (Cyanobacteria). *Hydrobiologia* 506-509: 195-201.
- Hašler, P., Pouličková, A. & Vařeková, Š.** 2003. Comparative studies on two strains of the genus *Planktothrix* (Cyanophyta, Cyanoprokaryota). *Algological Studies* 108: 15-29.
- Henry, R., Ushinohama, E. & Ferreira, R.M.R.** 2006. Fitoplâncton em três lagoas marginais do Rio Paranapanema e em sua desembocadura no Reservatório Jurumirim (São Paulo, Brasil) durante um período prolongado de seca. *Revista Brasileira de Botânica* 29(3): 399-414.
- Hoffman, L.** 1988. Criteria for classification of blue-green algae (cyanobacteria) at the genus and at the species level. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 80 (1-4) *Algological Studies* 50-53: 131-139.
- Hoffmann, L.; Komárek, J. & Kaštovský, J.** 2005. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state 2004. *Algological Studies* 117: 95-115.
- Jewson, D.H.** 1976. The introduction of compounds controlling net phytoplankton photosynthesis in a well mixed lake (Lough Neagh, Northern Ireland). *Freshwater Biology* 6: 551-576.
- Jüttner, F. & Watson, S.B.** 2007. Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. *Applied and Environmental Microbiology* 73(14): 4395-4406.
- Kangro, K. & Nöges, P.** 2003. Seasonal development of *Planktothrix agardhii* Anagnostidis et Komárek and *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert in a sharply stratified hypertrophic lake. *Algological Studies* 109: 267-280.
- Kisilev, I.A.** 1947. K morfologii, ekologii, sistematike I geografičeskemu rasprostraneniju sinezelenoj vodorosli *Cyanothrix* (Frémy) I. Kissel. *Ampl. I. Kissel. Bot. Z. SSSR* 3(32): 111-118.
- Komárek, J.** 2003. Coccoid and Colonial Cyanobacteria. In: J. D. Wehr & R. G. Sheath (eds.). *Freshwater algae of North America: Ecology and Classification*. Elsevier Science (USA), 918 p.
- Komárek, J.** 2006a. The modern classification of cyanoprokaryotes (cyanobacteria). *Oceanological and Hydrobiological Studies (Gdansk)* 34, Suppl. 3: 5-17.
- Komárek, J.** 2006b. Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae* 21(4):349-375.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 2005. Cyanopokariota, 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, G. Gärdner, L. Krienitz & M. Schagul (eds.). *Subwasserflora von mitteleuropa, Band 19/2*. Spektrum Akademischer Verlag, 759p.

- Komárek, J. & Cronberg, G.** 2001. Some chroococcalean and oscillatorialean Cyanoprokaryotes from African lakes, ponds and pools. *Nova Hedwigia* 73: 129-160.
- Komárek, J. & Komárková, J.** 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotoc genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. *Czech Phycology*, Olomouc, 4: 1-18.
- Konopka, A.** 1981. Influence of temperature, oxygen and pH on a metalimnetic population of *Oscillatoria rubescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 42: 102-108.
- Kosol, S., Schnidt, J. & Kurmayer, R.** 2009. Variation in peptide net production and growth among strains of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *European Journal of Phycology* 44(1): 49-62.
- Kurmayer, R., Christiansen, G., Fastner, J. & Börner, T.** 2004. Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environmental Microbiology* 6(8): 831-841.
- Lacerda, S.R., Koenig, M.L., Neumann-Leitão, S. & Flores-Montes, M.J.** 2004. Phytoplankton nyctemeral variation at a Tropical River Estuary (Itamaracá, Pernambuco, Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 64(1): 81-94.
- Lelková, E., Rulík, M., Hereka, P., Dobiáš, P., Borovičková, M. & Pouličková, A.** 2008. The influence of the coagulant PAX-18 on *Planktothrix agardhii* Bloom in a shallow eutrophic fishpond. *Fottea* 8(2): 147-154.
- Lopes, A.G.D.** 2007. Estudo da comunidade fitoplanctônica como bioindicador de poluição em três reservatórios em série do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, SP.
- Lyra, C., Suomalainen, S., Gugger, M., Vezie, C., Sundman, P., Paulin, L. & Sivonen, K.** 2001. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 513-526.
- Luna, B.J.C.** 2008. Características espaço-temporais do sistema de Açude Acauã-PB, e seu atual índice de estado trófico. Dissertação de Mestrado, Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba.
- Maizonave, C.R.M., Scherer, K.D., Thewes, M.R., Andrade, R.R.** 2008. Histórico Das Florações de Algas e Cianobactérias no Lago Guaíba: Série de dados do Dmae de Porto Alegre, RS. XII Congresso da Sociedade Brasileira de Ficologia, Brasília, Brasil.

- Maizonave, C.R.M., Werner, V.R. & Scherer, K. D.** 2004. Ocorrência de *Planktothrix mougeotii* (Cyanobacteria) no Lago Guaíba, Porto Alegre, RS, Brasil. X Congresso da Sociedade Brasileira de Ficologia, Salvador, Brasil.
- Marques, A.K.** 2006. Análise da diversidade fitoplanctônica no reservatório da usina hidroelétrica Luis Eduardo Magalhães, no médio Tocantins- TO: estrutura da comunidade, flutuações temporais e espaciais. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Tocantins, Palmas.
- McGregor, G. B.** 2007. Freshwater Cyanoprokaryota of North-Eastern Australia. I: Oscillatoriales. Australian Biological Resources Study. II. Title (Series: Flora of Australia Supplementary Series, n. 24), 124 p.
- Meffert, M.E. & Oberhäuser, R.** 1982. Polar and central gas vacuoles in planktonic *Oscillatoria* species (Cyanophyta). Arch. Hydrobiol. 95: 235-248.
- Moffit, M.C., Blackburn, S.I. & Neilan, B.A.** 2001. rRNA sequences reflect the ecophysiology and define the toxic cyanobacteria of the genus *Nodularia*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 505-512.
- Moura, A.N., Dantas, E.W. & Bittencourt-Oliveira, M.C.** 2007. Structure of the Phytoplankton in a Water Supply System in the State of Pernambuco, Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 50(4): 645-654.
- Nagai, T., Imai, A., Mitsushige, K. & Fukushima, T.** 2007. Growth characteristics and growth modeling of *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* under iron limitation. Limnology 8: 261-270.
- Necchi, O. & Branco, L.H.Z.** 1992. Preliminary evaluation of primary production in a stream of São Paulo State, southeastern Brazil. Revista Brasileira de Biologia 52: 319-324.
- Neilan, B. A., Jacobs, D. & Goodman, A.E.** 1995. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within phycocyanin locus. Applied and Environmental Microbiology 61: 3875-3883.
- Nishimura, P.Y.** 2008. Ecologia da comunidade fitoplanctônica em dois braços da Represa Billings (São Paulo, SP), com diferentes graus de trofia. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Nguyen, L.T.T., Cronberg, G., Larsen, J. & Moestrup, Ø.** 2007. Planktic cyanobacteria from freshwater localities in Thuathien-Hue province, Vietnam, I. Morphology and distribution. Nova Hedwigia 85: 1-34.
- Nöges, P., Ott, I. & Jensen, J.P.** 2003. Occurrence and competition of *Limnothrix redekei* and *Planktothrix agardhii* analysis of Danish-Estonian lake database. Algological Studies 109: 429-441.

- Nogueira, I. & Vasconcelos, V.** 2001. Toxicity of two filamentous cyanobacteria species – *Planktothrix planctonica* and *Planktothrix perornata*. 5th Int. Conf. Toxic Cyanobacteria (ICTC V), Noosa, Queensland, Australia.
- Nogueira, N.M.C., Barbieiri, R., Costa Neto, J.P. & Rocha, O.** 2005. Composition and temporal changes of phytoplankton community in Lake Quebra-Pote, MA, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensis* 17(4):419-431.
- Oberhaus, L., Briand, J.F., Leboulanger, C., Jacquet, S. & Humbert, J.F.** 2007. Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. *Journal of Phycology* 45: 1191-1199.
- Oliveira, L.P.H.** 1950. Levantamento biogeográfico da Baía de Guanabara. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 48: 363-391.
- Oliveira, L.P.H., Krau, L. & Miranda, A.** 1957. Observações hidrobiológicas e mortandade de peixes na Lagoa Rodrigo de Freitas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 55(2): 211-276.
- Oliver, R.L. & Ganf, G.G.** 2000. Freshwater blooms. In: B. A. Whitton & M. Potts (eds.). *The ecology of Cyanobacteria: their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, pp. 149-194.
- Panosso, R., Costa, I.A.S., Souza, N.R., Attayde, J.L., Cunha, S.R.S. & Gomes, F.C.F.** 2007. Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Oecologia Brasiliensis* 11 (3): 433-449.
- Persson, P.E.** 1981. Growth of *Oscillatoria agardhii* in a hypertrophic brackish-water bay. *Annales Botanici fennici* 18: 1-12.
- Pomati, F., Sacchi, S., Rosseti, C. Giovannardi, S.** 2000. The freshwater cyanobacteiium *Planktothrix* sp. FP1: Molecular indentification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of Phycology* 36: 553-562.
- Pouličková, A., Hašler, P. & Kitner, M.** 2004. Annual Cycle of *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anag. & Kom. Nature Population. *International Review of Hydrobiology* 89(3): 278-288.
- Prati, M., Molteni, M., Pomati, F., Rosseti, C. & Bernardini, G.** 2002. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon*, 40: 267-272.
- Pringsheim, E.G.** 1965. *Oscillatoria agardhii* var *suspense* nov. var. *Kleine Mitteilungen über Algen und Flagellatn*. X. *Arch Mikrobiology* 50: 401-413.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B. Herdman, M. & Stanier, R.Y.** 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.

- Ripka, R. & Herdmann, M.** 1992. Pasteur Culture Collection of Cyanobacterial Strains in Axenic culture, Catalogue and Taxonomic Handbook. Institut Pasteur, Paris. 103 p.
- Reynolds, C.S., Jaworski, G.H.M., Cmiech, H.A. & Leedale, G.F.** 1981. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend Elenkin. Philosophical transactions of the royal society of London 293: 419-477.
- Robarts, R.D. & Zohary, T.** 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 21: 391-399.
- Rocha, A.C.L.** 2008. Caracterização limnológica e determinação da capacidade suporte do reservatório mendubim, (Rio Grande do Norte) para o cultivo de peixes em tanques-rede. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte.
- Rohrlick, T. & Utkilen, H.** 2007. Effects of nutrient and light availability on production of bioactive anabaenopeptins and microviridin by the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. Hydrobiologia. 583: 231-240.
- Sampaio, G.F.** 2008. Cianobactérias como parâmetro de qualidade ambiental: um estudo do complexo lagunar de Jacarepaguá. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M. T.P.** 1995. Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. Nova Hedwigia 60: 19-58.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M.T.P.** 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. Nova Hedwigia 71: 359-385.
- Sant'Anna, C.L., Azevedo, M.T.P., Werner, V.R., Dogo, C.R., Rios, F.R. & Carvalho, L.R.** 2008. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. Algological Studies 126: 251-265.
- Sant'Anna, C.L., Melcher, S.S., Carvalho, M.C., Gemelgo, M.P. & Azevedo, M.T.P.** 2007. Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil. Revista Brasileira de Botânica 30 (1): 1-17.
- Santos, K.R.S.** 2008b. Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas ("salina", "salitrada" e "baía") do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. Dissertação, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Santos, M.L.M.N.** 2008a. Estrutura e dinâmica do fitoplâncton e bacterioplâncton em cultivos de camarão no Rio Grande do Norte: Impacto sobre o ambiente natural. Dissertação de Mestrado, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte.
- Schwabe, G.H.** 1947. Blaualgen und Lebensraum, I. Acta Botanica Taiwanica 1: 3-59.

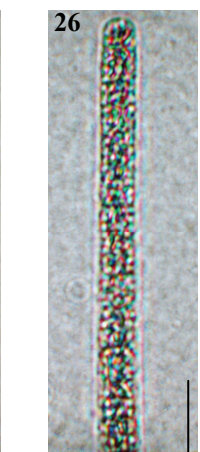
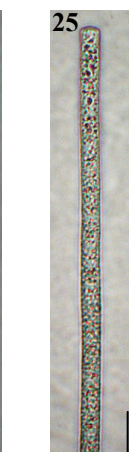
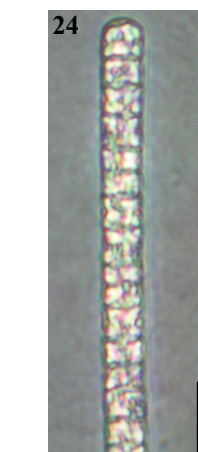
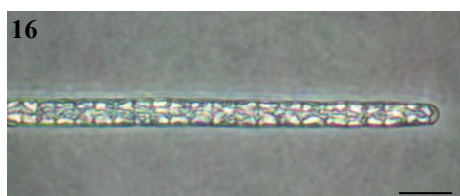
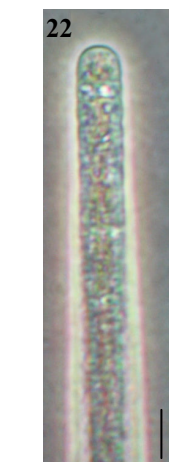
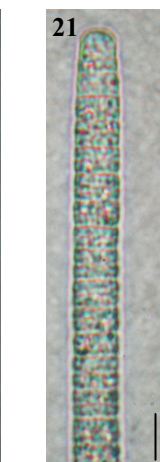
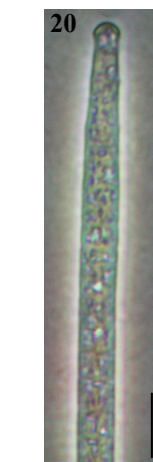
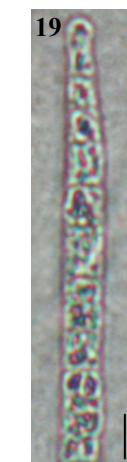
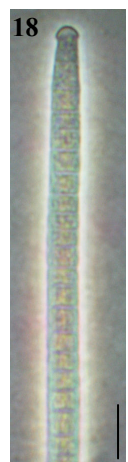
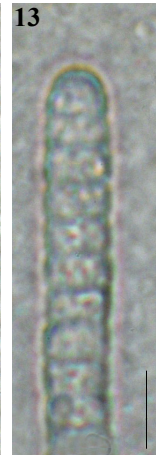
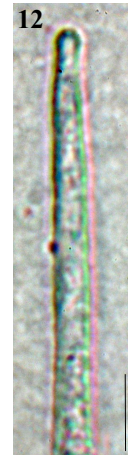
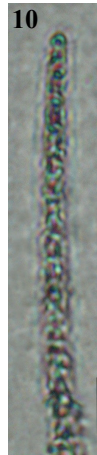
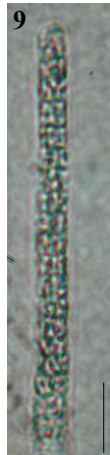
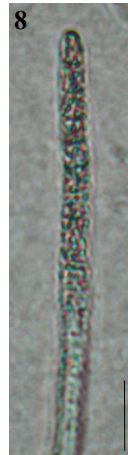
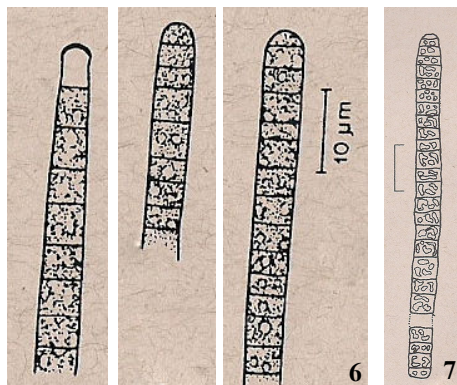
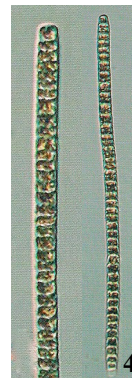
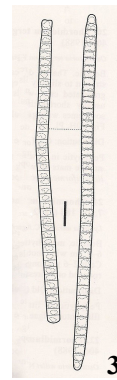
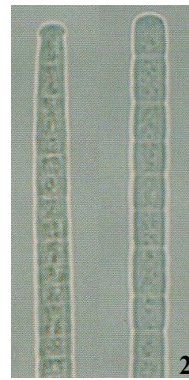
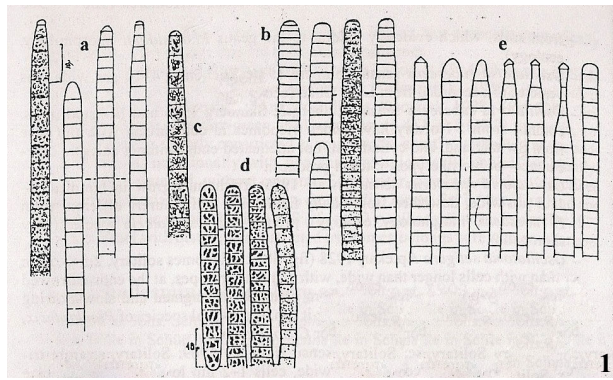
- Schober E. & Kurmayer R.** 2006. Evaluation of different DNA sampling techniques for the application of the real-time PCR method for the quantification of cyanobacteria in water. *Letters in Applied Microbiology* 42: 412-417.
- Scomparim, V.M.B.** 2007. Variação interanual (2000-2005) da comunidade fitoplanctônica em um lago de inundação isolado do Parque Estadual do rio Ivinhema (MS). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, Paraná.
- Senna, P.A.C.** 1982. Nostocophyceae do Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Senna, P.A.C.** 1996. Cyanophyceae from the eastern region of Distrito Federal, Brazil, 2. *Bull. Jardin Botanique National de Belgique* 65: 73-102.
- Shukoviski, E. S. & Halfen, L.N.** 1976. Cellular differentiation of terminal regions of thricomes of *Oscillatoria princeps*, Cyanophyceae. *Journal of Phycology* 12: 336-343.
- Sivonen, K.** 1990. Effects of Light, Temperature, Nitrate, Orthophosphate and Bacteria on Growth of and Hepatotoxin Production by *Oscillatoria agardhii* Strains. *Applied and Environmental Microbiology* 56(9): 2658-2666.
- Sivonen, K. & Jones, G.** 1999. Cyanobacterial toxins. In: I. Chorus & J. Bartram (eds.). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management* London, UK: WHO, E & FN Spon, pp. 41-112.
- Sivonen, K., Himberg, K., Luukkainen, R., Niemelä, S.I. Poon, G.K. & Codd, G.A.** 1989. Preliminary characterization of neurotoxic cyanobacteria blooms and strains from Finland. *Toxicity Assess.* 4: 339-352.
- Skuja, H.** 1948. Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. *Symb. Bot. Upsal.* 9(3): 1-399.
- Skuja, H.** 1956. Taxomische und biologische Studien über das Phytoplankton Schwedischer Binnengewasser. *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsal., Ser. 4*, Uppsala, 16(4): 1-404.
- Skulberg, O.M. & Skulberg, R.** 1985. Planktic species of *Oscillatoria* (Cyanophyceae) from Norway. Characterization and classification. *Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud.* 38/39: 157-174.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J.** 1979. *Biometria: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica.* H. Blume Ediciones, Rosario, Madrid, 832p.
- Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartneraporn, N., Liu, Y & Day, J.G.** 2002. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577-1595.
- Thomasson, K.** 1971. Amazonian algae. *Mem. Inst. R. Sci. Nat. Belg. Série 10*, Bruxelles, 86: 1-57.

- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O.F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. & Huisman, J.** 2005. The Microcystin composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5177-5181.
- Tucci, A., Sant'Anna, C.L., Gentil, R.C. & Azevedo, M.T.P.** 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea* 33(2): 147-175.
- Uherkovich, G. & Schmidt, G.W.** 1974. Phytoplankton Taxa in dem zentralamazonischen Schwemmlandsee Lago do Castanho. *Amazoniana* 5: 243-283.
- Utkilen, H.C., Oliver, R.L. & Walsby, A.E.** 1985. Buoyancy regulation in a red *Oscillatoria* unable to collapse gas vacuoles by turgor pressure. *Arch. Hydrobiol.* 102: 319-329.
- Vieira, J.M.S.** 2002. Toxicidade de cianobactérias e concentração de microcistinas em uma represa de abastecimento público da região Amazônica do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Villena, M. & Romo, S.** 2003. Temporal changes of cyanobacteria in the largest coastal Spanish Lake. *Algological Studies* 109: 593-608.
- Walsby, A.E.** 2005. Stratification by cyanobacteria in lakes: a dynamic buoyancy model indicates size limitation met by *Planktothrix rubescens* filaments. *New Phytologist* 168: 365-376.
- Walsby, A.E., Avery, A. & Schanz, F.** 1998. The critical pressures of gas vesicles in *Planktothrix rubescens* in relation to the depth of winter mixing in Lake Zürich, Switzerland. *Journal of Plankton Research* 20: 1357-1375.
- Walsby, A.E. & Klemer, A.R.** 1974. The role of gas vacuoles in the microstratification of a population of *Oscillatoria agardhii* var. *isothrix*. Deming Lake, Minnesota. *Archiv für Hydrobiologie* 74: 375-392.
- Walsby, A.E., Schanz, F.** 2002. Light-dependent growth rate determines changes in the population of *Planktothrix rubescens* over the annual cycle in Lake Zürich, Switzerland. *New Phytologist* 154: 671-687.
- Walsby, A.E., Utkilen, H.C. & Johnsen, I.J.** 1983. Bouyancy changes of a red colored *Oscillatoria agardhii* in Lake Gjersjøen, Norway. *Archiv für Hydrobiologie* 97: 18-38.
- Welker, M. & Christiansen, G.** 2004. Diversity of coexisting *Planktothrix* (Cyanobacteria) chemotypes deduced by mass spectral analysis of microcystins and other oligopeptides. *Archives of Microbiology* 182: 288-298.
- Werner, V.R.** 1988. Cianofíceas planctônicas da Lagoa de Tramandaí e da Lagoa do Armazém, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre (37): 33-70.

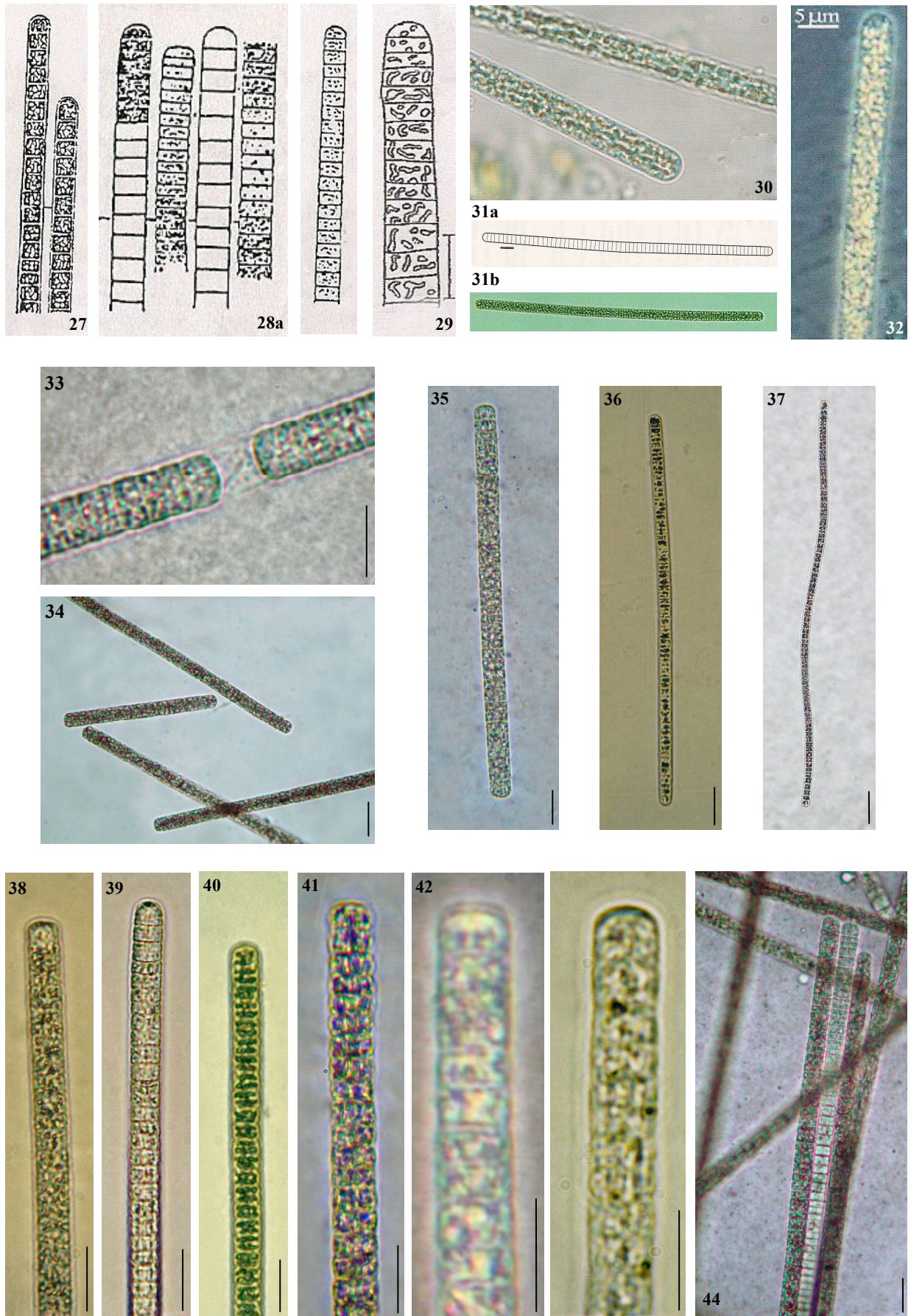
- Werner, V.R.** 2002. Cyanophyceae/Cyanobacteria no sistema de lagoas e lagunas da planície costeira do Estado do rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo.
- Werner, V.R. & Rosa, Z.M.** 1992. Cyanophyceae da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 52 (3): 481-502.
- Werner, V.R., Hohendorff, R. V., Neuhaus, E.B., Carvalho, L.R., Giacomini, C., Both, M.C., Rangel, M., Sant'Anna, C.L. & Nunes, M.L.** 2008. XII Congresso da Sociedade Brasileira de Ficologia, Brasília, Brasil.
- Zwart, G., Agterveld, M.P.K., Werff-Staverman, I.V.D, Hagen, F., Hoogveld, H.L. & Gons, H.J.** 2005. Molecular characterization of cyanobacterial diversity in shallow eutrophic lake. *Environmental Microbiology* 7(3): 365-377.

Figuras

Figuras 1-26. *Planktothrix agardhii*: 1. a – Komárek (1958), b – Komárek (1984), c - Geitler (1932), d – Kondrateva (1968), e – Wilousch (Geitler 1932); 2. Conforme Cromberg & Annadotter (2006); 3 e 4. McGregor (2007); 5. Sant’Anna *et al.* (2007); 6. Sant’Anna *et al.* (1995); 7. Tucci *et al.* (2006); 8-13. Material tipo (Gomont 1892); 14-26. Variação morfológica registrada. Escalas: Figs. 3, 6-12, 14-18, 20, 24-26 (10 µm); Figs. 13, 19, 21-23 (5 µm).



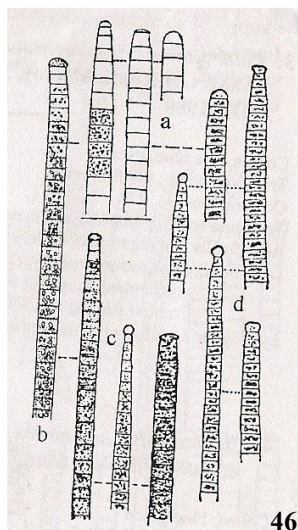
Figuras 27 – 44. *Planktothrix isothrix*: 27. Material original (Skuja 1948); 28. a - Komárek (1984), b - Kützing (Starmach 1966); 29. Compère (1974); 30. Cromberg & Annadotter (2006); 31. a, b - McGregor (2007); 32. Sant'Anna *et al.* (2007); 33 e 34. Formação de hormogônio; 35-37. Aspecto geral do tricoma; 38-44. Variação da célula apical; 40-43. Tricomas levemente constrictos. Escalas: Figs. 29, 31a, 33, 35, 38-44 (10 µm); Figs. 34, 36 e 37 (20 µm).



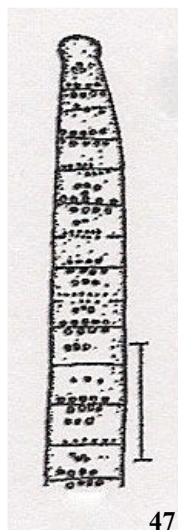
Figuras 45 – 61. *Planktothrix rubescens*: 45. Material original (DeCandole ex Gomont 1892); 46. a – Komárek (1988), b – Prescott (1962), c – Starmach (1966), Thomas (1976); 47. Compère (1974); 48. Aspecto geral (Vareli *et al.* 2009); 49. Franceschini (1983); 50. Werner & Rosa (1992); 51. Bicudo & Ventrice (1968); 52. Senna (1982); 53 – 61. Variação morfológica registrada. Escalas: 47, 49, 50, 53 – 61 (10 µm).



45



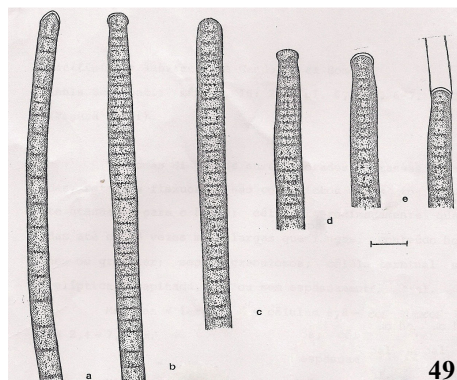
46



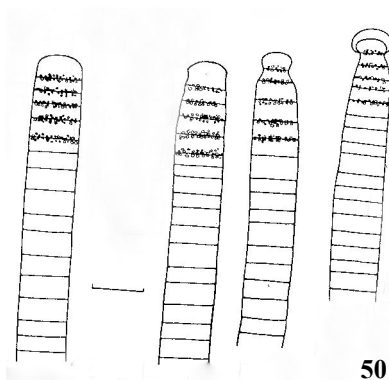
47



48



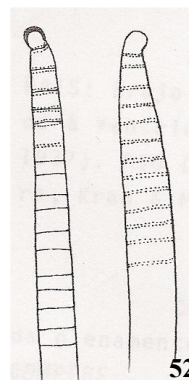
49



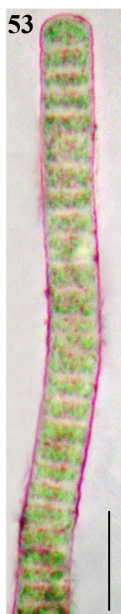
50



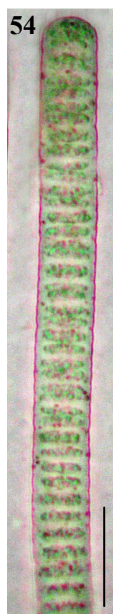
51



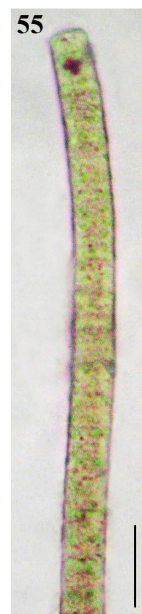
52



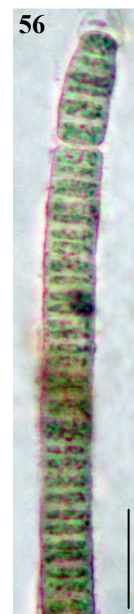
53



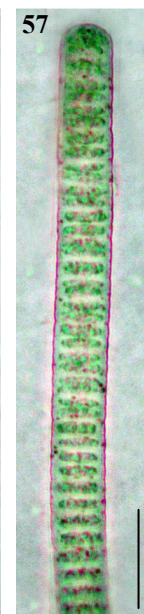
54



55



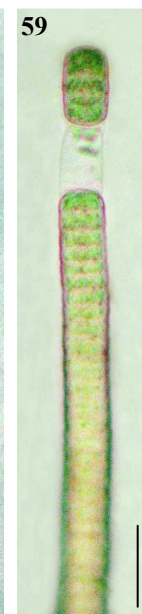
56



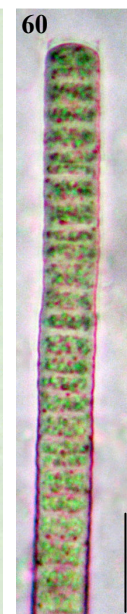
57



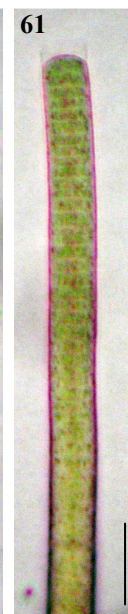
58



59

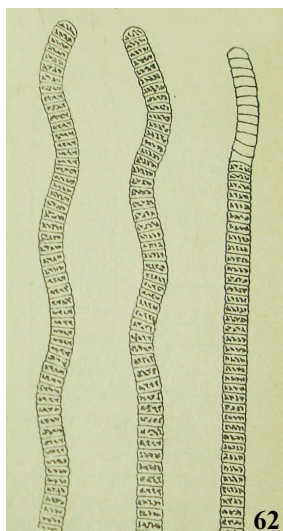


60

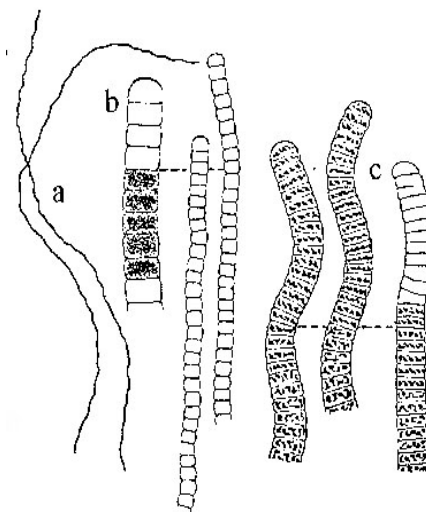


61

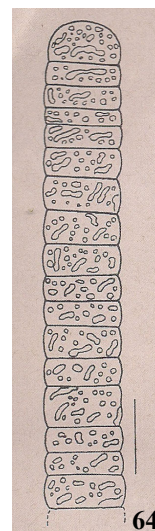
Figuras 62 – 73. *Planktothrix planctonica*: 62. Material original (Elenkin 1949); 63. a, b – Compère *et al.* (1979), c – Elenkin (Kondrateva 1968); 64. Werner (2002); 65 – 73. Variação morfológica registrada. Escalas: Figs. 64 – 69, 72 e 73 (10 µm); Figs. 70 e 71 (20 µm).



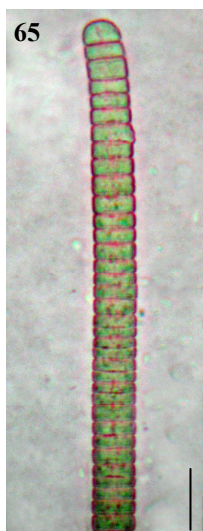
62



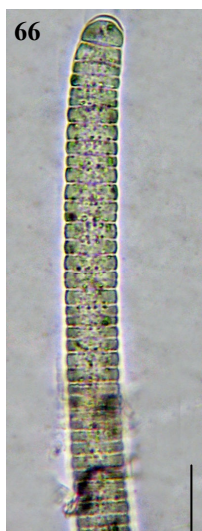
63



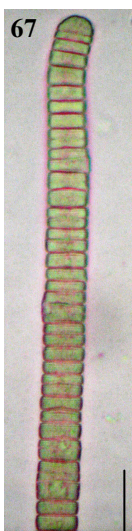
64



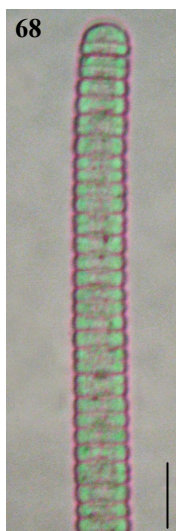
65



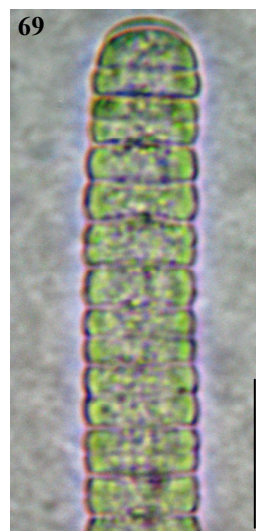
66



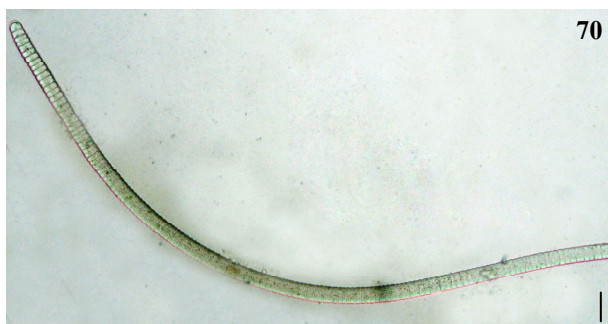
67



68



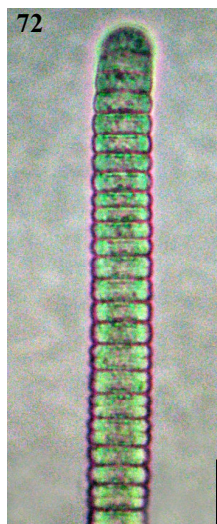
69



70



71

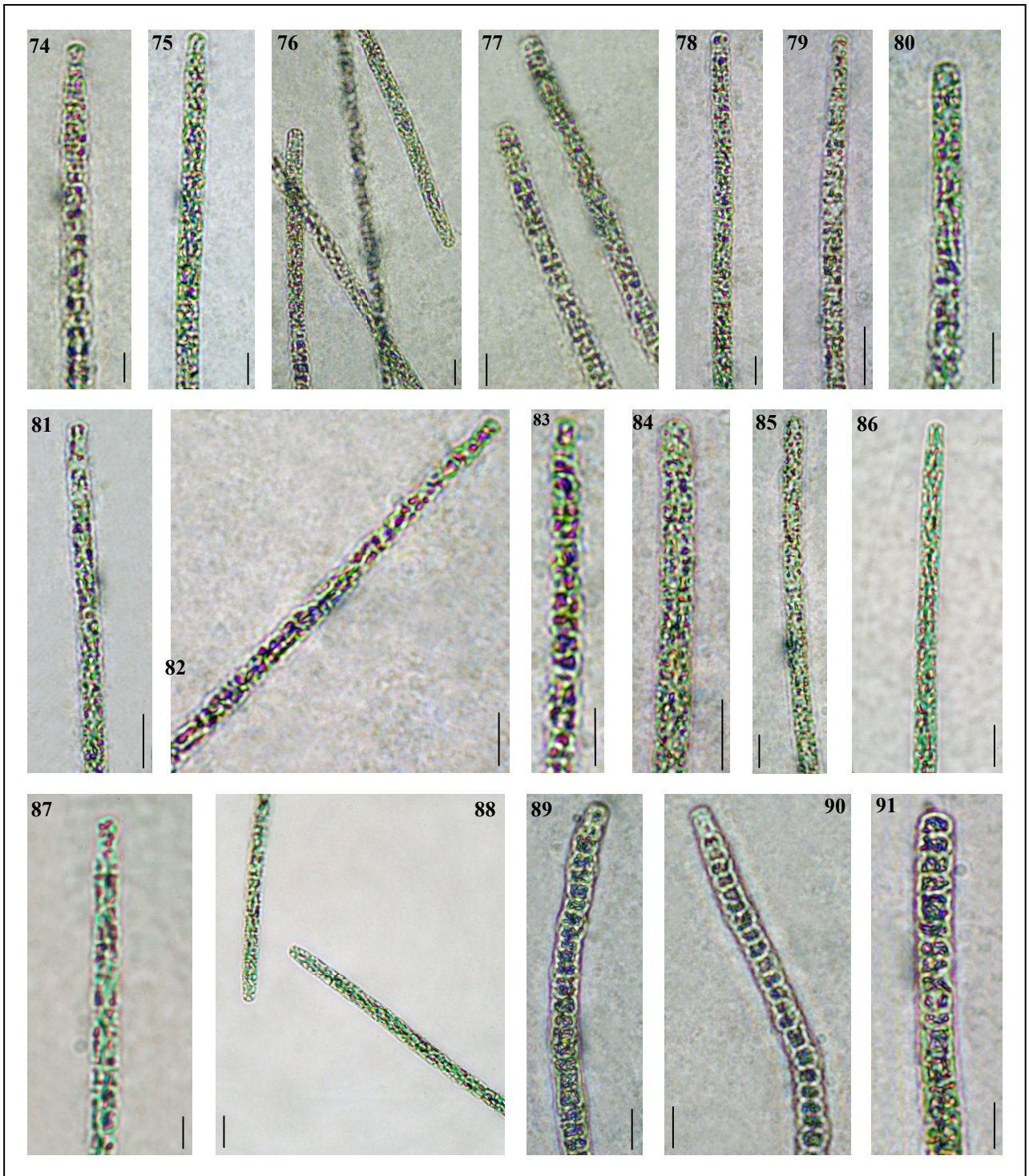


72



73

Figuras 74 – 91. Aspecto geral dos tricomas: 74 – 76. (SPC205); 77 – 79. (SPC370); 80 e 81. (SPC383); 82 e 83. (SPC609); 84. (SPC621); 85. (SPC690); 86 – 88. (BBO13); 89 – 91. (SPC788). Escalas: Figs. 74 – 78, 85, 87 (5 μm); Figs. 79 – 81, 83, 84, 86, 88 – 91 (10 μm).



Capítulo 2

Caracterização molecular de linhagens brasileiras de cianobactérias do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales)¹

Silva, D.^{1,2} & Sant'Anna, C.L.²

¹Parte da Tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica.

²Seção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, 01061 - 970 São Paulo, SP, Brasil.

Resumo - Caracterização molecular de linhagens brasileiras de cianobactérias do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales). A taxonomia do gênero *Planktothrix* ainda é problemática e bastante difícil, principalmente devido à grande variabilidade morfológica e imprecisão taxonômica, o que evidencia a importância das investigações filogenéticas na distinção do grupo e suas espécies. É praticamente inexistente trabalhos dedicados a identificação, classificação e análise filogenética do grupo para a região tropical, sendo que a maioria dos trabalhos concentram-se em espécies isoladas a partir de ambientes de água doce da região temperada. Assim, o presente trabalho tem como objetivo realizar a identificação das cepas selecionadas com base no sequenciamento do gene RNAr 16S. Por meio da análise das seqüências geradas no presente estudo, verificou-se que *Planktothrix* caracteriza-se como um grupo monofilético estritamente delimitado. As linhagens que apresentavam características morfológicas híbridas entre os gêneros *Planktothrix* e *Phormidium* agruparam-se filogeneticamente à *Phormidium*. Verificou-se, portanto, que as seqüências do gene codificador para a subunidade menor do RNA ribossômico (RNAr 16S) mostraram-se adequadas para o estudo das linhagens de *Planktothrix*, uma vez que, de modo geral, foram congruentes com marcadores morfológicos na circunscrição genérica. Entretanto, em nível específico o gene nem sempre reflete as observações morfológicas.

Palavras-Chave: *Planktothrix*, taxonomia, filogenia, RNAr 16S

Abstract - Molecular characterization of Brazilian strains of *Planktothrix* genus Anagnostidis & Komárek 1988 (Oscillatoriales). The taxonomy of the genus *Planktothrix* is still problematic and difficult, especially because of the great morphological variability and taxonomic imprecision, which highlights the importance of research in the phylogenetic distinction of the group and its species. It is practically non-existent work dedicated to the identification, classification and phylogenetic analysis of the group to tropical region, with most studies focus on species isolated from freshwater environments of temperate region. The present work aims at identification of selected strains based on sequencing of 16S rRNA gene. Through analysis of the sequences generated in this study, it was found that *Planktothrix* characterized as a monophyletic group strictly limited. It was, therefore, that the sequences of the gene coding for the small subunit ribosomal RNA (16S rRNA) were suitable for the study *Planktothrix* strains, in general, were consistent with morphological markers in distinct generic. However, to the species the gene does not always reflect the morphological observations.

Keywords: *Planktothrix*, taxonomy, phylogeny, 16S rRNA

Introdução

Atualmente um dos sistemas de classificação de cianobactérias mais utilizados e aceitos (Hoffmann *et al.* 2005) segue os preceitos da taxonomia polifásica, o que já foi discutido e sugerido por diversos autores (Vandamme *et al.* 1996, Castenholz 2001, Gillis *et al.* 2001, Komárek & Kaštovský 2003, Suda *et al.* 2002, Komárek 2003, 2006). O objetivo deste sistema de classificação é promover a caracterização dos organismos agregando o maior número de informações possíveis, quais sejam caracteres fenotípicos (morfologia, fisiologia, ecologia, ultraestrutura) e genotípicos (hibridização DNA-DNA, seqüenciamento gênico, composição GC) (Castenholz & Waterbury 1989, Gillis *et al.* 2001, Hoffmann *et al.* 2005, Komárek 2006). Komárek (2006) e Rajaniemi (2006) ressaltam ainda a importância de haver congruência entre todos os caracteres.

De acordo com Wayne *et al.* (1987) e Gevers *et al.* (2005), na microbiologia estabeleceu-se que pertencem à mesma espécie àquelas populações que apresentam identidade superior a 97,5% entre diferentes seqüências, apresentando dessa forma boa correlação com o valor de 70% ou mais de reassociação DNA-DNA (DDH) e T_m (temperatura de anelamento) $<5^\circ\text{C}$. Segundo Vandamme *et al.* (1996), similaridade acima de 97% entre as seqüências do gene RNAr 16S indica que as linhagens pertencem a uma mesma espécie. As definições citadas são ainda controversas entre alguns pesquisadores (Ward 1998, Komárek 2003, Castenholz e Norris 2005). Neste sentido, foi sugerido recentemente por Achtman & Wagner (2008) a adoção do conceito abstrato de espécies, definidas por linhagens metapopulacionais, com critério evolutivo livre de especiação e metodologias direcionadas ao organismo alvo (DDH e 16S). Porém, as técnicas para aplicação do conceito de metapopulação ainda não estão totalmente consolidadas, assim, Achtman & Wagner (2008) recomendam continuar utilizando as técnicas disponíveis, até que os estudos de genética de população sejam aprofundados.

O gene *rrs*, codificador da subunidade menor (16S) do RNA ribossômico é considerado o marcador filogenético mais comumente usado hoje em dia na análise das relações filogenéticas entre procariotos, principalmente para culturas isoladas. No entanto, outras seqüências gênicas, tais como do *rpoC1*, *nifH*, *cpcBA*-IGS, ITS também têm sido utilizadas para tal finalidade visando refinar informações sobre a relação evolutiva desses organismos (Bergsland & Haselkorn 1991, Neilan *et al.* 1995, Palenik 1994, Zehr *et al.* 1997, Zwart *et al.* 2005, Rohrlack *et al.* 2007). A tabela 1 apresenta os principais métodos aplicados nas inferências evolutivas e classificação das cianobactérias.

Assim, o gene RNAr 16S é também recomendado como sendo um parâmetro chave para a taxonomia (Stackebrandt e Goebel 1994, Strackebrandt *et al.* 2002). As principais características que o tornam apropriado à reconstrução filogenética são: distribuição universal entre procariotos, constância funcional, consistência com a filogenia dos genomas, combinação de regiões conservadas com regiões variáveis, número adequado de unidades informativas passíveis de comparação (cerca de 1500 nucleotídeos) e diferenciação de família até subespécie (Woese 1987, Ludwig & Klenk 2001, Litvaitis 2002, Konstantinidis & Tiedje 2005). Por sua vez, sabe-se que o gene RNAr 16S está sujeito tanto à transferência lateral (Delwiche & Palmer 1995, Urbach 1998, Wang & Zhang 2000, Komárek 2006) quanto a variação intragenômica (Acinas *et al.* 2004). Porém, para muitos autores o impacto da transferência lateral sobre a filogenia é limitado, pois o gene RNAr 16S é recalcitrante a transferência lateral na natureza (Philippe e Douady 2003, Woese 2004, Coenye *et al.* 2005).

Honda (2009) salienta que outros genes constitutivos (por exemplo: *cpcBA*, *gyrB*, *rbcLX*, *tufA*, *rpoB*) também são recomendados e utilizados para filogenia, pois são também conservados e pouco sujeitos a transferência lateral, inserção/deleção ou recombinação. Fox *et al.* (1992) sugerem que genes demasiadamente conservados não são os mais recomendados para as distinções em nível específico e infra-específico, assim, marcadores mais variáveis, como o espaço intergênico transcrito das subunidades do RNA ribossômico 16S-23S (ITS1), muitas vezes têm se mostrado mais apropriados (Gugger *et al.* 2005).

O grupo das cianobactérias filamentosas está distribuído em ecossistemas terrestres e de água doce de todo mundo, sendo que o gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek é um dos mais importantes considerando sua capacidade de formação de florações e produção de toxinas e geosmina, abundância e dominância (Sivonen & Jones 1999, Pomati *et al.* 2000, Prati *et al.* 2002, Suda *et al.* 2002, Komárek & Komárková 2004, Welker & Christiansen 2004, Cox *et al.* 2005, Tonk *et al.* 2005, Schober & Kurmayer 2006, Jüttner & Watson 2007).

Anagnostidis & Komárek (1988) incluíram as espécies de *Oscillatoria* que apresentavam características diacríticas divergentes ao grupo, como por exemplo presença de aerótopos, em um novo gênero, *Planktothrix* (Komárek & Komárková 2004, Welker & Christiansen 2004), que apresenta como espécie tipo *Planktothrix agardhii* Anagnostidis & Komárek 1988, conhecida originalmente como *Oscillatoria agardhii* Gomont 1892.

Assim, o gênero *Planktothrix* foi separado de *Oscillatoria* considerando as diferenças ultraestruturais, a estratégia de vida e a morfologia, o que foi comprovado também pela biologia molecular por meio do sequenciamento do gene RNAr 16S (Rippka & Herdman 1992, Castenholz 2001, Suda *et al.* 2002).

De acordo com Suda *et al.* (2002) e Komárek & Komárková (2004), o gênero *Planktothrix* representa um grupo único estreitamente delimitado e bem distinto a partir de características morfológicas tradicionais e moleculares e é considerado como um grupo de origem monofilética (Lyra *et al.* 2001).

Cerca de treze espécies de *Planktothrix* são conhecidas, muitas delas formadoras de florações (Komárek 2003, Kurmayer *et al.* 2004). A taxonomia do gênero *Planktothrix* ainda é problemática e bastante difícil, principalmente devido à grande variabilidade morfológica e imprecisão taxonômica, o que evidencia a importância das investigações filogenéticas na distinção do grupo e suas espécies (Komárek 2003, Komárek & Komárková 2004).

No que diz respeito à caracterização morfológica dos representantes do gênero *Planktothrix*, poucos são os trabalhos de cunho genético dedicados ao auxílio taxonômico. Na tabela 2 podemos observar os principais trabalhos realizados para o gênero *Planktothrix* com a finalidade de realizar análises filogenéticas auxiliando a classificação do gênero e suas espécies a partir do sequenciamento do gene *rrs*, codificador da subunidade menor (16S) do RNA ribossômico.

Sabe-se que os ambientes de água doce do Brasil, principalmente aqueles que sofrem grande aporte de nutrientes, são bastante propícios ao desenvolvimento das espécies de *Planktothrix*. Entretanto, é praticamente inexistente trabalhos dedicados a identificação, classificação e análise filogenética do grupo para a região tropical, sendo que a maioria dos trabalhos concentram-se em espécies isoladas a partir de ambientes de água doce da região temperada. Assim, o presente trabalho tem como objetivo realizar a identificação das cepas selecionadas com base no sequenciamento do gene RNAr 16S.

Tabela 1. Métodos moleculares mais utilizados na classificação de cianobactérias (Silva 2006).

Método	Princípio do método	Diferenciação	Referência
Hibridização DNA-DNA	DNA genômico purificado é hibridizado com DNA marcado da linhagem tipo e a eficiência da hibridização é comparada com os resultados da hibridização de DNA idêntico. Ou a taxa de renaturação é opticamente determinada sem marcação	De gênero ao nível de subespécie	Lachance 1981, Wilmotte & Stam 1984, Stam & Stulp 1988, Kondo <i>et al.</i> 2000
RFLP (Poliformismo de tamanho de fragmentos de restrição)	DNA genômico digerido com enzimas de restrição é usado para produzir fragmentos de comprimentos diferentes, os quais são separados em gel de agarose. Enzimas raras ou hibridização com sondas marcadas são usadas para diminuir o grande número de fragmentos. Os padrões dos fragmentos obtidos podem ser comparados numericamente	De espécie ao nível de linhagem	Asayama <i>et al.</i> 1996, Mazel 1990, Lehtimäki <i>et al.</i> 2000
Amplificação de DNA *(AFLP, ARDRA, REP-PCR, RAPD)	Amplificação de DNA por PCR produz fragmentos que formam um padrão diretamente ou combinado com digestão com enzimas de restrição	De espécie ao nível de linhagem	Neilan <i>et al.</i> 1995, Lyra <i>et al.</i> 1997, 2001, Satish <i>et al.</i> 2001
Sequenciamento do gene RNAr 16S	PCR e seqüenciamento	De família ao nível de subespécie	Giovannoni <i>et al.</i> 1988, Lehtimäki <i>et al.</i> 2000, Gugger <i>et al.</i> 2002, Fiore <i>et al.</i> 2005
Seqüenciamento de outros genes: <i>rbcLX</i> , <i>rpoC1</i> , <i>rpoB</i>	PCR e seqüenciamento	De família ao nível de linhagem	Toledo & Palenik 1997, Gugger <i>et al.</i> 2002
Seqüenciamento da região ITS (espaço interno transcrito entre o DNAr 16S e o DNAr 23S)	PCR, separação ou clonagem dos produtos e seqüenciamento	De família ao nível de linhagem	Laamanen <i>et al.</i> 2001, Gugger <i>et al.</i> 2002
Seqüenciamento da região <i>cpcBA</i> -IGS espaço integênico do operon da ficocianina	PCR e seqüenciamento	De família ao nível de linhagem	Neilan <i>et al.</i> 1995, Laamanen <i>et al.</i> 2001, Tillet <i>et al.</i> 2001

*AFLP = polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados; ADRA = análise de restrição de DNA ribossômico amplificado; REP-PCR = seqüências repetitivas extragênicas palindrômicas; RAPD = DNA polimórfico amplificado ao acaso.

Tabela 2. Trabalhos sobre *Planktothrix* que têm como base as seqüências de RNAr 16S.

Referência	Título	Resultados
Nelissen <i>et al.</i> (1996)	Phylogenetic Relationships of Nonaxenic Filamentous Cyanobacterial Strains Based on 16S rRNA Sequence Analysis	Inferência filogenética a partir do seqüenciamento parcial ou total do gene RNAr 16S, mostrou que <i>Planktothrix</i> forma um cluster separado do gênero <i>Oscillatoria</i> .
Rudi <i>et al.</i> (1997)	Strain Characterization and Classification of Oxyphotobacteria in Clone Cultures on the Basis of 16S rRNA Sequences from Variable Regions V6, V7, and V8	As linhagens de <i>Planktothrix</i> formaram um cluster homogêneo, com alta similaridade. Sugestão de origem monofilética para <i>Nostoc</i> , <i>Planktothrix</i> e <i>Microcystis</i>
Pomati <i>et al.</i> (2000)	The freshwater cyanobacterium <i>Planktothrix</i> sp. FP1: Molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins (seqüenciamento do 16S RNAr)	Alta similaridade da seqüência obtida com as seqüências de <i>Planktothrix</i> depositadas no <i>GenBank</i> ; confirmação da produção de saxitoxina pela cepa isolada, através de cromatografia líquida de alta performance (HPLC)
Rudi <i>et al.</i> (2000)	Application of Sequence-Specific Labeled 16S rRNA Gene Oligonucleotide Probes for Genetic Profiling of Cyanobacterial Abundance and Diversity by Array Hybridization	Alta similaridade das seqüências produzidas com as seqüências de <i>Planktothrix</i> depositadas no <i>GenBank</i>
Lyra <i>et al.</i> (2001)	Molecular characterization of planktic cyanobacteria of <i>Anabaena</i> , <i>Microcystis</i> and <i>Planktothrix</i> genera (RFLP e seqüenciamento do 16S RNAr)	As linhagens de <i>Planktothrix</i> isoladas formaram um cluster homogêneo, com alta similaridade, distante das cianobactérias heterocitadas e próximas as cocóides

Tabela 2. Trabalhos sobre *Planktothrix* que têm como base as seqüências de RNAr 16S

cont.

Referência	Título	Resultados
Suda <i>et al.</i> (2002)	Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoriod cyanobacteria (seqüenciamento do 16S RNAr)	Proposição de emenda taxonômica para <i>P. agardhii</i> , <i>P. rubescens</i> e <i>P. mougetii</i> e proposição de uma nova espécie: <i>P. pseudagardhii</i>
Seou & Yokota (2003)	The phylogenetic relationships of cyanobacteria inferred from 16S RNAr, <i>gyrB</i> , <i>rpoC1</i> and <i>rpoD1</i> gene sequences	A utilização de um conjunto de genes como marcadores moleculares auxilia de forma contundente na inferência filogenética das cianobactérias, inclusive <i>Planktothrix</i> , além de esclarecer a taxonomia
Rudi <i>et al.</i> (2005)	16S rDNA Analyses of the Cyanobacterial Microbiota through the water-column in a Boreal Lake with a Metalimnic <i>Planktothrix</i> Population	Utilização do seqüenciamento do gene DNAr 16S na identificação das populações de <i>Planktothrix</i> ao longo da coluna d'água
Kim <i>et al.</i> (2006)	Determination of Cyanobacterial Diversity during Algal Blooms in Daechung Reservoir, Korea, on the Basis of <i>cpcBA</i> Intergenic Spacer Region Analysis (amplificação dos genes <i>cpcBA</i> IGS, e 16S RNAr por DGGE)	As técnicas moleculares foram aplicadas a amostras ambientais; o cluster de <i>Planktothrix</i> mostrou alta similaridade com as seqüências selecionadas do <i>GenBank</i> , auxiliando a identificação taxonômica do material
Conradie <i>et al</i> (2008)	Re-identification of “ <i>Oscillatoria simplicissima</i> ” isolated from the Vaal River, South Africa, as <i>Planktothrix pseudagardhii</i>	Revisão das características morfológicas e genéticas da linhagem <i>O. simplicissima</i> e sugestão de nova identificação como <i>P. pseudagardhii</i>

Tabela 2. Trabalhos sobre *Planktothrix* que têm como base as seqüências de RNAr 16S

cont.

Referência	Título	Resultados
Lin <i>et al.</i> (2009)	Genetic diversity and molecular phylogeny of <i>Planktothrix</i> (Oscillatoriales, cyanobacteria) strains from China (seqüenciamento dos genes 16S RNAr, rbcLX, rpoC1)	As linhagens de <i>Planktothrix</i> foram morfológicamente classificadas em dois subgrupos: <i>P. agardhii</i> e <i>P. rubescens</i> . Já a análise filogenética, diferenciou três espécies: <i>P. agardhii</i> , <i>P. pseudagardhii</i> e <i>P. mougeotii</i>
Paulino <i>et al.</i> (2009)	Detection of <i>Planktothrix rubescens</i> (Cyanobacteria) associated with microcystin production in a freshwater reservoir	Identificação, por critérios morfológicos e genéticos da cianobactéria produtora de microcistina, como <i>P. rubescens</i>

Material e Métodos

Cultura de Cianobactérias – A tabela 3 apresenta as dez linhagens estudadas. Nove destas linhagens pertencem à Coleção de Cultura de Algas e Cianobactérias (SPC) da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica de São Paulo e uma é proveniente da Coleção de Culturas de Algas (BBO) da Universidade Federal de São Carlos.

Isolamento do Material Estudado - Para o isolamento, colocou-se 1 mL da amostra bruta em placas de Petri com meio sólido BG-11 (Rippka *et al.* 1979), utilizando-se cicloheximida que é antibiótico usado para inibir o crescimento de organismos eucariontes e facilitar o isolamento das cianobactérias. As placas foram colocadas em sala com luz e temperatura controladas: temperatura 23 ± 2 °C, irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo 14-10h claro-escuro (Azevedo & Sant’Anna 2003). Após 3-4 semanas foi possível visualizar o crescimento de diferentes massas de cianobactérias e o isolamento e as repicagens foram feitos sempre em câmara de fluxo laminar a partir de um filamento, até se conseguir as culturas uniespecíficas que são, deste modo, mantidas em 3 repetições em tubos de ensaio, contendo meio de cultura BG-11 (tabela 4) e repicadas a cada 30 dias.

Todas as cepas estudadas foram mantidas em meio BG-11 (tabela 4), em sala com condições controladas: temperatura 23 ± 2 °C, irradiância 40 - 50 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo 14 - 10h claro-escuro (Azevedo & Sant’Anna 2003).

Tabela 3. Cepas estudadas de *Planktothrix* e mantidas na Coleção de Cultura de Cianobactérias do Instituto de Botânica.

Táxon	Linhagem	Origem Geográfica	Ano de isolamento
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC205	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC370	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC383	Lago das Garças, São Paulo, SP	1997
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC609	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC621	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC690	Lago das Garças, São Paulo, SP	1999
<i>Planktothrix isothrix</i>	SPC788	Lago do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, SP	2000
<i>Planktothrix tropicalis</i>	BB013	Reservatório Barra Bonita, São Carlos, SP	2000
<i>Planktothrix/Phormidium</i>	SPC1041	Lagoa Salina da Reserva, Mato Grosso do Sul, MS	2008
<i>Planktothrix/Phormidium</i>	SPC1042	Aquário doméstico, São Paulo, SP	2008

Tabela 4. Meio de Cultura BG-11, conforme Rippka *et al.* (1979).

Macronutrientes (mM) - Soluções estoque	Quantidade (g/L)
NaNO ₃	150,0
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	4,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5
CaCl ₂ .2H ₂ O	3,6
EDTA	0,1
Na ₂ CO ₃	2,0
Citrato férrico amoniacal	0,6
Ácido cítrico	0,6
Solução de metais traço	(*)

(*) A composição dos metais traços compreende:

Micronutrientes (µM) – Soluções estoque	Quantidade (g/L)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222
CO(NO ₃ O) ₂ .6H ₂ O	0,0494
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,790
Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,39

Estas soluções foram diluídas em 1 L de água bideionizada e armazenadas no freezer

Para preparar 1 L de meio de cultura BG-11 é preciso:

- 10 mL da solução de EDTA
- 10 mL da solução de citrato férrico amoniacal
- 1 mL da solução de metais traços
- 10 mL da solução de NaNO₃
- 10 mL da solução de K₂HPO₄.3H₂O
- 10 mL da solução de MgSO₄.7H₂O
- 10 mL da solução de CaCl₂.2H₂O
- 10 mL da solução de Na₂CO₃
- 1 mL da solução de Ácido cítrico

pH do meio de cultura: 7,4

Análise Fenotípica

Identificação Taxonômica - As análises morfométricas das linhagens selecionadas foram feitas ao microscópio binocular Zeiss Axioskop-2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com contraste de fase, ocular micrometrada, câmara clara e câmara digital Sony acoplada. Utilizou-se também o programa Carl Zeiss AxioVision Rel. 4.6.3, para aferições métricas a partir de fotografias digitais. Trinta indivíduos e 20-30 medidas de cada característica métrica de interesse taxonômico foram analisados. Todas as diferentes espécies foram descritas e ilustradas com desenhos e/ou fotografias.

A fim de evidenciar algumas características morfológicas importantes para caracterização dos táxons utilizou-se, quando necessário, nanquim e cloreto de zinco iodado, respectivamente, para evidenciar bainha mucilaginosa e septos.

O sistema de classificação adotado é o de Hoffmann *et al.* (2005). As espécies foram identificadas conforme Komárek & Anagnostidis (2005).

Análise Genotípica

Extração de DNA - A partir de culturas uniespecíficas, não axênicas, mantidas em meio líquido BG-11, sob condições controladas foi obtida a biomassa necessária para a extração de DNA total.

Dessa forma, uma suspensão de 3 mL de células na fase de crescimento exponencial de cada linhagem foi concentrada por centrifugação a 13000 rpm durante 10 minutos. Descartou-se o sobrenadante e as células precipitadas (“pelete”) foram novamente centrifugadas após serem lavadas com água ultra-pura. Em seguida foram submetidas ao método de extração de DNA genômico (Fiore *et al.* 2000). Para confirmar a efetividade da extração, 5 µL de cada produto da extração foi acrescido de tampão de carregamento (ficol 15%, azul de bromofenol 0,25%, xilenocianol 0,25%). A integridade do DNA extraído foi verificada em gel de agarose 1% contendo brometo de etídio (0,3 µg.mL⁻¹ de gel), após corrida eletroforética em tampão TBE 0,5 X (1 X TBE: Tris-borato 45 mM, EDTA 1 mM pH 8,0) e comparação com o padrão de tamanho de DNA do marcador molecular Lambda DNA/EcoR I + Hind III (Promega, Madison, WI, EUA). O gel foi documentado utilizando-se o programa “Multi Analyst” do “Flúor-Stm Multilmager” (BioRad, Hercules, CA, EUA) e o DNA extraído foi armazenado à temperatura de -20°C.

Amplificação do gene *rrs* que codifica para o RNAr 16S - A amplificação do gene que codifica para o RNAr 16S das cianobactérias isoladas foi obtida por PCR (equipamento Gene Amp PCR System 2400, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). As reações foram submetidas às condições de 95°C/3 min; 30 ciclos 94°C/10 seg, 50°C/20 seg, 72°C/1 min; extensão final a 72°C/7min. Foram empregados os seguintes conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores: 27F1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3') e 1494Rc (5'-TACGGCTACCTTGTTACGAC-3') (Neilan *et al.* 1997), confeccionados pela Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Para a reação de amplificação foi utilizada uma solução contendo: tampão para reação PCR 1X (Tris HCL 20mM pH 8,4; KCL 50mM); 0,2 mM de cada dNTP; 3 mM de MgCl₂; 1,5 U de Platinum[®] Taq DNA Polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA); 10 ng de DNA; 5 pmol. µL⁻¹ de cada iniciador; água ultrapura (Mili-Q, Millipore, Bedford, MA, EUA) esterelizada, para um volume final de 25 µL. Após a PCR, verificou-se o tamanho e quantificou-se os amplicons resultantes utilizando o padrão de tamanho e massa molecular de DNA “Low DNA Mass Ladder” (Invitrogen), em corrida eletroforética com tampão 0,5 X TBE (1 X TBE; Tris-borato 45 mM, EDTA 1mM, pH 8,0) em gel de agarose 1% , documentado pelo programa “Multi Analyst” do “Fluor-Stm Multilmager” (BioRad).

Clonagem - As sequências de RNAr 16S produzidas na PCR foram clonadas utilizando-se o kit de clonagem “pGEM[®]-T and pGEM[®]- T Easy Vector Systems” (Promega). O vetor utilizado foi o pGEM[®]- T de 3015 pb, o qual vem linearizado com *EcoR* V e com adição de timidina na posição 3' terminal em ambos os lados, característica que promove maior eficiência de ligação. Esse vetor contém sítios para resistência à ampicilina, um sítio para múltipla clonagem e um fragmento do *LacZ*. A clonagem foi realizada de acordo com as instruções do fabricante.

Transformação - A introdução do vetor contendo inserto nas células competentes de *Escherichia coli* DH5α foi efetuada através de choque térmico (Sambrook *et al.* 1989). Aliquotas de 10µL do produto de ligação foram adicionadas a 50 µL de suspensão de células competentes de *E. coli* DH5α em microtubo esterilizado, o qual foi incubado no gelo durante 30 minutos. O microtubo foi então transferido imediatamente para banho-maria a 42°C, onde foi mantido por 30 segundos, sem agitação, e de onde foi retirado e incubado em gelo por 2 minutos. Em seguida, adicionou-se ao conteúdo do microtubo, 250 µL de meio SOC (Sambrook *et al.* 1989) a temperatura ambiente e a nova mistura foi incubada a 37°C, durante uma hora, sob agitação de 200rpm. A suspensão de células competentes transformadas foi plaqueada em meio LB sólido com ampicilina (USB Corporation, Cleveland, OH, EUA) e X-

Gal (Invitrogen), ambos em concentrações finais de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de meio de cultura, e as placas foram incubadas por 15 horas, a temperatura de 37°C .

PCR de colônias - Após o plaqueamento em meio de cultivo LB contendo ampicilina e X-Gal, 4 a 5 colônias brancas foram selecionadas e utilizadas para nova reação de PCR, visando confirmar a presença dos insertos de interesse. Uma pequena quantidade ($0,5 \mu\text{L}$) de células transformadas foi adicionada a $25 \mu\text{L}$ de reação de PCR (conforme descrito anteriormente), utilizando-se os seguintes oligonucleotídeos iniciadores: M13F ($5'$ -GCCAGGGTTTCCAGTCACGA- $3'$); M13R ($5'$ -GAGCGGATAACAATTTCACACAGG- $3'$). As condições de amplificação foram: $94^\circ\text{C}/5$ min; 25 ciclos de $95^\circ\text{C}/20\text{seg}$, $50^\circ\text{C}/15$ seg, $60^\circ\text{C}/1$ min. A verificação do tamanho dos amplicons foi feita por meio de corrida eletroforética em gel de agarose conforme descrito anteriormente.

Extração do DNA plasmidial - A extração de plasmídeos das células de *E. coli* DH5 α que continham os insertos foi feita pelo método de preparação de pequena escala de plasmídeo, usando-se hidrólise alcalina (Birnboim & Doly 1979). As colônias brancas com resultado positivo para o inserto na PCR foram transferidas para 6 mL de meio líquido LB contendo $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de ampicilina e cultivadas por 15 horas a 37°C , sob agitação de 200rpm. A seguir, 1,5 mL da cultura de células produzidas foram transferidos para microtubos e passaram por centrifugação a 10.000 rpm por 20 segundos. O mesmo procedimento foi repetido mais uma vez. O material precipitado foi ressuscitado em $100 \mu\text{L}$ da solução gelada (Tris-HCL 25mM, pH 8,0; EDTA 10 mM; glucose 50 mM). A essa mistura foram acrescentados $200 \mu\text{L}$ de solução II (NaOH 0,2 N, SDS 1%), o conteúdo foi misturado gentilmente por inversão dos microtubos. Após incubação em gelo por 5 minutos, foram adicionados $150 \mu\text{L}$ de solução III gelada (acetato de potássio 3 M; ácido fórmico 1,8 M). Procedeu-se nova inversão para misturar o conteúdo e os microtubos passaram por centrifugação a 10.000 rpm durante 7 minutos e o sobrenadante foi transferido para novos tubos, aos quais adicionou $270 \mu\text{L}$ de isopropanol a temperatura ambiente. A mistura foi agitada e centrifugada conforme descrito anteriormente.

Após a eliminação do sobrenadante, o precipitado foi lavado uma vez com $250 \mu\text{L}$ de etanol 70% gelado e centrifugado a 10.000 rpm por 2 minutos. Esse precipitado foi seco e ressuscitado em $30 \mu\text{L}$ de uma solução contendo Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 0,5 M; 10 mg RNase. mL^{-1} . Os microtubos foram incubados a 37°C por 30 minutos, em seguida centrifugados por 3 minutos para a remoção de materiais insolúveis e o sobrenadante

transferido para novo microtubo. Por fim, após corrida eletroforética em gel de agarose, para confirmação, os plasmídeos extraídos foram armazenados a -20°C até sua utilização na próxima etapa.

Seqüenciamento - Para o seqüenciamento dos fragmentos do gene de RNAr 16S inseridos nos plasmídeos, os insertos foram amplificados por PCR utilizando-se o kit “DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing” (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, EUA). Foram utilizados 4 conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores, um externo ao fragmento, MF13 e SP6 (correspondentes a regiões do plasmídeo), e três conjuntos internos, ou seja, 341-357F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') e 341-357R (5'-CTGCTGCCTCCCGTAGG-3'); 685-704F (5' -GTAASGGTGAAATSCGTAGA- 3') e 685-704R (5' -TCTACGSATTTACCCSCTAC- 31); 1099-1114F (5' -CAACGAGCGCAACCC- 3') e 1099-1114R (5' -GGGTTGCGCTCGTTGC- 3') (Lane 1991). Na reação de PCR utilizou-se 200 ng de plasmídeo, 5 pmol.μL⁻¹ de um dos iniciadores, 1 μL de “DYEnamic”, tampão 1X “Save Money” (Tris HCl 1M pH9,0, MgCl₂ 1M, H₂O ultrapura autoclavada) e água ultrapura para volume final de 10 μL. A reação de PCR de seqüenciamento foi submetida às seguintes condições: 25 ciclos 95°C/20 seg, 55°C/15 seg, 60°C/60 seg. Após a amplificação dos fragmentos, realizou-se a precipitação dos mesmos conforme manual de instruções do kit “DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing”. Os precipitados foram inseridos no seqüenciador capilar ABI PRISM® DNA Sequencing – Analysis Software” versão 3.7 (Applied Biosystems) e os dados gerados pelo seqüenciador foram coletados e processados.

Análise Filogenética

Processamento - Os fragmentos das seqüências resultantes foram montados com o auxílio do programa computacional Phred/Phrap/Consed (Ewing *et al.* 1998, Gordon *et al.* 1998), considerando-se apenas as bases com qualidade acima de 20. As seqüências obtidas foram comparadas com seqüências depositadas no “GenBank” (tabela 5) do “National Center for Biotechnology Information” (NCBI), utilizando-se a ferramenta “Basic Local Alignment Search Tool (Blast) (Altschul *et al.* 1990).

Para a construção da árvore filogenética, as seqüências de RNAr 16S obtidas neste estudo e outras selecionadas de bancos de dados públicos foram alinhadas, editadas e o método de distância evolutiva (“Neighbour-Joining”) foi aplicado por meio do programa MEGA 3.1 (Kumar *et al.* 2004), com análise de reamostragem para 1000 replicações

(bootstrap=1000) (Swofford *et al.* 1996). A linhagem *Escherichia coli* K12 (Acesso GenBank NC_000913), com 1452 pares de bases (pb) figurou como grupo externo.

Tabela 5. Sequências públicas de RNAr 16S depositadas no *GenBank* utilizadas na inferência filogenética das linhagens estudadas.

Táxon	Nº de acesso ao pb <i>GenBank</i>	Origem Geográfica	Referências
<i>Anabaena variabilis</i>	NC_007413	Genoma completo ATCC 29413	Copeland <i>et al.</i> 2005 (unpublished)
<i>Anabaena variabilis</i>	AB074502	1441 Japão	Seo & Yokota 2003
<i>Arthrospira maxima</i>	AF260509	1293 The Culture Collection of Algae (UTEX), Texas, USA	Li <i>et al.</i> 2001
<i>Arthrospira maxima</i>	AF260509	1293 The Culture Collection of Algae (UTEX), Texas, USA	Li <i>et al.</i> 2001
<i>Arthrospira</i> sp.	X70769	1959 Bélgica	Nellisen <i>et al.</i> 1994
<i>Geitlerinema</i> sp.	AB039010	1435 Pasteur Culture Collection (PCC), França	Ishida <i>et al.</i> 2001
<i>Geitlerinema</i> sp.	EF372580	1461 Caribe	Myers <i>et al.</i> 2007
<i>Leptolyngbya faveolarum</i>	X84808	1461 Culture Collection of Autotrophic Organisms (CCALA), Cuba	Nellisen <i>et al.</i> 1996
<i>Leptolyngbya frigida</i>	AY493574	1464 Antártica	Taton <i>et al.</i> 2006
<i>Leptolyngbya</i> sp.	EF088337	1414 Brasil	Furtado <i>et al.</i> 2009
<i>Limnothrix redekei</i>	AJ505943	1439 Finlândia	Gkelis <i>et al.</i> 2005
<i>Limnothrix redekei</i>	AJ505942	1438 Finlândia	Gkelis <i>et al.</i> 2005
<i>Limnothrix</i> sp.	EF088336	1410 Brasil	Furtado <i>et al.</i> 2009

Tabela 5. Sequências públicas de RNAr 16S depositadas no *GenBank* utilizadas na inferência filogenética das linhagens estudadas. *cont.*

Táxon	Nº de acesso ao <i>GenBank</i>	pb	Origem Geográfica	Referências
<i>Limnothrix</i> sp.	EF088336	1410	Brasil	Furtado <i>et al.</i> 2009
<i>Microcystis aeruginosa</i>	NC_010296	Genoma completo	Japão	Kaneko <i>et al.</i> 2007
<i>Microcystis aeruginosa</i>	AF139299	1421	Pasteur Culture (PCC), França	Collection Tillett <i>et al.</i> 2001
<i>Microcystis viridis</i>	D89033	1450	Japão	Kondo <i>et al.</i> 1998
<i>Nostoc</i> sp.	NC_003241	Sequência completa	Pasteur Culture (PCC), França	Collection Kaneko <i>et al.</i> 2001
<i>Oscillatoria acuminata</i>	AB039014	1434	Pasteur Culture (PCC), França	Collection Ishida <i>et al.</i> 2001
<i>Oscillatoria sancta</i>	AB039015	1433	Pasteur Culture (PCC), França	Collection Ishida <i>et al.</i> 2001
<i>Phormidium animale</i>	EF654087	1481	Alemanha	Siegesmund <i>et al.</i> 2008
<i>Phormidium autumnale</i>	AY218830	1379	Brasil	Fiore <i>et al.</i> 2005
<i>Phormidium tergestinum</i>	EF654083	1481	Alemanha	Siegesmund <i>et al.</i> 2008
<i>Phormidium uncinatum</i>	EF654086	1481	Alemanha	Siegesmund <i>et al.</i> 2008
<i>Planktothrix agardhii</i>	AJ133166	1448	Finlândia	Lyra <i>et al.</i> 2001
<i>Planktothrix agardhii</i>	AJ133185	1448	Finlândia	Lyra <i>et al.</i> 2001

Tabela 5. Sequências públicas de RNAr 16S depositadas no GenBank utilizadas na inferência filogenética das linhagens estudadas. *cont.*

Táxon	Nº de acesso ao pb GenBank	Origem Geográfica	Referências	
<i>Planktothrix agardhii</i>	AB045908	1373	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothrix agardhii</i>	AB074507	1445	Japão	Seo & Yokota 2003
<i>Planktothrix mougeotii</i>	AB045971	1360	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothrix mougeotii</i>	AB045969	1370	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothrix pseudagardhii</i>	AB045966	1355	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothrix pseudagardhii</i>	AB045922	1352	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothrix rubescens</i>	AJ132250	1443	Noruega	Beard <i>et al.</i> 1999
<i>Planktothrix rubescens</i>	AJ132251	1443	Noruega	Beard <i>et al.</i> 1999
<i>Planktothrix</i> sp.	X84811	1463	Noruega	Nelissen <i>et al.</i> 1996
<i>Planktothrix</i> sp.	AJ133169	1446	Finlândia	Lyra <i>et al.</i> 2001
<i>Planktothrix</i> sp.	AJ133165	1448	Finlândia	Lyra <i>et al.</i> 2001
<i>Planktothrix</i> sp.	AJ635435	1475	Itália	Castiglioni <i>et al.</i> 2004
<i>Planktothricoides raciborskii</i>	AB045960	1369	Japão	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Planktothricoides raciborskii</i>	AB045967	1363	Tailândia	Suda <i>et al.</i> 2002

Tabela 5. Sequências públicas de RNAr 16S depositadas no *GenBank* utilizadas na inferência filogenética das linhagens estudadas. *cont.*

Táxon	Nº de acesso ao <i>GenBank</i>	pb	Origem Geográfica	Referências
<i>Planktothricoides raciborskii</i>	AB045964	1364	Tailândia	Suda <i>et al.</i> 2002
<i>Pseudanabaena</i> sp.	AF132778	1407	Pasteur Culture (PCC), França	Turner <i>et al.</i> 1999
<i>Pseudanabaena</i> sp.	AF091108	1409	Pasteur Culture (PCC), França	Turner <i>et al.</i> 1999
<i>Synechococcus elongatus</i>	N_C006576	Genoma completo	Pasteur Culture (PCC), França	Sugita <i>et al.</i> 2007
<i>Escherichia coli</i>	N_C000913	Genoma completo		Riley <i>et al.</i> 2006

Resultados

Caracterização morfológica

O gênero *Planktothrix* pertence a Ordem Oscillatoriales, família Phormidiaceae, subfamília Phormidioideae e tem como espécie tipo *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek.

Planktothrix é caracterizado por tricomas solitários, livre-flutuantes, planctônicos, quase retos ou irregularmente ondulados ou curvos, isopolares, cilíndricos, constrictos ou não, curtos ou longos, 3,8-10 µm de largura, imóveis ou ocasionalmente com movimento delicado (tremulante, deslizante), levemente atenuado ou não em direção ao ápice. Bainha geralmente ausente, bainha inconspícua em material herborizado ou cultura sob condição de estresse. Células ligeiramente mais curtas do que largas ou até isodiamétricas, algumas vezes mais longas do que largas; aerótopos distribuídos pelo protoplasma, geralmente irregulares e rosados; células apicais, quando bem desenvolvidas, são arredondadas, cônicas, capitadas, atenuadas, sub-cilíndricas, algumas vezes com caliptra ou espessamento. Reprodução por desintegração/quebra do tricoma, formando hormogônios imóveis.

A seguir, são apresentadas as principais características morfométricas para cada uma das cepas estudadas (tabela 6).

Tabela 6. Resumo das características morfométricas das cepas estudadas de *Planktothrix*.

Táxon	Cepa	Tricomas: forma e largura média	Ápices	Constrições	Células intermediárias: forma e comprimento médio	Células apicais
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC205	Longos ou curtos, retos, parede celular espessada, às vezes irregular; 4,9 µm	Frequentemente atenuados, afilados	Ausente	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,8 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, capitadas; com parede espessada; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC370	Longos ou curtos, retos, parede celular às vezes espessada, às vezes irregular; 5,05 µm	Atenuados ou não	Ausente ou muito levemente constrito	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,62 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, capitadas; com parede espessada; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC383	Longos ou curtos, retos ou levemente curvos no ápice, parede celular às vezes espessada, irregular; 4,94 µm	Atenuados ou não	Ausente	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,42 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, capitadas; com parede espessada; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC609	Longos ou curtos, retos, parede celular às vezes espessada; 4,2 µm	Levemente atenuados ou não	Ausente	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,9 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, ocasionalmente capitadas; com parede espessada; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC 621	Longos ou curtos, retos, parede celular às vezes espessada; 5,7 µm	Levemente atenuados ou não	Ausente	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,6 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas; com parede espessada; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	SPC690	Longos ou curtos, retos ou levemente curvos; 4,7 µm	Não atenuado, ou ocasionalmente atenuado	Ausente	Mais largas que longas; com aerótopos; 2,6 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas; com aerótopos

Tabela 6. Resumo das características morfométricas das cepas estudadas de *Planktothrix* estudadas.

cont.

Táxon	Cepa	Tricomas: forma e largura média	Ápices	Constrições	Células intermediárias: forma e comprimento médio	Células apicais
<i>Planktothrix isothrix</i>	SPC788	Longos ou curtos, retos, parede celular espessada, às vezes irregular; 5,5 µm	Atenuados ou não	Constrito	Quadráticas, mais largas que longas; com aerótopos; 2,87 µm	Arredondadas, semi-esféricas, mais largas que longas, curtas; com aerótopos
<i>Planktothrix/Phormidium</i>	SPC1041	Retos ou ocasionalmente curvos, usualmente com bainha inconspícua; 5,0 µm	Atenuados ou não	Ausente ou muito levemente constrito	Quadráticas, isodiamétricas, mais largas que longas; com aerótopos; 2,44 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, capitadas; com aerótopos
<i>Planktothrix/Phormidium</i>	SPC1042	Retos ou ocasionalmente curvos, usualmente com bainha inconspícua; 5,5 µm	Atenuados ou não	Ausente ou muito levemente constrito	Quadráticas, isodiamétricas, mais largas que longas; com aerótopos; 2,5 µm	Arredondadas, alongadas, semi-cilíndricas, capitadas; com aerótopos
<i>Planktothrix agardhii</i>	BB013	Retos; 5,0 µm	Ligeiramente atenuados	Ausente ou muito levemente constrito	Mais largas que longas com aerótopos; 2,5 µm	Arredondadas sem espessamento; com aerótopos

A cepa BBO13 fornecida pela Coleção de Culturas de Algas da Universidade Federal de São Carlos, havia sido previamente identificada, como uma nova espécie de *Planktothrix* (*P. tropicalis*) por Dellamano-Oliveira (2006) e Dellamano-Oliveira *et al.* (2008), entretanto, ambos os trabalhos não apresentaram descrição detalhada para a espécie, mas apenas uma fotografia que não possibilitou a observação das características diacríticas. Procedeu-se então a uma nova observação do material que está depositado no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo e também de uma sub-amostra viva do material mantido em cultura na Coleção de Algas da Universidade Federal de São Carlos. Assim, o material examinado foi previamente re-identificado, com base em características morfométricas tradicionais, como *Planktothrix agardhii*, pois concorda plenamente com as descrições, medidas e ilustrações de Komárek & Anagnostidis (2005) e com a descrição original da espécie (Gomont 1892).

As cepas SPC1048 e 1052 indicadas na tabela 6 como *Planktothrix/Phormidium*, foram inicialmente identificadas como pertencentes ao gênero *Planktothrix*, principalmente devido a ocorrência de aerótopos nas duas cepas distintas geograficamente. A ocorrência de aerótopos nas células é considerada característica diacrítica, que separa *Planktothrix* de *Phormidium*, gênero mais próximo (Anagnostidis & Komárek 1988, Komárek & Anagnostidis 2005). Porém, ambas as cepas também apresentam características morfológicas que a classificariam dentro do gênero *Phormidium*, principalmente devido a ocorrência de bainha conspícua (ausente em *Planktothrix*) e uma ampla variedade de ápices bem mais raros ou incomuns à *Planktothrix*. Portanto, a definição morfológica dos gêneros *Planktothrix* e *Phormidium* deve ser avaliada quanto à estabilidade dos caracteres presença/ausência de aerótopos e bainha conspícua.

Caracterização molecular

Seqüências

As seqüências de RNAr 16S produzidas para as nove linhagens estudadas podem ser visualizadas no anexo 1, ressalta-se ainda, que todas as seqüências geradas no presente estudo são inéditas para o Brasil.

Conforme observado na tabela 3, ao todo seriam dez linhagens estudadas, porém, não foi possível obter o seqüenciamento do gene RNAr 16S, em número viável de pares de base (pb) para análise filogenética da cepa SPC621, mesmo após várias tentativas.

Alinhamento, BLAST e Identidade

As análises comparativas (BLAST) das seqüências do gene RNAr 16S (1410-1417) apresentaram tamanho final de 1317 posições, após alinhamento e remoção dos *gaps* iniciais e finais.

A tabela 7 apresenta a porcentagem de similaridade entre as seqüências de RNAr 16S das linhagens estudadas. De acordo com a literatura, identidade igual ou superior a 95% foi considerada como pertencente ao mesmo gênero (Ludwig *et al.* 1998), e identidade acima de 97,5% provavelmente se trata de uma mesma espécie (Stackebrandt & Goebel 1994, Vandamme *et al.* 1996).

Tabela 7. Porcentagem de similaridade entre as seqüências de RNAr 16S das linhagens estudadas (linhagens morfolologicamente semelhantes e pertencentes ao mesmo gênero em *itálico*; linhagens morfolologicamente semelhantes e pertencentes a gêneros diferentes em **negrito**).

	SPC205	SPC370	SPC383	SPC609	SPC690	BBO13	SPC788	SPC1048	SPC1050
SPC205	100								
SPC370	<i>99.79</i>	100							
SPC383	<i>99.86</i>	<i>99.65</i>	100						
SPC609	<i>99.79</i>	<i>99.72</i>	<i>99.65</i>	100					
SPC690	<i>99.86</i>	<i>99.72</i>	<i>99.65</i>	<i>99.65</i>	100				
BBO13	<i>99.37</i>	<i>99.22</i>	<i>99.16</i>	<i>99.23</i>	<i>99.23</i>	100			
SPC788	<i>96.40</i>	<i>96.25</i>	<i>96.19</i>	<i>96.19</i>	<i>96.33</i>	<i>96.19</i>	100		
SPC1048	86.93	87.11	87.85	86.79	86.93	86.43	88.27	100	
SPC1050	87.07	87.11	86.79	86.87	87.07	86.51	88.19	99.65	100

Tabela 8. Porcentagem de identidade entre as seqüências de RNAr 16S das linhagens de *Planktothrix* e *Phormidium* estudadas e seqüências representativas dos gêneros *Planktothrix*, *Phormidium* e *Planktothricoides* depositadas no GenBank. Em negrito, a porcentagem de identidade entre as linhagens seqüenciadas no presente estudo e a espécie mais próxima.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 <i>Phormidium tergestinum</i> CCALA 155	100,00																
2 SPC1050	99,86	100,00															
3 SPC1048	99,65	99,65	100,00														
4 <i>Phormidium autumnale</i> UTEX 1580	97,19	97,19	97,16	100,00													
5 <i>Phormidium uncinatum</i> SAG 81.79	91,31	91,64	91,25	90,31	100,00												
6 <i>Planktothricoides raciborskii</i> NIES-207	89,06	89,06	89,13	88,03	89,72	100,00											
7 SPC205	86,93	86,94	88,33	87,11	89,89	89,21	100,00										
8 SPC370	87,11	87,11	87,17	87,11	89,71	89,17	99,86	100,00									
9 SPC690	86,93	86,94	88,33	87,04	89,82	89,06	99,86	99,72	100,00								
10 SPC609	86,79	86,73	86,87	86,97	89,61	89,06	99,79	99,72	99,65	100,00							
11 SPC383	87,85	87,85	88,00	85,67	89,55	88,99	99,79	99,65	99,65	99,65	100,00						
12 BBO13	86,43	86,32	86,51	86,60	89,34	88,63	99,37	99,22	99,23	99,23	99,16	100,00					
13 <i>Planktothrix pseudagardhii</i> T19-6-8	88,28	88,28	88,20	87,17	89,39	89,39	97,87	97,86	97,72	97,72	97,65	97,50	100,00				
14 SPC788	88,27	88,27	88,19	87,27	89,47	87,53	96,40	96,25	96,33	96,19	96,19	96,19	96,69	100,00			
15 <i>Planktothrix mougeotii</i> TR1-5	87,29	87,29	88,53	87,43	89,27	88,68	96,77	96,76	96,70	96,63	96,55	96,41	96,69	98,61	100,00		
16 <i>Planktothrix rubescens</i> BC-Pla 9401	87,29	87,54	87,22	86,38	89,82	88,55	96,61	95,68	96,54	96,33	96,26	96,12	95,73	95,69	96,03	100,00	
17 <i>Planktothrix agardhii</i> NIVA-CYA 126	87,50	87,77	87,50	86,53	90,05	88,55	96,75	96,60	96,69	96,47	96,41	96,27	95,29	95,55	95,89	99,38	100,00

Caracterização filogenética

A figura 1 apresenta a árvore filogenética e suas relações, estabelecidas pelo método de *Neighbour Joining*, entre as seqüências estudadas e aquelas selecionadas a partir do GenBank (tabela 5). São apresentados os agrupamentos com valores de reamostragem superiores a 50%.

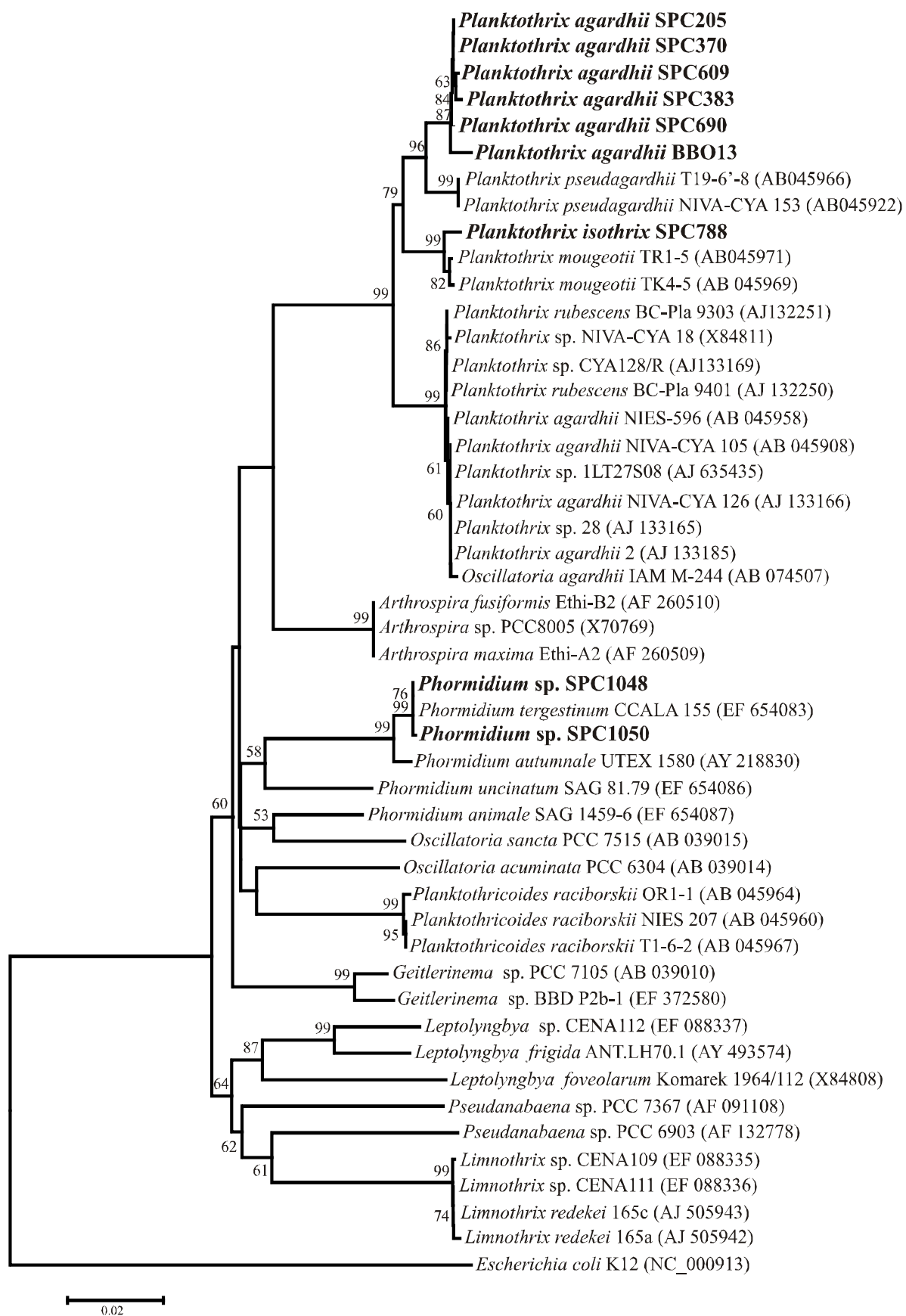


Figura 1. Análise filogenética de seqüências do gene de RNAr 16S (1317 pb) usando o método da distância (“Neighbour Joining”). As seqüências geradas neste estudo estão em negrito. Os valores reamostragem acima de 50% estão indicados próximos aos nós.

Discussão

As técnicas moleculares empregadas nos dias atuais possibilitam a caracterização taxonômica mais apurada e fundamentada dos microrganismos procariontes, complementando a descrição dos caracteres fenotípicos convencionais (Hoffmann *et al.* 2005). Neste contexto, as informações taxonômicas resultantes da análise genotípica envolvem o estudo dos ácidos nucleicos microbianos, principalmente DNA cromossômico e RNA ribossômico (Goodfellow & O'Donnell 1993). Estas informações derivadas de ácidos nucleicos podem ser empregadas na classificação de linhagens microbianas em diversos níveis taxonômicos hierárquicos, desde o estabelecimento de relações intra-específicas entre linhagens até relações entre espécies, gêneros e níveis taxonômicos mais elevados (Nelissen *et al.* 1996, Wilmotte & Herdman 2001).

As características morfológicas diacríticas tradicionais muitas vezes são dificultosas e pouco eficientes na identificação de linhagens (Rippka 1988a, b, Rajaniemi 2006). Esta afirmação corrobora as observações realizadas por Komárek (2003) e Komárek & Komárková (2004) que afirmam que a taxonomia do gênero *Planktothrix* ainda é problemática, principalmente devido à grande variabilidade morfológica e imprecisão taxonômica, ressaltando ainda, que a diversidade intragenérica é complicada e a identificação das espécies a partir de caracteres fenotípicos é bastante difícil.

Outra questão bastante relevante quando se trata de identificação das cianobactérias, são as alterações fenotípicas decorrentes do processo de cultivo em laboratório, que pode tornar a caracterização taxonômica difícil e algumas vezes equivocada. Esta situação parece ser comum entre cianobactérias, como nos mostra os dados de literatura para diversos gêneros: *Microcystis* (Mlouka *et al.* 2004), *Aphanizomenon* (Rippka *et al.* 2001; Gugger *et al.* 2002), *Nodularia* (Lehtimäki *et al.* 2000), *Merismopedia* (Palińska *et al.* 1996), *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Limnothrix* (Rajaniemi 2006), *Planktothrix* (Beard *et al.* 2002), *Aphanizomenon*, *Raphidiopsis*, *Cylindrospermopsis* (Melcher 2007).

No presente estudo, foram observadas também alterações fenotípicas para a linhagem SPC788. Quando esta linhagem foi isolada apresentava todas as características diacríticas que a identificava como *Planktothrix isothrix*, separando-a das demais espécies do gênero. Porém, após longo período em cultivo, passou a apresentar variação e mudanças morfológicas (tricomatos constritos, atenuados) que atualmente dificultariam sua identificação, caso não houvesse sido identificada antes de ser depositada no banco de culturas de cianobactérias do Instituto de Botânica. Rudi & Jakobsen (1997) salientam que muitas

características morfológicas podem mudar como reflexo das condições de crescimento, no entanto, essas características não refletem evolução.

A natureza do DNA permite que este seja usado como um “documento” da história evolutiva (Woese 1987, Wilmotte 1994). Comparando-se seqüências de DNA de diversos genes entre diferentes organismos, pode-se inferir relações entre estes que não poderiam ser determinadas somente pela observação morfológica. Quando seqüências de ácidos nucleicos ou proteínas encontradas em organismos diferentes são similares, é provável que estas tenham sido originadas de uma seqüência ancestral comum. Um alinhamento de seqüências revela quais posições foram conservadas e quais divergem entre os descendentes de um mesmo ancestral. Quando duas seqüências possuem uma relação evolutiva, elas podem ser denominadas seqüências homólogas (Strackebrandt 2001, Vianez 2005).

As árvores filogenéticas construídas a partir do gene de RNAr 16S são consideradas por muitos estudiosos a apresentação que melhor retrata a hipótese de relações filogenéticas entre microorganismos procariontes, porém, devem ser analisadas sempre em conjunto com demais critérios taxonômicos que proporcionarão maior robustez à análise (Vandamme *et al.* 1996, Stackebrandt 2001, Suda *et al.* 2002).

O seqüenciamento do RNAr 16S permite a colocação direta de organismos em uma classificação filogenética, em nível de família e de gênero. A fim de se manter a estabilidade da sistemática, na avaliação e descrição dos dois níveis taxonômicos hierárquicos mais importantes, gênero e espécie, sugere-se a análise multidisciplinar, estratégia conhecida como taxonomia polifásica (Lyra *et al.* 2001, Suda *et al.* 2002, Lin *et al.* 2009). O padrão de ramificação filogenético serve para reconhecer linhagens filogeneticamente relacionadas, porém, a delimitação filogenética entre clusters vizinhos deve ser cautelosa e considerar outras seqüências gênicas, além de caracteres morfológicos e propriedades bioquímicas (Castenholz & Norris 2005, Rajaniemi 2006).

A relação filogenética das seqüências geradas nesse estudo e outras provenientes do GenBank foi investigada utilizando o método de Neighbour-Joining (Saitou and Nei 1987), método quantitativo de análise de distâncias, baseado no número de diferenças de base entre as duas seqüências, amplamente utilizado em análises filogenéticas menos complexas, que leva em consideração o vizinho mais próximo como sendo o mais semelhante. (Nei & Kumar 2000, Ludwig & Klenk 2001).

Diversos trabalhos de cunho filogenético realizados a partir de seqüências do gene RNAr 16S de linhagens de *Planktothrix* também utilizaram o método citado acima na reconstrução filogenética, entre outros (Rudi *et al.* 1997, Pomati *et al.* 2000, Rudi *et al.* 2000, Lyra *et al.* 2001, Suda *et al.* 2002, Seu & Yokota 2003, Lin *et al.* 2009, Paulino *et al.* 2009).

No presente estudo, todas as linhagens isoladas e seqüenciadas agruparam-se num clado maior e de forma coerente com outros membros da Família Phormidiaceae. As linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 e SPC788 tiveram sua identificação genérica confirmada pelas seqüências de RNAr 16S, todas com mais de 95% de identidade com espécies do gênero *Planktothrix*. Enquanto que as linhagens SPC1048 e SPC1050 apresentaram identidade superior a 95% (Ludwig *et al.* 1998) com seqüências de *Phormidium* (tabela 7 e 8, figura 1).

A árvore filogenética corrobora o parentesco próximo das linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 e SPC788 com outras espécies de *Planktothrix*. Porém, como esperado de acordo com a percentagem de similaridade do RNAr 16S, as linhagens SPC1048 e SPC1050 agruparam-se em um clado separado daquele que reúne os representantes de *Planktothrix* (figura 1).

Suda *et al.* (2002) realizaram revisão taxonômica com base em caracteres fenotípicos e genotípicos (RNAr 16S) de setenta e cinco linhagens de Oscillatoriales de diversas regiões temperadas. Neste trabalho, além de confirmarem a validade do gênero *Planktothrix*, antigamente agrupado fenotipicamente junto ao gênero *Oscillatoria*, os autores descreveram também a nova espécie *P. pseudagardhii* a partir de material japonês. Porém, antes da análise genética, este material mantido em cultura estava identificado como *P. agardhii*, com base em caracteres morfométricos.

As linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 apresentaram mais de 99,16% de identidade entre si (tabela 7), e identidade superior a 96,27% com linhagens de *P. agardhii* e 97,50% (Stackebrandt & Goebel 1994, Vandamme *et al.* 1996) com linhagens de *P. pseudagardhii* depositadas no Genbank (tabela 8).

Com base na morfologia tradicional, as linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 foram identificadas como *Planktothrix agardhii*. Entretanto, não tiveram sua identidade específica confirmada, pois apresentaram identidade superior a 97,5% com seqüências de linhagens de *Planktothrix. pseudagardhii* depositadas no Genbank (tabela 8). Assim sendo, em nível específico os resultados das análises com RNAr 16S divergem dos resultados morfológicos.

Como pode ser observado através da figura 1, as linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 estiveram mais próximas ao clado formado por *P. pseudagardhii* e mais distante do clado que agrupa *P. agardhii*. De acordo com Suda *et al.* (2002), apenas a análise genética é capaz de diferenciar as duas espécies de forma contundente, sendo praticamente impossível separá-las através das características fenotípicas, como o diâmetro celular.

Provavelmente, o clado formado pelas linhagens brasileiras de *P. agardhii* (figura 1) represente uma população genética distinta das linhagens não brasileiras dessa morfoespécie. Portanto, *P. agardhii* mostrou-se uma morfoespécie diversificada (figura 1), ora próxima de *P. rubescens*, ora próxima de *P. pseudagardhii*. Além disso, propõe-se que o nome *P. pseudagardhii* deva ser reavaliado, pois morfologicamente ela não difere de *P. agardhii* (Suda *et al.*, 2002).

Há que se considerar também, a forma como os materiais seqüenciados e depositados no GenBank foram fenotipicamente identificados, pois as árvores filogenéticas construídas devem basear-se em linhagens identificadas corretamente. De acordo com a taxonomia polifásica, é muito importante que haja congruência entre caracteres fenotípicos e genotípicos (Vandamme *et al.* 1996), e a correta identificação das linhagens é imprescindível.

Mais recentemente, Komárek & Anagnostidis (2005) realizaram uma revisão taxonômica para a ordem Oscillatoriales, com base na taxonomia polifásica. Neste trabalho, os autores citam a revisão realizada por Suda *et al.* (2002), porém indicam a necessidade de haver características fenotípicas que separem as duas espécies (*P. agardhii* e *P. pseudagardhii*), para que esta última espécie seja validada também a partir de caracteres morfológicos.

O que pode ser observado é que ainda existe contradição entre estudos fenotípicos e genotípicos envolvendo *P. agardhii* e *P. pseudagardhii*, não havendo um consenso.

Não só no Brasil, mas também em outras partes do mundo o nome *P. agardhii* é mais amplamente conhecido e citado, sendo esta uma espécie de grande importância ecológica (cosmopolita, produtora de toxinas, formadora de florações). Desta forma, optamos por manter o nome *P. agardhii* até que estudos futuros com outros genes provem que de fato *P. pseudagardhii* é uma espécie que se diferencia de *P. agardhii* também a partir de caracteres fenotípicos. Além disso, espera-se que outras inferências filogenéticas a partir de maior número de genes sejam realizadas também para linhagens brasileiras de *P. agardhii* e que estas possam ser comparadas com outras seqüências de regiões tropicais diversas. Com isso, as linhagens de *P. agardhii* terão suas posições confirmadas na árvore filogenética aproximando-se de um modelo mais natural.

A linhagem SPC788 apresentou identidade superior a 98,61% com linhagens de *Planktothrix isothrix* (= *P. mougeotii*) depositadas no GenBank (tabela 8). Algumas das seqüências depositadas para essa espécie ainda seguem a nomenclatura taxonômica anterior ao trabalho de revisão do grupo (Komárek & Komárková 2004) e continuam registradas como *P. mougeotii* no GenBank. Portanto, em nível específico, a linhagem SPC788 teve confirmada

a sua identificação morfológica como *P. isothrix*, uma vez que apresentou identidade superior a 97,50% com linhagens da espécie depositadas no Genbank.

As linhagens SPC1048 e SPC1050 apresentaram 99,65% de identidade entre si. Em nível específico apresentaram 99,65% (SPC1048) e 99,86% (SPC1050) de identidade com linhagem de *Phormidium tergestinum*, respectivamente (tabela 7 e 8).

Com relação às linhagens SPC1048 e SPC1050, de identificação taxonômica incerta, apresentando características tanto de *Planktothrix* como de *Phormidium*, os resultados moleculares, com base nas seqüências do RNAr 16S, posicionaram-nas próximas às linhagens de *Phormidium*, (clado-irmão ao clado que reúne as linhagens de *Planktothrix*, figura 1). Assim, a correta identificação do material como *Phormidium* foi confirmada com o seqüenciamento do gene RNAr 16S. Dessa forma, torna-se prematura a identificação específica destas cepas a partir de um único gene (RNAr 16S), sugerindo-se a análise de outras seqüências gênicas para tal afirmação.

Lin *et al.* (2009) seqüenciaram o gene RNAr 16S de 63 linhagens chinesas de *Planktothrix* com o objetivo de realizar caracterização morfológica e molecular e verificaram, por meio da observação de caracteres fenotípicos, a ocorrência de apenas duas espécies de *Planktothrix* (*P. agardhii* e *P. mougeotii*). No entanto, a abordagem molecular apontou para a ocorrência de três espécies (*P. agardhii*, *P. pseudagardhii* e *P. mougeotii*). Diversos trabalhos de cunho molecular têm demonstrado uma maior diversidade de táxons quando comparado com observações ao microscópio (Wilmotte & Golubic, 1991, Nübel *et al.* 1997, Taton *et al.* 2003).

A partir das seqüências (RNAr 16S) geradas no presente estudo, verificou-se que *Planktothrix* caracteriza-se como um grupo monofilético estritamente delimitado, assim como evidenciado em outros trabalhos de diferentes localidades, tais como: Lyra *et al.* (2001) a partir de linhagens finlandesas, Suda *et al.* (2002) que estudaram linhagens de diversas localidades (Suécia, Noruega, Finlândia, Tailândia, China) e Lin *et al.* (2009) que analisaram linhagens chinesas.

Em diversos trabalhos cujo objetivo é a caracterização filogenética de linhagens de *Planktothrix*, observou-se um padrão de distribuição das espécies dentro do clado monofilético, ou seja, observa-se que *P. agardhii* e *P. rubescens* agrupam-se em um clado único e *P. pseudagardhii* e *P. isothrix* agrupam-se também em clados vizinhos (Suda *et al.* 2002, Seou & Yokota 2003, Lin *et al.* 2009). Porém, as seqüências inéditas de *P. agardhii* isoladas do Brasil nunca foram utilizadas nas análises filogenéticas até então, e o presente estudo mostrou que essas linhagens representam uma população distinta (figura 1).

Assim, conclui-se que as seqüências do gene codificador para a subunidade menor do RNA ribossômico (RNAr 16S) mostraram-se adequadas para o estudo das linhagens de *Planktothrix* e *Phormidium*, uma vez que, de modo geral, foram congruentes com marcadores morfológicos na circunscrição genérica. Entretanto, em nível específico o gene nem sempre reflete as observações morfológicas.

Literatura Citada

- Acinas, S. G., Marcelino, L. A., Klepac-Ceraj, V., & Polz, M. F.** 2004. Divergence and redundancy of 16S rRNA sequences in genomes with multiple *rrn* operons. *The Journal of Bacteriology* 186: 2629-2635.
- Achtman, M. & Wagner, M.** 2008. Microbial diversity and the genetic. *Nature Reviews*, London, 6: 431-440.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Meyers, E.W. & Lipman, D.J.** 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, London 215: 403-410.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 80(1-4)/Algological Studies 50-53: 327-472.
- Asayama, M., Kasabawa, M. Takahashi, I., Aida, T. & Shirai, M.** 1996. Highly repetitive sequences and characteristics of genomic DNA in unicellular cyanobacterial strains. *FEMS Microbiology Letters*, Amsterdam 137: 175-181.
- Azevedo, M.T.P. & Sant'Anna, C.L.** 2003. *Sphaerocavum*: a new genus of planktic Cyanobacteria from continental water bodies in Brazil. *Algological Studies* 109: 79-92.
- Beard, S. J., Handley, B. A. & Walsby, A. E.** 2002. Spontaneous mutations in gas vesicle genes of *Planktothrix* spp. affect gas vesicle production and critical pressure. *FEMS Microbiology Letters* 215: 189-195.
- Beard, S. J., Handley, B. A., Hayes, P. K. & Walsby, A. E.** 1999. The diversity of gas vesicle genes in *Planktothrix rubescens* from Lake Zurich. *Microbiology* 145: 2757-2768.
- Bergsland, K.J. & Haselkorn, R.** 1991. Evolutionary relationships among Eubacteria, Cyanobacteria, and chloroplasts: evidence from the *rpoC1* gene of *Anabaena* sp. Strain PCC7120. *Journal of Bacteriology*, Washington, 173: 3446-3455.
- Birnboim, H.C. & Doly, J.** 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research*, London 7: 1513-1523.
- Castenholz, R.W.** 2001. Oxygenic photosynthetic bacteria. *In*: D.R Boone & R.W. Castenholz (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2^a ed.). Springer, New York, vol. 1, pp. 474-487.
- Castenholz, R. W. & Norris, T. B.** 2005. Revisionary concepts of species in the cyanobacteria and their applications. *Algological Studies* 117: 53-69.
- Castenholz, R. W. & Waterbury, J. B.** 1989. Group 1. Cyanobacteria. Preface. *In*: D. R. Boone & R. W. Castenholz (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2^a ed, Springer, New York, vol. 3, pp. 1710-1727.

- Castiglioni, B., Rizzi, E., Frosini, A., Sivonen, K., Rajaniemi, P., Rantala, A., Mugnai, M. A., Ventura, S., Wilmotte, A., Boutte, C., Grubisic, S., Balthasart, P., Consolandi, C., Bordoni, R., Mezzelani, A., Battaglia, C., & De Bellis, G.** 2004. Development of a universal microarray based on the ligation detection reaction and 16S rRNA gene polymorphism to target diversity of cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 7161-7172.
- Coenye, T., Gevers, D., Van de Peer, Y., Vandamme, P., & Swings, J.** 2005. Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 147-167.
- Conradie, K.R., Du plessis, S. & Venter, A.** 2008. Re-identification of "*Oscillatoria simplicissima*" isolated from the Vaal River, South Africa, as *Planktothrix pseudagardhii*. *South Africa Journal of Botany* 74: 101-110.
- Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R.R., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Codd, G.A. & Bergman, B.** 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce α -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 102(14): 5074-5078.
- Dellamano-Oliveira, M.J.** 2006. Comunidade Fitoplanctônica do Reservatório de Barra Bonita e a sua relação com a composição e quantidade de polissacarídeos extracelulares e agregados gelatinosos. Tese de Doutorado, Universidade de São Carlos, São Paulo.
- Dellamano-Oliveira, M.J., Vieira, A.H., Rocha, O., Colombo, V. & Sant'Anna, C.L.** 2008. Phytoplankton taxonomic composition and temporal changes in a tropical reservoir. *Fundamental and Applied Limnology, Archiv für Hydrobiologie* 171(1): 27-38.
- Delwiche, C.F., Kusel, M. & Palmer, J.D.** 1995. Phylogenetic analysis of *tufA* sequences indicates a cyanobacterial origin of all plastids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Amsterdam 4: 110-128.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C. & Green, P.** 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. accuracy assessment. *Genome Research*, Woodbury 8: 175-185.
- Fiore, M.F., Moon, D. H., Tsai, S. M., Lee, H. & Trevors, J.T.** 2000. Miniprep DNA isolation from unicellular and filamentous cyanobacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 39:159-169.
- Fiore, M.F., Neilan, B.A., Copp, J.N., Rodrigues, J.L.M., Tsai, S.M., Lee, H. & Trevors, J.T.** 2005. Characterization of nitrogen-fixing cyanobacteria in the Brazilian Amazon floodplain. *Water Research*, New York 39: 5017-5026.
- Fox, G.E., Wisotzkey, J. D. & Jurtshuk, P., Jr.** 1992. How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 166-170.

- Furtado, A.L.F.F., Calijuri, M.C., Lorenzi, A.S., Honda, R.Y., Genuário, D.B. & Fiore, M.F.** 2009. Morphological and Molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. *Hydrobiologia* 627: 195-209.
- Gevers, D., Conhan, F.M., Lawrence, J.G., Spratt, B.G., Coeney, T., Feil, E.J., Stackebrandt, E. Van de Peer, Y., Vandamme, P. Thompson, F.L. & Swings, J.** 2005. re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews*, London 3: 733-739.
- Gillis. M., Vandamme, P., De Vos, P., Swings, J. & Kersters, K.** 2001. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. The archaea and deeply branching and phototrophic bacteria. New York: Springer-Verlag 1: 43-48.
- Giovannoni, S. J., Turner, S., Olsen, G. J., Barns, S., Lane, D. J., & Pace, N. R.** 1988. Evolutionary relationships among cyanobacteria and green chloroplasts. *Journal of Bacteriology* 170: 3584-3592.
- Gkelis, S., Rajaniemi, P., Vardaka, E., Moustaka-Gouni, M., Lanaras, T. & Sivonen, K.** 2005. *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (Cyanobacteria) Strains from Lake Kastoria, Greece Form a Separate Phylogenetic Group. *Microbial Ecology* 49: 176–182.
- Gomont, M.M.** 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). *Annales des Sciences Naturelles; Botanique* 7(15): 263-368, (16): 91-264.
- Goodfellow, M. & O'donnell, A.G.** 1993. Roots of Bacterial Systematics. *In: Handbook of New Bacterial Systematics*, Academic Press, London, pp 3-54.
- Gordon, D., Abajian, C. & Green, P.** 1998. Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Research*, Woodbury 8: 195-202.
- Gugger, M., Lyra, C., Henriksen, P., Coute, A., Humbert, J. F. & Sivonen, K.** 2002. Phylogenetic comparison of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1867-1880.
- Gugger, M., Molica, R., Le Berre, B., Dufour, P., Bernard, C. & Humbert, J.F.** 2005. Genetic Diversity of *Cylindrospermopsis* strains isolated from four continents. *Applied and Environmental Microbiology* 71(2): 1097-1100.
- Hoffmann, L., Komárek, J. & Kaštovský, J.** 2005. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state 2004. *Algological Studies* 117: 95-115.
- Honda, R.Y.** 2009. Caracterização morfológica e molecular de cianobactérias do gênero *Anabaena* isoladas de corpos d' água brasileiros. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba, São Paulo.

- Ishida, T., Watanabe, M. M., Sugiyama, J. & Yokota, A.** 2001. Evidence for polyphyletic origin of the members of the orders of Oscillatoriales and Pleurocapsales as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters* 201: 79–82.
- Jüttner, F. & Watson, S.B.** 2007. Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. *Applied and Environmental Microbiology* 73(14): 4395-4406.
- Kaneko, T., Nakamura, Y., Wolk, C. P., Kuritz, T., Sasamoto, S., Watanabe, A., Iriguchi, M., Ishikawa, A., Kawashima, K., Kimura, T., Kishida, Y., Kohara, M., Matsumoto, M., Matsuno, A. & Muraki, A.** 2001. Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC7120. *DNA Research* 8: 205–213.
- Kim, S., Rhee, S., Ahn, C. Ko, R., Choi, G., Bae, J. Park, Y. & Oh, H.** 2006. Determination of cyanobacterial diversity during algal blooms in Daechung Reservoir, Korea, on the basis of *cpcBA* intergenic spacer region analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 1: 3252-3258.
- Komárek, J.** 2003. Coccoid and Colonial Cyanobacteria. *In*: J. D. Wehr & R. G. Sheath (eds.). *Freshwater algae of North America: Ecology and Classification*. Elsevier Science (USA), 918 p.
- Komárek, J.** 2006. The modern classification of cyanoprokaryotes (cyanobacteria). *Oceanological and Hydrobiological Studies (Gdansk), Supplement* 34, 3: 5-17.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 2005. Cyanoprokariota, 2. Teil: Oscillatoriales. *In*: B. Büdel, G. Gärdner, L. Krienitz & M. Schagul (eds.). *Subwasserflora von mitteleuropa*, Band 19/2. Spektrum Akademischer Verlag, 759 p.
- Komárek, J. & Kaštovský, J.** 2003. Coincidences of structural and molecular characters in evolutionary lines of cyanobacteria. *Archiv für Hydrobiologie* 148, 4 *Algological Studies* 109: 305-325.
- Komárek, J. & Komárková, J.** 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. *Czech Phycology*, Olomouc 4: 1-18.
- Kondo, R., Kagiya, G., Yuki, Y., Hiroishi, S. & Watanabe, M.** 1998. Taxonomy of a bloom-forming cyanobacterial genus *Microcystis*. *Nippon Suisan Gakkai Shi* 64: 291-292.
- Kondo, R., Yoshida, T., Yuki, Y., & Hiroishi, S.** 2000. DNA-DNA reassociation among a bloom-forming cyanobacterial genus, *Microcystis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 767-770.
- Konstantinidis, K.T. & Tiedje, J.M.** 2005. Towards a genome-based taxonomy for prokaryotes. *Journal of Bacteriology* 187(18): 6258-6264.

- Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M.** 2004. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, Oxford 5: 150-163.
- Kurmayer, R., Christiansen, G., Fastner, J. & Börner, T.** 2004. Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environmental Microbiology* 6: 831–841.
- Laamanen, M. J., Gugger, M. F., Lehtimäki, J. M., Haukka, K. & Sivonen, K.** 2001. Diversity of toxic and nontoxic *Nodularia* isolates (cyanobacteria) and filaments from the Baltic Sea. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 4638-4647.
- Lachance, M.** 1981. Genetic relatedness of heterocystous cyanobacteria by deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid reassociation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 31: 139-147.
- Lane, D.J.** 1991. 16S/23S rRNA sequencing. *In*: E. Strackebrandt & O. Goodfellow (ed.) *Nucleic acids techniques in bacterial systematics*. Chichester: Willey, pp. 115-175.
- Lehtimäki, J., Lyra, C., Suomalainen, S., Sundman, P., Rouhiainen, L., Paulin, L., Salkinoja-Salonen, M. & Sivonen, K.** 2000. Characterization of *Nodularia* strains, cyanobacteria from brackish waters, by genotypic and phenotypic methods. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1043-1053.
- Li, R., Debella, H.J. & Carmichael, W.W.** 2001. Isolates identifiable as *Arthrospira maxima* and *Arthrospira fusiformis* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) appear identical on the basis of a morphological study in culture and 16S rRNA gene sequences. *Phycologia* 40:367-71.
- Lin, S., Wu, Z., Yu, G., Zhu, M., Yu, B. & Li, R.** 2009. Genetic diversity and molecular phylogeny of *Planktothrix* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) strains of China. *Harmful Algae* (2009), doi: 10.1016/j.hal.2009.08.004.
- Litvaitis, M.K.** 2002. A molecular test of cyanobacterial phylogeny: inferences from constraint analyses. *Hydrobiologia* 468(1-3):135-145.
- Ludwig, W. & H. Klenk.** 2001. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. *In*: *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology*. Second Edition. Springer-Verlag. Berlin, pp. 49-65.
- Ludwig, W., Strunk, O., Klugbauer, N., Weizenberger, M., Neumaier, J., Bachleitner, M. & Schleifer, K.H.** 1998. Bacterial phylogeny based on comparative sequence analysis. *Electrophoresis* 19: 554-568.
- Lyra, C., Hantula, J., Vainio, E., Rapala, J., Rouhiainen, L., & Sivonen, K.** 1997. Characterization of cyanobacteria by SDS-PAGE of whole-cell proteins and PCR/RFLP of the 16S rRNA gene. *Archives of Microbiology* 168: 176-184.

- Lyra, C., Suomalainen, S., Gugger, M., Vezie, C., Sundman, P., Paulin, L. & Sivonen, K.** 2001. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 513-526.
- Mazel, D., Houmard, J., Castets, A.M. & Tandeau de Marsac, N.** 1990. Highly repetitive DNA-sequences in cyanobacterial genomes. *Journal of Bacteriology*, Baltimore 172: 2755-2761.
- Melcher, S.S.** 2007. Estudos morfológicos e moleculares de cianobactérias potencialmente tóxicas dos gêneros *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* e *Raphidiopsis* (Nostocales). Tese de Doutorado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Mlouka, A., Comte, K., Castets, A., Bouchier, C., & Tandeau de Marsac, N.** 2004. The gas vesicle gene cluster from *Microcystis aeruginosa* and DNA rearrangements that lead to loss of cell buoyancy. *Journal of Bacteriology* 186:2355-2365.
- Myers, J.L., Sekar, R. & Richardson, L.L.** 2007. Molecular detection and ecological significance of the cyanobacterial genera *Geitlerinema* and *Leptolyngbya* in black band disease of corals. *Applied and Environmental Microbiology* 73(16): 5173-5182.
- Nei, M., & Kumar, S.** 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. New York, USA, Oxford University Press. 333 pp.
- Neilan, B.A., Jacobs, D., Del Dot, T., Blackall, L.L., Hawkins, P.R., Cox, P.T. & Goodman, A.E.** 1997. rRNA sequences and evolutionary relationships among toxic and nontoxic cyanobacteria of the genus *Microcystis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 47:693-697.
- Neilan, B. A., Jacobs, D. & Goodman, A.E.** 1995. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within phycocyanin locus. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 3875-3883.
- Nelissen, B., Debaere, R., Wilmotte, A. & Dewachter, R.** 1996. Phylogenetic relationships of nonaxenic filamentous cyanobacterial strains based on 16S rRNA sequence analysis. *Journal of Molecular Evolution* 42: 194-200.
- Nelissen, B., Wilmotte, A., Neefs, J.M. & De Wachter, R.** 1994. Phylogenetic relationships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. *Systematic and Applied Microbiology* 17: 206-210.
- Nübel, U., Garcia-Pichel, F. & Muyzer, G.** 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 63(8): 3327-32.
- Palenik, B.** 1994. Cyanobacterial community structure as seen from RNA polymerase gene sequence analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 3212-3219.

- Palińska, K. A., Liesack, W., Rhiel, E. & Krumbein, W. E.** 1996. Phenotype variability of identical genotypes: the need for a combined approach in cyanobacterial taxonomy demonstrated on *Merismopedia*-like isolates. *Archives of Microbiology* 166: 224-233.
- Paulino, S., Valério, E., Faria, N., Fastner, J. Welker, M. Tenreiro, R. & Pereira, P.** 2009. Detection of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) associated with microcystin production in a freshwater reservoir. *Hydrobiologia* 621: 207-211.
- Philippe, H., & Douady, C. J.** 2003. Horizontal gene transfer and phylogenetics. *Current Opinion in Microbiology* 6: 498-505.
- Pomati, F., Sacchi, S., Rosseti, C. & Giovannardi, S.** 2000. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: Molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of Phycology* 36: 553-562.
- Prati, M., Molteni, M., Pomati, F., Rosseti, C. & Bernardini, G.** 2002. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon* 40: 267-272.
- Rajaniemi, P.** 2006. Biodiversity and phylogeny of planktic cyanobacteria in temperate freshwater lakes. *Dissertação (Academic Dissertation in Microbiology)* Department of Applied Chemistry and Microbiology.
- Riley, M., Abe, T., Arnaud, M.B., Berlyn, M.K., Blattner, F.R., Chaudhuri, R.R., Glasner, J.D., Horiuchi, T., Keseler, I.M., Kosuge, T., Mori, H., Perna, N.T., Plunkett, G. III, Rudd, K.E., Serres, M.H., Thomas, G.H., Thomson, N.R., Wishart, D. & Wanner, B.L.** 2006. *Escherichia coli* K-12: a cooperatively developed annotation snapshot—2005. *Nucleic Acids Research* 34(1): 1-9.
- Rippka, R.** 1988a. Isolation and purification of cyanobacteria. *In*: L. Packer & A. N. Glazer (eds.). *Methods in Enzymology, Cyanobacteria*. Academic Press, New York, vol.167, pp. 3-27.
- Rippka, R.** 1988b. Recognition and identification of cyanobacteria. *In*: L. Packer & A. N. Glazer (eds.). *Methods in Enzymology, Cyanobacteria*. Academic Press, New York, vol.167, pp. 28-67.
- Rippka, R., Castenholz, R. W. & Herdman, M.** 2001. Subsection IV. (Formerly Nostocales Castenholz 1989b sensu Rippka, Deruelles, Waterbury, Herdman & Stainer, 1979) *In*: D. R. Boone & R. W. Castenholz (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer, New York, 2^a ed, vol. 1, pp. 562-566.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B. Herdman, M. & Stanier, R.Y.** 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
- Rippka, R. & Herdman, H.** 1992. Pasteur culture collection of cyanobacteria catalogue and taxonomic handbook. Catalogue of strains. Paris: Institute Pasteur 1: 103 p.

- Rohrlack, T. & Utkilen, H.** 2007. Effects of nutrient and light availability on production of bioactive anabaenopeptins and microviridin by the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. *Hydrobiologia* 83: 231-240.
- Rudi, K. & Jakobsen, K. S.** 1997. Cyanobacterial tRNA (Leu) (UAA) group I introns have polyphyletic origin. *FEMS Microbiology Letters* 156: 293-298.
- Rudi, K., Skulberg, O.M. & Jakobsen, K.S.** 2005. 16S rDNA analyses of the cyanobacterial microbiota through the water column in a boreal lake with a metalimnic *Planktothrix* population. *Preparative Biochemistry and Biotechnology* 35(4): 301-312.
- Rudi, K., Skulberg, O. M., Skulberg, R. & Jakobsen, K. S.** 2000. Application of sequence-specific labeled 16S rRNA gene oligonucleotide probes for genetic profiling of cyanobacterial abundance and diversity by array hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4004-4011.
- Saitou, N. & Nei, M.** 1987. The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T.** 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2. ed. Cold Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Satish, N., Krugman, T., Vinogradova, O.N., Nevo, E. & Kashi, Y.** 2001. Genome evolution of the cyanobacterium *Nostoc linckia* under sharp microclimatic divergence at "Evolution Canyon", Israel. *Microbial Ecology*, New York 42: 306-316.
- Schober E. & Kurmayer R.** 2006. Evaluation of different DNA sampling techniques for the application of the real-time PCR method for the quantification of cyanobacteria in water. *Letters in Applied Microbiology* 42: 412-417.
- Seou, P. & Yokota, A.** 2003. The phylogenetic relationships of cyanobacteria inferred from 16S rRNA, *gyrB*, *rpoC1* and *rpoD1* gene sequences. *Journal of General and Applied Microbiology* 49: 191-203.
- Siegesmund, M.A., Johansen, J.R., Karsten, U. & Friedl, T.** 2008. *Coleofasciculus* Gen. Nov. (Cyanobacteria): Morphological And Molecular Criteria For Revision Of The Genus *Microcoleus* Gomont. *Journal of Phycology* 44(6): 1572-1585.
- Silva, C.S.P.** 2006. Caracterização de cianobactérias brasileiras e distribuição de genes naturais. Dissertação de Mestrado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Sivonen, K. & Jones, G.** 1999. Cyanobacterial toxins. In: I. Chorus & J. Bartram (eds.). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, UK: WHO, E & FN Spon, pp. 41-112.
- Stackebrandt, E.** 2001. Phylogeny based on 16S rRNA/DNA. *Encyclopedia of Life Sciences* 1-7.

- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P. A., Kampfer, P., & Maiden, M. C., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H. G., Vauterin, L., Ward, A. C. & Whitman, W. B.** 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1043-1047.
- Stackebrandt, E., & Goebel, B. M.** 1994. Taxonomic note: a for place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 44: 846-849.
- Stam, W.T. & Stulp, B.K.** 1988. New taxonomic methods: DNA-DNA hybridization. *Methods in Enzymology*, New York 167: 125-132.
- Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnaraporn, N., Liu, Y & Day, J.G.** 2002. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoroid cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577-1595.
- Sugita, C., Ogata, K., Shikata, M., Jikuya, H., Takano, J., Furumichi, M., Kanehisa, M., Omata, T., Sugiura, M. & Sugita, M.** 2007. Complete nucleotide sequence of the freshwater unicellular cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 6301 chromosome: gene content and organization. *Photosynthesis Research* 93(1-3): 55-67.
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J. & Hillis D. M.** 1996. Phylogenetic inference. In *Molecular systematics*. D. Hillis, C. Moritz, & B. Mable (eds). 2nd ed. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, pp. 407–514.
- Taton, A., Grubisic, S., Brambilla, E., de Wit, R. & Wilmotte, A** 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Applied and Environmental Microbiology* 69(9): 5157–5169.
- Taton, A., Grubisic, S., Ertz, D., Hodgson, D. A., Piccardi, R., Biondi, N., Tredici, M. R., Mainini, M., Losi, D., Marinelli, F. & Wilmotte, A.** 2006. Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *Journal of Phycology* 42(6): 1257-1270.
- Tillet, D., Parker, D. & Neilan, B. A.** 2001. Detection of toxigenicity by a probe for the microcystin synthetase a gene (*mcyA*) of the cyanobacterial genus *microcystis*: comparison of toxicities with 16S rRNA and phycocyanin operon (phycocyanin intergenic spacer) phylogenies. *Applied and Environmental Microbiology* 67(6): 2810–2818.
- Toledo, G. & Palenik, B.** 1997. *Synechococcus* diversity on the California Current as seen by RNA polymerase (*rpoC1*) gene sequences of isolated strains. *Applied and Environmental Microbiology*, Baltimore 63: 4298-4303.

- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O.F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. & Huisman, J.** 2005. The Microcystin composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5177-5181.
- Turner, S., Pryer, K.M., Miao, V.P.W.Y & Palmer, J.D.** 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 327–38.
- Urbach, E., Scalan, D.J., Distel, D.L., Waterbury, J.B. & Chisholm, S.W.** 1998. Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light-harvesting structures inferred from sequence of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* (Cyanobacteria). *Journal of Molecular Evolution, New York* 46: 188-201.
- Vandamme, P., B. Pot, M. Gillis, P. de Vos, K. Kersters & J. Swings.** 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews* 60: 407-438.
- Vianez, J.L.S.G.J.** 2005. Avaliação criteriosa das seqüências dos genes *Rrn*, *Rpob* e *Gyrb* como ferramentas em taxonomia microbiana. Monografia de Conclusão de Curso, Instituto de microbiologia prof. Paulo de Góes, Universidade do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Wang, Y. & Zhang, Z. S.** 2000. Comparative sequence analyses reveal frequent occurrence of short segments containing an abnormally high number of non-random base variations in bacterial rRNA genes. *Microbiology* 146: 2845-2854.
- Ward, D. M.** 1998. A natural species concept for prokaryotes. *Current Opinion in Microbiology* 1: 271-277.
- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O., Krichevsky, M. I., Moore, L. H., Moore, W. E. C., Murray, R.G. E., Stackebrandt, E., Starr, M. P. & Trüper H.G.** 1987. Report of the Ad Hoc Committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 37: 463-464.
- Welker, M. & Christiansen, G.** 2004. Diversity of coexisting *Planktothrix* (Cyanobacteria) chemotypes deduced by mass spectral analysis of microcystins and other oligopeptides. *Archives of Microbiology* 182: 288-298.
- Wilmotte, A.** 1994. Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. *In: The Molecular Biology of Cyanobacteria*. D. A. Bryant (ed.). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 1-25.
- Wilmotte, A. & Golubić, S.** 1991. Morphological and genetic criteria in the taxonomy of Cyanophyta/Cyanobacteria. *Algological Studies* 64: 1-24.

- Wilmotte, A. & Herdman, E.** 2001. Phylogenetic relationships among the cyanobacteria based on 16S rRNA sequences. *In*: D. R. Boone & R. W. Castenholz (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer, New York 2^a ed, vol. 1, pp. 487-493.
- Wilmotte, A.M.R. & Stam, W.T.** 1984. Genetic relationships among cyanobacterial strains originally designated as '*Anacystis nidulans*' and some other *Synechococcus* strains. *Journal of General Microbiology* 130: 2737-2740.
- Woese, C.R.** 1987. Bacterial evolution. *Microbiology Reviews* 51: 221–71.
- Woese, C.R.** 2004. A new biology for a new century. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68: 173-186.
- Zehr, J.P., Mellow, M.T. & Hiorns, W.D.** 1997. Phylogeny of cyanobacterial *nifH* genes: evolutionary implications and potential applications to natural assemblages. *Microbiology Reading* 143: 1443-1450.
- Zwart, G., Agterveld, M.P.K., Werff-Staverman, I.V.D, Hagen, F., Hoogveld, H.L. & Gons, H.J.** 2005. Molecular characterization of cyanobacterial diversity in shallow eutrophic lake. *Environmental Microbiology* 7(3): 365-377.

Anexo 1

Sequências de RNAr 16S geradas no presente estudo.

>*Planktothrix* sp. BBO13 1417 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
T TAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGATCAAGTCTGCTGTTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAGCTGAAGAGCTAGAGTATAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTATAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAGCTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCTGG
AATCTCCTTGAAAGGGGGGAGTGCCGAAAGGAACCAGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTGGCCATCATTAGGTTGGGAAGCTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCCAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGCTCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGT
GAA

>Planktothrix sp. SPC205 1417 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
TTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCTGTTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGTGTAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCGGG
AATCTCCTTGAAAGGGGAGAGTGCCGAAAGGAACCCGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACCTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGCTCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGT
GAA

>Planktothrix sp. SPC690 1417 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
T TAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCTGTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGTGTAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAACCTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCGGG
AATCTCCTTGAAAGGGGAGAGTGCCGAAAGGAACCCGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACCTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATAGCCCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGT
GAA

>Planktothrix sp. SPC370 1410 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
TTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCTGTTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGTGTAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAACCTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCGGG
AATCTCCTTGAAAGGGGAGAGTGCCGAAAGGAACCCGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGCTCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTG

>Planktothrix sp. SPC609 1416 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
TTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCTGTTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGTATAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCGGG
AATCTCCTTGAAAGGGGAGAGTGCCGAAAGGAACCCGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACCTTAGCGAGGCTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGCTCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGT
GA

>Planktothrix sp. SPC383 1417 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAACCCTTCGGGGT
T TAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTAGGACGGGGACAA
CAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATAAGCCGAAAGGTGAAAGATTTATCGC
CGAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAGAGCCTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCTGTTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGTAAAAGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGTATAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTAAAACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCCGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCGGG
AATCTCCTTGAAAGGGGAGAGTGCCGAAAGGAACCCGAAGACAGGTGCTGCATG
GTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGAACCTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGGCACACGTACTACAATGCGAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGA
GCGAATCTCAGAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGCTCTCTGCAACTCGAGAGCAT
GAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCG
GGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCGAAGTCATT
ACTCTAACCCCTTTCGGGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGT
GAA

>Planktothrix sp. SPC788 1415 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAAGTAGCAATAC
TTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGAACCTGCCTCTTGGCCGGGGACA
ACAGTTGGAAACGGCTGCTAATCCCGGATGAGCCGAAAGGTAAAAGATTAATCG
CCAAGAGAGGGGCTTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGTGTAAGAGACTACCAAG
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGTTCTTGGATTGTCAACCCCTT
TTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAGGAAGAAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCCCTTCAAGTCTGCTGTAAAGAGCGAGGCTTAAC
TTCGGAAAAGCAGTGGAAGCTGGAGAGCTAGAGTGTAGTAGGGGCAGAGGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGCTACAACCTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGG
GATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCGGTAAACGATGGAAACTAGGTGTGGCCTGT
ATCGACCCGGGCGGTGCCGGAGCAAACGCGTTAAGTTTCCCGCCTGGGGAGTACG
CACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCTCTGG
AGTCCGTCTGAAAGGGTGGAGTGCCTTAGGGAACCAGAAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTCGTCGTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGAACCTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGTCCTGGG
CGACACACGTACTACAATGCTAAGGACAGAGAGCAGCCAACCCGCGAGGGAGAG
CGAATCTCATAAACCTTGGCACAGTTCAGATTGAAGCTTGCAACTCAGCTTCATG
AAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATCCGTTCCCGG
GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTGAGCCACGCCCAGGTCATTA
CTCTAACCTGCAAGGGGGGAGGGTGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGTGAA

>Planktothrix/Phormidium SPC1048 1414 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGCGCAGAAATGC
GCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGAATCTGCCAACAGGACGGGGACA
ACAGGGGGGAAACCGCTGCTAAGACCCGATAAACCGAAAGGGGAAAAAGAAATT
GCCAGTTGATGAGCTCGCGTCGGATTAGCTAGTTGGTAGTGTAAGGGACTACCAA
GGCGACGATCCGTAGCCGGTCTGAGAGGACGATCGGCCACACTGGGACTGAGAC
ACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAA
AGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGTGTAAACCTC
TTTTCTCAAGGAAGAAGAAATGACGGTACTTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGCGTCCGCAGGTGGCAGTTCAAGTCTGCCGTTAAAGACTCCAGCTTAAC
TGGAGGAAGGCGGTGGAACTGAACAGCTAGAGTGCGGTAGGGGCAGAGGGAA
TTCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACACCAGTGGCGAAA
GCGCTCTGCTGGACCGCAACTGACACTCAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG
GGATTAGATACCCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATACTAGGTGTTGTGCG
TATCGACCCGCGCAGTGCCGCAGCTAACGCGCTAAGTATCCCGCCTGGGGAGTAC
GCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAG
TATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATGTCCG
GAATCTCGGTGAAAGCTGAGAGTGCCTTCGGGAACCGGAACACAGGTGGTGCAT
GGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAA
CCCTCGTTTCTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGAGAGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGCCCCTTACGTCCTGG
GCTACACACGTACTACAATGCTTCAGACAAAGGGCAGCTAGCCAGCGATGGTCA
GCAAATCCCAGAACTGAGGCTCAGTTCAGATCGCAGGCTGCAACTCGCCTGCGT
GAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCCGGTCAGCATAACGGCGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGCTGGCGGTGCCCGAAGTCGT
TATCCTAACCCCTCGGGGAGGGAGACGCCGAAGGCAAAGCTGGTGACTGGGGTG
AA

>Planktothrix/Phormidium SPC1050 1415 pb

GATGAACGCTGGCGGTCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGCGCAGAAATGC
GTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGAATCTGCCAACAGGACGGGGACA
ACAGGGGGGAAACCGCTGCTAAGACCCGATAAACCGAAAGGGGAAAAAGAAATT
GCCAGTTGATGAGCTCGCGTCGGATTAGCTAGTTGGTAGTGTAATGGACTACCAA
GGCGACGATCCGTAGCCGGTCTGAGAGGACGATCGGCCACACTGGGACTGAGAC
ACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAA
AGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGTGTAAACCTC
TTTTCTCAAGGAAGAAGAAATGACGGTACTTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGG
CGTAAAGCGTCCGCAGGTGGCAGTTCAAGTCTGCCGTTAAAGACTCCAGCTTAAC
TGGAGGAAGGCGGTGGAACTGAACAGCTAGAGTGCGGTAGGGGCAGAGGGAA
TTCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACACCAGTGGCGAAA
GCGCTCTGCTGGACCGCAACTGACACTCAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG
GGATTAGATACCCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATACTAGGTGTTGTGCG
TATCGACCCGCGCAGTGCCGCAGCTAACGCGCTAAGTATCCCGCCTGGGGAGTAC
GCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAG
TATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATGTCCA
GGAATCTCGGTGAAAGCTGAGAGTGCCTTCGGGAACCGGAACACAGGTGGTGCA
TGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCA
ACCCTCGTTTTCTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGAGAGACTGCCGGTG
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGCCCTTACGTCCTG
GGCTACACACGTACTACAATGCTTCAGACAAAGGGCAGCTAGCCAGCGATGGTC
AGCAAATCCCGGAAACTGAGGCTCAGTTCAGATCGCAGGCTGCAACTCGCCTGCG
TGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCCGGTCAGCATACGGCGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGCTGGCGGTGCCCGAAGTCGT
TATCCTAACCCCTCGGGGAGGGAGACGCCGAAGGCAAAGCTGGTGACTGGGGTG
AA

Capítulo 3

Efeitos da irradiância e temperatura sobre o crescimento de duas espécies brasileiras de *Planktothrix*: *P. agardhii* e *P. isothrix*¹

Silva, D.^{1,2} & Sant'Anna, C.L.²

¹Parte da Tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica.

²Seção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, 01061 - 970 São Paulo, SP, Brasil.

Resumo - Efeitos da irradiância e temperatura sobre o crescimento de duas cepas brasileiras de *Planktothrix*: *P. agardhii* e *P. isothrix*. A intensidade de crescimento das espécies de cianobactérias é determinada pelo seu requerimento ecológico ótimo, influenciada principalmente por fatores como luz, temperatura e nutrientes. O reconhecimento de suas reações diante destes fatores ambientais é muito importante para explicar, por exemplo, o fenômeno das florações. Considerando a grande importância ecológica e toxicológica do gênero *Planktothrix* no Brasil e no mundo e a inexistência de estudos *in vitro* com cepas brasileiras, o objetivo do presente trabalho é estabelecer, a partir das taxas de crescimento populacional, as condições de irradiância e temperatura que mais favorecem o crescimento de *Planktothrix agardhii* e *Planktothrix isothrix*, em condições de cultura. Observou-se que as melhores taxas de crescimento registradas para as duas cepas estiveram relacionadas à irradiância. Assim, supõe-se que ambas as cepas sofreram maior influência pela temperatura, entretanto, nenhuma das condições foi limitante ao crescimento das mesmas. As mudanças morfométricas promovidas pelas variáveis abióticas estão de acordo tanto com a descrição original como com a descrição mais atualizada das duas espécies, de modo que não foram observados limites métricos e fenotípicos discrepantes.

Palavras- Chave: *Planktothrix*, cultura, variabilidade morfológica, temperatura, irradiância

Abstract - Irradiance and temperature effects on the growth of two Brazilian *Planktothrix* strains: *P. agardhii* and *P. Isothrix*. The intensity of growth of cyanobacteria species is determined by their optimum ecological requirement, influenced by factors such as light, temperature and nutrients. The recognition of their reactions face to these environmental factors is very important for explaining, for example, the bloom formation. Considering the great ecological and toxicological importance of *Planktothrix* genus in Brazil and all over the world and the lack of studies *in vitro* with Brazilian strains, the present study aims to determine the most favorable culture conditions in relation to irradiance and temperature for the growth of *Planktothrix agardhii* and *Planktothrix Isothrix*. It was observed that the best growth rates recorded for the two strains were related to irradiance. Thus, it is assumed that both strains are more influenced by temperature, but any condition was limiting to their growth. The morphometric changes promoted by environmental variables are consistent with both the original description and with the most current description of each species, so that discrepancies with the metrics and phenotypic limits were not observed.

Keywords: *Planktothrix*, culture, morphological variability, temperature, irradiance

Introdução

As cianobactérias são extremamente interessantes no estudo das relações entre atividade biológica e fatores ecológicos, pois ocorrem freqüentemente em condições extremas e adaptam-se eficientemente a diversas mudanças nas condições ambientais, devido, principalmente, a sua ampla versatilidade metabólica (Guerrero 1992, Otero *et al.* 1997, Oliver & Ganf 2000).

Tanto a presença quanto a intensidade de crescimento das espécies de cianobactérias são determinadas pelo seu requerimento ecológico ótimo, influenciados principalmente por fatores como luz, temperatura e nutrientes (Collier *et al.* 1978, Reynolds 1984). O estudo da biologia, particularmente autoecologia, de determinadas espécies e o reconhecimento de suas reações diante de diversos fatores ambientais pode ter grande importância para explicar, por exemplo, o fenômeno das florações (Hašler *et al.* 2003).

Muitos gêneros pertencentes ao grupo das Oscillatoriales têm sido amplamente selecionados para a realização de estudos ecofisiológicos, devido principalmente a ampla distribuição em sistemas aquáticos hipereutróficos, entretanto, ainda pouco se sabe sobre a cinética de crescimento da grande maioria das espécies (Romo 1994). Dentro desse contexto, algumas espécies de *Planktothrix*, *P. agardhii* e *P. isothrix*, ganharam destaque nos últimos anos na literatura brasileira devido, principalmente, a ampla distribuição no Brasil e conseqüente interesse ecológico por formarem florações e produzirem toxinas (Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Sant'Anna *et al.* 2008, Santos 2008).

A crescente necessidade de controlar a eutrofização de corpos d'água continentais tornou importante a identificação dos fatores que limitam a taxa de crescimento das cianobactérias (Zevenboom *et al.* 1982). Para Fogg & Thake (1987), a partir de estudos experimentais de culturas uniespecíficas, é possível estudar os fatores relevantes em separado, para revelar importantes variáveis ambientais e mecanismos fisiológicos que podem influenciar o crescimento das espécies.

Segundo Bouchama & Derraz (2004), as variáveis irradiância e temperatura exercem efeito positivo sobre o crescimento de *Planktothrix agardhii*, sendo que maiores taxas de crescimento diário estão diretamente relacionadas a valores ótimos de irradiância e temperatura (Post *et al.* 1986).

As condições de luz em um determinado corpo d'água podem determinar em que medida as propriedades fisiológicas das cianobactérias trarão vantagem na competição em

relação a outros organismos do fitoplâncton podendo, desta forma, promover até mesmo sucessão das algas verdes por cianobactérias (Reynolds 1984, Robarts & Zohary 1987).

Há muitos estudos referentes às relações entre crescimento e irradiância em cianobactérias do grupo das Oscillatoriales. Van Liere & Mur (1979), por exemplo, compararam o crescimento de *Scenedesmus protuberans* e *Planktothrix agardhii* e observaram que a alga verde crescia mais rapidamente sob altas intensidades luminosas, enquanto que *P. agardhii* apresentou crescimento acelerado em baixas intensidades. Ainda ressaltam, que muitas cianobactérias são sensíveis a períodos prolongados de intensa luminosidade. Van Liere & Mur (1980) observaram também que o crescimento de *Planktothrix* é inibido quando exposto a períodos prolongados de intensidade de luz acima de $180 \text{ m } \mu\text{E}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e que exposições longas acima de $320 \text{ m } \mu\text{E}^{-2} \text{ s}^{-1}$ são letais.

Pouličková *et al.* (2004) observaram que a luz determina a posição dos tricomas do gênero *Planktothrix* na coluna d'água em virtude da escala de luz, ou seja, tricomas maiores e mais largos concentram-se na maior parte das vezes na região mais profunda dos lagos, enquanto que, os tricomas menores e mais finos permanecem na superfície.

De acordo com diversos trabalhos de cunho ecofisiológico, *Planktothrix agardhii* e *Planktothrix rubescens*, apresentam crescimento ótimo em baixas intensidades luminosas, sendo consideradas espécies de sombra, porém com adaptação fisiológica a diversas amplitudes luminosas o que as tornam amplamente competitivas (Mur *et al.* 1977, Van Liere & Mur 1979, Chorus & Bartram 1999, Hašler *et al.* 2003).

Muitos autores concordam que o aumento da temperatura provoca aumento da taxa de crescimento de muitos grupos fitoplantônicos, entretanto, tal situação acaba promovendo a substituição dos grupos fitoplantônicos, tais como clorofíceas e diatomáceas por grupos de cianobactérias favorecidas e mais adaptadas às variações das condições ecológicas (Reynolds 1984, Canale *et al.* 1976, Konopka & Brock 1978, Pechar 1995). Robarts & Zohary (1987), observaram que, de modo geral, as cianobactérias atingem taxa de crescimento ótimo em temperaturas acima de 25°C.

De acordo com Hašler *et al.* (2003), é importante salientar que muitas vezes o ótimo fisiológico para crescimento das cepas no laboratório, geralmente não condizem com o ótimo ecológico em condições naturais.

Outra questão bastante relevante diz respeito à morfologia. Hašler *et al.* (2003) avaliaram o crescimento e a variação morfológica de *Planktothrix agardhii* e *Planktothrix rubescens* em diferentes condições de luz e nutrientes em laboratório. Verificaram que *P. agardhii* apresentou maiores taxas de crescimento e que o comprimento do tricoma diminuiu com o aumento da intensidade luminosa, especialmente em relação à *Planktothrix agardhii*,

provavelmente devido a depleção de nutrientes. No entanto, a largura do tricoma não sofreu alterações importantes.

Segundo Whitton & Peat (1969), o aumento da temperatura promoveu um aumento no diâmetro dos tricomas de *Limnothrix redekei* e o comprimento mostrou-se bastante variável. Para Thompson *et al.* (1991), a mudança no volume celular de acordo com a intensidade luminosa é um fenômeno comum nas algas e cianobactérias. Outras vezes, observou-se que o encurtamento do tricoma poderia ser um mecanismo para redução da energia para manutenção das células sob condições depletivas de nutrientes e altas temperaturas e irradiâncias (Gibson 1975, Romo 1994).

Honda (2005) analisou os efeitos da luz e temperatura sobre a morfologia, crescimento e desenvolvimento de espécies de *Microcystis* e verificou mudanças na morfologia colonial, diâmetro celular e até mesmo perda de aerótopos.

Diante dos vários estudos realizados mundialmente por diversos grupos de pesquisadores sobre a ecofisiologia das cianobactérias, fica evidente a importância de se reconhecer o padrão de crescimento das mesmas sob diferentes condições ambientais, visando principalmente a remediação de situações como florações potencialmente tóxicas causadas pela eutrofização dos corpos de água.

Assim, considerando a grande importância ecológica do gênero *Planktothrix* e a inexistência de estudos *in vitro* com cepas brasileiras, o objetivo do trabalho foi estabelecer a partir das taxas de crescimento populacional, as condições de irradiância e temperatura que mais favorecem o crescimento de *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek e *Planktothrix isothrix* (Skuja) Komárek & Komarková em condições de cultura e verificar os efeitos de tais fatores abióticos sobre a morfometria das espécies selecionadas.

Material e Métodos

Cepas estudadas - Os experimentos foram realizados com duas cepas selecionadas do Banco de Cultura de Algas e Cianobactérias da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica: SPC205 (*Planktothrix agardhii*), proveniente do Lago das Garças, situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo e SPC788 (*Planktothrix isothrix*), proveniente do Lago do Parque Estadual do Tietê, São Paulo.

Manutenção das Cepas – Ambas as cepas selecionadas foram mantidas em condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), irradiância ($40\text{-}50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e fotoperíodo 14 - 10h claro-escuro (Azevedo & Sant'Anna 2003). As repicagens foram realizadas a cada 30 dias em câmara de fluxo laminar, mantidas em 3 repetições em erlenmeyers, contendo meio de cultura BG-11 líquido (tabela 1).

Tabela 1. Meio de Cultura BG-11, conforme Rippka *et al.* (1979).

Macronutrientes (mM) - Soluções estoque	Quantidade (g/L)
NaNO ₃	150,0
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	4,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5
CaCl ₂ .2H ₂ O	3,6
EDTA	0,1
Na ₂ CO ₃	2,0
Citrato férrico amoniacal	0,6
Ácido cítrico	0,6
Solução de metais traço	(*)

(*) A composição dos metais traços compreende:

Micronutrientes (μM) – Soluções estoque	Quantidade (g/L)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222
CO(NO ₃ O) ₂ .6H ₂ O	0,0494
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,790
Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,39

Estas soluções foram diluídas em 1 L de água bideionizada e armazenadas no freezer

Para preparar 1 L de meio de cultura BG-11 é preciso:

- 10 mL da solução de EDTA
- 10 mL da solução de citrato férrico amoniacal
- 1 mL da solução de metais traços
- 10 mL da solução de NaNO_3
- 10 mL da solução de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- 10 mL da solução de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 10 mL da solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 10 mL da solução de Na_2CO_3
- 1 mL da solução de Ácido cítrico

pH do meio de cultura: 7, 4

Produção de Biomassa – A produção de biomassa para determinação das curvas de crescimento e experimentos de irradiância e temperatura para as cepas SPC205 (*P. agardhii*) e SPC788 (*P. isothrix*), foram feitas de acordo com as seguintes etapas:

a) 5 mL de inóculo de cada cepa estudada foram transferidos para erlenmeyer com 50 mL de meio de cultura BG-11 (Rippka *et al.* 1979): os frascos foram mantidos sob rotação constante (70 rotações/minuto).

b) constatado o crescimento da cultura, transferiu-se 50 mL do inóculo para 500 mL de meio novo, mantendo sempre a mesma rotação mencionada. As cepas ficaram sob esta condição durante 21 dias (tempo médio para que a cultura atinja a fase exponencial de crescimento). Dessa forma, o inóculo inicial para determinação da curva foi retirado na fase exponencial (Vieira 2002).

c) dos 500 mL de inóculo (10^4 – 10^5 tricomas. mL^{-1}) obtido, 5 mL foram transferidos para erlenmeyers de 50 mL com meio de cultura (BG-11). Foi a partir desta biomassa que a determinação das curvas de crescimento e experimentos foram realizadas.

Curva de crescimento - As curvas de crescimento foram determinadas conforme metodologia descrita em Honda (2005). O crescimento foi medido através da contagem do número de tricomas.mL⁻¹, conforme Hašler *et al.* (2003).

Para determinação das curvas retirou-se 1 mL de biomassa de cada tratamento montado com três repetições cada. Em seguida foram realizadas contagens do número de tricomas a cada quatro dias em câmara de Fuchs-Rosenthal, sendo estabelecido um número máximo de 400 tricomas por contagem (caso excedesse este número, realizava-se a diluição da amostra). Foi realizada a contagem de no mínimo uma área, o que corresponde a 16 quadrados da câmara. A tabela 2 demonstra o fator de multiplicação necessário para conversão do número de tricomas contados em n° de tricomas.mL⁻¹.

Tabela 2. Fatores de conversão utilizados para determinação do n° de tricomas.mL⁻¹.

Área	n°. de tricomas.mL ⁻¹
1/16 de A	n° de tric. X 8.000 X 10
1/8 de A	n° de tric. X 4.000 X 10
1/4 de A	N° de tric. X 2.000 X 10
1/2 de A	n° de tric. X 1.000 X 10
1 A (16 +)	n° de tric. X 500 X 10
2 A (32 +)	n° de tric. X 250 X 10
4 A (64 +)	n° de tric. X 125 X 10
8 A (128 +)	n° de tric. X 62,5 X 10
16 A (256 +)	n° de tric. X 31,25 X 10

Definiu-se como fase exponencial o dia de maior crescimento celular, um dia antes do decréscimo do número de tricomas.mL⁻¹, que variou conforme a irradiância e temperatura analisadas

Após a determinação da curva de crescimento, foram calculadas as taxas de crescimento (μ ; dia⁻¹) e o tempo de duplicação (G; dia⁻¹) para cada tratamento realizado. Estas taxas foram calculadas com a média das contagens dos três frascos (n=3), segundo as fórmulas apresentadas por Fogg (1975), modificado:

$$\mu = (\ln N - \ln N_0) / (t - t_0) \quad G = (\ln 2) / \mu$$

Onde:

μ : é a velocidade específica de crescimento

G : é o tempo de duplicação celular, calculado a partir de μ .

$\ln$: é o número real positivo para o qual se deseja obter o logaritmo natural. LN é o inverso da função EXP.

N_0 : número inicial de tricomas.mL⁻¹ no tempo inicial t_0

N : número final de tricomas.mL⁻¹ no tempo t

Também foi calculado o rendimento máximo (R), medido em tricomas/mL que representa a concentração máxima de tricomas (Honda 2005), com modificações. Os resultados de R foram baseados na média das contagens de tricomas dos 3 frascos (n=3).

Com o intuito de determinar as condições de cultura que mais favorecem o crescimento das duas cepas de *Planktothrix*, observando também mudanças morfológicas ocasionadas por variações de temperatura e irradiância, os seguintes tratamentos foram realizados:

Variável Temperatura - Cada uma das cinco câmaras incubadoras utilizadas foram mantidas com as temperaturas pré-determinadas (tabela 3). Os experimentos duraram 60 dias. Nas câmaras assumiu-se como condição controle fotoperíodo de 14-10h claro-escuro, irradiância de 40-50 $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ajustada com medidor Li-COR (modelo LI-250) com sensor esférico Li-COR e temperatura de 25°C. Todas as diferentes temperaturas foram controladas por termostato e termômetro de máxima e mínima colocado no interior das câmaras incubadoras. Todos os tratamentos foram realizados com três repetições (figura 1).

Tabela 3. Diferentes temperaturas (tratamentos) utilizadas no experimento de Análise de desenvolvimento.

	Temperatura °C				
	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
SPC205	25	15	20	30	35
SPC788	25	15	20	30	35

Variável Irradiância - Para a análise da influência da irradiância sobre as duas cepas de *Planktothrix* selecionadas, utilizou-se uma câmara incubadora. Nesta câmara foram feitas diversas medidas de irradiância, determinando-se os locais com as irradiâncias pré-determinadas (tabela 4). As irradiâncias foram ajustadas com medidor Li-COR (modelo LI-250) com sensor esférico Li- COR. Na câmara foi definido como condição controle o fotoperíodo de 14-10h claro-escuro, irradiância de 40-50 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperatura de 25°C. Todos os tratamentos foram realizados com três repetições (figura 1).

Tabela 4. Diferentes irradiâncias (tratamentos) utilizadas no experimento de Análise de desenvolvimento.

	Irradiância $\mu\text{mol.fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$			
	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
SPC205	40-50	10-20	90-100	150-160
SPC788	40-50	10-20	90-100	150-160

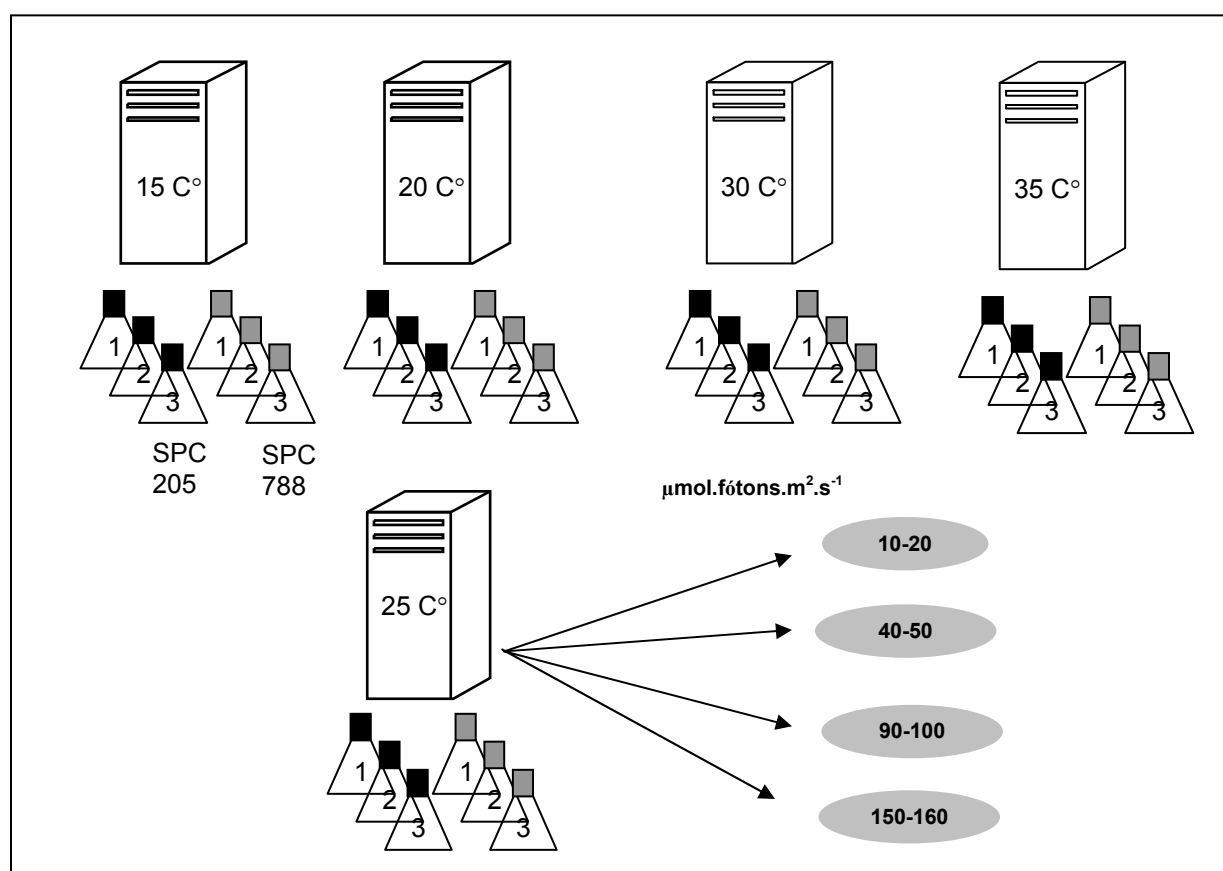


Figura 1. Esquema mostrando a montagem dos experimentos com as cepas SPC205 e SPC788.

Análise Morfométrica - Após a definição das curvas de crescimento repetiu-se o procedimento para obtenção de biomassa em fase exponencial para cada uma das cepas, e em seguida os experimentos foram montados nas câmaras com os mesmos tratamentos: 5 temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C) e 4 irradiâncias (10-20, 40-50, 90-100 e 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}.s^{-1}$), com três repetições para cada tratamento.

Retirou-se 1 mL de biomassa de cada frasco no dia de maior crescimento, dia anterior ao primeiro decréscimo de crescimento. O material foi armazenado em frasco de vidro de 50 mL e preservado com formol a 4%, para posterior análise.

O estudo morfológico foi realizado ao microscópio óptico com câmara clara, ocular de medição e câmara fotográfica acoplados ao equipamento e 20-30 medidas de cada característica métrica de interesse taxonômico foram registradas. Todas as diferentes fases de crescimento foram descritas e ilustradas com fotografias.

Análise Estatística - Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey. Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se o programa Statistica (versão 7.0).

Resultados

Curvas de crescimento de *Planktothrix agardhii* SPC205 em condições de cultura (controle), temperatura e irradiância.

Foram realizadas 8 curvas de crescimento (figuras 2 e 3) referentes à espécie *P. agardhii* (SPC205), sob as seguintes condições:

Varição da Irradiância

- Temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (controle)
- Temperatura 25° C e irradiância 10-20 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 1)
- Temperatura 25° C e irradiância 90-100 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 2)
- Temperatura 25° C e irradiância 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 3)

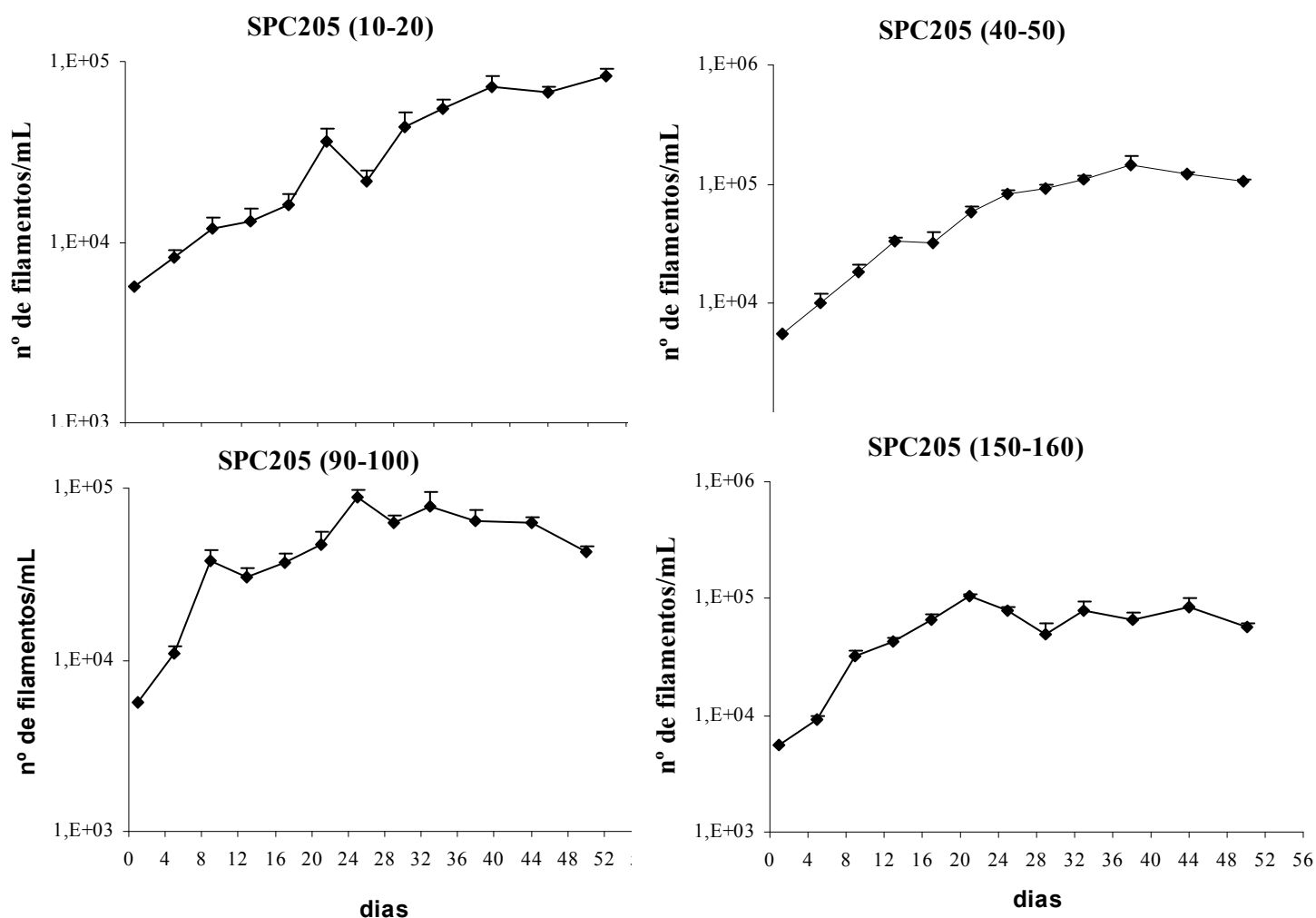


Figura 2. Curvas de crescimento da espécie *Planktothrix agardhii* (SPC205), nas condições controle e tratamentos 1-3. Valores médios (n=3), barras indicam o desvio padrão.

Varição da Temperatura

- Temperatura 15° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 4)
- Temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (controle)
- Temperatura 20° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 5)
- Temperatura 30° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 6)
- Temperatura 35° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 7)

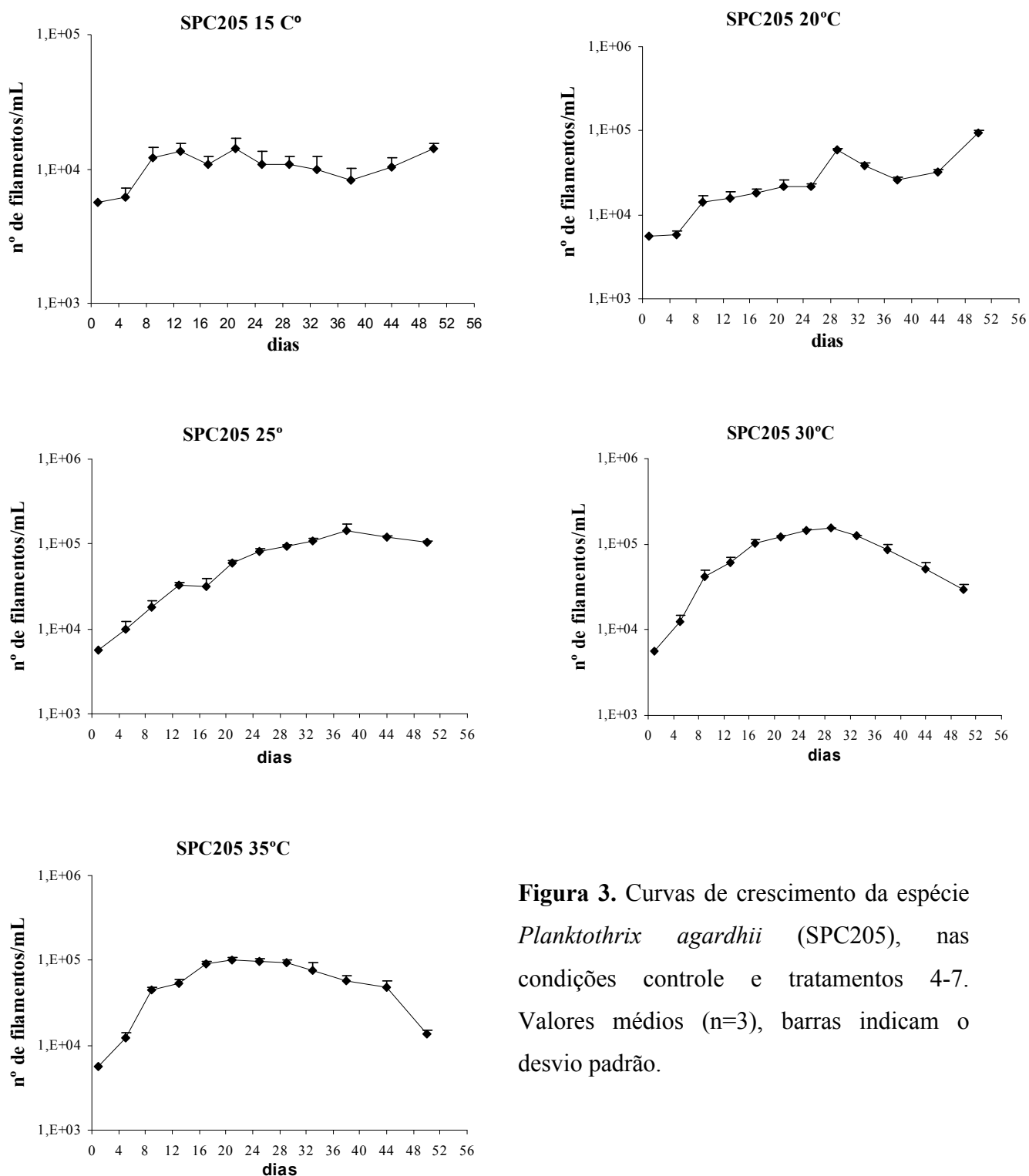


Figura 3. Curvas de crescimento da espécie *Planktothrix agardhii* (SPC205), nas condições controle e tratamentos 4-7. Valores médios (n=3), barras indicam o desvio padrão.

Curvas de crescimento de *Planktothrix isothrix* SPC788 em condições de cultura (controle), temperatura e irradiância.

Foram realizadas 8 curvas de crescimento (figuras 4 e 5) referentes à espécie *P. isothrix* (SPC788), sob as seguintes condições:

Variação da Irradiância

- Temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (controle)
- Temperatura 25° C e irradiância 10-20 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (tratamento 1)
- Temperatura 25° C e irradiância 90-100 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (tratamento 2)
- Temperatura 25° C e irradiância 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (tratamento 3)

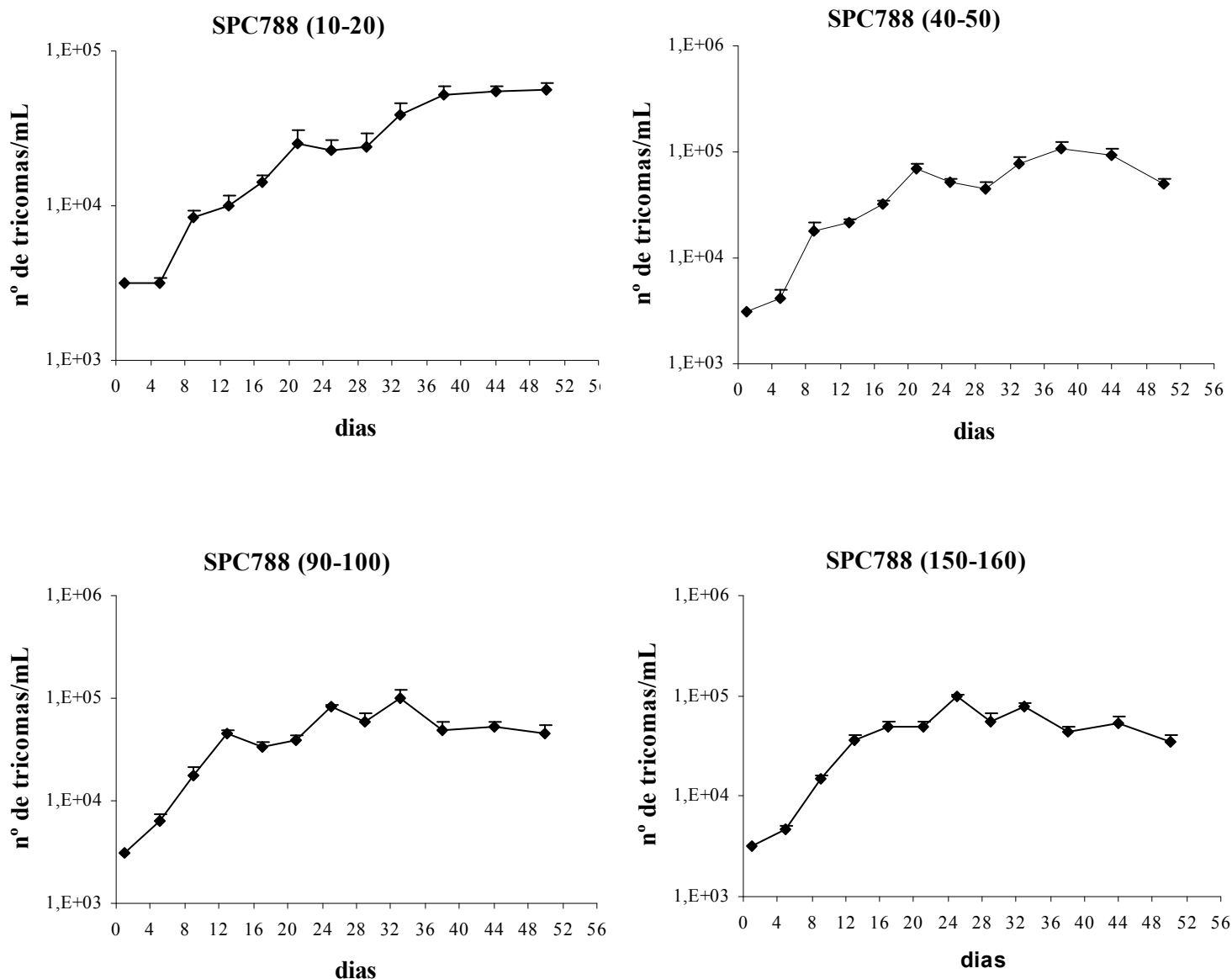


Figura 4. Curvas de crescimento da espécie *Planktothrix isothrix* (SPC788), nas condições controle e tratamentos 1-3. Valores médios (n=3), barras indicam o desvio padrão.

Varição da Temperatura

- Temperatura 15° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 4)
- Temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (controle)
- Temperatura 20° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 5)
- Temperatura 30° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 6)
- Temperatura 35° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tratamento 7)

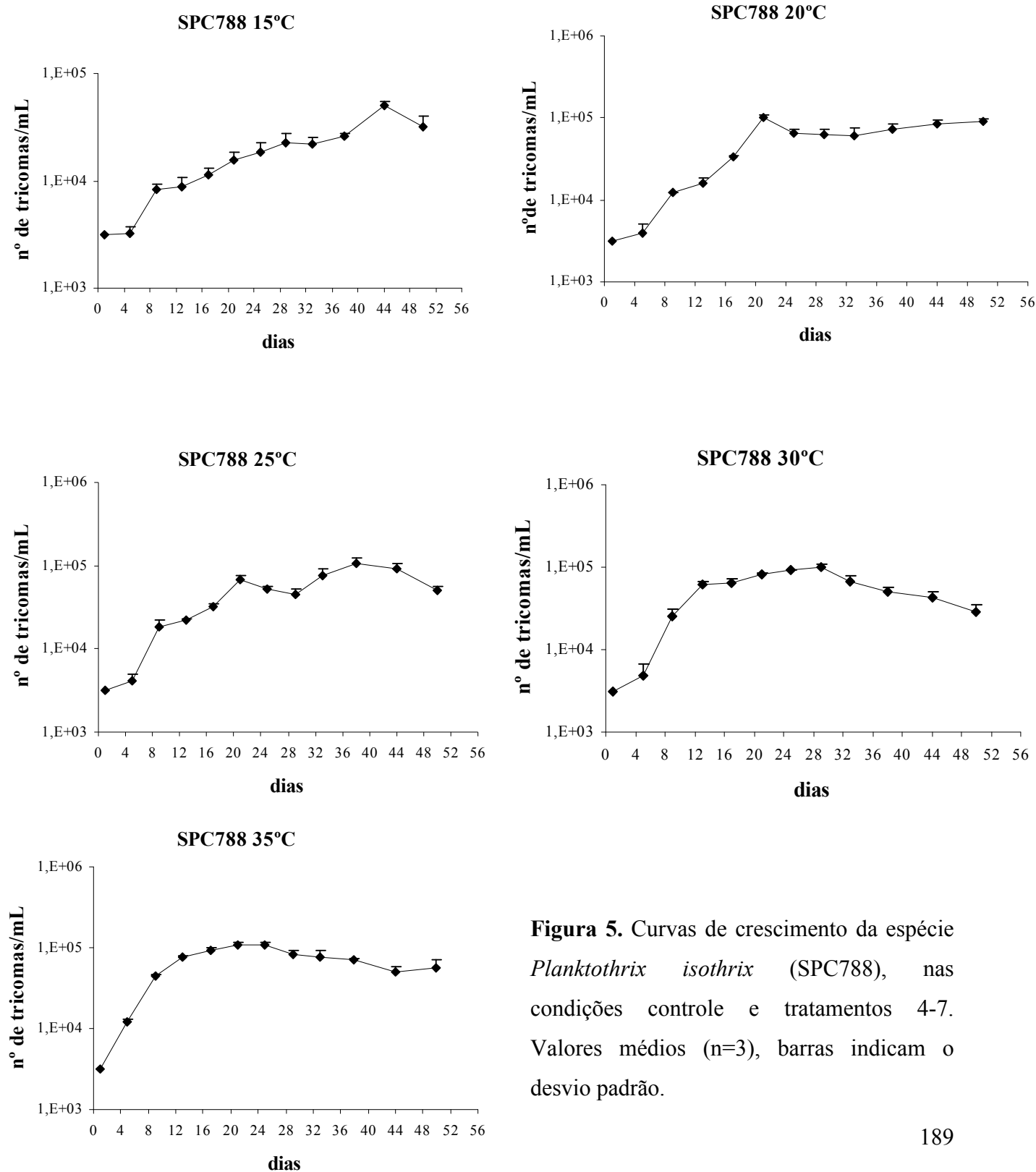


Figura 5. Curvas de crescimento da espécie *Planktothrix isothrix* (SPC788), nas condições controle e tratamentos 4-7. Valores médios (n=3), barras indicam o desvio padrão.

Determinação e análise da taxa de crescimento, tempo de duplicação e rendimento máximo

A seguir são observados todos os resultados referentes a taxa de crescimento ao dia, tempo de duplicação diária da população e rendimento máximo em número de tricomas, para ambas as cepas estudadas (SPC205 e SPC788), na condição controle e diferentes condições de temperatura e irradiância (Tabelas 3 e 4), a partir de suas curvas de crescimento (Figuras 2-5).

Assim, de acordo com a figura 6A, observamos que a cepa SPC205 apresentou maior taxa de crescimento à temperatura de 25 °C (controle) ($\mu=0,2448 \text{ dia}^{-1}$), seguida pela temperatura de 20 °C ($\mu=0,2362 \text{ dia}^{-1}$). Já a temperatura de 35 °C foi a que apresentou menor taxa de crescimento ($\mu=0,0732 \text{ dia}^{-1}$), seguida pela temperatura de 15 °C ($\mu=0,0763 \text{ dia}^{-1}$). É possível visualizar na figura 6A que as temperaturas que apresentaram as maiores taxas de crescimento ao dia (25 °C e 20 °C), são aquelas com menor tempo de duplicação, enquanto as menores taxas de crescimento ao dia (35 °C e 15 °C) apresentam os maiores tempo de duplicação, ou seja, para o experimento com variação de temperatura, a taxa de crescimento foi inversamente proporcional ao tempo de duplicação. O experimento à temperatura de 30 °C apresentou o maior rendimento em número de tricomas.mL⁻¹, seguido pela temperatura de 25 °C (controle), e a temperatura de 15 °C apresentou o menor rendimento (figura 6A).

Na figura 6B, observamos que a cepa SPC205 apresentou maior taxa de crescimento sob a irradiância 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ (controle) ($\mu= 0,2448 \text{ dia}^{-1}$) e menor tempo de duplicação (2,8 dia⁻¹). Já a irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi a que apresentou menor taxa de crescimento ($\mu=0,1559 \text{ dia}^{-1}$) e maior tempo de duplicação (4,4 dia⁻¹). Para a cepa SPC205 a taxa de crescimento sob diferentes irradiâncias foi inversamente proporcional ao tempo de duplicação. O experimento sob a irradiância 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ apresentou o maior rendimento em número de tricomas.mL⁻¹ para a cepa SPC205, e a irradiância 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ apresentou o menor rendimento (Figura 7A).

Conforme figura 7A, observamos que a cepa SPC788 apresentou na temperatura de 20 °C, a maior taxa de crescimento ($\mu=0,2806 \text{ dia}^{-1}$) e menor tempo de duplicação (2,5 dia⁻¹). A temperatura de 30 °C foi a que apresentou menor taxa de crescimento ($\mu=0,1861 \text{ dia}^{-1}$) e maior tempo de duplicação (3,7 dia⁻¹). Para a cepa SPC788 a taxa de crescimento sob diferentes temperaturas também foi inversamente proporcional ao tempo de duplicação. O experimento à temperatura de 35 °C apresentou o maior rendimento em número de tricomas.mL⁻¹, porém com exceção da temperatura de 15 °C que apresentou o menor

rendimento máximo, todos os demais tratamentos apresentaram rendimento máximo em número de tricomas.mL⁻¹ bastante semelhante (figura 7A).

Para a cepa SPC788 a maior taxa de crescimento ocorreu sob a irradiância 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ ($\mu=0,2408 \text{ dia}^{-1}$), seguida pela irradiância 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ (controle) ($\mu=0,2319 \text{ dia}^{-1}$). A menor taxa de crescimento ocorreu sob a irradiância 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ ($\mu=0,1998 \text{ dia}^{-1}$). O tempo de duplicação da população mostrou-se diretamente relacionado a taxa de crescimento e inversamente proporcional, ou seja, os tratamentos que registraram as maiores taxas de crescimento apresentaram o menor tempo de duplicação, e aqueles com menores taxas de crescimento registraram maior tempo de duplicação. O experimento sob a irradiância 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ apresentou o maior rendimento em número de tricomas para a cepa SPC788, e a irradiância 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ apresentou o menor rendimento (Figura 7B).

Quando comparamos as taxas de crescimento, tempo de duplicação da população e rendimento máximo entre as duas cepas estudadas (SPC205 e SPC788), que por sua vez, correspondem a duas espécies diferentes, pode-se observar, de um modo geral, que a cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*) exibe as maiores taxas de crescimento e os menores tempos de duplicação tanto para o tratamento com variação da temperatura quanto para o tratamento com variação de irradiância (figura 8A e B).

Observa-se que a cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*), também apresenta rendimento máximo com pouca amplitude de variação entre os tratamentos para as duas condições experimentais: temperatura e irradiância. Enquanto que a cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*) apresenta crescimento do rendimento máximo ao longo das diferentes temperaturas, com uma queda acentuada à temperatura de 35°C, e uma queda brusca quando exposta a uma intensidade luminosa mais elevada (90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (figura 8A e B).

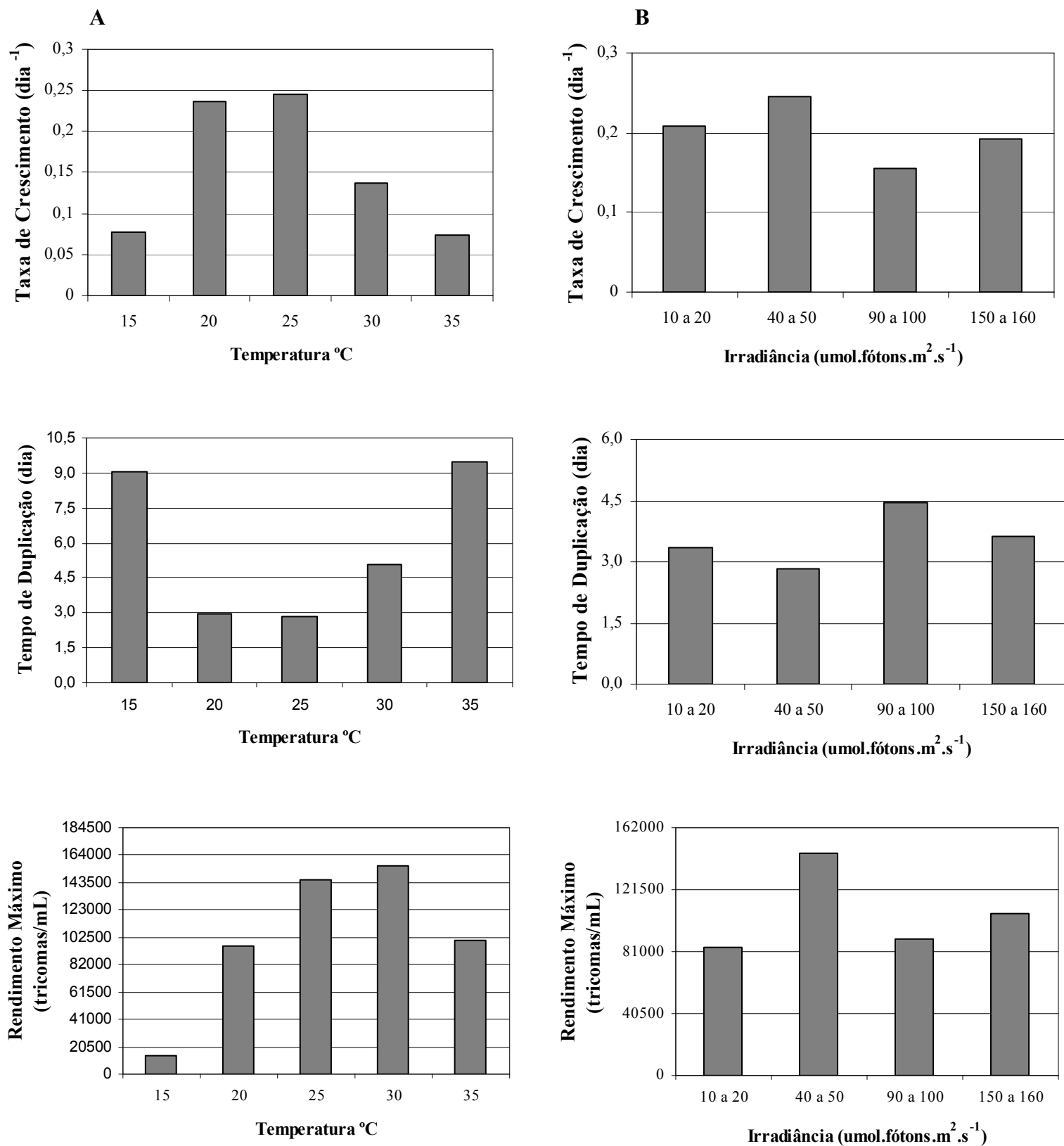


Figura 6. Taxa de crescimento, tempo de duplicação e rendimento máximo para a cepa SPC205, nos tratamentos temperatura (A) e irradiância (B).

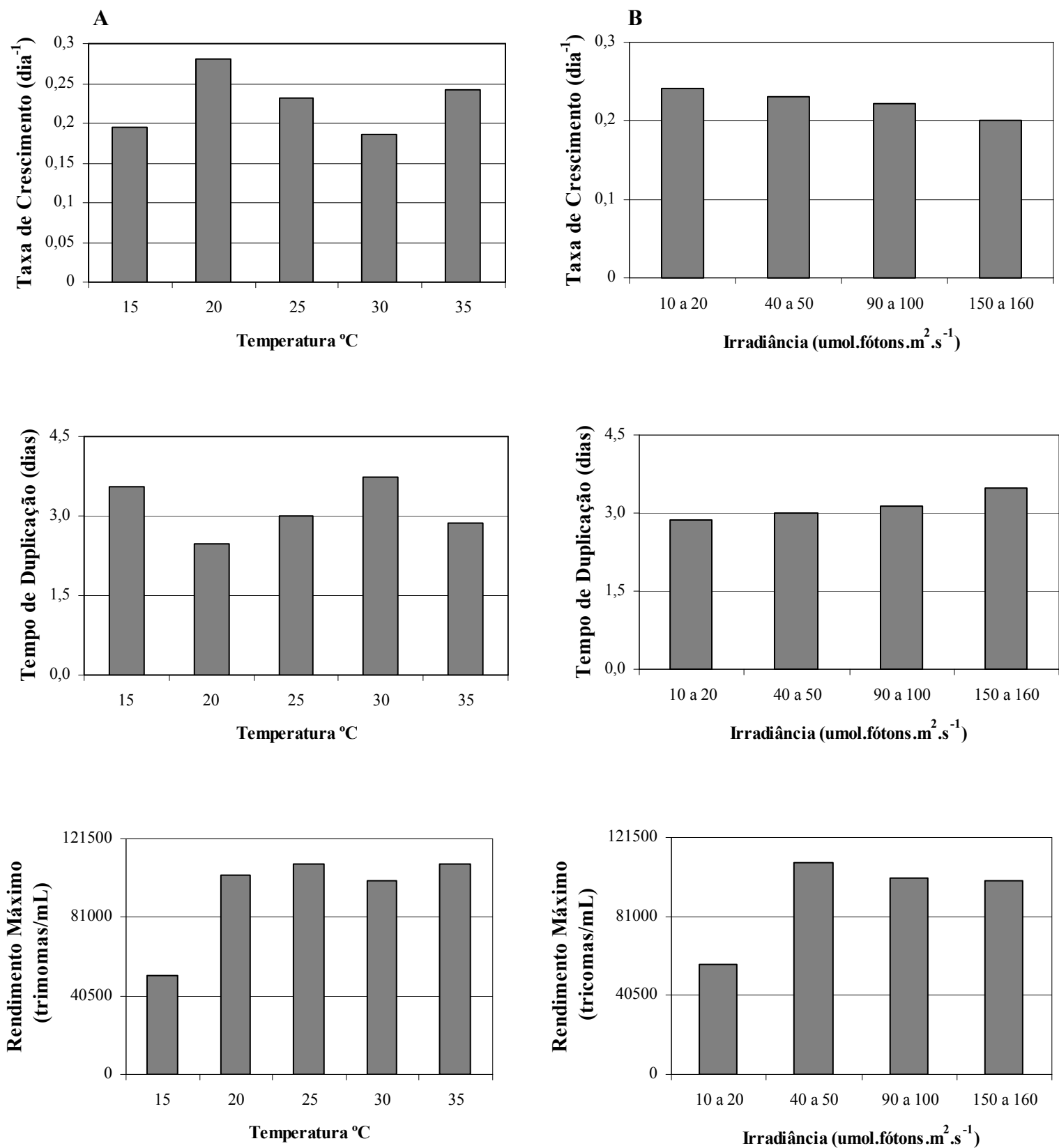


Figura 7. Taxa de crescimento, tempo de duplicação e rendimento máximo para a cepa SPC788, nos tratamentos temperatura (A) e irradiância (B).

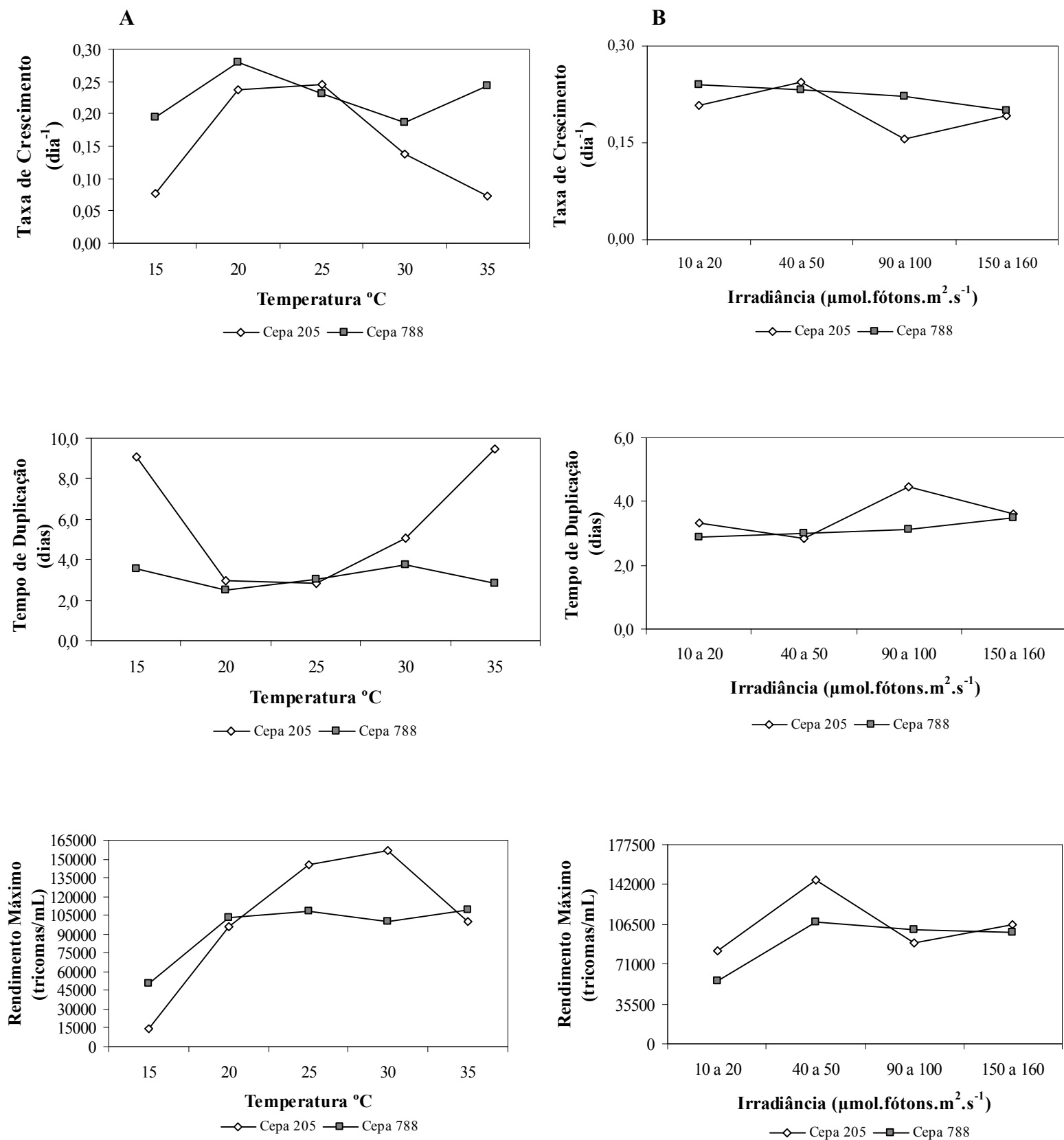


Figura 8. Taxa de crescimento, tempo de duplicação e rendimento máximo para as cepas SPC205 e SPC788, nos tratamentos temperatura (A) e irradiância (B).

Determinação e análise do dia de crescimento máximo para cada um dos tratamentos sob variação de temperatura e irradiância

Determinou-se, a partir das curvas de crescimento para cada um dos tratamentos sob diferentes condições de temperatura e irradiância, o dia de maior crescimento populacional correspondente ao final da fase exponencial, que por sua vez, corresponde ao dia anterior a primeira queda no número de tricomas.mL⁻¹, dentro de cada curva de crescimento para cada um dos tratamentos (Figuras 2-4). Deste modo, todas as análises subsequentes quanto ao desenvolvimento das cepas SPC205 e SPC788 foram realizadas a partir dessas datas pré-estabelecidas, que variaram para cada cepa e para cada tratamento (Tabelas 3 e 4).

A partir da figura 11, podemos observar o aspecto geral das culturas para as cepas SPC205 e SPC788, no dia de maior crescimento populacional, anterior ao primeiro decréscimo, para o tratamento controle e demais tratamentos sob variação de temperatura e irradiância (Tabelas 3 e 4).

SPC205

SPC788

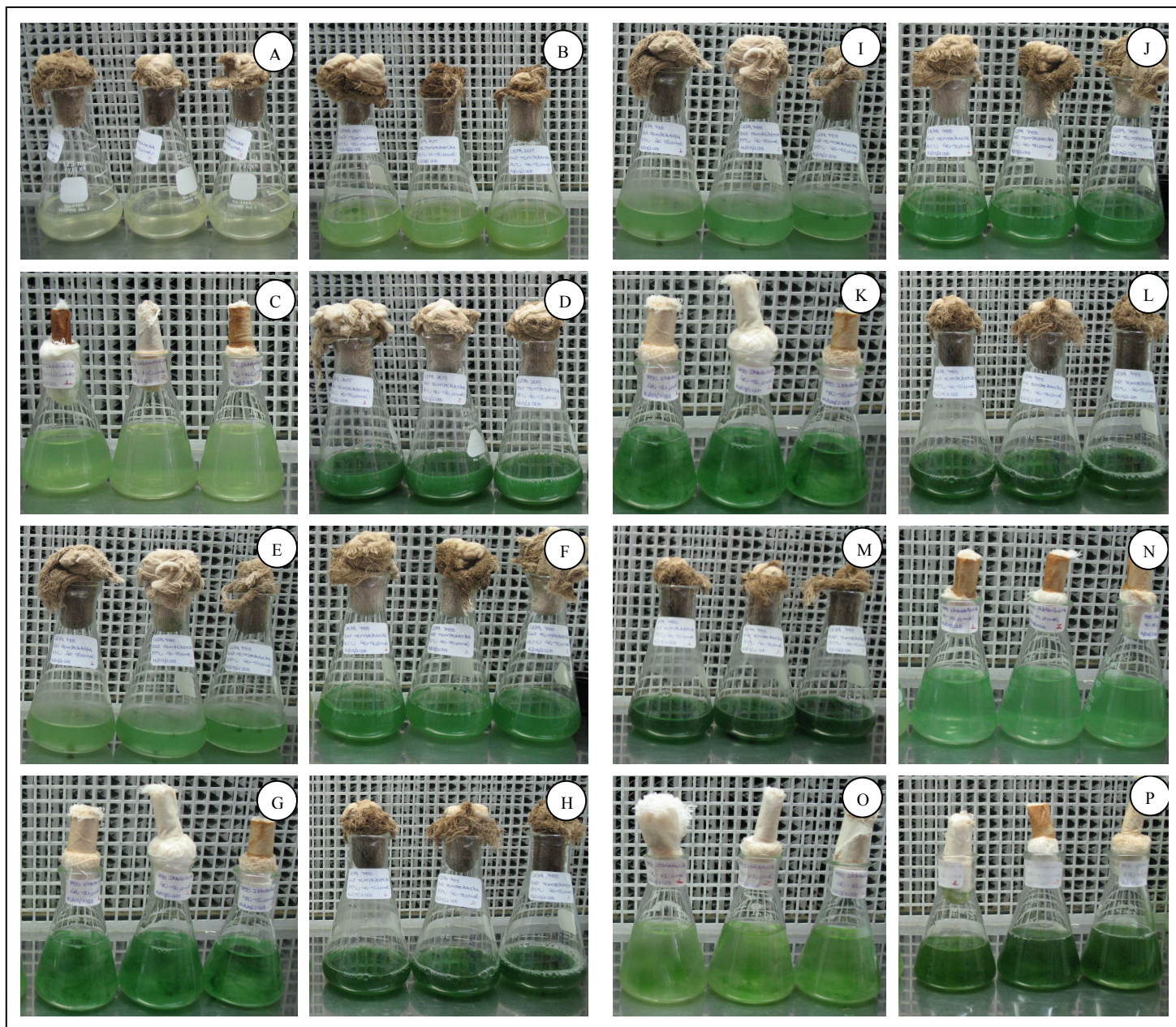


Figura 9. Aspecto geral das culturas da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*) e cepa SPC788 (*Planktothrix isotrix*), para o tratamento controle e tratamentos de variação de temperatura (°C) e irradiação ($\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$). **SPC205 (A-H):** A=15°C, B=20°C, C=25°/40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, D=30°C, E=35°C, F=10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, G=90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, H=150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$; **SPC788 (I-P):** I=15°C, J=20°C, K=25°/40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, L=30°C, M=35°C, N=10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, O=90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, P=150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$.

Análise Estatística

As figuras 10 e 11 apresentam os resultados estatísticos a partir da análise de variância (ANOVA) de um fator, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

De acordo com os resultados apresentados, verificou-se, que as variáveis temperatura e irradiância apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o número de tricomas.mL⁻¹ tanto para o tratamento controle: Temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, quanto para os demais tratamentos: Temperatura (15, 20, 30 e 35°C) e Irradiância (10-20, 90-100 e 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)

Verificou-se, conforme figura 10, que para cepa SPC205 o número de tricomas.mL⁻¹ foi significativamente diferente ($p < 0,05$) para cada um dos tratamentos com variação de temperatura (15, 20, 25 (controle), 30 e 35°C), no dia de maior crescimento populacional, anterior ao primeiro decréscimo. Já para a cepa SPC788, houve diferenças significativas quanto ao número de tricomas.mL⁻¹ apenas para os tratamentos sob as temperaturas de 15 e 25 °C.

Em relação ao tratamento sob diferentes irradiâncias, observou-se que para a cepa SPC205 a diferença em relação ao número de tricomas.mL⁻¹ no dia de maior crescimento populacional, anterior ao primeiro decréscimo, ocorreram nos experimentos sob as irradiâncias de 90-100 $\mu\text{mol.f\acute{o}tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e 150-160 $\mu\text{mol.f\acute{o}tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Para cepa SPC788 o número de tricomas.mL⁻¹ foi significativamente diferente ($p < 0,05$) para cada um dos tratamentos com variação de irradiância (10-20, 40-50 (controle), 90-100 e 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (Figura 11).

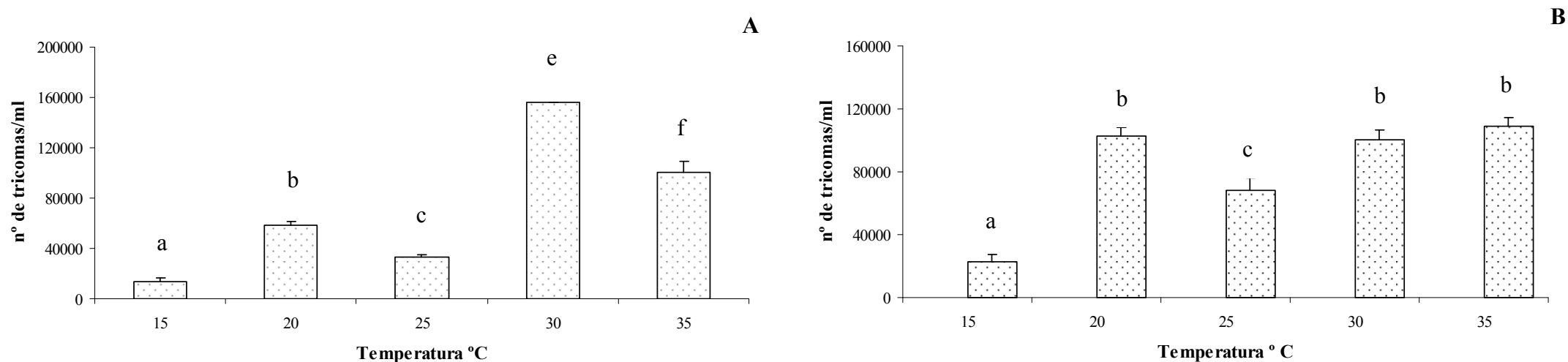


Figura 10. Número de tricomas/mL para as cepas SPC205 (A) e SPC788 (B), considerando o dia de maior crescimento celular, nas quatro diferentes temperaturas (n=3). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único (p = 5%).

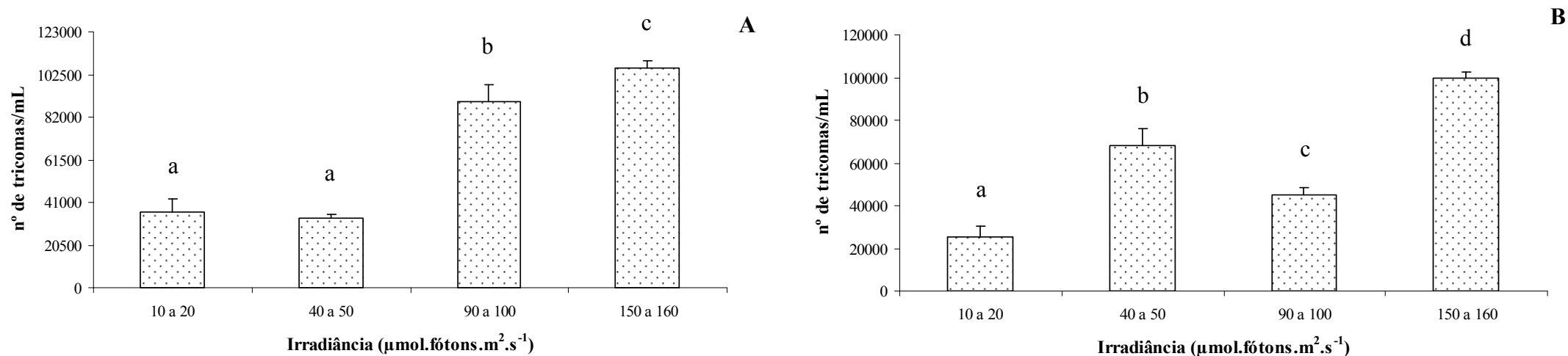


Figura 11. Número de tricomas/mL para as cepas SPC205 (A) e SPC788 (B), considerando o dia de maior crescimento celular, nas quatro diferentes irradiancias (n=3). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único (p = 5%).

Análise morfométrica e de desenvolvimento da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*) mantida em condição controle e submetida a diferentes temperaturas e irradiâncias

As figuras 12 e 13 mostram a média±desvio padrão e mínimo- máximo para os resultados morfométricos quanto às características largura do tricoma e comprimento celular para a cepa SPC205 nas condições controle, com variação da temperatura e irradiância (Tabelas 3 e 4).

Podemos observar que para a característica largura do tricoma o valor médio à temperatura de 30 °C esteve bem próximo à condição controle (25 °C), sendo que sob a temperatura de 20 °C foi observado o maior valor médio, amplitude de variação e desvio padrão para largura do tricoma. O valor mínimo foi registrado à temperatura de 30 °C e o máximo à temperatura de 35 °C (Figura 12).

Em relação a característica “comprimento celular” observamos novamente um valor médio à temperatura de 30 °C bastante próximo a condição controle (25 °C). Sob a temperatura de 20 °C foi observado à maior amplitude de variação e desvio padrão. O maior valor médio para a característica comprimento celular, foi registrado na temperatura de 35 °C, e o menor à temperatura de 15 °C (Figura 12).

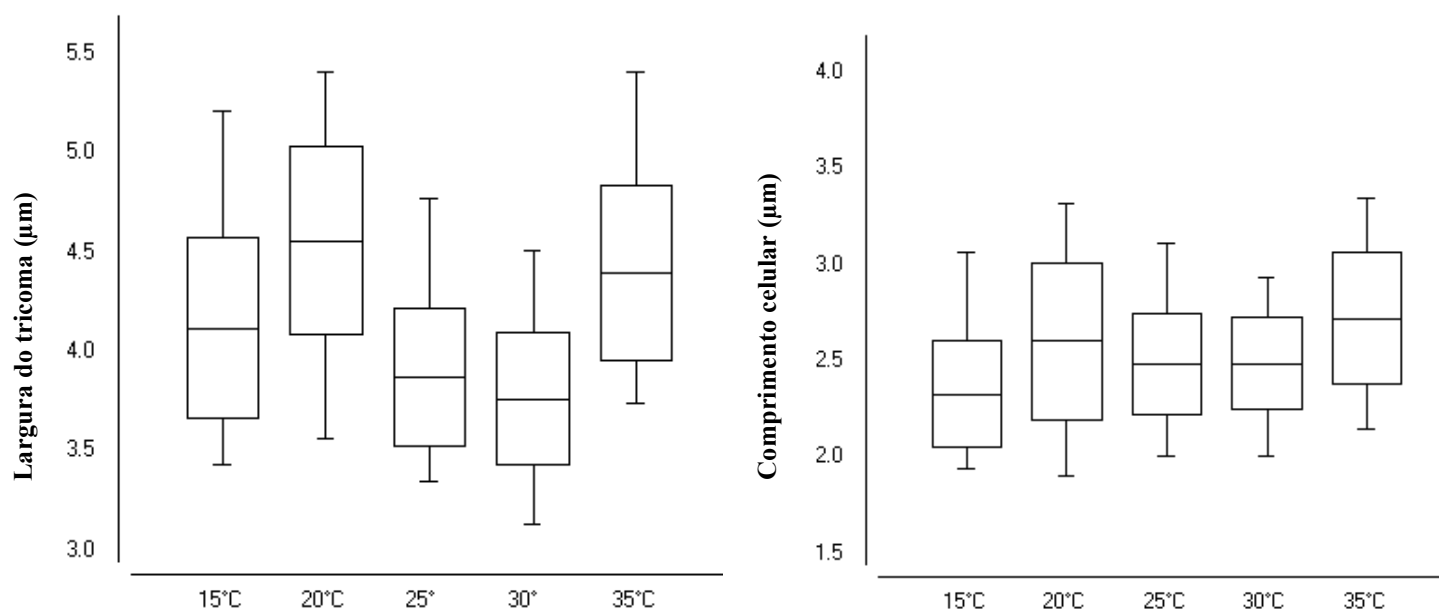


Figura 12. Variação da largura do tricoma e comprimento celular (μm) da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos tratamentos com variação da temperatura. Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. (n=30)

Verificou-se, conforme figura 13, que em relação a variável irradiância a característica largura do tricoma apresentou valor médio muito próximo entre condição controle e irradiâncias de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ e 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, com exceção à irradiância de 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ que registrou o menor valor médio. Sob a irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ observou-se a maior amplitude de variação e desvio padrão para largura do tricoma. Entretanto, o valor mínimo e máximo foi registrado sob irradiância controle (40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Figura 13)

Quanto a característica “comprimento celular” foi observada bastante similaridade quanto ao valor médio registrado entre as irradiâncias controle (40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) e a maior irradiância experimentada (150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Figura 13). Sob a condição 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi observada a maior amplitude de variação e desvio padrão. O menor valor médio para a característica comprimento celular, foi registrado sob a condição de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ 35 °C (Figura 13).

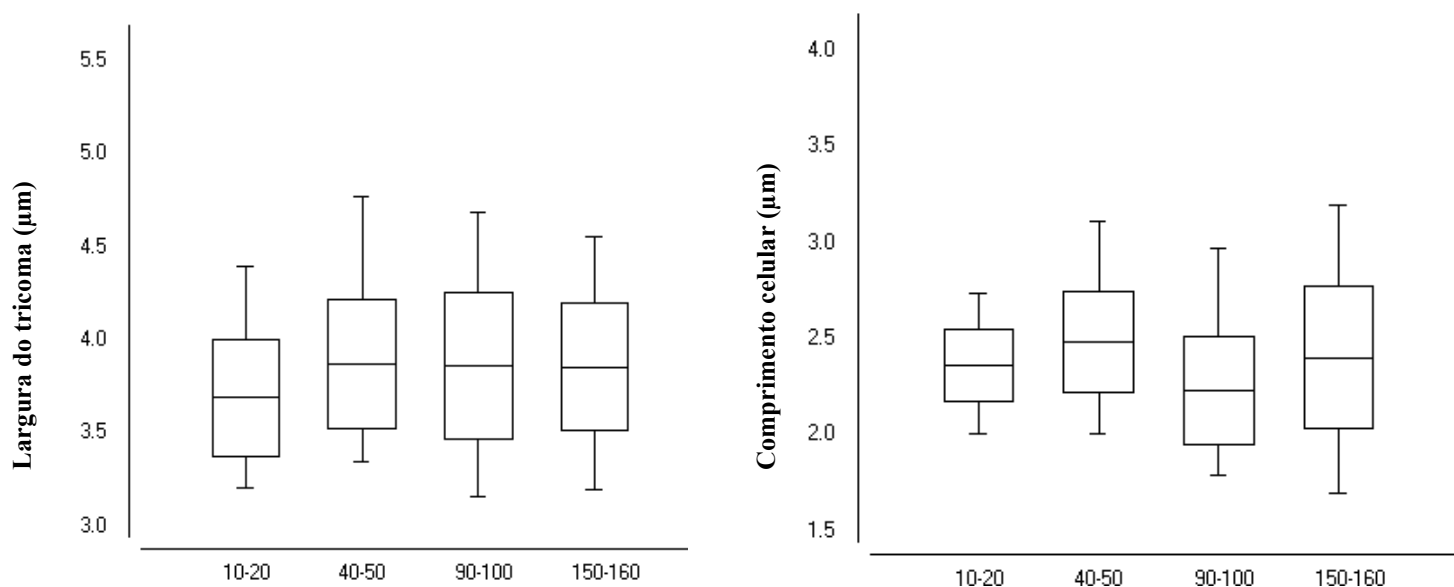


Figura 13. Variação da largura do tricoma e comprimento celular (μm) da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos tratamentos com variação da temperatura. Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. (n=30)

As tabelas 5 e 6 apresentam as características morfométricas observadas a partir do material coletado no dia de maior crescimento populacional, anterior ao seu primeiro decréscimo, para a condição controle: temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e demais tratamentos: temperatura (15, 20, 30 e 35°C) e irradiância (10-20, 90-100 e 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (Tabelas 3 e 4).

Tabela 5. Características morfológicas observadas no controle e nos demais tratamentos com variação de temperatura para a cepa SPC205.

*Constrições: - (ausente), + (presente).

Temperatura °C	Tricoma: forma e coloração	Tricoma: largura	Ápice	*Constrição	Célula intermediária: forma e comprimento	Célula apical
25	Geralmente longo, reto ou irregular; verde azulado, verde claro; parede irregular	3,35-4,77 µm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, as vezes isodiamétricas, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,01-2,93 µm	Arredondada, cônica-arredondada, atenuada, espessada, capitada
15	Longo ou curto, reto ou torto; verde azulado à verde claro; parede irregular	3,43–5,21 µm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,94–3,07 µm	Arredondada, alongada, sub-cilíndrica, capitada, truncada, atenuada, espessada
20	Longo ou curto, reto ou torto; verde azulado; poucas vezes com parede irregular	3,46-5,41 µm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,90-3,32 µm	Arredondada, alongada, sub-cilíndrica, capitada, atenuada
30	Longo ou curto, geralmente reto; verde azulado; poucas vezes com parede irregular	3,13-4,51 µm	Atenuado ou não	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,01-2,93 µm	Arredondada, atenuada, espessada, capitada
35	Longo ou curto, geralmente reto; verde azulado; poucas vezes com parede irregular	3,74-5,41 µm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,15-3,35 µm	Arredondada, sub-cilíndrica, atenuada, espessada, raramente com caliptra

Tabela 6. Características morfológicas observadas no controle e nos demais tratamentos com variação de irradiância para a cepa SPC205.

*Constrições: - (ausente), + (presente).

Irradiância $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$	Tricoma: forma e coloração	Tricoma: largura	Ápice	*Constrição	Célula intermediária: forma e comprimento	Célula apical
40-50	Geralmente longo, reto ou irregular; verde azulado, verde claro; parede irregular	3,35-4,77 μm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, as vezes isodiamétrica, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,01-2,93 μm	Arredondada, cônica-arredondada, atenuada, espessada, capitada
10-20	Longo ou curto, reto; verde azulado à verde claro	3,21-4,40 μm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo pouco preservado, com poucos aerótopos; 2,01-2,74 μm	Arredondada, sub-cilíndrica, arredondada, levemente espessada
90-100	Longo ou curto, reto ou torto; verde azulado; as vezes com parede irregular, raramente com bainha inconspícua	3,16-4,69 μm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo preservado, as vezes com poucos aerótopos; 2,01-3,11 μm	Arredondada, atenuada, espessada, alongada, levemente capitada
150-160	Longo ou curto, reto ou torto; verde azulado; poucas vezes com parede irregular	3,21-4,46 μm	Atenuado ou não	-	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,73-3,17 μm	Arredondada, capitada, truncada, atenuada, espessada

Análise Estatística

As tabelas 7-10 apresentam os resultados estatísticos a partir da análise de variância (ANOVA) de um fator, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey, para as variáveis experimentadas: Temperatura e Irradiância, nos tratamentos estabelecidos, conforme tabelas 3 e 4.

De acordo com os resultados apresentados, verificou-se que a variável temperatura tem efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a largura dos tricomas e comprimento celular para a cepa SPC205 (Tabelas 7 e 8), ou seja, tais características morfométricas são significativamente diferentes entre si, nas temperaturas testadas (Tabela 3 e 4).

Conforme tabelas 9 e 10, observou-se que estatisticamente, a variável irradiância só tem efeito significativo sobre a característica morfométrica comprimento celular. Assim, para a característica largura do tricoma a variação da irradiância não resultou em diferenças significativas.

Tabela 7. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para largura do tricoma da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos cinco tratamentos com variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (Tabela 3). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC205	15	20	25	30	35
15		+	—	+	—
20	+		+	+	—
25	—	+			+
30	+	+	—		+
35	—	—	+	+	

Tabela 8. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para comprimento celular da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos cinco tratamentos com variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (Tabela 3). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC205	15	20	25	30	35
15		+	—	—	+
20	+		—	—	—
25	—	—		—	+
30	—	—	—		+
35	+	—	+	+	

Tabela 9. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para largura do tricoma da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos quatro tratamentos com variação da irradiância ($\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Tabela 4). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC205	10 – 20	40 – 50	90 – 100	150 – 160
10 – 20		—	—	—
40 – 50	—		—	—
90 – 100	—	—		—
150 – 160	—	—	—	

Tabela 10. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para comprimento celular da cepa SPC205 (*Planktothrix agardhii*), nos quatro tratamentos com variação da irradiância ($\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Tabela 4). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC205	10 – 20	40 – 50	90 – 100	150 – 160
10 – 20		—	—	—
40 – 50	—		+	—
90 – 100	—	+		—
150 – 160	—	—	—	

Análise morfométrica e de desenvolvimento da cepa SPC788 (*Planktorhix isothrix*) mantidas em condição controle e submetidas a diferentes temperaturas e irradiâncias

As figuras 14 e 15 mostram a média±desvio padrão e mínimo-máximo para os resultados morfométricos quanto às características largura do tricoma e comprimento celular para a cepa SPC788 nas condições controle, com variação da temperatura e irradiância (Tabelas 3 e 4).

Observa-se que para a característica largura do tricoma o valor médio à temperatura de 30 °C foi à condição que mais se aproximou do valor médio sob temperatura controle (25 °C). Sob a temperatura de 15 °C registrou-se o maior desvio padrão, e à temperatura de 20 °C a maior amplitude de variação. O valor mínimo foi registrado à temperatura de 25 °C (controle) e o máximo à temperatura de 20 °C (Figura 14).

Em relação a característica “comprimento celular”, sob a temperatura de 35 °C, registrou-se o valor médio mais próximo da condição controle (25 °C). Sob a temperatura de 20 °C foi observado o maior valor médio e amplitude de variação para a característica morfométrica em questão. O valor mínimo foi registrado à temperatura de 35 °C e o máximo à temperatura de 20 °C (Figura 14).

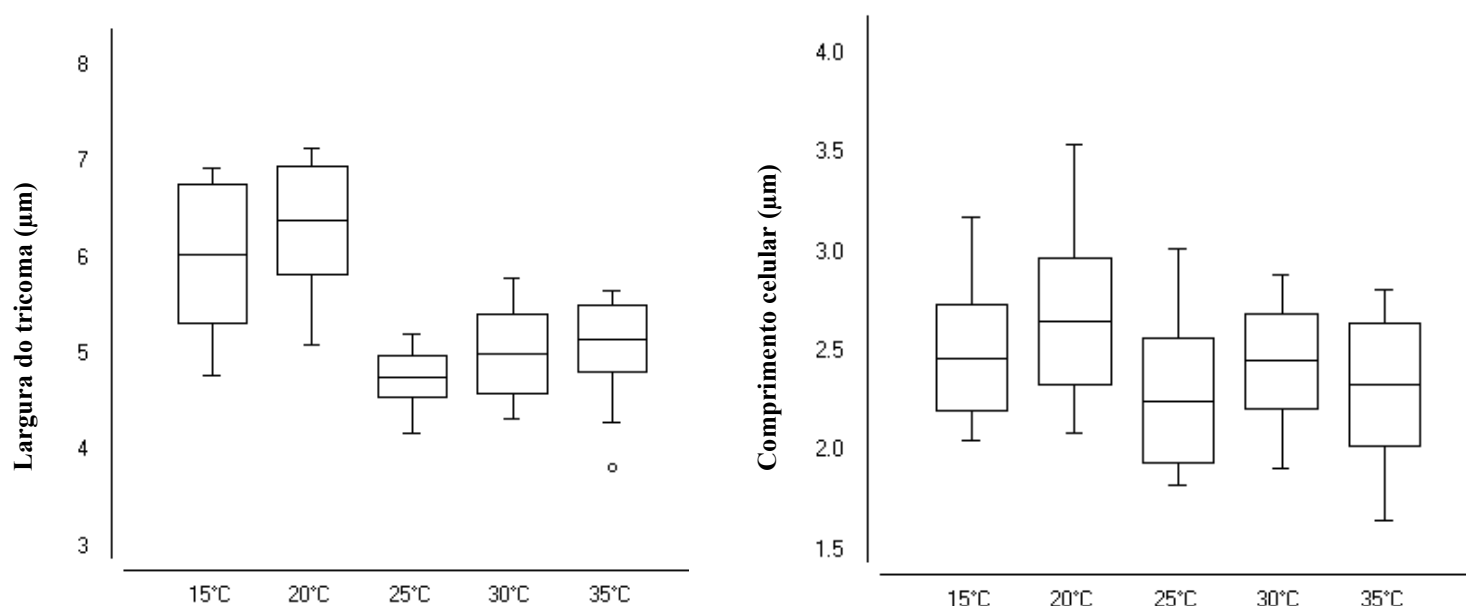


Figura 14. Variação da largura do tricoma e comprimento celular (µm) da cepa SPC788 (*Planktothrix agardhii*), nos tratamentos com variação da temperatura. Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. (n=30)

Em relação à variável irradiância, observamos conforme figura 15, que para a característica largura do tricoma o valor médio foi próximo entre condição controle e irradiância de 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, que por sua vez, registrou a maior amplitude de variação. Sob a irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi observado o maior desvio padrão para largura do tricoma. O valor mínimo foi registrado sob irradiância de 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ e o máximo sob irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ (Figura 15)

Quanto a característica “comprimento celular” foi observado bastante similaridade quanto ao valor médio registrado, entre as irradiâncias controle (40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) e a irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Figura 15). Sob a condição 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi observada a maior amplitude de variação, e o menor desvio padrão foi registrado sob a irradiância de 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$. O valor mínimo foi registrado sob irradiância de 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ e o máximo sob irradiância de 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ (Figura 15).

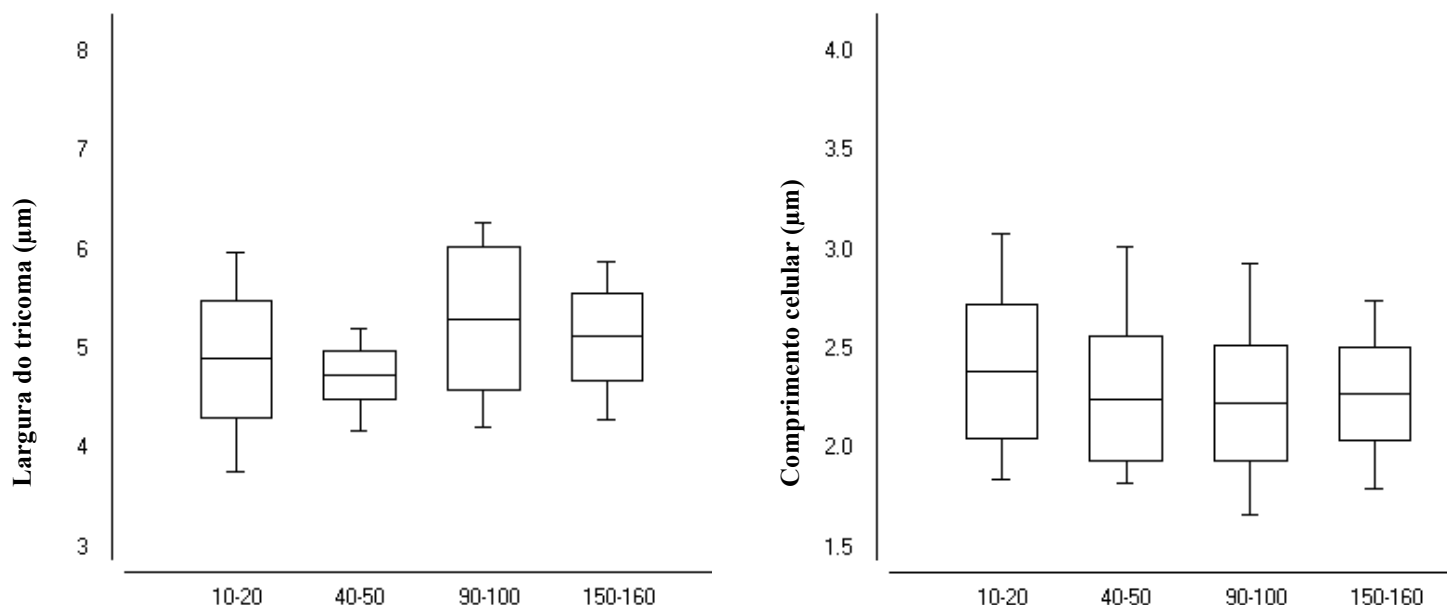


Figura 15. Variação da largura do tricoma e comprimento celular (μm) da cepa SPC788 (*Planktothri isoethrix*), nos tratamentos com variação da irradiância. Média mais desvio padrão (caixa) e mínimo e máximo (barra) – “Whisker Box-Plot”. (n=30)

As tabelas 11 e 12 apresentam as características morfométricas observadas a partir do material coletado no dia de maior crescimento populacional, anterior ao seu primeiro decréscimo, para a condição controle: temperatura 25° C e irradiância 40-50 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e demais tratamentos: temperatura (15, 20, 30 e 35°C) e irradiância (10-20, 90-100 e 150-160 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (Tabelas 3 e 4).

Tabela 11. Características morfológicas observadas no controle e nos demais tratamentos com variação de temperatura para a cepa SPC788.

*Constrições: - (ausente), + (presente).

Temperatura °C	Tricoma: forma e coloração	Tricoma: largura	Ápice	*Constrição	Célula intermediária: forma e comprimento	Célula apical
25	Bastante longo, reto ou irregular, tortuoso; verde azulado; parede espessada	4,18-5,21 µm	Atenuado ou não, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,83-3,02 µm	Às vezes sem conteúdo; arredondada, cônica-arredondada, sub-cilíndrica, sub-esférica
15	Curto, as vezes longo, retos ou tortuoso; verde azulado; parede espessada	3,43–5,21 µm	Atenuado ou não, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,05–3,18 µm	Arredondada, sub-cilíndrica, atenuada, semi esférica
20	Longo ou curto, reto ou tortuoso; verde azulado; parede espessada	5,10-7,15 µm	Atenuado ou não, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 2,09-3,54 µm	Arredondada, alongada, sub-cilíndrica, capitada, atenuada
30	Longo ou curto, reto ou tortuoso; verde azulado; parede espessada	4,33-5,80 µm	Atenuado ou não, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,91-2,89 µm	Arredondada, atenuada, espessada
35	Longo ou curto, reto ou tortuoso; verde azulado; parede espessada	3,83-5,66 µm	Atenuado ou, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,65-2,81 µm	Às vezes sem conteúdo; arredondada, convexa, atenuada, cônica arredondada

Tabela 12. Características morfológicas observadas no controle e nos demais tratamentos com variação de irradiância para a cepa SPC788.

*Constrições: - (ausente), + (presente).

Irradiância $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$	Tricoma: forma e coloração	Tricoma: largura	Ápice	*Constrição	Célula intermediária: forma e comprimento	Célula apical
40-50	Bastante longo, reto ou irregular, tortuoso; verde azulado; parede espessada	4,18-5,21 μm	Atenuado ou não, às vezes torto	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,83-3,02 μm	Às vezes sem conteúdo; arredondada, cônica-arredondada, sub-cilíndrica, semi-esférica
10-20	Geralmente longo, reto ou tortuoso; verde azulado; parede espessada	3,76–5,98 μm	Atenuado ou não	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,85–3,08 μm	Arredondada, sub-cilíndrica, convexa, atenuada
90-100	Longo ou curto, geralmente reto; verde azulado; parede espessada; raramente com bainha inconspícua	4,22-6,28 μm	Atenuado ou não	-/+	mais larga que longa, conteúdo preservado, com aerótopos; 1,67-3,32 μm	Arredondada, atenuada, convexa
150-160	Longo ou curto, geralmente reto; verde azulado; parede espessada; raramente com bainha inconspícua	4,29-5,89 μm	Atenuado ou não	-/+	mais larga que longa, conteúdo pouco preservado, com aerótopos; 1,80-2,75 μm	Arredondada, atenuada, convexa

Análise Estatística

As tabelas 13-16 apresentam os resultados estatísticos a partir da análise de variância (ANOVA) de um fator, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey, para as variáveis experimentadas: Temperatura e Irradiância, nos tratamentos estabelecidos, conforme tabelas 3 e 4.

De acordo com os resultados apresentados, verificou-se que a variável temperatura tem efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a largura dos tricomas e comprimento celular para a cepa SPC788 (Tabelas 13 e 14), ou seja, tais características morfométricas são significativamente diferentes entre si, nas temperaturas testadas (Tabelas 3 e 4).

Conforme tabelas 15 e 16, observou-se que estatisticamente, a variável irradiância só tem efeito significativo sobre a característica morfométrica largura do tricoma. Assim, para a característica comprimento celular, a variação da irradiância não resultou em diferenças significativas.

Tabela 13. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para largura do tricoma da cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*), nos cinco tratamentos com variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (Tabela 3). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC788	15	20	25	30	35
15		+	+	+	+
20	+		+	+	+
25	+	+		—	+
30	+	+	—		—
35	+	+	+	—	

Tabela 14. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para comprimento celular da cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*), nos cinco tratamentos com variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (Tabela 3). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC788	15	20	25	30	35
15		—	+	—	—
20	—		+	—	+
25	+	+		—	—
30	—	—	—		—
35	—	+	—	—	

Tabela 15. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p=5\%$), para largura do tricoma da cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*), nos quatro tratamentos com variação da irradiância ($\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Tabela 4). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC788	10 – 20	40 – 50	90 – 100	150 – 160
10 – 20		—	+	—
40 – 50	—		+	+
90 – 100	+	+		—
150 – 160	—	+	—	

Tabela 16. Teste de variância (ANOVA) e Tukey fator único ($p = 5\%$), para comprimento celular da cepa SPC788 (*Planktothrix isothrix*), nos quatro tratamentos com variação da irradiância ($\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Tabela 4). Quadrados brancos (-) correspondem a diferenças não significativas, cinza escuro (+) diferenças significativas. (N=30).

SPC788	10 – 20	40 – 50	90 – 100	150 – 160
10 – 20		—	—	—
40 – 50	—		—	—
90 – 100	—	—		—
150 – 160	—	—	—	

Discussão

Estudos ecofisiológicos sobre o gênero *Planktothrix*, envolvendo a influência de variáveis bióticas e abióticas sobre a taxa de crescimento, taxa fotossintética e produção de toxinas são vastos (Baker *et al.* 1969, Berger 1975, Mur *et al.* 1977, Van Liere & Mur 1979, Van Liere *et al.* 1979, Zevenboom *et al.* 1980, Zevenboom & Mur 1981, Zevenboom *et al.* 1982, Post *et al.* 1985a, b, Post *et al.* 1986, Sinvonen 1990, Romo 1994, Bright & Walsby 1999, 2000, Davis & Walsby 2002, Hašler & Pouličková 2003, Hašler *et al.* 2003, Jonte *et al.* 2003, Bouchama & Derraz 2004, Pouličková *et al.* 2004, Tonk *et al.* 2005, Nagai *et al.* 2007). Entretanto, a grande maioria dos experimentos *in vitro* e *vivo* realizados por estes pesquisadores envolvem principalmente duas espécies de *Planktothrix*: *Planktothrix agardhii* e *Planktothrix rubescens*, as mais amplamente distribuídas e formadoras de florações potencialmente tóxicas, em corpos de água da região temperada (Scheffer *et al.* 1997, Bright & Walsby 2000, Oberhaus *et al.* 2007).

No Brasil, assim como nos países de região temperada, *P. agardhii* é a espécie do gênero mais amplamente distribuída nas águas continentais (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008). No entanto, *P. rubescens* foi poucas vezes citada para o Brasil (Bicudo & Ventrice 1968, Senna 1982, Franceschini 1983, Werner & Rosa 1992). Considerando a importância ecológica e a amplitude de distribuição nos sistemas aquáticos brasileiros, *P. isothrix* é a espécie do gênero *Planktothrix* que, juntamente com *P. agardhii*, mais se destaca na literatura nacional (Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008).

De acordo com Oliver & Ganf (2000), os seguintes fatores propiciam o desenvolvimento das cianobactérias: temperatura da água acima de 20 °C; ambientes com pouca luminosidade, pois têm requerimento luminoso mais baixo que as algas; ambientes com baixas razões NT/PT; presença de aerótopos que auxiliam a flutuação e o deslocamento na coluna d' água; pouca herbívora pelo zooplâncton; necessidade de baixa concentração de CO₂; capacidade de armazenar fósforo eficientemente. Este conjunto de fatores fornece ao grupo grande vantagem competitiva.

Neste contexto, destacou-se no presente trabalho a influência dos fatores abióticos, temperatura e irradiância, no crescimento e desenvolvimento de *P. agardhii* e *P. isothrix*.

Segundo Hoogenhout & Ames (1965) e Reynolds (1984), a taxa de crescimento das cianobactérias é geralmente muito menor do que a de muitas espécies de algas. Ainda, organismos com baixa taxa de crescimento exigem longos períodos de retenção de água para que se estabeleça uma floração (Chorus & Bartram 1999). Neste cenário, destacam-se as

cianobactérias formadoras de florações como *Planktothrix*, amplamente adaptadas a condições ambientais limitantes (Wehr & Sheath 2003).

Verificou-se no presente estudo que para *P. agardhii* a maior taxa de crescimento foi registrada na temperatura de 25° C e as menores taxas foram observadas nas temperaturas mais baixa (15 °C) e mais elevada (35 °C) (figura 8A). Assim, a temperatura de 25 °C mostrou ser a temperatura ótima de crescimento para tal espécie (Aspecto geral do tricoma sob temperatura ótima, figuras 20 – 24). Porém, apesar da taxa de crescimento, nas temperaturas extremas experimentadas ter sido a menor observada, tal fato não inibiu o crescimento da mesma. Entretanto, salienta-se que comparando as duas temperaturas extremas, a população (tricomas.mL⁻¹) mantida sob 35 °C cresceu bem mais do que aquela mantida à 15 °C.

A taxa de crescimento registrada para *P. agardhii*, nas cinco temperaturas testadas (tabela 3), mostrou-se abaixo da taxa observada para a mesma espécie no trabalho de Talbot *et al.* (1991). Neste estudo, o objetivo principal foi analisar o efeito da temperatura sobre espécies do fitoplâncton, inclusive *P. agardhii* em lago de região temperada. Os autores observaram, nas mesmas condições de temperatura por nós analisadas, taxas de crescimento até 2 vezes mais altas. Estes resultados poderiam nos levar a supor que cepas isoladas de regiões temperadas tivessem melhor taxa de crescimento que as de regiões tropicais, nas mesmas condições de temperatura.

No entanto, tal generalização não está correta, pois nossos resultados concordam com diversos estudos ecofisiológicos sobre *P. agardhii*, desenvolvidos com cepas isoladas de diferentes regiões temperadas: Davis & Walsby (2002) registraram taxas de crescimento sob variação de temperatura (10, 15, 20 e 25 °C) para *P. agardhii* isolada de lagos ingleses, bastante próximas das taxas registradas no presente estudo, sendo que à temperatura de 25 °C também foi constata a maior taxa de crescimento; Sivonen (1990) também indica a temperatura de 25 °C como sendo ótima de crescimento para *P. agardhii* isolada de um lago finlandês e também como sendo a temperatura que potencializa a maior produção de toxinas; Oberhaus *et al.* (2007), comparando o efeito em termos de quantidade e qualidade de luz e temperatura sobre *P. agardhii* e *P. rubescens*, também encontraram melhores taxas de crescimento sob a temperatura de 25 °C.

Já em relação à *P. isothrix*, a maior taxa de crescimento foi registrada à temperatura de 20 °C (Aspecto geral do tricoma sob temperatura ótima, figuras 25 – 27), inferior à temperatura ótima registrada para *P. agardhii* (25 °C). Bright & Walsby (2000), analisando a taxa de crescimento de *P. rubescens*, concluíram que a mesma tem melhor crescimento a 20 °C como observamos em *P. isothrix*.

As menores taxas de crescimento de *P. isothrix* foram registradas à temperatura mais baixa experimentada (15 °C) e à (30 °C). No entanto, tal fato não inibiu o crescimento da mesma, apesar da densidade da população (tricomas.mL⁻¹) mantida à 15 °C ter sido a menor quando comparada às demais temperaturas experimentadas.

Segundo Davis & Walsby (2002), a luz é o principal fator que limita o crescimento do fitoplâncton, fato relacionado a atividade fotossintética que precisa de luz para gerar energia para a manutenção celular. Ainda, de acordo com Chorus & Bartram (1999), as cianobactérias parecem ter maior tolerância a variação na intensidade luminosa, fato relacionado ao aumento da produção de carotenóides que protegem as células da fotoinibição. Muitos grupos de pesquisadores têm investigado as relações entre crescimento e irradiância de cianobactérias do grupo das Oscillatoriales (Bright & Walsby 2000).

Em relação à irradiância, *P. agardhii* apresentou maior taxa de crescimento sob a irradiância de 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ (Aspecto geral do tricoma sob irradiância ótima, figuras 20 – 24), considerada desta forma, como irradiância ótima de crescimento, o que corrobora com os trabalhos ecofisiológicos desenvolvidos por Ducobu *et al.* (1998), Tonk *et al.* (2005) e Oberhaus *et al.* (2007). As menores taxas de crescimento estiveram relacionadas às maiores irradiâncias (90-100, 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) testadas no presente estudo (figura 8B).

Em relação a *P. isothrix*, a maior taxa de crescimento ocorreu sob a menor irradiância experimentada (10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (Aspecto geral do tricoma sob irradiância ótima, figuras 28 e 29), e a menor taxa foi observada sob a maior irradiância (150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) (figura 8B).

Romo (1994), em seu estudo experimental com *Pseudanabaena galeata*, *Planktothrix agardhii* e *Limnothrix redekei*, revelou que tais cianobactérias apresentaram melhor adaptação em baixas intensidades luminosas (25-60 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$), e ainda ressalta que acima dessa irradiância o crescimento foi limitado. Zevenboom *et al.* (1982) registraram a influencia da irradiância sobre a taxa de crescimento de *P. agardhii*, indicando que a taxa de crescimento aumentava com a diminuição da irradiância, até um valor não limitante.

Foy & Smith (1980) observaram que enquanto a taxa de crescimento aumentava com o aumento do comprimento de luz, a eficiência com que a luz era usada no crescimento diminuía ao longo do dia, fato geralmente observado em situações onde a taxa de crescimento é relativamente alta, porém a população não aumenta na mesma proporção. Em contrapartida, podem ocorrer situações onde a taxa de crescimento não é tão alta, porém o organismo apresenta alta eficiência na conversão de luz, promovendo aumento da população. Em outros

casos, a baixa taxa de crescimento relaciona-se com a energia despendida com a formação de carotenóides ou aerótopos, principalmente sob alta irradiância (Brighth & Walsby 1999, Davis & Walsby 2002).

Mur *et al.* (1977) registraram a ocorrência de florações de *P. agardhii* sob baixas irradiâncias, em lago holandês. No presente trabalho, as melhores taxas de crescimento para ambas as cepas testadas estiveram relacionadas às mais baixas irradiâncias experimentadas. Van Liere & Mur (1979), estudando competição entre alga verde e *P. agardhii*, mostraram que as algas verdes têm ótimo de crescimento sob intensidades luminosas mais altas, o que as tornam abundantes na superfície da água. Entretanto, tal situação promove uma camada de sombra abaixo da superfície e os organismos mais adaptados a tal situação, como *Planktothrix*, destacam-se tornando-se altamente competitivos.

Foy & Gibson (1982) mostraram que é alta a eficiência da conversão de luz em energia sob baixa irradiância, por *P. agardhii*, e que a mesma sofre fotoinibição sob altas irradiâncias, fato que concorda com os resultados obtidos. Tonk *et al.* (2005), estudando o efeito da luz na toxicidade de *P. agardhii*, também observaram fotoinibição sob irradiância acima de $100 \mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$. Por outro lado, Bright & Walsby (2000) e Gibson & Foy (1983) observaram limitação por luz em irradiâncias $< 14,5 \mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ e saturação sob irradiância $> 100 \mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, para *P. rubescens* e *Limnothrix redekei*, respectivamente.

No presente trabalho foi verificado que as populações de *P. agardhii* e *P. isothrix* submetidas a variação da irradiância mantinham-se no meio dos frascos, fato que chamou a atenção. Porém os trabalhos de Hašler & Pouličková (2003) e Pouličková *et al.* (2004) estudaram a distribuição temporal e espacial num ciclo anual de populações de *P. agardhii* em lagos rasos da República Tcheca e observaram que na primavera e verão, estações com maiores intensidades de luz e de temperatura, o número de tricomas na superfície diminuiu, concentrando-se na sub-superfície. Assim, os autores verificaram que a luz promove migração vertical, que por sua vez é uma importante característica das cianobactérias formadoras de florações. Tal fato se deve aos aerótopos cuja pressão de turgor é influenciada pela irradiância, conferindo importante vantagem competitiva que as mantém na zona eufótica.

É interessante observar que as melhores taxas de crescimento registradas para as duas cepas estiveram relacionadas à irradiância. Assim, supõe-se que as ambas as cepas sofreram maior influência pela temperatura. Porém, mesmo com amplas variações quanto à taxa de crescimento e número de tricomas, nenhuma das condições experimentais foi severamente limitante.

Verificou-se também, que sob condição ótima de crescimento (25 °C e 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$), *P. agardhii* entrou em fase estacionária a partir do 44º dia de experimento. Em relação à *P. isothrix*, cuja condição ótima de crescimento foi a 20 °C e 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, a cepa não entrou na fase estacionária até o último dia de experimento (50 º), porém, a população começou a estabilizar-se a partir do 38 º dia de crescimento (Figuras 2-5).

Diante dos resultados apresentados é possível afirmar, que apesar de haver diferenças quanto à taxa de crescimento nas diferentes temperaturas e irradiâncias testadas para *P. agardhii* e *P. isothrix*, nenhuma das condições experimentadas inibiu de forma abrupta o crescimento de ambas as espécies.

É importante salientar também que a variação tanto de temperatura quanto da irradiância exerceram efeito sobre o número de tricomas das duas espécies estudadas, fato comprovado estatisticamente. De acordo com esses resultados, foi observado que *P. agardhii* é mais influenciada pela temperatura, já que o número de tricomas.mL⁻¹ variou sob todas as temperaturas experimentadas e, que *P. isothrix* sofreu maior variação no número de tricomas.mL⁻¹ sob as diferentes condições de irradiância.

Com base nos resultados obtidos, podemos afirmar que *P. agardhii* e *P. isothrix* compartilham características ecofisiológicas (taxa de crescimento) relativamente baixas quando comparadas com outras algas, principalmente verdes, que registram taxas de crescimento de 2,3 d⁻¹ (Van Liere & Walsby 1982, Chorus & Bartram 1999) e alta tolerância a baixas intensidades luminosas. Esses mesmos resultados foram verificados por Oberhaus *et al.* (2007) no estudo realizado com *P. agardhii* e *P. rubescens*.

Quanto às variações morfológicas registradas para a cepa SPC205, estas estiveram restritas a parte terminal dos tricomas, tanto sob a variação de temperatura quanto irradiância. Este resultado concorda com o observado por Pouličková & Hašler (2003) que também registraram variações morfológicas nas extremidades dos tricomas de *P. agardhii* durante o estudo do ciclo anual dessa espécie num lago destinado à pesca, na República Tcheca. Neste caso, as mudanças observadas estão ligadas principalmente à presença/ausência de calíptro e a presença/ausência e forma dos aerótopos. De modo geral, todas as formas encontradas concordam com a diagnose da espécie (Gomont 1892) e também com a literatura atual e moderna (Anagnostidis e Komárek 1988, Komárek & Anagnostidis 2005).

Destaca-se, porém, que a maior amplitude morfológica foi observada sob a condição ótima de crescimento (25°C e 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$). A 30 °C alguns tricomas apresentaram ligeira constrição, tal situação concorda com a descrição realizada por Komárek & Anagnostidis (2005) que ressaltam que a constrição em tricomas de *P. agardhii* pode variar

de não constrito a levemente constrito, apesar de grande parte dos estudos apontarem tricomas sem constrição. Sob a irradiância 90-100 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi observado uma extensão da bainha do tricoma: Komárek & Komarková (2004) e Komárek & Anagnostidis (2005) apontam a ocorrência facultativa de bainha sob condições extremas e de cultura. Já sob a irradiância de 10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ foi observado pequena diminuição do número de aerótopos, decorrente muito provavelmente de leve fotolimitação, já que as células precisam de energia proveniente da fotossíntese para desencadear a produção dos aerótopos (Pouličková *et al.* 2004).

Antes de mencionar as variações morfológicas registradas para a cepa SPC788 sob as diferentes condições de temperatura e irradiância, é importante salientar que a própria condição de manutenção do Banco de Cultura de Cianobactérias, do qual a cepa SPC788 é proveniente, já havia promovido alterações morfológicas sobre a mesma. Assim, grande parte da variação morfológica observada neste estudo não está relacionada diretamente as condições experimentadas, quais sejam: tricomas atenuados e constritos. Ressalta-se ainda, que a cepa SPC788 está corretamente identificada como *P. isothrix*, pois a identificação partiu da amostra da natureza, antes mesmo de ser isolada e incluída no Banco de Cultura de Cianobactérias do Instituto de Botânica de São Paulo, de acordo com a diagnose original (Skuja 1948) e literatura moderna e atual (Anagnostidis & Komárek, 1988, Komárek & Anagnostidis 2005). Além disso, sua identidade genética também foi confirmada a partir do sequenciamento do gene 16S rRNA (presente trabalho) e *cpcBA*-IGS (Silva 2006).

Assim, a maior amplitude morfológica foi observada a temperatura de 25°C e irradiância de 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$. Porém, à 15°C observou-se os tricomas mais curtos, sendo que, de acordo com Pouličková *et al.* (2004) baixa temperatura e intensidade luminosa promovem a quebra dos tricomas, tornando-os mais curtos e algumas vezes com poucos aerótopos. Sob as mais altas irradiâncias registrou-se a rara ocorrência de bainha inconspícua remanescente ao tricoma e sob 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ verificou-se células quase sem conteúdo, indicando fotolimitação.

Quanto às características morfométricas analisadas (largura do tricoma e comprimento celular), observou-se que para *P. agardhii* a variação de temperatura promoveu maior amplitude de variação e valores médios mais elevados sobre a característica largura do tricoma do que a variável irradiância em seus quatro tratamentos distintos (Tabela 4). A análise estatística (ANOVA) seguida do teste de comparação múltipla (Tukey) mostraram que a temperatura tem influência tanto sobre a largura do tricoma quanto sobre o comprimento celular, mostrando que as características morfométricas avaliadas foram influenciadas pelas temperaturas testadas (Tabela 3, 7 e 8). A irradiância influenciou apenas o comprimento

celular de *P. agardhii* e não a largura do tricoma (Tabela 8 e 9). Para Thompson *et al.* (1991), a mudança no volume celular de acordo com a intensidade luminosa é um fenômeno comum nas algas e cianobactérias em resposta à eficiência fotossintética, influenciando o comprimento dos tricomas e sugerindo divisão celular.

Para *P. isothrix* a amplitude de variação para a característica largura do tricoma foi bastante alta e semelhante nos diferentes tratamentos tanto de temperatura como de irradiância. Para a característica morfométrica comprimento celular, foi registrado valores médios mais altos nos tratamentos expostos a diferentes temperaturas (Figuras 14 e 15). Verificou-se ainda, a partir da análise estatística que a variável temperatura exerceu efeito significativo tanto sobre a largura do tricoma quanto comprimento celular (Tabelas 13 e 14). Em relação à irradiância, a mesma tem efeito apenas sobre a largura do tricoma, mas não resultou em diferenças significativas sobre o comprimento celular (Tabelas 15 e 16).

Segundo Whitton & Peat (1969), o aumento da temperatura promoveu um aumento no diâmetro dos tricomas de *Limnothrix redekei* e o comprimento mostrou-se bastante variável. No presente trabalho a situação foi inversa, os valores médios para largura dos tricomas de *P. agardhii* e *P. isothrix* estiveram relacionados às menores temperaturas testadas, provavelmente devido ao acúmulo de nutrientes (grânulos de fósforo e nitrogênio), como forma de manter a estrutura e função celular em condições de limitação de luz, ou então em resposta a condições de depleção de nutrientes que levam às cianobactérias a estocá-los em seu interior (Hašler *et al.* 2003).

Na taxonomia clássica, os caracteres mais usados para a identificação das espécies são aquelas que são estáveis e não se sobrepõem, aquelas sujeitas a modificações através da seleção natural podem ser menos estáveis ou então responsáveis por variação quantitativa (Davis *et al.* 2003). Tanto a largura do tricoma quanto o comprimento celular, mostraram-se bastante variáveis com as alterações de temperatura, levando a considerar tais características pouco estáveis. Porém, ressalta-se a importância e eficiência taxonômica de tais características morfométricas quando analisadas em conjunto com demais características morfológicas.

É importante ressaltar, que apesar das variações de temperatura e irradiância terem promovido mudanças morfológicas e morfométricas para ambas as cepas estudadas (SCP205 e SPC788) tais mudanças estão de acordo com a descrição das duas espécies, respectivamente, *P. agardhii* e *P. isothrix*. Portanto, todas as variações observadas estão incluídas na descrição mais atual (Komárek & Anagnostidis 2005), de modo que não foram observados limites métricos e fenotípicos discrepantes.

Literatura Citada

- Anagnostidis, K. & Komárek, J.** 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. Archiv Hydrobiologie Supplement 80 (1-4) Algological Studies 50-53: 327-472.
- Azevedo, M.T.P. & Sant'Anna, C.L.** 2003. *Sphaerocavum*: a new genus of planktic Cyanobacteria from continental water bodies in Brazil. Algological Studies 109: 79-92.
- Baker, A. L., Brook, A. J. & A. R. Klemer.** 1969. Some Photosynthetic Characteristics of a Naturally Occurring Population of *Oscillatoria agardhii* Gomont Source: Limnology and Oceanography 14(3): 327-333.
- Berger, C.** 1975. Occurrence of *Oscillatoria agardhii* GOMONT in some shallow eutrophic lakes. Verh. Internat. Verein. Limnol. 19: 2689–2697.
- Bicudo, C.M.E. & Ventrice, M.R.** 1968. Algas do Brejo da Lapa. Parque Nacional do Itatiaia, Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Botânica, Fortaleza, Anais, Sociedade Botânica do Brasil, 3-30.
- Bouchamma, E.O. & Deraz, M.** 2004. Interaction of light and temperature effects on the growth rate of three Cyanobacteria species isolated from El Kansera (Moroco). Algological Studies 133: 129-141.
- Bright, D.I., & Walsby, A.E.** 1999. The relationship between critical pressure and width of gas vesicles in isolates of *Planktothrix rubescens* from Lake Zurich. Microbiology 145: 2769-2775.
- Bright, D.I. & Walsby, A.E.** 2000. The daily integral of growth by *Planktothrix rubescens* calculated from growth rate in culture and irradiance in Lake Zürich. New Phytologist 146: 301-316.
- Canale, R.P., De Palma, L.M. & Vogel, A.** 1976. A plankton-based food web model for lake Michigan. In Canale, R.P.: Modelling Biochemical Processes in aquatic Ecosystems. Ann Arbor Sciences Publishers 33-74 p.
- Chorus, I. & Bartram, J.** 1999. Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their Public Health consequences, Monitoring and Management. E & FN Spon, London, 416 p.
- Coles, J.F. & Jones, R.C.** 2000. Eotosynthesis-light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. Journal of Phycology 36: 7-16.
- Collier, B.C., Cox, G.W., Johnson, A.W. & Miller, P.C.** 1978. Ekologia dynamiczna (Dynamic ecology). PWRiL, Warsaw 544 pp.

- Costa, I.A.S.** 2003. Dinâmica de Populações de Cianobactérias em um Reservatório Eutrofizado no Semi-Árido Nordeste Brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- Davis, P.A. & Walsby, A.E.** 2002. Comparison of measured growth rates with those calculated from rates of photosynthesis in *Planktothrix* spp. Isolated from Blelham Tarn, English Lake District. *New Phytologist* 156: 225-239.
- Davis, P.A., Dent, M., Parker, J., Reynolds, C.S. & Walsby, A.E.** 2003. The annual cycle of growth rate and biomass change in *Planktothrix* spp. In Blelham Tarn, English Lake District. *Freshwater Biology* 48: 852-867.
- Dokulil, M.T. & Teubner, K.** 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 438: 1-12.
- Ducobu, H., Huisman, J., Jonker, R.R. & Mur, L.R.** 1998. Competition between a prochlorophyte and a cyanobacterium under various phosphorus regimes: comparison with the droop model. *Journal of Phycology* 34: 467-476.
- Fogg, G.E.** 1975. The characteristics of algal growth in cultures of limited volume. In: *Algal cultures and phytoplankton ecology*, 2nd edition. The University of Wisconsin Press, London, pp 13-36.
- Fogg, G.E. & Thake, B.** 1987. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. University of Wisconsin Press, Madison and Milwaukee 269 p.
- Foy, R.H. & Gibson, C.E.** 1982. Photosynthetic characteristics of planktonic blue-green algae: the response of twenty strains grown under high and low light. *British Phycological Journal* 17: 169-182.
- Foy, R. H., Gibson, C.E. & Smitei, R.V.** 1976. The influence of daylength, light intensity and temperature on the growth of planktonic bluegreen algae. *British Phycological Journal* 11: 151-163.
- Foy, R.H. & Smith R.V.** 1980. The role of carbohydrate accumulation in the growth of planktonic *Oscillatoria* species. *British Phycological Journal* 15: 139-150.
- Franceschini, I.** 1983. Levantamento das Nostocophyceae do Rio Seco, Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- Gibson, C. E.** 1975. Cyclomorphosis in natural populations of *Oscillatoria redekei* Van Goor. *Freshwater Biology* 5: 279-286.
- Gibson, C.E. & Foy, R.H.** 1983. The photosynthesis and growth efficiency of a planktonic blue-green alga, *Oscillatoria redekei*. *British Phycological Journal* 18: 39-45. *British Phycology Journal* 11: 151-163.

- Gomont, M.M.** 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). Annales des Sciences Naturelles; Botanique 7(15): 263-368, (16): 91-264.
- Guerrero, M.** 1992. Productos y usos prácticos de Cianobacterias (algas verde-azuladas). VI Congreso Nacional y I Congreso Hispano-Luso de Biotecnología. Santiago de Compostela, España.
- Hašler, P. & Pouličková, A.** 2003. Diurnal changes in vertical distribution and morphology of a natural population of *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagnostidis et Komárek (Cyanobacteria). Hydrobiologia 506-509: 195-201.
- Hašler, P., Pouličková, A. & Vařeková, Š.** 2003. Comparative studies on two strains of the genus *Planktothrix* (Cyanophyta, Cyanoprokaryota). Algological Studies 108: 15-29.
- Honda, R.Y.** 2005. Estudos taxonômicos e de desenvolvimento *in vitro* de *Microcystis* spp (Cyanobacteria) isoladas de corpos d'água do estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado Instituto de Botânica, São Paulo.
- Hoogenhout, H. & Amesz, J.** 1965. Growth rates of photosynthetic microorganisms in laboratory cultures. Archives of Microbiology 50: 1-15.
- Jonte, L., Rosales, N., Briceño, B. & Morales, E.** 2003. How salinity and irradiance modify the growth of *Synechocystis minuscula* cyanobacteria in discontinuous cropping. Multiciencias 3(1): 1-14.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K.** 2005. Cyanoprokariota, 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, G. Gärdner, L. Krienitz & M. Schagul (eds.). Subwasserflora von mitteleuropa, Band 19/2. Spektrum Akademischer Verlag, 759p.
- Komárek, J. & Komárková, J.** 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. Czech Phycology, Olomouc, 4: 1-18.
- Konopka, A & Brock, T.D.** 1978. Effect of temperature on blue-green algae (Cyanobacteria) in Lake Mendota. Applied Environmental Microbiology 36: 572-576.
- Kosol, S., Schmidt, J. & Kurmayer, R.** 2009. Variation in peptide net production and growth among strains of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. European Journal of Phycology 44(1): 49-62.
- Mur, L.R., Gons, H.J. & Van Liere, L.** 1977. Some experiments on the competition between green algae and blue-green bacteria in light-limited environments. FEMS Microbiology Letters 1: 335-338.
- Nagai, T., Imai, A., Mitsushige, K. & Fukushima, T.** 2007. Growth characteristics and growth modeling of *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* under iron limitation. Limnology 8: 261-270.

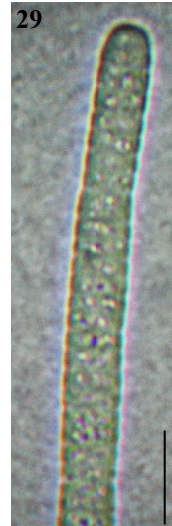
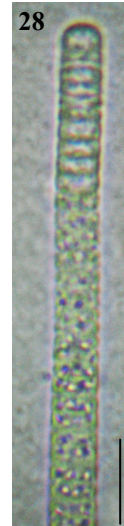
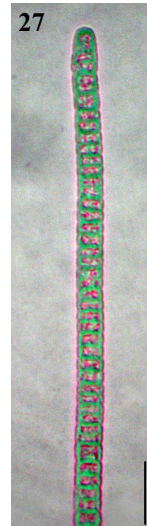
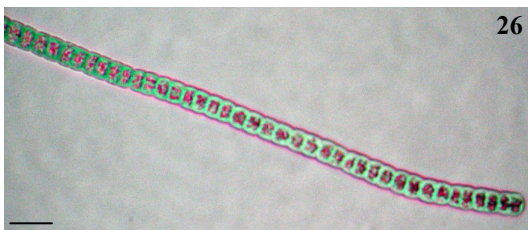
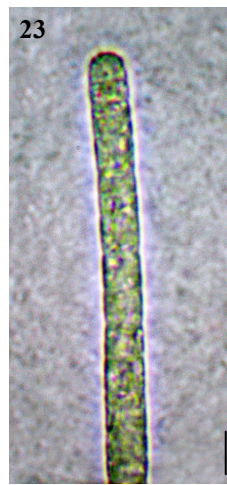
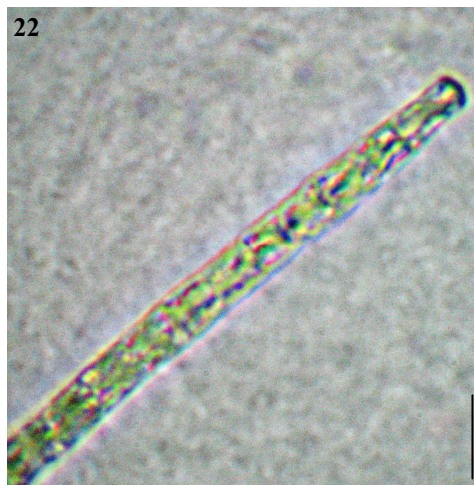
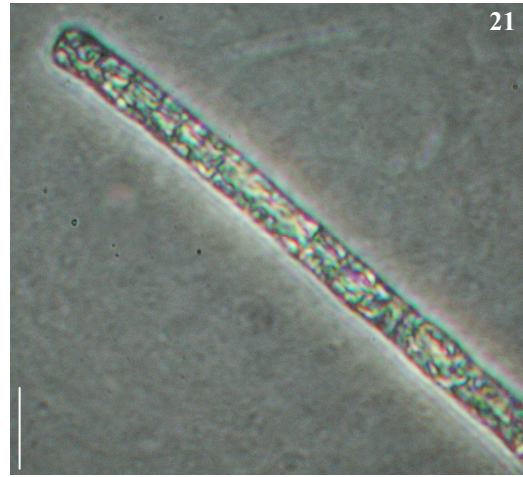
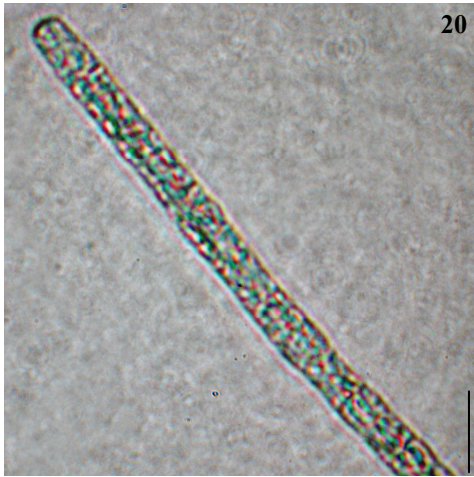
- Oberhaus, L., Briand, J.F., Leboulanger, C., Jacquet, S. & Humbert, J.F.** 2007. Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. *Journal of Phycology* 43: 1191-1199.
- Oliver, R.L. & Ganf, G.G.** 2000. Freshwater blooms. In: B. A. Whitton & M. Potts (eds.). *The ecology of Cyanobacteria: their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, pp. 149-194.
- Otero, A., Garcia, D., Morales, E., Arán, J. & Fabregas, J.** 1997. Manipulation of the biochemical composition of the eicosapentanoic acid-rich microalgae *Isochrysis galbana* in semicontinuous cultures. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 26: 171-177.
- Pechar, L.** 1995. Long term changes in fish pond management as “unplanned ecosystem experiment”. *Water Science and Technology* 32(4): 187-196.
- Post, A.F., de Wit, R. & Mur, L.R.** 1985a. Interactions between temperature and light intensity on growth and photosynthesis of the cyanobacterium: *Oscillatoria agardhii*. *Journal of Plankton Research* 7: 487-495.
- Post, A.F., Loogman, J.G. & Mur, L.R.** 1985b. Regulation of Growth and photosynthesis by *Oscillatoria agardhii* grown with a light/dark cycle. *FEMS Microbiology Ecology* 31: 97-102.
- Post, A.F., Loogman, J.G. & Mur, L.R.** 1986. Photosynthesis, carbon flows and growth of *Oscillatoria agardhii* Gomont in environments with a periodic supply of light. *Journal of General Microbiology* 132: 2129-2136.
- Pouličková, A., Hašler, P. & Kitner, M.** 2004. Annual Cycle of *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anag. & Kom. Nature Population. *International Review of Hydrobiology* 89(3): 278-288.
- Reynolds, C.S.** 1984. Phytoplankton periodicity: The interactions of form, function and environmental variability. *Freshwater Biology* 14: 111-142.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B. Herdman, M. & Stanier, R. Y.** 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
- Robarts, R.D. & Zohary, T.** 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391-399.
- Romo, S.** 1994. Growth parameters of *Pseudanabaena galeata* Böcher in culture under different light and temperature conditions. *Algological Studies* 75: 239-248.
- Sant’Anna, C.L. & Azevedo, M. T.P.** 1995. Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. *Nova Hedwigia* 60: 19-58.

- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M.T.P.** 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia* 71: 359-385.
- Sant'Anna, C.L., Azevedo, M.T.P., Werner, V.R., Dogo, C.R., Rios, F.R. & Carvalho, L.R.** 2008. Review of toxics species of Cyanobacteria in Brazil. *Algological Studies* 126: 251-265.
- Sant'Anna, C.L., Melcher, S.S., Carvalho, M.C., Gemelgo, M.P. & Azevedo, M.T.P.** 2007. Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin resevoirs, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 30 (1): 1-17.
- Santos, K.R.S.** 2008. Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas (“salina”, “salitrada” e “baía”) do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. Dissertação, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L.R. & Van Nies, E.H.** 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology* 78(1): 272-282.
- Senna, P.A.C.** 1982. Nostocophyceae do Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Sivonen, K.** 1990. Effects of Light, Temperature, Nitrate, Orthophosphate and Bacteria on Growth of and Hepatotoxin Production by *Oscillatoria agardhii* Strains. *Applied and Environmental Microbiology* 56(9): 2658-2666.
- Silva, C.S.P.** 2006. Caracterização molecular de cianobactérias brasileiras e distribuição de genes de produtos naturais. Dissertação de Mestrado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Skuja, H.** 1948. Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. *Symb. Bot. Upsal.* 9(3): 1-399.
- Talbot, P., Thebault, J.M., Dauta, A. & de la Noue, J.** 1991. A comparative study and mathematical modeling of temperature, light and growth of three microalgae potentially useful for wastewater treatment. *Water Research* 25: 465-472.
- Thompson, P.A., Harrison, P.J. & Parslow, J.S.** 1991. Influence of irradiance on cell volume and carbon quota for ten species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology* 27: 351-360.
- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O., F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. & Huisman, J.** 2005. The Microcystin composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5177-5181.

- Tucci, A., Sant'Anna, C.L., Gentil, R.C. & Azevedo, M.T.P.** 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea* 33(2): 147-175.
- Van Liere, L. & Mur, L.R.** 1979 Chapter 9. Some experiments on the competition between a green alga and a cyanobacterium. *In*: L. Van Liere, Thesis, University of Amsterdam. Publications, Oxford, 9-45.
- Van Liere, L., Mur, L.R., Gibson, C.E. & Herdman, M.** 1979 Growth and physiology of *Oscillatoria agardhii* and some related species, a survey. *Dev. Hydrobiology* 2: 67-77.
- Van Liere, L. and Mur, L.R.** 1980 Occurrence of *Oscillatoria agardhii* and some related species, a survey. *Dev. Hydrobiology* 2: 67-77.
- Van Liere, L. & Walsby, A.E.** 1982 Interactions of cyanobacteria with light. *In*: N.G. Carr & B.A. Whitton (Eds). *The Biology of the Cyanobacteria*. Blackwell Science.
- Vieira, J.M.S.** 2002. Toxicidade de cianobactérias e concentração de microcistinas em uma represa de abastecimento público da região Amazônica do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Zevenboom, W., De Groot, G. J, & Mur, L. R.** 1980. Effects of light on nitrate-limited *Oscillatoria agardhii* in chemostat cultures. *Archives of Microbiology* 125: 59-65.
- Zevenboom, W. & Mur, L.R.** 1981. Simultaneous Short-term Uptake of Nitrate and Ammonium by *Oscillatoria agardhii* Grown in Nitrate- or Light-limited continuous. *Journal of General Microbiology* 126: 355-363.
- Zevenboom, W., de Vaate, A.B. & Mur, L.R.** 1982. Assesment of factors limiting growth rate of *Oscillatoria agardhii* in hypertrophic Lake Wolderwijd, 1978, by use of physiological indicators. *Limnology and Oceanography* 27(1): 39-52.
- Whitton, B.A. & Peat. A.** 1969. On *Oscillatoria redekei* Van Goor. *Archives of Microbiology* 68: 362-376.
- Wehr, J.D. & Sheath, R.G.** 2003 *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. Academic Press, London, 917 p.
- Werner, V.R. & Rosa, Z.M.** 1992. Cyanophyceae da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 52 (3): 481-502.

Figuras

Figuras 20 – 29. 20 – 24. Aspecto geral da cepa SPC205 sob condição ótima de temperatura e irradiância ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $40 - 50\text{ }\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$); 25 – 27. Aspecto geral da cepa SPC788 sob condição ótima de temperatura ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$); 28 e 29. Aspecto geral da cepa SPC788 sob condição ótima de irradiância ($10 - 20\text{ }\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$). Escalas: Figs. 20 – 22, 25 – 29 ($10\mu\text{m}$); Figs. 23 e 24 ($5\mu\text{m}$).



Considerações Finais

Devido à falta de estudos taxonômicos sobre o gênero *Planktothrix* no Brasil e dada a importância destes organismos no que se refere a florações e produção de toxinas nos mais diversos sistemas aquáticos brasileiros, o presente estudo teve como objetivo o conhecimento e caracterização das espécies de *Planktothrix* que ocorrem no Brasil, tomando como base estudos morfológicos tradicionais, tanto em material da natureza como de cultura, além de análises filogenéticas a partir de estudos moleculares e estudos ecofisiológicos das espécies mais amplamente distribuídas.

No mundo todo, 13 espécies de *Planktothrix* são conhecidas (Komárek 2003, Komárek & Anagnostidis 2005) e a maioria é planctônica em águas continentais, apenas algumas podem ser perifíticas. O gênero é considerado mundialmente um dos mais importantes em relação à formação de florações, abundância e dominância, além de produção de toxinas (microcistinas e mais recentemente saxitoxina) e de geosmina (Sivonen & Jones 1999, Pomati *et al.* 2000, Prati *et al.* 2002, Komárek & Komárkova 2004, Welker & Christiansen 2004, Tonk *et al.* 2005, Schober & Kurmayer 2006, Jüttner & Watson 2007, Rohrlack *et al.* 2007).

No Brasil, a partir do levantamento bibliográfico realizado e do estudo de amostras da natureza, herbário e cultura, registrou-se a ocorrência de quatro espécies: *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komárek (Sant'Anna & Azevedo 1995, Sant'Anna & Azevedo 2000, Costa 2003, Tucci *et al.* 2006, Santos 2008), *P. isothrix* (Skuja) Komárek et Komarková (Sant'Anna *et al.* 2007, Santos 2008), *P. rubescens* (De Candole ex Gomont) Anagnostidis et Komárek (Bicudo & Ventrice 1968, Senna 1982, Franceschini 1983, Werner & Rosa 1992) e *P. planctonica* (Elenkin) Anagnostidis et Komárek (Werner 1988, Werner 2002).

A caracterização morfológica dos táxons constitui o ponto de partida para a construção de um sistema de classificação que esteja de acordo com as relações filogenéticas, expresse a diversidade da natureza e que seja coerente do ponto de vista botânico e bacteriológico (Komárek 2006).

Neste sentido, considerando a abordagem taxonômica tradicional, ou seja, a partir da análise morfométrica sob microscopia óptica, procedeu-se a análise crítica das características que auxiliaram na distinção das espécies do gênero *Planktothrix*.

Assim, observou-se que a característica morfológica “forma do tricoma” é bastante estável, mostrando-se consistente na avaliação e distinção inter-genérica, porém pouco eficiente na distinção entre as espécies, pois a maioria das espécies inseridas no gênero

Planktothrix é caracterizada por tricomas freqüentemente retos e às vezes levemente atenuados.

O caráter “construção” mostrou-se bastante instável em nível inter-específico, muitas vezes de difícil visualização e dependente da observação individual de cada pessoa. Devido a grande variabilidade inter-específica, recomenda-se avaliar tal característica sempre de modo conjunto com demais características morfológicas.

A presença de aerótopos é característica fundamental na sua distinção intra-genérica dentro da família Phormidiaceae, sendo efetivamente útil na separação com *Phormidium*, gênero com características próximas. Porém, pouco efetiva na diferenciação inter-específica, pois todas as espécies são descritas e caracterizam-se pela presença de aerótopos.

Komárek & Anagnostidis (2005) afirmam que a característica “forma da célula apical” auxilia de forma contundente na distinção inter-específica, fato observado também no presente trabalho.

Já a utilização de características métricas para distinção inter-específica, quando analisadas isoladamente, mostrou-se pouco confiável, pois as medidas de largura do tricoma e comprimento celular apresentam ampla variação e muitas vezes até se sobrepõem para algumas espécies. Anagnostidis & Komárek (1988) afirmam que a avaliação métrica ainda é utilizada na descrição tradicional das espécies, mas dificilmente pode ser utilizada para a separação dos grupos taxonômicos dentro de Oscillatoriales (Anagnostidis & Komárek 1988).

Assim, verificou-se no presente estudo que as características morfométricas tais como, forma do tricoma, largura do tricoma, comprimento celular, forma dos aerótopos, coloração celular, parede espessada e/ou irregular ou não e forma da célula apical, quando observadas e analisadas em conjunto, auxiliaram de forma efetiva na diferenciação e identificação das espécies do gênero *Planktothrix*.

O estudo morfométrico realizado para *P. agardhii* e *P. isothrix*, considerando as características métricas “largura do tricoma” e “comprimento celular” entre materiais da natureza, de cultura e de herbário, mostrou que apesar da análise estatística apontar diferenças entre os três tipos de materiais observados a amplitude de variação está dentro do estabelecido para ambas as espécies e a diferença numérica entre os materiais é pequena ($< 0,5 \mu\text{m}$) sendo pouco significativa e ineficiente na avaliação e distinção taxonômica. Concluindo-se, assim, que para as características analisadas os materiais herborizados e os cultivados não sofrem mudanças métricas significativas quando comparadas com material da natureza, ou seja, são estáveis.

Dessa forma, verificou-se que *Planktothrix* é bem delimitado pelo fenótipo. Portanto, apesar da distinção inter-específica ser complexa, uma análise morfométrica apurada da população permite a separação entre as espécies do gênero.

Hoje em dia, considerando as grandes dificuldades na realização de adequada identificação das cianobactérias sob microscopia óptica, é cada vez mais comum a utilização de técnicas moleculares na tentativa de solucionar problemas taxonômicos envolvendo o grupo e complementando a descrição dos caracteres fenotípicos convencionais, assim como auxiliar nas inferências filogenéticas (Wilmotte 1994, Hoffmann *et al.* 2005).

Para tal finalidade, utilizando-se as seqüências do gene RNAr 16S das linhagens estudadas (SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 e SPC788) observou-se que a árvore filogenética construída corrobora o parentesco próximo destas linhagens com espécies de *Planktothrix*.

A linhagem SPC788 teve confirmada a sua identificação morfológica com *P. isothrix*. As linhagens SPC205, SPC370, SPC383, SPC609, SPC690, BBO13 foram identificadas pela morfologia tradicional como *Planktothrix agardhii*, como mencionado anteriormente. Entretanto, não tiveram sua identidade específica confirmada, pois apresentaram identidade superior a 97,5% com seqüências de linhagens de *Planktothrix pseudagardhii*. Assim sendo, em nível específico os resultados de RNAr 16S das linhagens citadas acima divergem dos resultados morfológicos o que pode, contudo, estar relacionado ao baixo poder de resolução do RNAr 16S para nível infra-genérico. Assim, para as categorias infra-genéricas são necessários estudos moleculares mais apurados que considerem também outros genes.

Por meio da análise das seqüências geradas no presente estudo, verificou-se que *Planktothrix* caracteriza-se como um grupo monofilético estritamente delimitado, assim como evidenciado em outros trabalhos de diferentes localidades tais como: Lyra *et al.* (2001) a partir de linhagens finlandesas, Suda *et al.* (2002) estudando linhagens de diversas localidades (Suécia, Noruega, Finlândia, Tailândia, China) e Lin *et al.* (2009) que analisaram linhagens chinesas.

Com relação às linhagens SPC1048 e SPC1050, que tiveram identificação taxonômica incerta por apresentar características morfológicas tanto de *Planktothrix* como de *Phormidium*, os resultados moleculares, com base nas seqüências do RNAr 16S, posicionaram-nas próximas às linhagens de *Phormidium*, sugerindo que elas devem pertencer, possivelmente, à uma mesma espécie.

Verificou-se, portanto, que as seqüências do gene codificador para a subunidade menor do RNA ribossômico (RNAr 16S) mostraram-se adequadas para o estudo das

linhagens de *Planktothrix* e *Phormidium* uma vez que, de modo geral, foram congruentes com marcadores morfológicos na circunscrição genérica. Entretanto, em nível específico o gene nem sempre reflete as observações morfológicas.

A partir da correta identificação e classificação das linhagens de *Planktothrix* depositadas no Banco de Cultura de Cianobactérias da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica, selecionou-se as cepas SPC205 e SPC788, respectivamente *P. agardhii* e *P. isothrix* para a realização dos estudos ecofisiológicos. Considerando a grande importância ecológica do gênero *Planktothrix* no Brasil e no mundo e a inexistência de estudos *in vitro* com linhagens brasileiras, desenvolveu-se experimentos sob variação de temperatura e irradiância com o intuito de determinar as condições que mais favorecem o crescimento de *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek e *Planktothrix isothrix* (Skuja) Komárek & Komarková, em condições de cultura.

Assim, verificou-se que para *P. agardhii* a maior taxa de crescimento foi registrada na temperatura de 25° C e as menores taxas foram observadas nas temperaturas mais baixa (15 °C) e mais elevada (35 °C) (figura 8A). Assim, a temperatura de 25 °C mostrou ser a temperatura ótima de crescimento para tal espécie.

Já em relação à *P. isothrix*, a maior taxa de crescimento foi registrada à temperatura de 20 °C, inferior à temperatura ótima registrada para *P. agardhii* (25 °C). As menores taxas de crescimento de *P. isothrix* foram registradas à temperatura mais baixa experimentada (15 °C) e à (30 °C). A cepa SPC788 (*P. isothrix*) exibiu ainda, taxas de crescimento mais elevadas do que a cepa SPC205 (*P. agardhii*).

Em relação à irradiância, *P. agardhii* apresentou maior taxa de crescimento sob a irradiância de 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$, considerada desta forma, como irradiância ótima de crescimento, o que corrobora os trabalhos ecofisiológicos desenvolvidos por Ducobu *et al.* (1998), Tonk *et al.* (2005) e Oberhaus *et al.* (2007). As menores taxas de crescimento estiveram relacionadas às maiores irradiâncias (90-100, 150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) testadas no presente estudo.

Para *P. isothrix*, a maior taxa de crescimento ocorreu sob a menor irradiância experimentada (10-20 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$) e a menor taxa foi observada sob a maior irradiância (150-160 $\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$).

É interessante observar que as melhores taxas de crescimento registradas para as duas cepas estiveram relacionadas à irradiância. Assim, supõe-se que as ambas as cepas sofreram maior influência da temperatura. Porém, mesmo com amplas variações quanto à taxa de crescimento e número de tricomas, nenhuma das condições experimentais foi severamente limitante. Deste modo, é possível afirmar que apesar de haver diferenças quanto a taxa de

crescimento nas diferentes temperaturas e irradiâncias testadas para *P. agardhii* e *P. isothrix*, nenhuma das condições experimentadas inibiu de forma abrupta o crescimento das espécies.

Outro ponto que deve ser mencionado é que apesar das variações de temperatura e irradiância terem promovido mudanças morfológicas e morfométricas para ambas as cepas estudadas (SCP205 e SPC788) tais mudanças estão de acordo com a descrição das duas espécies. Portanto, todas as variações observadas estão incluídas na descrição mais atual (Komárek & Anagnostidis 2005), de modo que não foram observados limites métricos e fenotípicos discrepantes.

Assim, procedeu-se no presente estudo à revisão do gênero *Planktothrix* no Brasil, descrevendo quatro espécies a partir de características morfométricas tradicionais, com base em observação ao microscópio óptico. A análise molecular serviu como ferramenta, principalmente para confirmação inter-genérica dos táxons. Já os experimentos *in vitro* realizados sob diferentes condições de temperatura e irradiância, com duas das principais espécies do gênero (*P. agardhii* e *P. isothrix*) mostraram as condições que mais favorecem o desenvolvimento das cepas.

Literatura Citada

- Anagnostidis, K. & Komárek, J. 1988.** Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 80(1-4)/Algological Studies 50-53: 327-472.
- Bicudo, C.M.E. & Ventrice, M.R. 1968.** Algas do Brejo da Lapa. Parque Nacional do Itatiaia, Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Botânica, Fortaleza, Anais, Sociedade Botânica do Brasil, 3-30.
- Costa, I.A.S. 2003.** Dinâmica de Populações de Cianobactérias em um Reservatório Eutrofizado no Semi-Árido Nordeste Brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- Ducobu, H., Huisman, J., Jonker, R.R. & Mur, L.R. 1998.** Competition between a prochlorophyte and a cyanobacterium under various phosphorus regimes: comparison with the droop model. Journal of Phycology 34: 467-476.
- Franceschini, I. 1983.** Levantamento das Nostocophyceae do Rio Seco, Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- Gomont, M.M. 1892.** Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). Annales des Sciences Naturelles, Botanique 7(15): 263-368, (16): 91-264.
- Hoffmann, L.; Komárek, J. & Kaštovský, J. 2005.** System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state 2004. Algological Studies 117: 95-115.
- Jüttner, F. & Watson, S.B. 2007.** Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. Applied and Environmental Microbiology 73(14): 4395-4406.
- Komárek, J. 2003.** Planktic oscillatoriallean cyanoprokaryotes (short review according to combined phenotype and molecular aspects). Hydrobiologia 502: 367-382.
- Komárek, J. 2006.** The modern classification of cyanoprokaryotes (cyanobacteria). Oceanological and Hydrobiological Studies (Gdansk), Supplement 34, 3: 5-17.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2005.** Cyanoprokariota, 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, G. Gärdner, L. Krienitz & M. Schagul (eds.). Subwasserflora von mitteleuropa, Band 19/2. Spektrum Akademischer Verlag, 759 p.
- Komárek, J. & Komárková, J. 2004.** Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. Czech Phycology, Olomouc, 4: 1-18.

- Lin, S., Wu, Z., Yu, G., Zhu, M., Yu, B. & Li, R.** 2009. Genetic diversity and molecular phylogeny of *Planktothrix* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) strains of China. *Harmful Algae* (2009), doi: 10.1016/j.hal.2009.08.004.
- Lyra, C., Suomalainen, S., Gugger, M., Vezie, C., Sundman, P., Paulin, L. & Sivonen, K.** 2001. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 513-526.
- Oberhaus, L., Briand, J.F., Leboulanger, C., Jacquet, S. & Humbert, J.F.** 2007. Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. *Journal of Phycology* 43: 1191-1199.
- Pomati, F., Sacchi, S., Rosseti, C. & Giovannardi, S.** 2000. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: Molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of Phycology* 36: 553-562.
- Prati, M., Molteni, M., Pomati, F., Rosseti, C. & Bernardini, G.** 2002. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon*, 40: 267-272.
- Rohrlack, T. & Utkilen, H.** 2007. Effects of nutrient and light availability on production of bioactive anabaenopeptins and microviridin by the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. *Hydrobiologia* 83: 231-240.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M. T.P.** 1995. Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. *Nova Hedwigia* 60: 19-58.
- Sant'Anna, C.L. & Azevedo, M.T.P.** 2000. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia* 71: 359-385.
- Sant'Anna, C.L., Melcher, S.S., Carvalho, M.C., Gemelgo, M.P. & Azevedo, M.T.P.** 2007. Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 30 (1): 1-17.
- Santos, K.R.S.** 2008. Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas (“salina”, “salitrada” e “baía”) do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. Dissertação, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Schober E. & Kurmayer R.** 2006. Evaluation of different DNA sampling techniques for the application of the real-time PCR method for the quantification of cyanobacteria in water. *Letters in Applied Microbiology* 42: 412-417.
- Senna, P.A.C.** 1982. Nostocophyceae do Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

- Sivonen, K. & Jones, G.** 1999. Cyanobacterial toxins. *In*: I. Chorus & J. Bartram (eds.). Toxic cianobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. London, UK: WHO, E & FN Spon, pp. 41-112.
- Skuja, H.** 1948. Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. *Symb. Bot. Upsal.* 9(3): 1-399.
- Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnaraporn, N., Liu, Y & Day, J.G.** 2002. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoriod cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577-1595.
- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O,F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. & Huisman, J.** 2005. The Microcystin composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Enviromental Microbiology* 71(9): 5177-5181.
- Tucci, A., Sant'Anna, C.L., Gentil, R.C. & Azevedo, M.T.P.** 2006. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea* 33(2): 147-175.
- Welker, M. & Christiansen, G.** 2004. Diversity of coexisting *Planktothrix* (Cyanobacteria) chemotypes deduced by mass spectral analysis of microcystins and other oligopeptides. *Arch. Microbiol.* 182: 288-298.
- Werner, V.R.** 1988. Cianofíceas planctônicas da Lagoa de Tramandaí e da Lagoa do Armazém, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér.. Bot., Porto Alegre* (37): 33-70.
- Werner, V.R.** 2002. Cyanophyceae/Cyanobacteria no sistema de lagoas e lagunas da planície costeira do Estado do rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo.
- Werner, V.R. & Rosa, Z.M.** 1992. Cyanophyceae da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 52 (3): 481-502.
- Wilmotte, A.** 1994. Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. *In*: *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. D. A. Bryant (ed.). Kluwe Academic Publishers, The Netherlands, pp. 1-25.

Resumo

Revisão do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek, 1988 (Cyanobacteria/Oscillatoriales), no Brasil. *Planktothrix* era conhecido originalmente como *Oscillatoria* Gomont e é considerado um dos gêneros mais comuns em relação à formação de florações, produção de toxinas e geosmina. A taxonomia do gênero *Planktothrix* ainda é problemática e bastante difícil, principalmente devido à grande variabilidade morfológica e imprecisão taxonômica, de modo que investigações taxonômicas adicionais são sempre necessárias. Considerando a importância do gênero no que se refere à floração e toxicidade, o presente estudo tem como objetivos o conhecimento, caracterização e a correta identificação das espécies brasileiras de *Planktothrix*. Para isso, tomamos como base estudos morfológicos, tanto em material da natureza como de cultura e herbário e realizamos estudos filogenéticos e taxonômicos a partir do seqüenciamento do gene RNAr 16S. Foram realizados ainda experimentos *in vitro* objetivando determinar as condições de temperatura e irradiância que melhor favorecem o desenvolvimento de duas das mais importantes e amplamente distribuídas espécies do gênero no Brasil, *P. agardhii* e *P. isothrix*. Registrou-se a partir da análise taxonômica ao microscópio quatro espécies de *Planktothrix* no Brasil: *P. agardhii*, *P. isothrix*, *P. rubescens* e *P. planctonica*. Verificou-se que as características morfométricas quando observadas e analisadas em conjunto auxiliaram de forma efetiva a diferenciação, identificação e caracterização das espécies do gênero *Planktothrix*. As seqüências geradas do gene codificador para a subunidade menor do RNA ribossômico (RNAr 16S) mostraram-se adequadas para o estudo das linhagens de *Planktothrix* uma vez que, de modo geral, foram congruentes com marcadores morfológicos na circunscrição genérica. Entretanto, em nível específico o gene nem sempre refletiu as observações morfológicas. A partir dos experimentos realizados com *P. agardhii* e *P. isothrix* sob diferentes temperaturas e irradiâncias, observou-se que as melhores taxas de crescimento estiveram relacionadas à irradiância. Assim, concluímos que ambas as cepas sofreram maior influência da temperatura, entretanto, nenhuma das condições testadas limitaram o crescimento das mesmas. Já as mudanças morfométricas promovidas pelas variáveis abióticas estão de acordo com a descrição original e com a descrição mais atualizada das duas espécies, não tendo sido observados limites métricos e fenotípicos discrepantes.

Palavras-Chave: *Planktothrix*, morfologia, estudo *in vitro*, taxonomia, filogenia

Abstract

Revision of the genus *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek, 1988 (Cyanobacteria / Oscillatoriales) in Brazil. *Planktothrix* was originally known as *Oscillatoria* Gomont and is considered one of the more common genus in relation to bloom formation and toxin and geosmin production. The taxonomy of the genus *Planktothrix* is still problematic and difficult, mainly due to the great morphological variability and taxonomic imprecision, so that further taxonomic investigations are always necessary. Thus, considering the importance of this genus in relation to blooms and toxicity, this study aims the correct identification and characterization of Brazilian species of *Planktothrix*. For this, we developed morphological and taxonomic studies based on material from nature, culture and herbarium and conducted phylogenetic studies according to the 16S rRNA gene sequence. It was also performed experiments *in vitro* aiming to determine the conditions of irradiance and temperature that best encourage the development of the two widest distributed species of *Planktothrix* in Brazil, *P. agardhii* and *P. Isothrix*. Based on the taxonomic analysis, four *Planktothrix* species were recorded in Brazil: *P. agardhii*, *P. isothrix*, *P. rubescens* and *P. planctonica*. It was observed that the morphometric characteristics, when analyzed in conjunction, helped effectively the differentiation, identification and characterization of *Planktothrix* species. The generated sequences of the gene coding for the small subunit ribosomal RNA (16S rRNA) were suitable for the study of strains of *Planktothrix* since, in general, they were consistent with morphological markers in generic circumscription. However, to the species level, the gene not always reflected the morphological observations. From the experiments performed with *P. agardhii* and *P. Isothrix* under different temperatures and irradiance, it was observed that the best growth rates were related to irradiance. Thus, we conclude that the strains showed greater influence of temperature, however, none of the tested conditions were limiting to their growth. Since the morphometric changes promoted by environmental variables are in agreement with the original description and with the most current description of the species, discrepancies with the metrics and phenotypic limits were not observed.

Keywords: *Planktothrix*, morphology, *in vitro* study, taxonomy, phylogeny