

ANDRÉA SAMPAIO DIAS

Estrutura da comunidade fitoplanctônica em reservatórios com piscicultura no Estado de
São Paulo

SÃO PAULO

2020

ANDRÉA SAMPAIO DIAS

Estrutura da comunidade fitoplanctônica em reservatórios com piscicultura no Estado de
São Paulo

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

ORIENTADORA: DRa. ANDRÉA TUCCI

Ficha Catalográfica

AGRADECIMENTOS

Grata à minha mãe Diocina por ser a base de quem sou hoje.

Gratidão à minha orientadora, mãe e amiga, Andréa Tucci por todos os ensinamentos, atenção e carinho dedicados à mim em todos esses cinco anos.

Gratidão a Ivan por todo o amor, paciência e apoio dedicados a mim.

Grata aos meus queridos amigos do alojamento e agregados pelos momentos únicos e maravilhosos que passamos juntos. Em especial à Verete (Vera) e ao Gato (Hygor) por serem uma verdadeira família para mim.

Grata à todos que fazem, ou já fizeram, parte da seção de Ficologia pelas longas e divertidas conversas na cozinha e pela leve e deliciosa convivência.

Gratidão à todos do projeto IMPCON que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste estudo.

Grata aos novos amigos que fiz e que me ajudaram a tornar este percurso mais leve e feliz.

Grata aos antigos e novos membros da família que tive a oportunidade de rever/conhecer durante estes anos aqui em São Paulo.

Grata à minha amada psicóloga e amiga Ana Claudia pelas deliciosas manhãs de sexta-feira juntas.

Grata à todos do Centro Espírita Irmão X pelo companheirismo e ensinamentos.

Grata ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente pela realização do presente estudo e aos órgãos de fomento FAPESP, que financiou todas as coletas por meio do programa de Treinamento Técnico de Nível 3 e à CAPES pela concessão da bolsa PNADB de doutorado.

RESUMO

A Piscicultura é uma atividade econômica difundida nos reservatórios brasileiros por conta das boas condições para cultivo, incentivo governamental e baixo custo-benefício. A análise da comunidade fitoplanctônica e das variáveis ambientais em reservatórios com esta prática, é relevante para se obter uma visão geral das características ecológicas deste ambiente e permite acompanhar possíveis mudanças causadas pela atividade além de, prever os efeitos das mudanças ambientais sobre o reservatório e suas comunidades aquáticas. Com base nisso, foi realizado um estudo para avaliar a estrutura da comunidade fitoplanctônica e as características limnológicas de três reservatórios com tilapicultura em tanques-rede no Estado de São Paulo. Foram amostradas seis estações: uma estação no reservatório Chavantes, três estações no reservatório Nova Avanhandava e duas no reservatório Ilha Solteira, em dois anos consecutivos, nos períodos de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016. Para tanto, foram determinadas as concentrações de nutrientes totais e dissolvidos, oxigênio dissolvido, temperatura, pH, condutividade, sólidos suspensos, clorofila α , Índice de Estado Trófico (IET), cianotoxinas, densidade, biomassa, Diversidade, Riqueza, composição e classificação da comunidade fitoplanctônica em Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM). Quanto ao grau de trofia, os três reservatórios foram classificados como mesotróficos de acordo com a média dos IETs. A riqueza em **Chavantes** foi de 56 táxons e a comunidade fitoplanctônica apresentou baixa diversidade ($H' = 2$ bits.ind⁻¹) e foi constituída predominantemente por *Cryptomonas* spp. e *Rhodomonas lacustris* (Cryptophyceae), que estão entre as cinco espécies descritoras deste sistema. As descritoras biológicas foram classificadas nos GFBM V e VII que estiveram associados aos maiores valores de transparência de água, baixas temperaturas de água e a ausência de mistura completa da coluna d'água. No reservatório **Nova Avanhandava** as concentrações de fósforo total e nitrogênio total estiveram elevadas, e tal resultado associado à concentração dos demais nutrientes refletiu na comunidade fitoplanctônica que apresentou riqueza de 177 táxons, diversidade máxima de $H' = 3,6$ bits.ind⁻¹ e foi constituída principalmente por espécies de Cyanobacteria. As 22 espécies descritoras deste reservatório foram classificadas em cinco GFBM III, IV, V, VI e VII, associadas principalmente aos maiores valores de condutividade elétrica da água, tanto em março de 2015 como março de 2016, independente dos pontos amostrados (montante, fazenda ou jusante). Dentre as espécies

de cianobactérias, oito são produtoras de microcistinas, toxina encontrada em concentrações elevadas (acima de $1,60 \mu\text{g L}^{-1}$) neste reservatório. Destaca-se ainda para Nova Avanhandava, o primeiro registro de ocorrência do dinoflagelado invasor, *Ceratium furcoides*, muito embora, esse registro foi com baixos valores de biomassa. No reservatório de **Ilha Solteira** foi registrada riqueza de 114 táxons e a maior diversidade $H' = 3,8 \text{ bits.ind}^{-1}$, registrou-se a maior contribuição de Cryptophyceae e 11 espécies descritoras classificadas em cinco GFBM III, IV, V, VI e VII. As Análises de Componentes Principais e de Correlação Canônica evidenciaram de forma geral uma diferença temporal anual entre as estações, grande correlação da concentração de nutrientes e condutividade com os pontos e fitoplâncton de Nova Avanhandava e correlação com a transparência. Apesar dos reservatórios terem o mesmo grau de trofia, registrou-se composição e abundâncias distintas quanto à comunidade fitoplanctônica, muito provavelmente em função das características de uso e ocupação da bacia, profundidade e intensidade dos cultivos. Dentre as espécies de cianobactérias registradas nos reservatórios *Dolichospermum circinalis*, *D. planctonicum*, *Microcystis aeruginosa*, *M. protocystis*, *Planktothrix isothrix*, *Radiocystis fernandoi* e *Synechocystis aquatilis* são citadas na literatura como produtoras de microcistinas. A microcistina-LR foi detectada em todas as estações amostradas e alerta para a intoxicação e bioacumulação no cultivo e para o comprometimento da qualidade da água com possíveis riscos à saúde-pública, por serem reservatórios destinados também ao abastecimento humano. Com base nos resultados obtidos, verificamos que a presença da atividade de piscicultura em tanques-rede nos reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira, está promovendo alterações tanto na concentração das variáveis físicas e químicas da água, quanto na estrutura comunidade fitoplanctônica com substituição de espécies de Cryptophyceae para Cyanobacteria, com tendência ao aumento da biomassa de cianobactérias, em especial de espécies tóxicas. A implicação para esta situação é a perda da qualidade da água nestes reservatórios e o comprometimento da piscicultura, além do risco à saúde pública.

Palavras-chave: *Ceratium furcoides*, fitoplâncton, grupos funcionais, mesotrófico, eutrofização, microcistinas, piscicultura, tanques-rede

ABSTRACT

Fish farming is an economic activity widespread in Brazilian reservoirs due to the good conditions for cultivation, government incentives and low cost-benefit. The analysis of the phytoplankton community and the environmental variables in reservoirs with this practice is relevant to obtain an overview of the ecological characteristics of this environment and allows to monitor possible changes caused by the activity in addition to predicting the effects of environmental changes on the reservoir and its aquatic communities. Based on this, a study was carried out to evaluate the structure of the phytoplankton community and the limnological characteristics of three reservoirs with tilapiculture in net cages in the State of São Paulo. Six stations were sampled: one station in the Chavantes reservoir, three stations in the Nova Avanhandava reservoir and two in the Ilha Solteira reservoir, in two consecutive years, in the periods of March and October 2015 and March and October 2016. For this, the concentrations of total and dissolved nutrients, dissolved oxygen, temperature, pH, conductivity, suspended solids, α chlorophyll, Trophic State Index (TSI), cyanotoxins, density, biomass, diversity, richness, composition and classification of the phytoplankton community in Morphology Based Functional Groups (MBFG) were determined. As for the degree of trophic, the three reservoirs were classified as mesotrophic according to the average of the TSIs. The richness in Chavantes was 56 taxa and the phytoplankton community showed low diversity ($H' = 2 \text{ bits.ind}^{-1}$) and was predominantly made up of *Cryptomonas* spp. and *Rhodomonas lacustris* (Cryptophyceae), which are among the five species that describe this system. The biological descriptors were classified in MBFG V and VII which were associated with higher values of water transparency, low water temperatures and the absence of complete mixing of the water column. In the Nova Avanhandava reservoir, the concentrations of total phosphorus and total nitrogen were high, and this result associated with the concentration of the other nutrients reflected in the phytoplankton community that showed a richness of 177 taxa, maximum diversity of $H' = 3.6 \text{ bits.ind}^{-1}$ and was made up mainly of Cyanobacteria species. The 22 species that describe this reservoir were classified into five MBFG III, IV, V, VI and VII, mainly associated with the highest values of electrical conductivity of the water, both in March 2015 and March 2016, regardless of the sampled points (amount, farm or downstream). Among the species of cyanobacteria, eight are producers of microcystins, a toxin found in high

concentrations (above $1.60 \mu\text{g L}^{-1}$) in this reservoir. Is also noted for Nova Avanhandava, the first record of occurrence of the invading dinoflagellate, *Ceratium furcoides*, although this record was with low biomass values. In the Ilha Solteira reservoir, 114 taxa were recorded and the greatest diversity $H' = 3.8 \text{ bits.ind}^{-1}$, the largest contribution of Cryptophyceae and 11 descriptive species classified in five MBFG III, IV, V, VI and VII. The Principal Component and Canonical Correlation Analysis showed, in general, an annual time difference between the seasons, a great correlation of the concentration of nutrients and conductivity with the points and phytoplankton of Nova Avanhandava and correlation with transparency in Chavantes and Ilha Solteira. Despite the fact that the reservoirs have the same degree of trophic, different composition and abundances were registered regarding the phytoplankton community, most likely due to the characteristics of use and occupation of the basin, depth and intensity of the crops. Among the species of cyanobacteria recorded in the reservoirs *Dolichospermum circinalis*, *D. planctonicum*, *Microcystis aeruginosa*, *M. protocystis*, *Planktothrix isothrix*, *Radiocystis fernandoi* e *Synechocystis aquatilis* are mentioned in the literature as producers of microcystins. Microcystin-LR was detected in all sampled stations and warns of intoxication and bioaccumulation in the crop and the compromise of water quality with possible risks to public health, as they are reservoirs destined also for human supply. Based on the results obtained, we verified that the presence of fish farming activity in network tanks in the Chavantes, Nova Avanhandava and Ilha Solteira reservoirs is promoting changes both in the concentration of the physical and chemical variables of the water and in the phytoplankton community structure with substitution of Cryptophyceae species for Cyanobacteria, with a tendency to increase the biomass of cyanobacteria, especially of toxic species. The implication for this situation is the loss of water quality in these reservoirs and the compromise of fish farming, in addition to the risk to public health.

Keywords: *Ceratium furcoides*, phytoplankton, functional groups, mesotrophic, eutrophication, microcystins, pisciculture, net cages

Lista de siglas

pH	Potencial hidrogeniônico
IET	Índice de Estado Trófico
TSI	Trophic State Index
GFBM	Grupos Funcionais Baseados na Morfologia
MBFG	Morphology Based Functional Group
H'	Índice de Diversidade
IMPCON	Improved Quality of Cultured Fish for Human Consumption
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
DCSR	Danish Council for Strategic Research
IB	Instituto de Biociências
UNESP	Universidade Estadual Paulista
SP	São Paulo
E (1 à 6)	Estação (1 à 6)
APTA	Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
DHI	Danish Hydraulic Institute
UHE	Usinas Hidrelétricas
CH	Chavantes
NA	Nova Avanhandava
IS	Ilha Solteira
MS	Mato Grosso do Sul
PR	Paraná
CESP	Companhia Energética de São Paulo
M15	Março 2015
O15	Outubro 2015
M16	Março 2016
O16	Outubro 2016
S	Superfície
V	Volume
ACP	Análise de Componentes Principais
ACC	Análise de Correspondência Canônica
DCA	Detrended Correspondence Analysis

OD	Oxigênio Dissolvido
M	Montante
F	Fazenda
F1	Fazenda 1
F2	Fazenda 2
J	Jusante
TSS	Total de Sólidos Suspensos
CHL	Clorofila
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
MC	Microcistina
S (1 à 3)	Stations (1 à 3)

Lista de figuras

Área de estudo

- Figura 1. Mapa destacando o Estado de São Paulo (A) a localização dos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS) no Estado de São Paulo (B) e em destaque, os reservatórios e as respectivas estações/fazendas de criação de tilápias (1 à 6) em tanques-rede (C). 19
- Figura 2. Imagem de satélite (A) com localização da estação E1 no Reservatório Chavantes (23°07'42" S e 49°43'59" O), Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema, foto da piscicultura (E1-B) e foto dos tanques rede (C) (ponto f1) onde as amostras foram coletadas. 21
- Figura 3. Imagem de satélite (A) com localização das estações E2, E3 e E4 no Reservatório Nova Avanhandava (21°07'01" S e 50°12'06" O), Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê e fotos das três pisciculturas (E2-B, E3-C e E4-D). 23
- Figura 4. Imagem de satélite (A) com localização das estações E5 e E6 no Reservatório Ilha Solteira (20°23'00" S e 51°22'00" O), Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados e fotos das duas pisciculturas (E5-B e E6-C). 25

Figura 5.	Disposição dos pontos de coleta em cada estação amostral. E1: estação um (Chavantes); E2, E3 e E4: estações dois, três e quatro (Nova Avanhandava); E5 e E6: estações cinco e seis (Ilha Solteira). M: montante; F: fazenda; J: jusante.	26
Capítulo 1		
Figura 1.	Localização dos reservatórios estudados no Estado de São Paulo: Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS) e suas respectivas estações de amostragens, correspondentes às seis fazendas de piscicultura (E1 à E6).	42
Figura 2.	Representação esquemática dos sete Grupos Funcionais Baseados em Morfologia (GFBM) proposto por Kruk <i>et al.</i> (2010) incluindo uma breve descrição de sua morfologia. S área superficial, V volume.	45
Figura 3.	Gráficos dos valores médios e desvios padrão de variáveis físicas e químicas analisadas em cada ponto amostral (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2 e J: jusante) dos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016). [Temp: temperatura (A), pH: potencial hidrogeniônico (B) e OD: oxigênio dissolvido (C)].	47
Figura 4.	Gráficos dos valores médios e desvios padrão de variáveis físicas e químicas analisadas em cada ponto amostral (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2 e J: jusante) dos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016). [Cond: condutividade elétrica (A), TSS: total de sólidos suspensos (B) e CHL: chlorofila a (C)].	48
Figura 5.	Gráficos de precipitação de 2014 em comparação à média histórica 1993-2013 nas UGRHI 14 Chavantes (A), 19 Baixo Tietê (B) e 18 São José dos Dourados (C), respectivamente.	49

- Figura 6. Perfis de temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$) nos três reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) durante o período de março de 2015 (1 $^{\circ}$ coluna), outubro de 2015 (2 $^{\circ}$ coluna) e março de 2016 (3 $^{\circ}$ coluna). 50
- Figura 7. Perfis de oxigênio dissolvido (OD) nos três reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) durante o período de março de 2015 (1 $^{\circ}$ coluna), outubro de 2015 (2 $^{\circ}$ coluna) e março de 2016 (3 $^{\circ}$ coluna). 51
- Figura 8. Gráficos dos valores médios e desvios padrão dos nutrientes, analisados durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016) nos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, N.A: Nova Avanhandava e I.S: Ilha Solteira). [$\text{NH}_4\text{-N}$: amônia (A), $\text{NO}_2\text{-N}$: nitrito (B), $\text{NO}_3\text{-N}$: nitrato (C)]. 53
- Figura 9. Gráficos dos valores médios e desvios padrão dos nutrientes, analisados durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016) nos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, N.A: Nova Avanhandava e I.S: Ilha Solteira). [NT: nitrogênio total (A), PT: fósforo total (B) e PO_4P : ortofosfato (C)]. 54
- Figura 10. Ordenação pela ACP dos pontos amostrais em função das variáveis limnológicas. As variáveis limnológicas são descritas pelos vetores e os pontos amostrais são dados em código alfanumérico (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2, J: jusante) seguidos de símbolos representando os períodos amostrais (março e outubro de 2015= quadrado, março e outubro de 2016= círculo) e cores representando as estações amostrais (Chavantes= verde, Nova Avanhandava= vermelho e Ilha Solteira= azul). Variáveis ambientais: oxigênio dissolvido (OD), condutividade (Cond), temperatura (Temp), Secchi, nitrogênio total (NT), fósforo total (PT), amônia ($\text{NH}_4\text{-N}$) e fosfato (PO_4P) (tabela 1). 55
- Figura 11. Contribuição das classes fitoplancônicas para a densidade (org mL^{-1}) dos reservatórios estudados Chavantes (A), Nova Avanhandava e 64

	Ilha Solteira) nos meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.	
Figura 12.	Contribuição em biovolume ($\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$) dos grupos fitoplanctônicos nos reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) nos meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.	66
Figura 13.	Valores de Riqueza (n) e Diversidade (H') entre as estações de amostragens (M: montante, F: fazenda e J: jusante) nos três reservatórios estudados (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) durante os meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.	67
Figura 14.	Análise de Correspondência Canônica (ACC) da relação entre os Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) e a variáveis ambientais nos pontos amostrais dos reservatórios avaliados. As variáveis limnológicas são descritas pelos vetores, os GFBM pelos círculos pretos e os pontos amostrais são dados em código alfanumérico (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2, J: jusante) seguidos de símbolos representando os períodos amostrais (março e outubro de 2015= losango, março e outubro de 2016: círculo) e cores representando as estações amostrais (Chavantes: verde, Nova Avanhandava: vermelho e Ilha Solteira: azul). Variáveis ambientais: condutividade (Cond), nitrogênio total (NT), amônia ($\text{NH}_4\text{-N}$) e fosfato ($\text{PO}_4\text{-P}$).	71
Capítulo 2		
Figura 1.	Location of the studied reservoirs in the state of São Paulo: Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) and Ilha Solteira (IS) and their respective sampling stations, corresponding to the six fish farms (P1 to P6).	87
Figura 2.	Mean values and standard deviation of the total and dissolved nutrients at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the three sampled reservoirs (CH: Chavantes, NA: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16	92

respectively). (A) TN: total nitrogen, (B) TP: total phosphorus, (C) NO₂-N: nitrite and (D) NO₃-N: nitrate.

- Figura 3. Mean values and standard deviation of the total and dissolved nutrients at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the three sampled reservoirs (CH: Chavantes, NA: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16 respectively). (A) NH₄-N: ammonia, (B) PO₄-P: orthophosphate and (C) CHL: chlorophyll a. 93
- Figura 4. Biplot ordering by the PCA between the sampling stations in the periods of March and October of 2015 and March and October of 2016 and the limnological variables. The letters and numbers that accompany the symbols of the sampling stations refer respectively to the initials of the month and year of collection (Example: M15 corresponds to March 2015). The abbreviations of the limnological variables are presented in Table 2. 94
- Figura 5. Temporal variation of the density (org mL⁻¹) of cyanobacteria compared to the density of the other phytoplanktonic classes recorded at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhandava; F5 e F6: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16 respectively). 96
- Figura 6. Cyanobacterias producing microcystins found in sample stations. A. *Dolichospermum circinalis*, B. *D. planctonicum*, C. *Radiocystis fernandoi*, D. *Microcystis aeruginosa*, E. *M. protocystis*, F. *Synechocystis aquatilis*, and G. *Planktothrix isothrix*. 98
- Figura 7. Density of the seven species of cyanobacteria producing microcystins registered at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhandava; F5 e F6: Ilha Solteira) in March and October 2015 and March and October 2016. 99

Figura 8.	Concentration of microcystins (LR, RR and YR) at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhandava; F5 e F6: Ilha Solteira) in October 2015 and March and October 2016.	99
-----------	---	----

Capítulo 3

Figura 1.	Location of São Paulo State and Nova Avanhandava reservoir (N.A). In detail, the map of Nova Avanhandava reservoir showing the location of the three samplings stations (S1, S2, and S3).	115
Figura 2.	Specimens of <i>Ceratium furcoides</i> found in Nova Avanhandava reservoir (S2) (SP470024 and SP470025): a. ventral view; b. dorsal view; c e d. lateral views.	119
Figura 3.	Total density (org mL ⁻¹) (a.) and biovolume (mm ³ L ⁻¹) (b.) of the <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans in compared to phytoplanktonic classes at the six samplings stations (upstream: U, fish farm: F and downstream: D) during the period of 2015 and 2016. On the left, scale of the phytoplankton community (bars graph). On the right, scale of the species <i>Ceratium furcoides</i> (area graph).	120

Lista de tabelas

Capítulo 1

Tabela 1.	Valores da Correlação de Pearson entre os vetores das variáveis limnológicas e nutrientes com os eixos 1 e 2 da Análise de Componentes Principais (APC) realizada para os três reservatórios.	56
Tabela 2.	Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS).	56
Tabela 3.	Grupos do fitoplâncton registradas nos reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira ao longo dos dois anos consecutivos de estudo (2015 e 2016), com seus respectivos números de táxons, porcentagem de contribuição.	63
Tabela 4.	Espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica, a partir do biovolume (mm ³ .mL ⁻¹), para cada reservatório estudado	68

(Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) com suas respectivas porcentagens de contribuição (%).

Tabela 5.	Distribuição das somas dos biovolumes ($\text{mm}^3.\text{mL}^{-1}$) das espécies correspondentes aos Grupo Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) (III, IV, V, VI e VII) para cada reservatório (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) no período de estudo (M15: março de 2015, O15: outubro de 2015, M16: março de 2016 e O16: outubro de 2016).	70
-----------	--	----

Tabela 6.	Síntese dos resultados para os três primeiros eixos da Análise de Correspondência Canônica (ACC) realizada a partir de quatro variáveis ambientais e cinco Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) considerando os reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira. Abreviações: SP: espécie, A: ambiente.	72
-----------	--	----

Capítulo 2

Tabela 1.	Morphometric characteristics and surface area values, maximum depth and residence time for each reservoir and averages and standard deviation of the physical and chemical variables studied for the three reservoirs during the study period (March and October 2015 and March and October 2016). *Adapted from CETESB (2017) and Neto et al. (2015).	91
-----------	--	----

Tabela 2.	Pearson correlation values between the limnological and nutrient variables vectors with axes 1 and 2 of the Principal Component Analysis (APC) performed for the three reservoirs.	95
-----------	--	----

Tabela 3.	Toxic species of Cyanobacteria occurred at the three reservoirs (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) during the study period.	97
-----------	--	----

Capítulo 3

Tabela 1.	Mean, minimum and maximum values of the physical (WT: Water Temperature, Turb.: Turbidity) and chemical variables (DO: Dissolved Oxygen, Cond.: Conductivity, pH, Chl α : Chlorophyll- α) measured at the three samplings stations.	117
-----------	--	-----

Tabela 2.	Mean values and standard deviation of nutrients concentrations for the samplings stations in Nova Avanhandava reservoir, recorded in March and October 2015, and March and October 2016.	117
-----------	--	-----

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO DA TESE.....	20
INTRODUÇÃO GERAL.....	22
OBJETIVOS.....	28
HIPÓTESES.....	28
ÁREA DE ESTUDO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO 1: Caracterização da comunidade fitoplanctônica em três reservatórios tropicais com tanques-rede: abordagem clássica e Grupos Funcionais Baseados em Morfologia.....	49
Resumo.....	49
Abstract.....	49
Introdução.....	50
Material e métodos.....	51
Resultados.....	56
Discussão.....	82
Referências bibliográficas.....	84
CAPÍTULO 2: Cyanobacteria and microcystins in reservoir with tilapiculture, Southeastern of Brazil.....	93
Abstract.....	93
Introduction.....	94
Material and methods.....	96
Results.....	100
Discussion.....	110
Final considerations.....	112
Acknowledgments.....	113
References.....	113
CAPÍTULO 3: <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans: first record in Nova Avanhandava, a reservoir with fish farming in Southeast Brazil.....	122
Abstract.....	122
Resumo.....	123
Introduction.....	123
Material and methods.....	124

Results.....	126
Discussion.....	130
Acknowledgment.....	133
Literature cited.....	133
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	140
RECOMENDAÇÕES.....	141
ANEXO (Characterization of phytoplankton by pigment analysis and the detection of toxic cyanobacteria in reservoirs with aquaculture production).....	142

APRESENTAÇÃO

Os resultados da Tese são frutos dos seguintes projetos de pesquisa:

- “IMPCON – Improved Quality of Cultured Fish for Human Consumption” Projeto Temático de Pesquisa (FAPESP-DCSR 2013/50504-5), coordenador - Prof. Adj. Reinaldo José da Silva (Depto. de Parasitologia, IB, UNESP), vigência: fevereiro de 2014 à janeiro de 2018 e;
- " Phytoplankton characterization with emphasis on cyanobacteria in reservoirs with implantation of cages for tilapia culture” Projeto de Treinamento Técnico (FAPESP 2014 / 19860-2), pesquisadoras responsáveis - Cacilda Thais Janson Merchante (Instituto de Pesca, SP) e Andréa Tucci (Instituto de Botânica, SP), vigência: janeiro de 2014 à setembro de 2016.

A Tese foi composta por quatro capítulos:

- Capítulo 1 – artigo que trata da estrutura da comunidade fitoplanctônica e a classificação em Grupos Funcionais Baseados em Morfologia. Formatação de acordo com Hoehnea.
- Capítulo 2 – artigo que trata do grupo Cianobacteria e as microcistinas avaliadas nos três reservatórios. Formatação de acordo com Journal Water and Health.
- Capítulo 3 – artigo que trata de nova ocorrência de uma espécie. Trabalho já submetido à Hoehnea.
- Anexo – artigo que trata da caracterização do fitoplâncton por meio de pigmentos e detecção de microcistinas. Trabalho já publicado na Aquaculture Environment Interactions (<https://doi.org/10.3354/aei00256>).

Durante a etapa de coleta do projeto base foram realizadas quatro amostragens, em seis estações de coletas, nos períodos de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016, em três reservatórios com atividade de tilapicultura do Estado de São Paulo. Cada empreendimento/piscicultura foi considerado como uma estação amostral (E).

Em cada estação, foram definidos pontos de coleta chamados montante (M; antes dos tanques-rede), fazenda (F; onde ficam os tanques-rede) e jusante (J; depois dos tanques-rede), ou seja, em cada estação haviam dois ou mais pontos de coleta de amostras. Os reservatórios amostrados foram: Chavantes (E1: montante, fazenda 1, fazenda 2, jusante), Nova Avanhandava (E2: montante, fazenda e jusante; E3: montante e fazenda 1; E4: fazenda 2 e jusante), Ilha Solteira (E5: montante, fazenda e jusante; E6: montante, fazenda

e jusante). Em Nova Avanhandava, duas fazendas (E3 e E4) possuíam localização próxima e, portanto, foi considerada somente uma montante e uma jusante para ambas. As coletas das amostras de água nos reservatórios e as análises das variáveis físicas, químicas e biológicas (quantitativa e qualitativa do fitoplâncton) da água são resultados dos projetos mencionados e as análises dessas variáveis foram realizadas nos laboratórios de Microscopia do Núcleo de Pesquisa em Ficologia do Instituto de Botânica de São Paulo, de Limnologia do Instituto de Pesca, no Instituto de Biociências da Universidade Paulista Júnior de Mesquita Filho (UNESP-Botucatu), na Agência Paulista Tecnologia dos Agronegócios (APTA-Jaú) e no laboratório Environment and Toxicology, do Danish Hydraulic Institute (DHI).

INTRODUÇÃO GERAL

As finalidades dos primeiros reservatórios construídos no Brasil eram a geração de energia e abastecimento público, porém atender a multiplicidade de usos é um dos principais focos na construção destes sistemas artificiais na atualidade (Júlio Jr. *et al.* 2005, Galli & Abe 2010, Tundisi 2014). Dentre estes usos, destaca-se a aquicultura continental que apresenta uma crescente importância no cenário econômico mundial e nacional (Sabbag *et al.*, 2007; Kubitza, 2010; Brabo *et al.*, 2014, David *et al.* 2018, Lopes *et al.* 2018, Valladão *et al.* 2018).

A aquicultura pode ser conceituada como o cultivo em cativeiro de diferentes organismos aquáticos em qualquer fase de desenvolvimento (Oliveira, 2009; Azevedo-Santos *et al.*, 2011; Brabo *et al.*, 2014).

No estado de São Paulo este processo se consolidou no fim da década de 1990 com a produção de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758). Durante este período, incentivos governamentais foram surgindo para subsidiar a atividade, dentre eles podemos citar a concessão de 1% das águas da União (reservatórios e Usinas Hidrelétricas - UHE) por meio da criação de “fazendas aquáticas” denominadas como Parques Aquícolas (Ayrosa *et al.* 2006; Ayrosa *et al.* 2008; Sussel 2013; Brabo *et al.* 2014), assim como a criação do Decreto 60.582/2014 que dispõe sobre o licenciamento ambiental da aquicultura, estabelecendo as condições para o desenvolvimento sustentável da produção aquícola no Estado de São Paulo, classificando-a como uma atividade de interesse social e econômico e de elevado potencial para política pública.

Assim, o cultivo em tanques-rede é uma das modalidades de criação intensiva de peixes que apresenta a melhor relação custo benefício. Neste sistema, o produtor consegue montar seu empreendimento com um investimento inicial menor ampliando de acordo com a necessidade. A criação em tanques-rede também pode ser praticada sem a necessidade de posse de terras, utilizando-se de águas sob domínio da União. Além disso, este sistema apresenta uma produtividade até 30 vezes superior à dos viveiros tradicionais devido ao constante fluxo de água que renova a concentração do oxigênio dissolvido necessário aos processos metabólicos dos peixes e eliminando os resíduos orgânicos tais como fezes e sobras de alimento (Kubitza 1999; Castellani & Barrella 2006; Attayde & Panosso 2011).

A implantação dos tanques-rede como forma de cultivo, aliada às condições ambientais e climáticas do território brasileiro e aos avanços tecnológicos no setor,

impulsionaram a produção de pescado no país que hoje ocupa a 4º posição no ranking mundial da produção de tilápias segundo a Associação Brasileira de Piscicultura (2020).

Apesar da piscicultura ser economicamente viável nos reservatórios nacionais, é considerada uma atividade alteradora da qualidade ecológica dos reservatórios em decorrência dos resíduos e substâncias metabólicas que são liberadas diretamente na água (Tomazelli Jr. & Casaca 1997; Guo & Li 2003; Toledo *et al.* 2003; Zaniboni Filho 2005; Araripe *et al.* 2006; Henry-Silva *et al.* 2006; Bueno *et al.* 2008; Mallasen *et al.* 2008; Macedo & Sipaúba-Tavares 2010; Leonardo *et al.* 2011; Agra *et al.* 2012; Américo *et al.* 2012; Signor *et al.* 2012; Américo *et al.* 2013a; Moura *et al.* 2014; Dias & Machado 2007; Kubitza & Kubitza 2015).

O nitrogênio e o fósforo são nutrientes essenciais no metabolismo aquático, estando presentes de várias formas (orgânicas e inorgânicas). O nitrogênio encontra-se disponível aos produtores primários, principalmente, nas formas de nitrato e de íon amônio. Enquanto que o fósforo está disponibilizado na água na forma de fosfato (Guo & Li 2003; Américo *et al.* 2013b). Estes nutrientes podem ainda ser disponibilizados de fontes alóctones oriundas dos diferentes usos e ocupações da bacia de drenagem do corpo hídrico. Valores elevados destes nutrientes, acima dos quais o sistema aquático pode depurar, pode promover a eutrofização artificial do ambiente aquático e consequentemente o aumento na produtividade (Margalef 1983).

Criações em tanques-rede, são considerados fontes de degradação ambiental. Araripe *et al.* (2006) destaca que tal efeito está relacionado a fatores técnicos como o manejo do cultivo, a densidade de estocagem e a qualidade da ração utilizada, como também a fatores hidrodinâmicos como a área do reservatório, profundidade e tempo de residência da água. O aporte de nitrogênio na piscicultura é oriundo do metabolismo dos peixes, portanto a densidade da produção estará diretamente ligada a quantidade de nitrogênio disponibilizado para o meio. Desta forma, quanto mais intensivo for o sistema, maiores serão as taxas de nitrogênio oriundas do cultivo (Guo & Li 2003; Araripe *et al.* 2006).

O fósforo é um mineral de grande importância no processo de geração de energia e metabolismo animal e interfere diretamente na qualidade do pescado, assim como o nitrogênio encontra-se, em geral, em baixas concentrações no ambiente aquático ou em formas não absorvíveis. Como forma de compensar a carência de fósforo, algumas rações são desenvolvidas com altas concentrações dos nutrientes. No entanto, a quantidade de fósforo disponibilizada na ração não é totalmente metabolizada, sendo parte deste

nutriente diluído na água durante a desintegração da ração e outra parte por meio das fezes dos peixes (Tacon & Foster, 2003; Araripe *et al.*, 2006; Américo *et al.*, 2013b). Bueno *et al.* (2008) destaca que apenas 32% do fósforo é metabolizado pelos peixes enquanto que os 68% restantes são transferidos para o meio. Desta forma, a quantidade e qualidade da ração utilizada estão direta e indiretamente ligadas ao aporte de fósforo no ambiente onde há o cultivo.

Além disso, um dos impactos indiretos provocados pelo aumento das taxas de fósforo e nitrogênio liberadas no ambiente aquático é o aumento da produtividade primária e a eutrofização com consequente perda da qualidade da água para consumo e outros fins, assim como alterações significativas das variáveis limnológicas, como turbidez e transparência, pH e oxigênio dissolvido (Guo & Li 2003, Alves & Baccarin 2005, Lins *et al.* 2009, Degefu *et al.* 2011, Américo *et al.* 2012, Bartozek *et al.* 2016, Marques *et al.* 2018, Osti *et al.* 2018, Rosini *et al.* 2019), e também aumento nas taxas de sedimentação e decomposição (Avnimelech *et al.* 1992, Kochba *et al.* 1994, Avnimelech *et al.* 1995, Guo & Li 2003, Alves & Baccarin 2005, Paes 2006, Diemer *et al.* 2010, Chen *et al.* 2014, Venturoti *et al.* 2015, Guo & Li 2003, Liu *et al.* 2015, Zaniboni Filho 2005, Zhang *et al.* 2015).

A heterogeneidade espacial dos reservatórios determinada pelas características morfométricas e hidrológicas, tais como tamanho, forma e profundidade que irão determinar a influência de variáveis climatológicas, permitindo que um mesmo reservatório possa apresentar áreas distintas com metabolismo e desenvolvimento próprio. Desta forma, alterações físicas e químicas promovidas por atividades antrópicas tais como a piscicultura em tanques-rede, podem influenciar também no desenvolvimento das diversas comunidades, dentre elas a fitoplanctônica (Taniguchi *et al.* 2005, Cunha-Santino & Bianchini Jr. 2011).

O fitoplâncton é um dos principais produtores primários dos sistemas aquáticos e um dos principais instrumentos utilizados no monitoramento da qualidade da água em reservatórios apresentando rápida variação em resposta as interferências antropogênicas que promovem mudanças na disponibilidade de nutrientes (Huszar *et al.* 2000, Padisák *et al.* 2003, Brasil & Huszar 2011). Assim, a composição e biomassa dessa comunidade pode sofrer variações ao longo do tempo e, assim, pode ser investigada e utilizada como ferramenta para avaliar alterações ambientais.

A literatura internacional vem discutindo sobre as alterações e o aumento da biomassa fitoplanctônica como consequência do aporte de nutrientes na água oriundos do

manejo aplicado nas pisciculturas destacam-se os trabalhos: Demir *et al.* (2001) na Turquia; Diaz *et al.* (2001) na Argentina; Guo & Li (2003), Liu *et al.* (2011), Mao *et al.* (2014) na China; Hakanson (2005) na Suécia; Degefu *et al.* (2011) na Etiópia, Kaggawa *et al.* (2011) no Quênia, Kashindye *et al.* (2015) na Tanzânia, Baleta & Bolaños (2016), Navarret *et al.* (2019) nas Filipinas, Afia *et al.* (2018) na Nigéria, Er *et al.* (2018) na Malásia.

No Brasil, os estudos que documentaram alterações na comunidade fitoplanctônica devido ao cultivo e, em alguns casos, a ocorrência e desenvolvimento de cianobactérias, foram por exemplo: Deblois *et al.* (2008), nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais; Menezes (2008), no Rio Grande do Norte; Borges *et al.* (2010), no Paraná; Cavalcante (2010), em Santa Catarina; Sipaúba-Tavares *et al.* (2010) em Minas Gerais; Lins (2011), do Nascimento Moura *et al.* (2012) em Pernambuco; Pessoa *et al.* (2011) e Gorlach-Lira *et al.* (2013) na Paraíba, Bartozek *et al.* (2014, 2016) no Paraná, Lins *et al.* (2016) na Paraíba, e Miranda *et al.* (2016) no Espírito Santo.

Para o Estado de São Paulo poucos são os trabalhos, que relacionaram a estrutura e dinâmica do fitoplâncton em ambiente com pisciculturas em tanques-rede, foram: Eler *et al.* (2006) identificaram as principais espécies de cianobactérias em Pisciculturas de bacia hidrográfica do Mogi-Guaçu e realizaram bioensaios toxicológicos e comprovaram a presença de hepatotoxina no ambiente; Tucci *et al.* (2009) e Rosini (2016), ambos avaliaram as alterações nos padrões físicos, químicos e biológicos provocados pela piscicultura no reservatório de Ilha Solteira. Somente Rosini (2015), após dois anos de estudos, detectou alterações na estrutura da comunidade e alteração de Cryptophyceae para Cyanobacteria, incluindo a ocorrência de espécies potencialmente tóxicas de cianobactérias. Schlüter *et al.* (2018) quantificaram a biomassa fitoplanctônica por meio dos pigmentos e compararam aos métodos quantitativos convencionais obtendo resultados semelhantes em ambas as abordagens. Além disso fizeram a quantificação de cianotoxinas nos reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira e verificaram valores elevados da hepatotoxina.

De acordo com Reynolds *et al.* (2002) os organismos fitoplanctônicos são mais precisos e mais confiáveis para indicar variações das condições ambientais do que a presença ou ausência de espécies. Mais recentemente estudos ecológicos buscam agrupar os organismos fitoplanctônicos de acordo com sua função no ecossistema.

Considerando a classificação funcional relacionando as principais características adaptativas, que não são necessariamente comuns a grupos filogenéticos, a gama de

condições ambientais nas quais as espécies podem ocorrer e seus padrões de co-ocorrência, Reynolds *et al.* (2002), propuseram 31 grupos e seus padrões básicos ecológicos. Posteriormente a proposta foi atualizada para 41 grupos funcionais, por Padisák *et al.* (2009). Embora esta classificação integre uma rica base de informações, também se baseia, em parte, em pareceres de especialistas.

Kruk *et al.* (2010) apresentaram a proposta dos Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM), considerando que as relações entre morfologia e a fisiologia das espécies são potencialmente bem definidas (Finkel *et al.* 2010, Naselli-Flores *et al.* 2007, Reynolds 1988,1997). Kruk *et al.* (2010) acordaram que a classificação baseada em características morfológicas simples, como por exemplo: volume individual, área de superfície e comprimento máximo; podem capturar a maior parte da variabilidade das propriedades funcionais dos organismos fitoplanctônicos, sugerindo que a morfologia pode ser um bom indicador das características funcionais das espécies.

Os sete grupos foram caracterizados por Kruk *et al.* (2010) da seguinte forma: Grupo I: inclui pequenos organismos com elevada razão S/V, podem apresentar aerótopos, flagelos e/ou mucilagem; Grupo II: representado por pequenos organismos flagelados e suas estruturas exoesqueléticas são formadas por sílica; Grupo III: contêm grandes organismos filamentosos, células especializadas como os aerótopos estão presentes, podem conter mucilagem e heterocitos; Grupo IV: representado por organismos de tamanho médio com ausência de estruturas especializadas (ex. aerótopo, flagelo, etc.); Grupo V: reúne os organismos flagelados unicelulares com tamanhos de médio a grande, estruturas especializadas como aerótopos, mucilagem, heterocitos e sílica são ausentes; Grupo VI: representado por organismos bem diversificados quanto ao tamanho celular, flagelos são ausentes e com presença de exoesqueleto formado por sílica; Grupo VII: formado por grandes organismos coloniais mucilaginosos e podem apresentar aerótopos.

Brasil & Huszar (2011) discutiram que esse esquema de classificação é uma potencial ferramenta para sintetizar os tipos de comunidades em ecossistemas aquáticos continentais, levando-se em consideração o tipo de ambiente e seu estado trófico.

A tentativa de agrupar o fitoplâncton em categorias para compreender sua estrutura e funcionalidade em diferentes condições ambientais vem sendo amplamente discutida (Brasil & Huszar 2011). Trabalhos que abordam a utilização de Grupos funcionais para avaliação dos impactos de pisciculturas em tanques-rede sobre a comunidade fitoplanctônica vem sendo desenvolvidos em reservatórios brasileiros (Tucci

et al. 2009, Borges *et al.* 2010, Bartozek *et al.* 2014, Bartozek *et al.* 2016, Rosini *et al.* 2016. Nos reservatórios paulistas, Rosini *et al.* 2016 e Schlüter *et al.* 2018 verificaram altos valores de biomassa fitoplanctônicas próximo aos tanques-rede com dominância das cianobactérias comprovando que esta atividade promoveu perturbações no reservatório.

Assim, tendo em vista os impactos ambientais promovidos pela atividade de piscicultura em tanques-rede em reservatórios, e a importância dos estudos que abordem a comunidade fitoplanctônica como ferramenta de avaliação destes impactos nos reservatórios, a proposta deste estudo foi de avaliar a estrutura da comunidade fitoplanctônica e a utilização dos Grupos Funcionais Baseados na Morfologia em locais com atividades de piscicultura em tanques-rede em reservatórios do Estado de São Paulo. O trabalho se justifica também devido aos poucos estudos desenvolvidos. Considerando os trabalhos que foram apresentados, a abordagem é pioneira para dois dos reservatórios estudados, Nova Avanhandava e Chavantes, tanto no que diz respeito à utilização dos GFBM de Kruk, como sobre o conhecimento da estrutura da comunidade fitoplanctônica, ainda não explorada nestes reservatórios, mas essencial à posteriores estudos e monitoramento.

OBJETIVOS

- Avaliar as características limnológicas no compartimento lacustre, próximo aos tanques-rede, à montante e à jusante das pisciculturas nos reservatórios estudados;
- Avaliar a estrutura da comunidade fitoplanctônica e relacionar aos parâmetros físicos e químicos da água nas estações de amostragens estudadas;
- Determinar as espécies descritoras dos sistemas e associá-las à classificação dos Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) nas estações de amostragens;
- Avaliar a qualidade da água das pisciculturas nos que diz respeito a presença e abundância de cianobactérias, assim como a presença e concentração de microcistinas nas fazendas de criação de tilápias localizadas nos reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira.

HIPÓTESES

- Os grupos morfofuncionais são ferramentas eficientes para detectar alterações nos grupos planctônicos predominantes nas condições da qualidade da água de reservatórios com atividades de criação de peixes em tanques-rede.
- Atividades de piscicultura em tanques-rede interferem na estrutura da comunidade fitoplanctônica diminuindo a diversidade de algas e promovendo o aumento da biomassa de cianobactérias.

ÁREA DE ESTUDO

Foram selecionados seis empreendimentos para o estudo que estão distribuídos nos três principais polos produtores de tilápias do Estado de São Paulo e identificados a seguir:

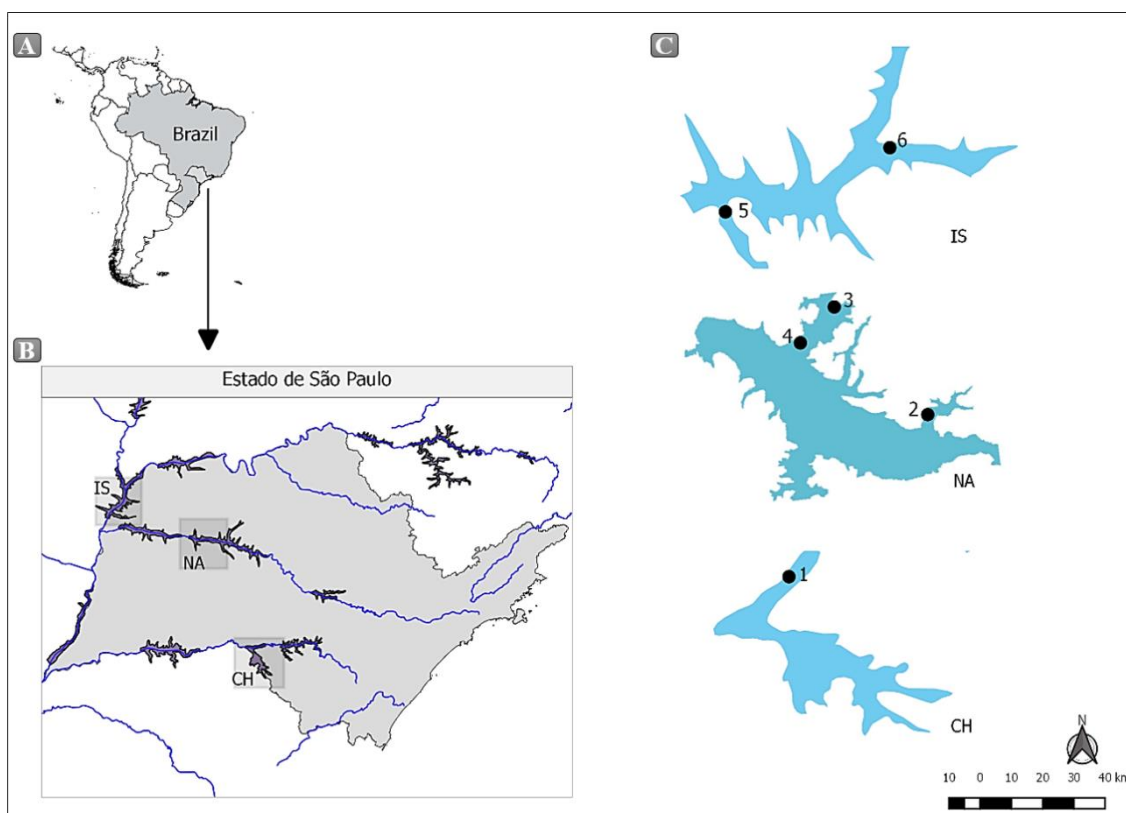


Figura 1. Mapa destacando o Estado de São Paulo (A) a localização dos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS) no Estado de São Paulo (B) e em destaque, os reservatórios e as respectivas estações/fazendas de criação de tilápias (1 à 6) em tanques-rede (C).

Reservatório de Chavantes

O reservatório de Chavantes pertence a Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema e está localizado no município de Chavantes a sudoeste do Estado de São Paulo, na fronteira com o município de Ribeirão Claro, Paraná ($23^{\circ}07'42''$ S e $49^{\circ}43'59''$ O). Apresenta área de 400 km², capacidade de armazenamento de 9,4 bilhões de m³, vazão média anual de 310 m³ s⁻¹, formato dendrídico e profundidades acima de 60 metros (DUKE ENERGY 2013).

A Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema corresponde a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos n° 14, localizada na região sudoeste do Estado de São Paulo, limitando-se a norte com a UGRHI Médio Paranapanema, a sul com a UGRHI

Ribeira de Iguape e Litoral Sul, a leste com a UGRHI Tietê/Sorocaba e a oeste com a região nordeste do Estado do Paraná. Ocupa uma área de 22.550 Km² e abrange 34 municípios paulistas, sendo Itapetininga (120.455 hab), Itapeva (80.636 hab) e Itararé (47,096 hab) as maiores cidades, respectivamente (CBH-ALPA 2019).

Na Bacia do Alto Paranapanema pode-se identificar o predomínio de rochas sedimentares e vulcânicas em grandes porções da bacia, e a ocorrência de rochas epimetamórficas e corpos graníticos na porção sudeste (CBH-ALPA 2019). O clima pode ser classificado, de modo geral, como tropical de altitude com temperatura média variando entre 18°C e 22°C (Ayrosa *et al.* 2013). A precipitação média anual é cerca de 1.200 mm/ano com maior pluviosidade em janeiro e menor em agosto (CBH-ALPA 2019).

A UGRHI – 14 apresenta 4.677 Km² de vegetação natural remanescente do tipo Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista protegidas entre Unidades de Conservação de Proteção Integral e Unidades de Conservação de Uso Sustentável (CBH-ALPA 2019).

O uso e ocupação é em especial pela pecuária, mas também pela agricultura de batata, cana-de-açúcar e culturas anuais (milho e feijão), A indústria é uma importante atividade econômica com destaque para Itapetininga como polo econômico do setor (CBH-ALPA 2019).

Os principais rios da UGRHI – 14 são Paranapanema, Apiaí-Guaçu, Taquarí, Itapetininga, Verde, Capivarí, Itararé e Ribeirão das Almas (CBH-ALPA 2019). Nesta bacia encontram-se os reservatórios Boa Vista, Jurumirim e Piraju além do reservatório Chavantes, área de estudo, do qual foi selecionado um empreendimento (E1) com aproximadamente 130 tanques em operação (Figura 2).

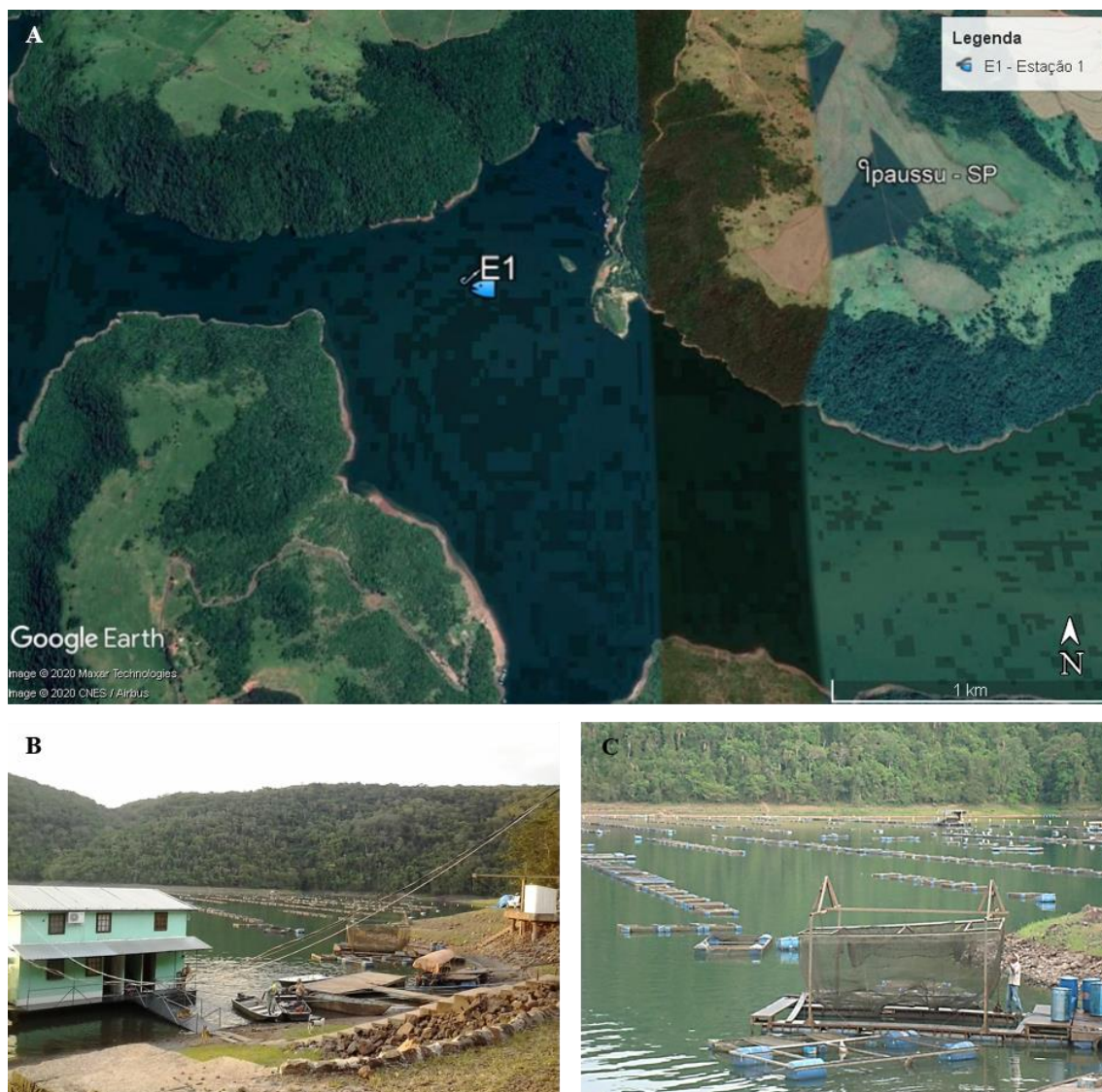


Figura 2: Imagem de satélite (A) com localização da estação E1 no Reservatório Chavantes (23°07'42" S e 49°43'59" O), Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema, foto da piscicultura (E1-B) e foto dos tanques rede (C) (ponto f1) onde as amostras foram coletadas. Fontes: Google Earth 2020 e arquivo pessoal.

Reservatório de Nova Avanhandava

O reservatório Nova Avanhandava está localizado no município de Buritama (21°07'01" S e 50°12'06" W), inserido na Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê possui área de 210 km², volume total de 2.830.10⁶ m³, vazão média anual de 688 m³/s e apresenta profundidade máxima de 30 m (CESP 1998, AES Tietê 2015).

A Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê corresponde a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos n° 19 localizada na região oeste do Estado de São Paulo, limitando-se a norte com a UGRHI São José dos Dourados, a sul com a UGRHI Aguapei-Peixe, a

leste com a UGRHI Tietê Batalha e a leste com o Rio Paraná. Ocupa uma área de 18.591,5 Km² e abrange 42 municípios paulistas dos quais Araçatuba (181.579 hab) é o mais populoso (CBH – BT 2009 e 2016, IBGE 2020).

A Bacia do Baixo Tietê está inserida na Província Geomorfológica do Planalto Ocidental Paulista e das Cuestas Basálticas e apresenta afloramentos arenosos, rochas ígneas basálticas e rochas sedimentares (CBH – BT 2009). O clima é tropical úmido e apresenta inverno seco com temperatura média de 23°C. A precipitação média anual varia entre 1.100 à 1.300 mm/ano, com início do período chuvoso em outubro (CBH – BT 2009, Cicerelli 2013)

O remanescente de vegetação natural da UGRHI-19 ocupa cerca de 4% da bacia (874 Km²), composta principalmente por Floresta Estacional Semidecidual e Formação Arbórea / Arbustiva em regiões de várzea. Apresenta ainda, as Unidades de Conservação RB Andradina e PE do Aguapeí, a Unidade de Conservação de Uso Sustentável Foz do Rio Aguapeí e Vale Verdejante e uma área indígena, Terena Kaingang (CBH – BT 2019).

O uso e ocupação na UGRHI – 19 se dá principalmente pela pecuária de corte, sistema agropastoril, cultura de cana de açúcar, milho, soja e laranja, além da avicultura e outras criações (porco, jacaré, javali, etc). O desenvolvimento do setor sucroalcooleiro, da pecuária e da aquicultura promoveu a expansão industrial nesta região. Há ainda, a ocupação de áreas pelo turismo e por loteamentos e condomínios em especial nas margens do reservatório Nova Avanhandava (Carvalho *et al.* 2005, CBH – BT 2009)

Os principais rios desta Bacia são Tietê, Paraná, Água Fria, das Oficinas e dos Patos, e nela estão os reservatórios Nova Avanhandava e Três Irmãos, integrantes da Hidrovia Tietê-Paraná (CBH – BT 2019).

Foram selecionadas três pisciculturas (E2, E3 e E4) do reservatório Nova Avanhandava com cerca de 110, 90 e 35 tanques em operação, respectivamente (Figura 3).

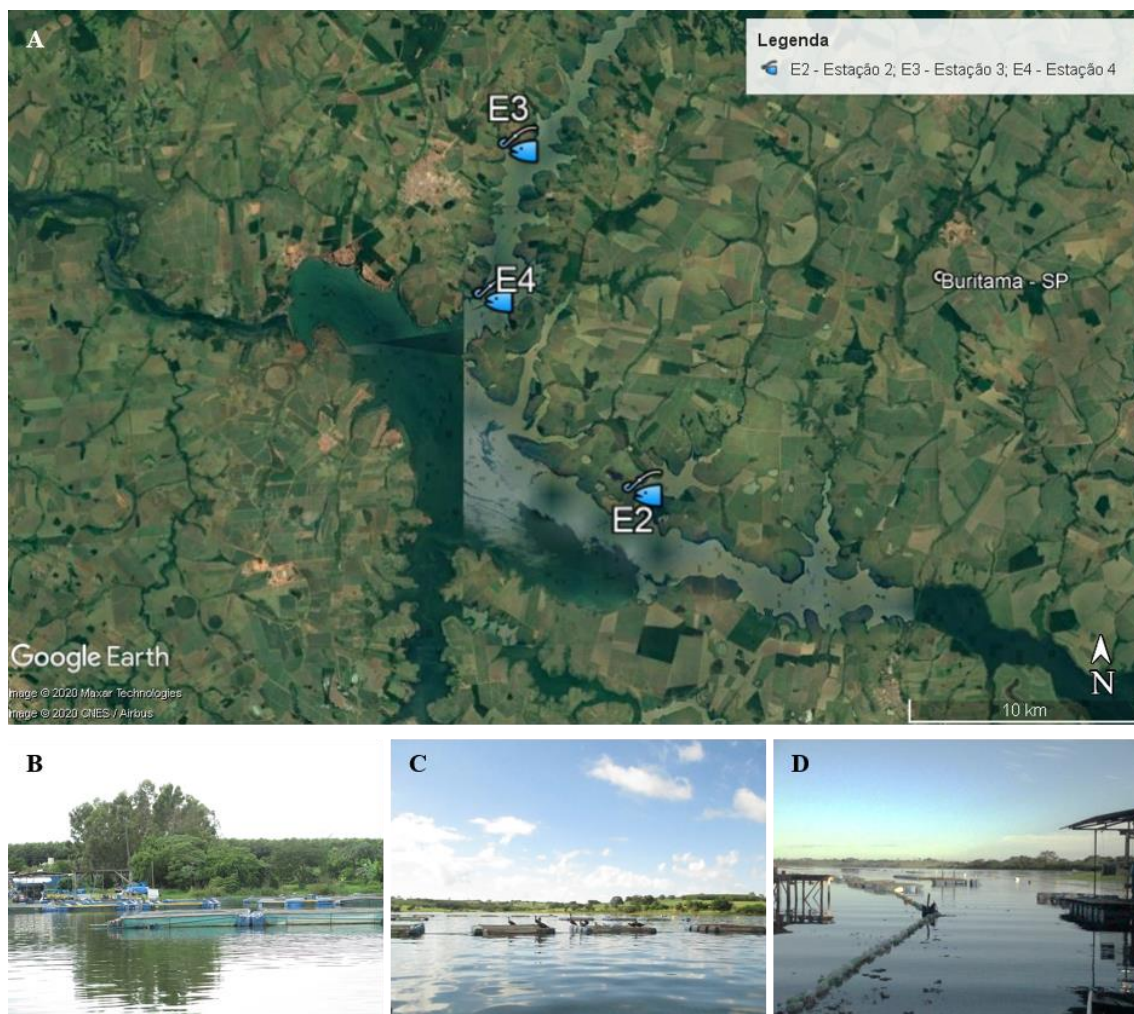


Figura 3: Imagem de satélite (A) com localização das estações E2, E3 e E4 no Reservatório Nova Avanhandava ($21^{\circ}07'01''$ S e $50^{\circ}12'06''$ O), Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê e fotos das três pisciculturas (E2-B, E3-C e E4-D). Fontes: Google Earth 2020 e arquivo pessoal.

Reservatório Ilha Solteira

O Reservatório Ilha Solteira ($20^{\circ}25'42''$ S e $51^{\circ}20'34''$ O) pertence a Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados e está localizado entre os municípios de Ilha Solteira (SP) e Selvíria (MS). Este reservatório apresenta área de 1.195 Km^2 e volume de $210,6 \cdot 10^8 \text{ m}^3$ e profundidade máxima de 41,5 m (CESP 2006, CBH – SJD 2019).

A Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados corresponde a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos nº 18, localizada a oeste do Estado de São Paulo, limitando-se a norte com a UGRHI Turvo Grande, a sul com a UGRHI Médio Tietê, a leste com a UGRHI Tietê / Batalha e a oeste com o Estado do Mato Grosso do Sul. Ocupa uma área de $6.783,2 \text{ Km}^2$ e abrange 41 municípios (CBH – SJD 2019).

Quanto à geologia e geomorfologia na Bacia do Rio São José dos Dourados, pode-se identificar a unidade morfoestrutural da Bacia Sedimentar do Paraná, no Planalto Centro Ocidental onde o reservatório Ilha Solteira se localiza, e a litologia predominante são os arenitos, argilitos e lentes de siltitos (Ross & Moroz 1996). Segundo a classificação climática de Köppen, o clima é tropical úmido com temperatura média anual de 24,7°C e a precipitação média anual é de 1.259 mm/ano (Hernandez 2016).

A UGRHI – 18 apresenta 449 Km² de vegetação remanescente, cujas principais formações são a Floresta Estacional Semidecidual e a Formação Arbórea/Arbustiva em Região de Várzea (CBH – SJD 2019).

O uso e ocupação na UGRHI – 18 é principalmente pela pecuária leiteira e fruticultura (uva, pinha, coco, carambola, caju, castanha e acerola). A piscicultura tem ganhado destaque como atividade econômica, além do setor comercial concentrado nos municípios de Jales e Santa Fé do Sul (CBH – SJD 2019).

Os principais rios da UGRHI – 18 são o São José dos Dourados e o Paraná e nesta UGRHI encontra-se o reservatório Ilha Solteira, a terceira área utilizada para este estudo, no qual duas pisciculturas foram selecionadas: E5 e E6 com aproximadamente 80 e 190 tanques em operação, respectivamente (Figura 4).



Figura 4: Imagem de satélite (A) com localização das estações E5 e E6 no Reservatório Ilha Solteira ($20^{\circ}23'00''$ S e $51^{\circ}22'00''$ O), Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados e fotos das duas pisciculturas (E5-B e E6-C). Fontes: Google Earth 2020 e arquivo pessoal.

Delineamento amostral

As amostragens foram realizadas em dois períodos distintos de dois anos consecutivos: em março e outubro de 2015 (M15 e O15) e março e outubro de 2016 (M16 e O16). Foram estabelecidas seis estações amostrais que correspondiam a diferentes empreendimentos de piscicultura em cada reservatório: uma estação em Chavantes (E1), três estações em Nova Avanhandava (E2, E3 e E4) e duas em Ilha Solteira (E5 e E6). Os pontos de coleta em cada estação foram estabelecidos de modo à propiciar uma avaliação do efeito das pisciculturas em tanques-rede sobre a qualidade da água e a sua influência

na estrutura da comunidade fitoplanctônica. Estes pontos estão assim estabelecidos: a montante da área aquícola, dentro da área aquícola (piscicultura) e à sua jusante (Figura 5).

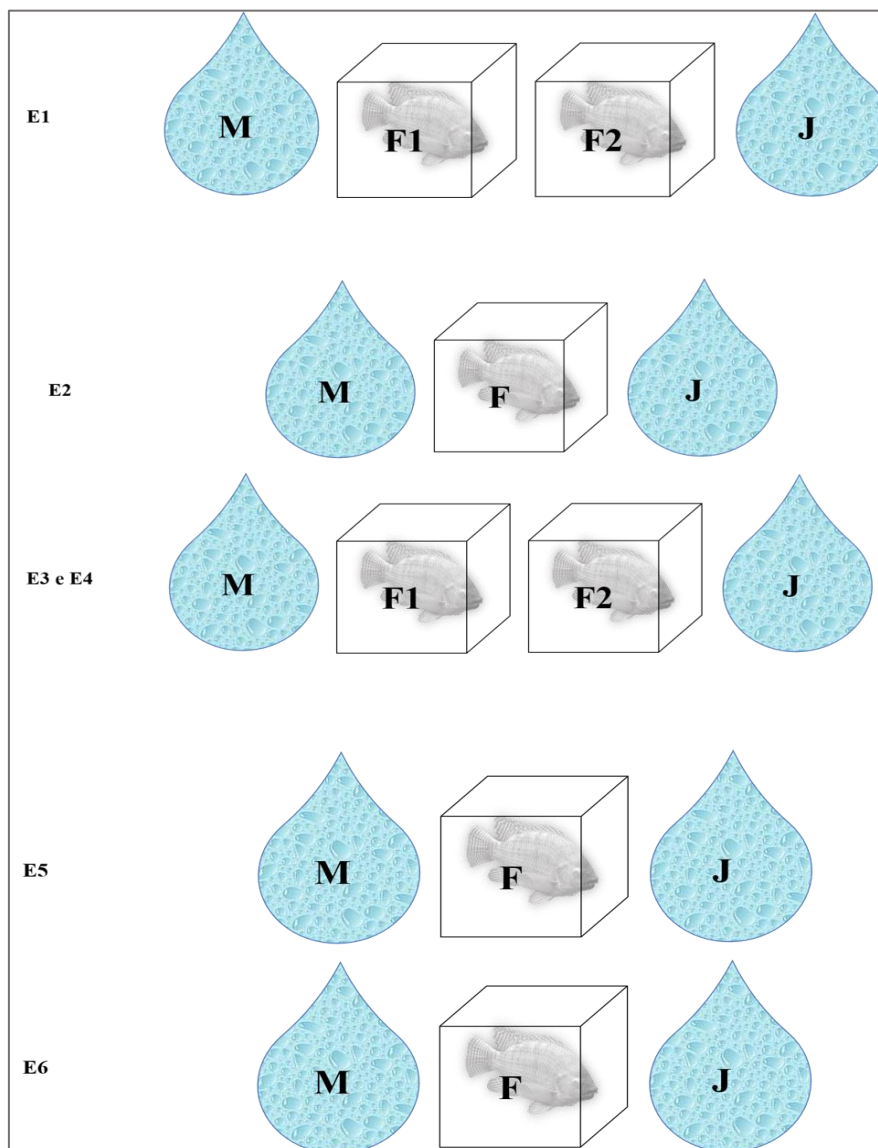


Figura 5: Disposição dos pontos de coleta em cada estação amostral. E1: estação um (Chavantes); E2, E3 e E4: estações dois, três e quatro (Nova Avanhandava); E5 e E6: estações cinco e seis (Ilha Solteira). M: montante; F: fazenda; J: jusante.

As amostras destinadas a determinação de clorofila *a*, nutrientes, pigmentos e cianotoxinas foram coletadas em triplicatas em cada ponto de amostragem. Parte delas foram acondicionadas em frascos de polietileno inerte e congeladas para posterior análise de nutrientes, outra parte foi destinada ao isolamento de cianotoxinas e outra parte filtrada, sendo os filtros congelados em nitrogênio líquido para extração de clorofila *a* e outros pigmentos.

Nos locais de coleta foram obtidas medições *in situ* das seguintes variáveis: transparência da água, por meio do desaparecimento do disco de Secchi; temperatura, pH e oxigênio dissolvido, utilizando sonda multiparamétrica EXO YSI.

As amostras de água para o estudo taxonômico do fitoplâncton foram coletadas com rede de plâncton, com abertura de malha de 20 μm , por meio de arrasto horizontal e vertical na coluna d'água e o material coletado foi fixado com formol, na concentração final de 4-5%. Amostras para as análises quantitativas foram coletadas com garrafa coletora (tipo van Dorn) na subsuperfície. As amostras foram fixadas em solução aquosa de lugol acético a 1%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AES TIÊTE.** 2015. Usinas e eclusas. São Paulo. Disponível em:
<<http://www.aestiete.com.br/geracao/Paginas/nossas-usinas.aspx#conteudo>>.
- Afia O.E., David G.S. & Effiong I.B.** 2018. Comparative effect of different stocking densities of heteroclaris on plankton abundance in tarpaulin tanks. *Journal of Aquatic Science and Marine Biology*, 1:2, 5-12.
- Agra, J.U.M., Klink, J.M. & Rodrigues, G.G.** 2012. Monitoramento da Piscicultura em Reservatórios: Uma Abordagem Ecológica. *Revista Brasileira de Geografia Física* 06: 1457-1472.
- Alves R.C.P. & Baccarin A.E.** 2005. Efeito da produção de peixes em tanques-rede sobre sedimentação de material em suspensão e de nutrientes no córrego da Arribada (UHE Nova Avanhandava, baixo rio Tiête, SP). *Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata*. São Carlos: Rima, 329-347.
- Américo, J.H.P., Cicigliano, G.D. & Carvalho, S.L.** 2012. Avaliação de alguns parâmetros físico-químicos da água de uma piscicultura com sistema de cultivo em tanques-rede. *Periódico eletrônico do VIII Fórum Ambiental da Alta Paulista* 8: 60-71.
- Américo, J.H.P., Torres, N.H., Machado, A.A. & Carvalho, S.L.** 2013a. Piscicultura em tanques-rede: Impactos e consequências na qualidade da água. *Revista Científica* 6: 137-150.
- Américo, J.H.P., Previato, V. & Carvalho, S.L.** 2013b. Qualidade da água de uma piscicultura em tanques-rede no rio São Sosé dos Sourados, Ilha solteira – São Saulo. *In: IX Fórum Ambiental da Alta Paulista* 9: 69-77.
- Araripe, M.N.B.A, Segundo, L.F.F., Lopes, J.B., Araripe, H.G.A.** 2006. Efeito do Cultivo de Peixes em Tanques Rede sobre o Aporte de Fósforo para o Ambiente. *Revista Científica de Produção Animal* 8: 56-65.
- Attayde, J.L., & Panosso, R.** 2011. Capacidade de suporte de oito açudes do Rio Grande do Norte para a piscicultura intensiva em tanques-rede. *Anais do XIX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos*. Porto Alegre: ABRH, 18.
- Avnimelech Y., Kochva M., Yotal Y. & Shkedy D.** 1992. The use of compost as soil amendment. *Acta Hort.*, 302: 217–236.
- Avnimelech Y., Mozes N., Diab S. & Kochba M.** 1995. Rates of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. *Aquaculture*, 134:3-4, 211-216.

- Ayroza, D.M.M.R., Furlaneto, F.P.B. & Ayrosa, L.M.S.** 2006. Regularização dos projetos de tanques-rede em águas públicas continentais de domínio da União no Estado de São Paulo. São Paulo: Instituto de Pesca. (Boletim técnico, n. 36). Disponível em < ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/boletim_tec_36.pdf>. Acesso em 06 set. 2015.
- Ayroza, D.M.M.R., Furlaneto, F.P.B. & Ayrosa, L.M.S.** 2008. Regularização de projetos de piscicultura no estado de São Paulo. *Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária* 1: 33-41.
- Ayroza, D.M.M.R., Nogueira, M.G., da Silva Ayroza, L.M., Carvalho, E.D., Ferraud, A.S., & Camargo, A.F.M.** 2013. Temporal and spatial variability of limnological characteristics in areas under the influence of tilapia cages in the Chavantes Reservoir, Paranapanema River, Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(6), 814-825.
- Azevedo-Santos, V.M.D., Rigolin-Sá, O., & Pelicice, F.M.** 2011. Growing, losing or introducing? Cage aquaculture as a vector for the introduction of non-native fish in Furnas Reservoir, Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9(4), 915-919.
- Baleta F.N. & Bolaños J.M.** 2016. Phytoplankton identification and water quality monitoring along the fish-cage belt at Magat dam reservoir, Philippines. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4:3, 254-260.
- Bartozek E.C.R., Bueno N.C. & Rodrigues L.C.** 2014. Influence of fish farming in net cages on phytoplankton structure: a case study in a subtropical Brazilian reservoir. *Brazilian Journal of Biology*, 74:1, 145-155.
- Bartozek, E. C. R., Bueno, N. C., Feiden, A., & Rodrigues, L. C.** 2016. Response of phytoplankton to an experimental fish culture in net cages in a subtropical reservoir. *Brazilian Journal of Biology*, 76(4), 824-833.
- Borges P.A., Train S., Dias J.D. & Bonecker C.C.** 2010. Effects of fish farming on plankton structure in a Brazilian tropical reservoir. *Hydrobiologia*, 649:1, 279-291.
- Brabo M.F., Dias B.C.B., Santos L.D., Ferreira L.A., Veras G.C. & Chaves R.A.** 2014. Competitividade da cadeia produtiva da piscicultura no Nordeste paraense sob a perspectiva dos extensionistas rurais. *Informações Econômicas*, 44:5, 1-13.
- Brasil J. & Huszar V.L.M.** 2011. O papel dos traços funcionais na ecologia do fitoplâncton continental. *Oecologia Australis*, vol. 15, no. 4.
- Bueno G.W., Marengoni N.G., Gonçalves Júnior A.C. & Boscolo W.R., Teixeira R.A.** 2008. Estado trófico e bioacumulação do fósforo total no cultivo de peixes em

tanques-rede na área aquícola do reservatório de Itaipu. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 30: 237-243.

Carvalho, E.D., Paes, J.V.K.; Camargo, A.L.S. 2005. Avaliação dos impactos da tilapicultura em tanques-rede na represa de Nova Avanhandava (baixo rio Tietê, SP): i. O pescado e a ictiofauna agregada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA, X, 2005, Anais... Ilhéus [cd-rom]. Sociedade Brasileira de Limnologia.

Castellani, D. & Barrella, W. 2006. Caracterização da piscicultura na região do Vale do Ribeira, SP. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 29: 168-176.

CBH-ALPA – Comitê da Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema. 2019. Relatório de situação dos recursos hídricos da Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema. Ano base 2018. Pirajú – SP. 54p. Disponível em:

<<http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents//CBH-ALPA/18833/relatorio-de-situacao-dos-recursos-hidricos-das-bacias-hidrograficas-do-estado-de-sao-paulo.pdf>>.

CBH-BT – Comitê da Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê. 2009. Plano da Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê. 154p. Disponível em:

<<http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents//CBH-BT/13688/relatorioii-pbh-bt.pdf>>

CBH-BT – Comitê da Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê. 2019. Relatório de situação dos recursos hídricos da Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê. Ano base 2018. Birigui – SP. 58p. Disponível em:

<http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents//CBH-BT/17485/relatorio-situacao_2018_2019_bt_v-final.pdf>

CBH-SJD – Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados. 2019. Relatório de situação dos recursos hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados. Ano base 2018. São José do Rio Preto – SP. 116p. Disponível em: <http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents//CBH-SJD/17425/rs-2019_ano-base-2018-do-cbh-sjd-26-07-2019.pdf>

CESP - Companhia Energética de São Paulo. 1998. Conservação e manejo nos reservatórios: limnologia, ictiologia e pesca. São Paulo/SP. Série Divulgação e Informação, 220. 166 p.

CESP - Companhia Energética de São Paulo. 2006. 40 Peixes do Brasil: CESP 40 anos. Rio de Janeiro. 208p.

- Chen, Y., Chen, S., Yu, S., Zhang, Z., Yang, L., & Yao, M.** 2014. Distribution and speciation of phosphorus in sediments of Dongping Lake, North China. *Environmental earth sciences*, 72(8), 3173-3182.
- Cicerelli, R. E.** 2013. Estudo da ocorrência de cianobactérias no reservatório de Nova Avanhandava-SP por meio da inferência do pigmento ficocianina. 2013, 174 f (Doctoral dissertation, Tese (Doutorado em Ciências Cartográficas)–Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Presidente Prudente).
- Cunha-Santino M.B., Bianchini Jr I. & Luiz R.N.R.W.** 2011. Colonização de macrófitas aquáticas em ambientes lênticos.
- David L.H.C., Pinho S.M. & Garcia F.** 2018. Improving the sustainability of tilapia cage farming in Brazil: An emergy approach. *Journal of Cleaner Production*, 201, 1012-1018.
- Deblois C.P., Aranda-Rodriguez R., Giani A. & Bird D.F.** 2008. Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. *Toxicon*, 51:3, 435-448.
- Degefu, F., Mengistu, S. & Schagerl, M.** 2011. Influence of fish cage farming on water quality and plankton in fish ponds: a case study in the Rift Valley and North Shoa reservoirs, Ethiopia. *Aquaculture* 316:129-135.
- Demir, N., Kirkagac, M. U. Pulatsü, S., & Bekcan, S.** 2001. Influence of trout cage culture on water quality, plankton and benthos in an Anatolian Dam Lake. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*.
- DIAS, M.A., & MACHADO, E.L.** 2007. Princípios do Equador: Sustentabilidade e Impactos na conduta ambiental dos bancos signatários brasileiros. São Paulo.
- Diaz, M.M., Temporetti, P.F., & Pedrozo, F.L.** 2001. Response of phytoplankton to enrichment from cage fish farm waste in Alicura Reservoir (Patagonia, Argentina). *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 6(2), 151-158.
- Diemer O., Neu D.H., Feiden A., Lorenz E.K., Bittencourt F. & Boscolo W.R.** (2010). Dinâmica nictimeral e vertical das características limnológicas em ambiente de criação de peixes em tanques-rede. *Ciência Animal Brasileira*, 11:1, 24-31.
- do Nascimento Moura, A., Cardoso do Nascimento, E., & Wocyli Dantas, Ê.** 2012. Temporal and spatial dynamics of phytoplankton near farm fish in eutrophic reservoir in Pernambuco, Brazil. *Revista de biologia tropical*, 60(2), 581-597.
- Duke Energy** 2013. ABC da Energia. A história da Duke Energy no rio Paranapanema, 84 p.

- Eler M.N., Minillo A., Ribeiro M.A.R., De Bem T.H.C., Santos N.P., Blazquez F.J.H., Milani T.J., Espíndola E.L.G. & Nogueira A.M.** 2006. Cianobactérias, toxinas e bioensaios ecotoxicológicos nos pesque-pague da Bacia Hidrográfica do Mogi-Guaçu. In: Avaliação dos impactos de pesque-pague: uma análise da atividade na Bacia Hidrográfica do Rio Mogi-Guaçu. São Carlos. Rima. 312p.
- Er H.H., Lee L.K., Lim Z.F., Teng S.T., Leaw C.P. & Lim P.T.** 2018. Responses of phytoplankton community to eutrophication in Semerak Lagoon (Malaysia). *Environmental Science and Pollution Research*, 25:23, 22944-22962.
- Finkel Z.V., Beardall J., Flynn K.J., Quigg A., Rees T.A.V. & Raven J.A.** 2010. Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. *Journal of plankton research*, 32:1, 119-137.
- Galli C.S. & Abe D.S.** 2010. Disponibilidade, poluição e eutrofização das águas. Águas do Brasil, Análises Estratégicas. São Paulo: Instituto de Botânica.
- Gorlach-Lira K., Pacheco C., Carvalho L.C.T., Melo Júnior H.N. & Crispim M.C.** 2013. The influence of fish culture in floating net cages on microbial indicators of water quality. *Brazilian Journal of Biology*, 73:3, 457-463.
- Guo, L. & Li, Z.** 2003. Effects of nitrogen and phosphorus from fish cage-culture on the communities of a shallow lake in middle Yangtze River basin of China. *Aquaculture* 226: 201-212.
- Håkanson, L.** 2005. Changes to lake ecosystem structure resulting from fish cage farm emissions. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 10(1), 71-80.
- Henry-Silva, G.G., Camargo, A.F.M. & Pezzato, L.E.** 2006. Digestibilidade aparente de macrófitas aquáticas pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água em relação às concentrações de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35: 641-647.
- Hernandez, F.B.T.** 2016. Análises Agroclimática da área de influência do reservatório da usina hidrelétrica de Ilha Solteira, região noroeste do estado de São Paulo. SEAP-Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Convênio SEAP/PR. Disponível em:< <http://docplayer.com.br/32009434-Unesp-universidade-estadual--paulista-feis-defers.html>>.
- Huszar, V.L.M., Silva, L.H.S., Marinho, M.M., Domingos, P. & Sant'Anna, C.L.** 2000. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. In: C.S. Reynolds, M. Dokulil & J. Padisák (eds.). *The Trophic Spectrum Revisited: The Influence of Trophic State on the Assembly of Phytoplankton Communities* Kluwer. Academic Publishers, Dordrecht, pp.67-77.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. Cidades e Estados: Araçatuba. Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/aracatuba/panorama>

Júlio Jr., Thomaz S.M., Agostinho A.A. & Latini J.D. 2005. Distribuição e caracterização dos reservatórios. *In: Rodrigues, L.; Thomaz, S.M.; Agostinho, A.A.; Gomes, L.C. (orgs.) Biocenose em reservatórios: padrões espaciais e temporais.* pp. 1-16. São Carlos: Rima.

Kaggwa, M. N., Liti, D. M. & Schagerl, M. 2011. Small tropical reservoirs and fish cage culture: a Pilot study conducted in Machakos district, Kenya. *Aquaculture* 19:839-853.

Kashindye B.B., Nsinda P., Kayanda R., Ngupula G.W., Mashafi C.A. & Ezekiel C.N. 2015. Environmental impacts of cage culture in Lake Victoria: the case of Shirati Bay-Sota, Tanzania. *SpringerPlus*, 4:1, 475.

Kochba, M., Diab, S., & Avnimelech, Y. 1994. Modeling of nitrogen transformation in intensively aerated fish ponds. *Aquaculture*, 120(1-2), 95-104.

Kruk C., Huszar V.L., Peeters E.T., Bonilla S., Costa L., Lürling M. & Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater biology*, 55:3, 614-627.

Kubitza, F. 1999. Qualidade da água na produção de peixes. 3 ed. Degaspari, Jundiá.

Kubitza, F. 2008. Manejo na produção de peixes. *Panorama da Aquicultura*: julho/agosto.

Kubitza, F. 2010. Piscicultura familiar como ferramenta para o desenvolvimento e segurança alimentar no meio rural. *Panorama da Aquicultura*: janeiro/fevereiro.

Kubitza, F. & Kubitza, L.M.M. 2015. Tilapias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Parte I. *Panorama da Aquicultura* 59: 1-12.

Leonardo, A.F., Corrêa, C.F. & Baccarin, A.E. 2011. Qualidade da água de um reservatório submetido à criação de tilápias em tanques-rede, no sul de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca* 37: 341-354.

Lins, R.P., Lima, S.M.S., Cruz, P.S., & de Lucena, J.E. 2009. Efeito da piscicultura intensiva sobre variáveis físicas, químicas e biológicas da água de dois reservatórios do semi - árido nordestino: avaliação em época de seca. *Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos*. Campo Grande – MS.

- Lins, R.P.M.** 2011. Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica em um reservatório eutrófico do trópico semiárido brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.
- Lins R.P., Barbosa L.G., Minillo A. & De Ceballos B.S.** 2016. Cyanobacteria in a eutrophicated reservoir in a semi-arid region in Brazil: dominance and microcystin events of blooms. *Brazilian Journal of Botany*, 39:2, 583-591.
- Liu, H., Song, X., Huang, L., Zhong, Y., Shen, P., & Qin, G.** 2011. Diurnal variation of phytoplankton community in a high frequency area of HABs: Daya Bay, China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29(4), 800-806.
- Liu, W., Wang, S., Zhang, L., Ni, Z., Zhao, H., & Jiao, L.** 2015. Phosphorus release characteristics of sediments in Erhai Lake and their impact on water quality. *Environmental Earth Sciences*, 74(5), 3753-3766.
- Lopes P.F., Carvalho A.R., Villasante S. & Henry-Silva G.G.** 2018. Fisheries or aquaculture? Unravelling key determinants of livelihoods in the Brazilian semi-arid region. *Aquaculture Research*, 49:1, 232-242.
- Macedo, C.F. & Sipaúba-Tavares, L.H.** 2010. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Boletim do Instituto de Pesca* 36: 149-163.
- Mallasen, M., Barros, H.P. & Yamaschita, E. Y.** 2008. Produção de peixes em tanques-rede e a qualidade de água. *Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária* 1: 46-51.
- Mao, Z., Gu, X., Zeng, Q., & Pan, G.** 2014. Seasonal and spatial variations of the food web structure in a shallow eutrophic lake assessed by stable isotope analysis. *Fisheries science*, 80(5), 1045-1056.
- Margalef, R.** 1983. *Limnologia*. Editora Omega, Barcelona.
- Marques E.A.T., Silva G.M.N., Oliveira C.R., Cunha M.C.C., & Sobral M.C.** 2018. Assessing the negative impact of an aquaculture farm on effluent water quality in Itacuruba, Pernambuco, Brazilian semiarid region *Water Science & Technology* 78.7.
- Menezes, R. F. D.** 2008. Efeitos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e do enriquecimento por nutrientes sobre a comunidade planctônica em um lago artificial no semi-árido brasileiro (Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte).
- Miranda T.O., Lima H.S., Galon B., Veronez A.C., Moretti M.S., Roper J.J. & Gomes L.C.** 2016. Changes in water quality and the phytoplankton community associated with tilapia cage farming in tropical lakes. *Aquatic Living Resources*, 29:4, 403.

- Moura, R.S.T., Lopes, Y.V.A. & Henry-Silva, G.G.** 2014. Sedimentação de nutrientes e material particulado em reservatório sob influência de atividades de piscicultura no semiárido do Rio Grande do Norte. *Química Nova* 37: 1283-1288.
- Naselli-Flores L., Padisák J. & Albay M.** 2007. Shape and size in phytoplankton ecology: do they matter?. *Hydrobiologia*, 578:1, 157-161.
- Navarrete I.A., Dicen G.P., Perez T.R., Mendoza S.M., Rallos R.V., Labides J.L.R. & Claveria R.J.R.** 2019. Towards integrated management of a shallow tropical lake: assessment of water quality, sediment geochemistry, and phytoplankton diversity in Lake Palakpakin, Philippines. *Environmental monitoring and assessment*, 191(8), 485.
- Oliveira, R.** 2009. Panorama geral da Aqüicultura no Brasil. *Revista Aquavista*, 1, 36-56.
- Osti J.A.S., Tucci A. & Camargo A.F.M.** 2018. Changes in the structure of the phytoplankton community in a Nile tilapia fishpond. *Acta Limnologica Brasiliensia*, Rio Claro, 30, e213.
- Padisák J., Scheffler W., Kasprzak P., Koschel R. & Krienitz L.** 2003. Interannual variability in the phytoplankton composition of Lake Stechlin (1994–2000). *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol*, 58, 101-133.
- Padisák J., Crossetti L.O. & Naselli-Flores L.** 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621:1, 1-19.
- PAES, J.** 2006. A ictiofauna associada e as condições limnológicas num sistema de piscicultura em tanques-rede, no reservatório de Nova Avanhandava, baixo rio Tietê (SP). 2006. 177f (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Biologia)-Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP).
- Pessoa E.K.R., dos Santos R.V., Chellappa S. & Chellappa N.T.** 2011. Impact of nile tilapia cage culture on the phytoplankton community in a tropical reservoir. *Animal Biology Journal*, 2:4, 181.
- Reynolds, C.S.** 1988. Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. *In: C.D. Sandgren (ed.). Growth and Reproductive Strategies of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, New York, pp. 388-433.
- Reynolds, C.S.** 1997. Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystem theory (No. 504 EXC v. 9).

Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L. & Melo S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of plankton research*, 24:5, 417-428.

Rosini E.F. 2015. Respostas da comunidade fitoplanctônica à implantação de sistema de piscicultura em tanques-rede no parque aquícola do rio Ponte Pensa, reservatório de Ilha Solteira, SP, Brasil. São Paulo. 187 p.

Rosini E.F., Tucci A., do Carmo C.F., Rojas N.E.T., de Barros H.P. & Mallasen M. 2016. Changes in phytoplankton spatial and temporal dynamics in a Brazilian tropical oligotrophic reservoir after net cage installation. *Brazilian Journal of Botany*, 39:2, 569-581.

Rosini E.F., Tucci A., Carmo C.F.D. & Barros H.P.D. (2019). Influência da piscicultura em tanques-redes de grande volume na qualidade da água do Parque Aquícola Ponte Pensa, Reservatório Ilha Solteira, SP, Brasil. *Revista Ambiente & Água*, 14:4.

Ross, J.L.S., & Moroz, I.C. 1996. Mapa geomorfológico do estado de São Paulo. *Revista do Departamento de Geografia*, 10, 41-58.

Sabbag O.J. Rozales R.D.R., Tarsitano M.A.A. & Silveira A.N. 2007. Análise econômica da produção de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em um modelo de propriedade associativista em Ilha Solteira/SP. São Paulo.

Schlüter, L., David, G. S., Jørgensen, N.O., Podduturi, R., Tucci, A., Dias, A. S., & da Silva, R.J. 2018. Characterization of phytoplankton by pigment analysis and the detection of toxic cyanobacteria in reservoirs with aquaculture production. *Aquaculture Environment Interactions*, 10, 35-48.

Signor, A.A, Nunez, E.O.L., Reide, A., Coldebella, A., Gentelini, A.L. & Souza, B.E. de 2012. Qualidade de água em cultivo de peixes em tanques-rede no reservatório da Hidrelétrica de Itaipu. *In: Anais do IV Encontro Nacional de Núcleos de Pesquisa Aplicada em Pesca e Aquicultura*.

Sipaúba-Tavares L.H., Millan R.N. & Santeiro R.M. 2010. Characterization of a plankton community in a fish farm. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22:1, 60-69.

Sussel, F.R. 2013. Tilapicultura no Brasil e entraves na produção. Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga. São Paulo.

Tacon, A.G.J. & Forster, I.P. 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture* 226: 181–189.

- Taniguchi G.M., Bicudo D.C. & Senna P.A.** 2005. Gradiente litorâneo-limnético do fitoplâncton e ficoperifíton em uma lagoa da planície de inundação do Rio Mogi-Guaçu. *Brazilian Journal of Botany*, 28:1, 137-147.
- Toledo, J.J., Castro, J.G.D., Santos, K.F., Farias, R.A. de, Hacon, S. & Smermann, W.** 2003. Efluentes de viveiros da estação de piscicultura de Alta Floresta – Mato Grosso. *Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais* 2: 13-31.
- Tomazelli, O. & Casaca, J.M.** 1997. Piscicultura orgânica X qualidade da água. *In: Anais do Workshop sobre dejetos suínos*, Concórdia, SC / Claudio R. de Miranda e Carlos C. Perdomo (Orgs.). Concórdia - EMBRAPA-CNPSA, 92p.
- Tucci, A., Mallasen, M., do Carmo, C.F., Barros, H.P., Fonseca, F.S., Rojas, N.E. T., & Yamashita, E.Y.** 2009. Avaliação da comunidade fitoplanctônica em sistema de piscicultura em tanques-rede no reservatório de Ilha Solteira-SP.
- Tundisi J.G.** 2014. Recursos hídricos no Brasil: problemas, desafios e estratégias para o futuro. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 76.
- Valladão G.M.R., Gallani S.U. & Pilarski F.** 2018. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10:2, 351-369.
- Venturoti G.P., Veronez A.C., Salla R.V. & Gomes L.C.** 2015. Variation of limnological parameters in a tropical lake used for tilapia cage farming. *Aquaculture Reports*, 2, 152-157.
- Zhang, Y., Bleeker, A., & Liu, J.** 2015. Nutrient discharge from China's aquaculture industry and associated environmental impacts. *Environmental Research Letters*, 10(4), 045002.
- Zaniboni Filho, E.** 2005. Tratamento de efluentes da piscicultura. *In: Anais do ZOOTEC`2005 Campo Grande-MS*

Capítulo 1

CAPÍTULO 1

Caracterização da comunidade fitoplanctônica em três reservatórios tropicais com piscicultura em tanques-rede: abordagem clássica e Grupos Funcionais Baseados em Morfologia

Resumo

O fitoplâncton é sensível a mudanças ambientais sendo um ótimo indicador da qualidade da água em diferentes ambientes, dentre eles os com presença de tanques-rede. Objetivou-se com o presente estudo, avaliar as características limnológicas, e a estrutura da comunidade fitoplanctônica, classificada em Grupos Funcionais Baseados em Morfologia, de três reservatórios com piscicultura em tanques-rede. As amostras de água e fitoplâncton foram coletadas em três reservatórios do Estado de São Paulo, durante os períodos seco e chuvoso de 2015 e 2016. Os reservatórios foram classificados como mesotróficos e apresentaram elevada concentração de nutrientes especialmente nas amostragens de 2015. Cryptophyceae contribuiu com as maiores densidades para os reservatórios Chavantes e Ilha Solteira, enquanto que Nova Avanhandava teve grande contribuição de Cyanobacteria. Cyanobacteria representou 27% da comunidade do fitoplâncton para Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira, e 25%, 30% e 28%, respectivamente, em cada reservatório. Elevados valores de biovolume de Cyanobacteria foram observados nos três reservatórios. As espécies descritoras de cada sistema foram classificadas em cinco Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (III, IV, V, VI e VII). Os grupos foram representativos do estado trófico assim como das mudanças físicas e químicas dos sistemas demonstrando a eficiência na classificação morfofuncional para a avaliação ecológica de reservatórios tropicais sob influência de piscicultura em tanques-rede.

Palavras-chave: Cyanobacteria, morfofuncional, piscicultura

Abstract

Phytoplankton are sensitive to environmental changes and are an excellent indicator of water quality in different environments, including those with net cages. The objective of this study was to evaluate the limnological characteristics, the structure of the phytoplankton community and the classification of Functional Groups Based on Morphology of three reservoirs with tilapia culture in net cages. The water and

phytoplankton samples were collected in three reservoirs in the State of São Paulo, during the dry and rainy periods of 2015 and 2016. The reservoirs were classified as mesotrophic and had high concentrations of nutrients, especially in the 2015 samples. Cryptophyceae contributed with the highest densities to the Chavantes and Ilha Solteira reservoirs, while Nova Avanhandava had a great contribution from Cyanobacteria. High values of Cyanobacteria biovolume were observed in the three reservoirs. The descriptor species of each system were classified into five Functional Groups Based on Morphology (III, IV, V, VI and VII). The groups were representative of the trophic state as well as the physical and chemical changes of the systems, demonstrating the efficiency in the morphofunctional classification for the ecological evaluation of tropical reservoirs under the influence of fish farming in net cages.

Key words: Cyanobacteria, morfofuncional, pisciculture

Introdução

O fitoplâncton é uma das principais ferramentas utilizadas no monitoramento da qualidade da água em reservatórios, apresentando rápida variação temporal em resposta as interferências antropogênicas que promovem variações na disponibilidade de recursos (Reynolds 2006, Casé *et al.* 2008).

A distribuição do fitoplâncton na coluna de água está regulada por fatores ambientais tais como disponibilidade de luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes, herbivoria e hidrodinâmica (Reynolds 1980, Rhee 1982, Margalef 1983, Reynolds 2006). Para obter sucesso na colonização do ambiente aquático, estes organismos apresentam uma série de atributos ecológicos que explicam a distribuição funcional relacionada a diferentes condições ambientais (Margalef 1978, Salmaso & Padisák 2007, Padisák *et al.* 2009, Brasil & Huszar 2011).

Kruk *et al.* (2010) reuniram atributos morfológicos em cinco Grupos Funcionais Baseados na Morfológica (MBFG) nos quais as espécies são associadas por meio de características morfológicas, como volume, dimensão linear máxima, área superficial e presença de mucilagem, flagelos, aerótopos, heterocistos ou estruturas siliciosas. Esses atributos morfológicos influenciam a taxa de crescimento, a eficiência do uso de recursos disponíveis e a suscetibilidade à herbivoria sob as diferentes condições ambientais, e dessa forma refletem de forma eficiente os efeitos da variabilidade climática ao longo do tempo (Padisák *et al.* 2003, Salmaso 2003).

A classificação dos GFBM é frequentemente utilizada em estudos ecológicos do fitoplâncton de diferentes ambientes aquáticos continentais, assim como em estudos que refletem a relação da comunidade com a trofia de reservatórios tropicais (Silva & Costa 2015, Bortolini *et al.* 2016, Aquino *et al.* 2018) e temperados (Gallego *et al.* 2012).

A facilidade na sua utilização e efetividade nas respostas, permitem a utilização desta ferramenta para uma compreensão efetiva da relação espécies-ambiente (Salmaso & Padisák 2007). Com base nisto, buscamos avaliar a resposta da comunidade fitoplanctônica às alterações nas características limnológicas, utilizando a classificação de grupos taxonômicos e Grupos Funcionais Baseados em Morfologia em três reservatórios com tilapicultura em tanques rede.

Materiais e métodos

Área de estudo

As amostragens foram realizadas em março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016 em três reservatórios com produção de tilápias (*O. niloticus*) no Estado de São Paulo (Figura 1):

- Reservatório Chavantes (23°07'42" S e 49°43'59" O), localizado entre os municípios de Chavantes (SP) e Ribeirão Claro (PR), na Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema, situado em uma região de clima tropical de altitude, de temperatura média variando entre 18°C e 22°C e pluviosidade média anual em torno de 1.200 mm/ano, no qual foi selecionada uma estação de amostragem (Piscicultura 1, E1);
- Reservatório Nova Avanhandava (21°07'01" S e 50°12'06" O), localizado no município de Buritama, Bacia Hidrográfica do Baixo Tietê, situado em uma região de clima tropical úmido de inverno seco com temperatura média de 23°C e pluviosidade média anual variando entre 1.100 à 1.300 mm/ano, com três estações de amostragens (Piscicultura 2, 3, e 4 - E2, E3 e E4) e;
- Reservatório de Ilha Solteira (20°23'00" S e 51°22'00" O), localizado entre os municípios de Ilha Solteira (SP) e Selvíria (MS), Bacia Hidrográfica do Rio São José dos Dourados, situado em uma região de clima tropical úmido com temperatura média anual de 24,7°C e pluviosidade média anual de 1.259 mm/ano, no qual duas estações de amostragens (Pisciculturas 5 e 6 - E5 e E6) foram selecionadas.

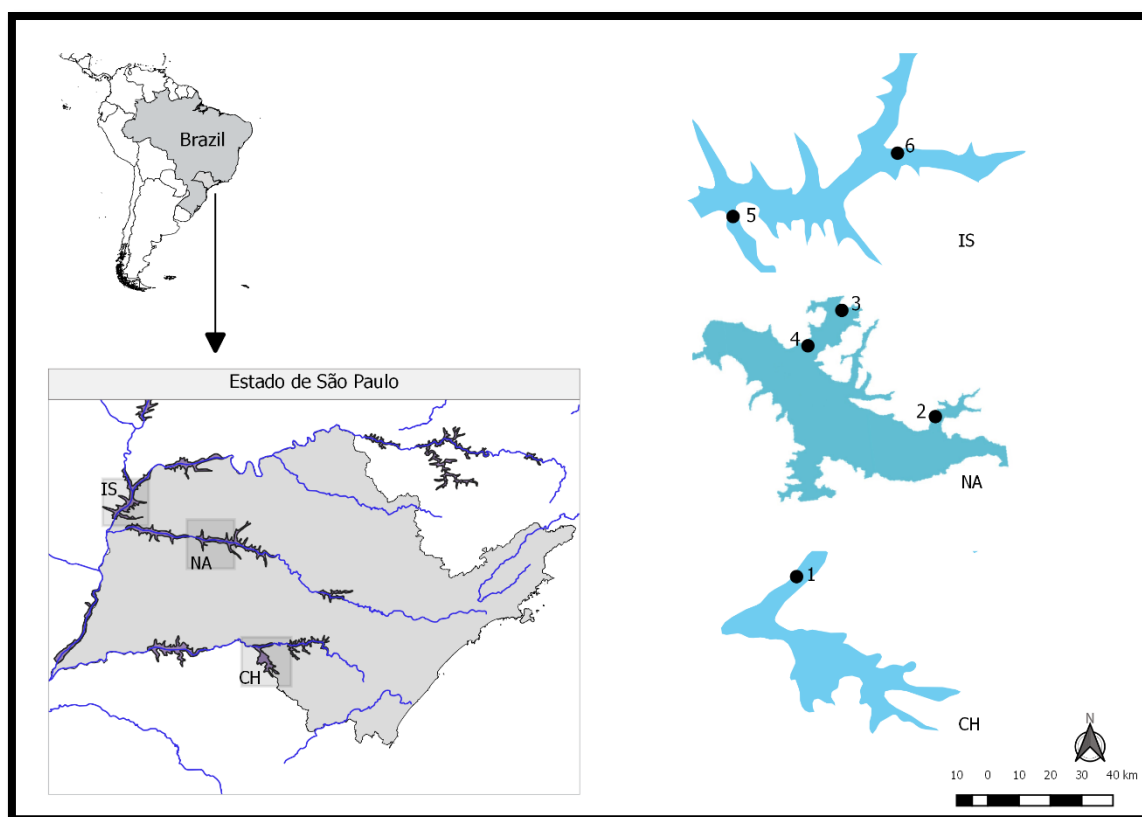


Figura 1. Localização dos reservatórios estudados no Estado de São Paulo: Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS) e suas respectivas estações de amostragens, correspondentes às seis fazendas de piscicultura (E1 à E6).

Amostragens

Em cada estação, foram realizadas coletas em três diferentes pontos: à montante da piscicultura, dentro da piscicultura e à jusante da piscicultura. A piscicultura 3 (E3) está localizada à montante da piscicultura 4 (E4) em Nova Avanhandava e, conseqüentemente, apenas um montante e uma jusante foram amostradas para as duas pisciculturas.

As amostras de água para o estudo taxonômico do fitoplâncton foram coletadas com rede de plâncton com abertura de malha de 20 μ m por meio de arrasto horizontal e vertical na coluna d'água. As amostras foram fixadas com formol na concentração final de 4-5%. Para as análises quantitativas do fitoplâncton e limnológicas da água, as amostras foram coletadas com garrafa tipo van Dorn. As amostras quantitativas do fitoplâncton foram fixadas em solução aquosa de lugol acético a 1%. As amostras destinadas para as análises das variáveis ambientais, foram realizadas em triplicatas (n= 204).

As variáveis limnológicas estudadas foram: fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$) e nitrogênio total ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Valderrama 1981), ortofosfato ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Strickland & Parsons 1960), íon amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$) (APHA et al. 2005), nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$) e nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Giné et al. 1980). A biomassa fitoplanctônica foi estimada através da concentração de clorofila *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$), pela técnica de extração dos pigmentos descrita em Nush (1980).

Com auxílio da sonda multiparamétrica EXO YSI foram obtidas in situ oxigênio dissolvido (mg L^{-1}), pH, temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$), condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$) e sólidos totais dissolvidos (mg L^{-1}). A profundidade da transparência da água (m) foi estimada pelo desaparecimento do disco de Secchi. Para cada reservatório, foi estimado o Índice de Estado Trófico, de acordo com Lamparelli (2004).

Identificações taxonômicas, análise quantitativa do fitoplâncton e GFBM

A identificação dos organismos foi feita a partir das análises das características morfológicas e métricas das populações. As análises foram realizadas no laboratório de microscopia do Núcleo de Pesquisa em Ficologia do Instituto de Botânica. O exame taxonômico foi realizado ao microscópio fotônico, Zeiss Axioplan 2, com retículo micrometrado e sistema de captura de imagem acoplados. Os dados métricos foram obtidos com o auxílio da ocular de medição e do programa Carl Zeiss AxioVision Rel.4.8.

Para a identificação dos gêneros e espécies registradas neste trabalho, utilizamos as seguintes bibliografias: Komárek & Fott (1983), Sant'Anna (1984), Tell & Conforti (1986), Sant'Anna *et al.* (1989), Komárek & Azevedo (2000), Comas (1996), Komárek & Anagnostidis (1999 e 2005), Sant'Anna *et al.* (2004), Ferragut *et al.* (2005), Bicudo & Menezes (2006), Tucci *et al.* (2006), Rodrigues *et al.* (2010), Rosini *et al.* (2013), Alves *et al.* (2014), Tucci *et al.* (2019).

Dentre os trabalhos utilizados para atualizações taxonômicas destacam-se: An *et al.* (1999), Hegewald (1997, 2000), Kostikov *et al.* (2002), Buchheim *et al.* (2005), Wacklin *et al.* (2009), Komárek *et al.* (2011), Komárek & Johansen (2015) e Rigonato *et al.* (2017).

Para a análise quantitativa do fitoplâncton foi utilizado o método de Utermöhl (1958). As amostras foram sedimentadas em cubetas de 10 mL considerando-se quatro horas para cada centímetro de altura da câmara utilizada (Lund *et al.* 1958) e posteriormente analisadas ao microscópio invertido Axiovert 2.

O limite de contagem foi estabelecido com base em dois critérios: (1) quando atingidos 100 indivíduos de uma mesma espécie e (2) quando houver curva de rarefação, ou seja, sete campos consecutivos sem ser encontrado um novo táxon.

Cada célula, cenóbio, colônia e filamento foi considerado como indivíduo.

Os resultados foram expressos em densidade (org.mL^{-1}) e calculado segundo a fórmula de Weber (1973):

$$\text{Organismos} \cdot \text{mL}^{-1} = (n/sc) \cdot (1/h) \cdot (F)$$

em que:

n = número de indivíduos efetivamente contados;

s = área do campo em mm^2 no aumento de 40X.

c = número de campos contados;

h = altura da câmara de sedimentação em mm

F = fator de correção para mililitro ($10^3 \text{ mm}^3/1 \text{ mL}$)

A riqueza de táxons foi considerada como o número total de táxons encontrados por amostra.

Com base na densidade, foram calculados os Índices Biológicos.

Índice de Diversidade (H') (bits.ind^{-1}) estimado pelo índice de Shannon & Wever (1963) a partir da fórmula:

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i, \text{ onde:}$$

$i = 1$

$p_i = n_i/n$;

n_i = número total de indivíduos de cada táxon na amostra;

n = número total de indivíduos na amostra.

Foi estimado o biovolume multiplicando a densidade pelo volume médio de cada espécie ($n=20$). O volume celular para cada espécie foi calculado com base em modelos geométricos cujas formas se aproximassem mais, isolados ou combinados, da forma dos indivíduos de acordo com Wetzel & Likens (1991), Hillebrand *et al.* (1999), Sun & Liu (2003), INAG IP (2011), Osti (2013), Fonseca *et al.* (2014) e Rosini (2015). O valor obtido em $\mu\text{m}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$ foi transformado para $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ dividindo-se esse valor por 10^6 .

Foram selecionadas espécies descritoras para cada sistema, como sendo aquelas que contribuíram com 1% (ou mais) do biovolume total relativo e, que juntas, somaram no mínimo 80% do biovolume total.

As espécies descritoras estimadas a partir do biovolume, foram classificadas em Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) sendo esses grupos divididos com

base em nove traços morfológicos (volume, área superficial, máxima dimensão linear, razão superfície: volume ($s.v^{-1}$), presença de mucilagem, flagelos, aerótopos, heterócitos e demanda por sílica) identificados para cada organismo em microscópio óptico, conforme a proposta de Kruk *et al.* (2010) (Figura 2).

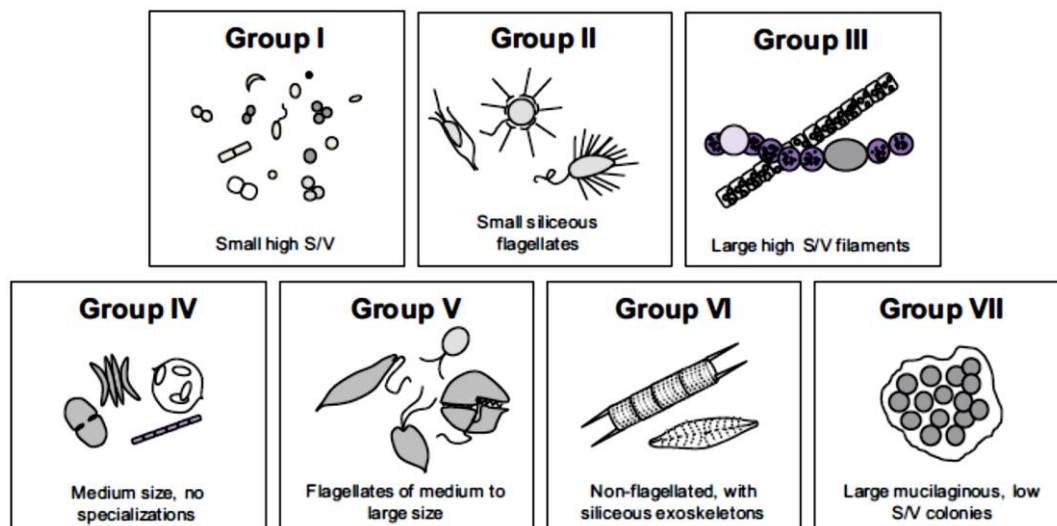


Figura 2. Representação esquemática dos sete Grupos Funcionais Baseados em Morfologia (GFBM) proposto por Kruk *et al.* (2010) incluindo uma breve descrição de sua morfologia. S área superficial, V volume. Fonte: Kruk & Segura (2012).

Análise dos dados

Os resultados foram analisados por estatística descritiva: média e desvio padrão de variáveis limnológicas e por meio de análises estatísticas multivariadas pelo Programa PC-ORD versão 6.0 para Windows (McCune e Mefford 2011). As correlações dos dados bióticos e abióticos para determinar a variabilidade ambiental em relação aos períodos amostrados (temporal) e às diferentes estações amostrais (espacial) foram estabelecidas por meio da Análise de Componentes Principais (ACP) a partir de matriz de covariância. As variáveis abióticas, com exceção do pH, foram transformadas por “ $\log x + 1$ ”.

Para explicar as possíveis relações entre as espécies descritoras em seus respectivos grupos funcionais e as variáveis ambientais foi realizada Análise de Correspondência Canônica (ACC). Esta análise foi escolhida porque a ordenação das espécies pela Análise de Correspondência Destendenciada (ACD) mostrou que o comprimento do gradiente foi > 2.0 , indicando a não linearidade na relação entre as variáveis ambientais e os GFBM fitoplanctônicos.

A análise foi realizada a partir de matrizes de covariância, com transformação dos dados pelo $[\log (x+1)]$. Para testar o nível de significância dos dois primeiros eixos canônicos utilizamos o teste de Monte Carlo (999 permutações; $p \leq 0,05$), que determina se há probabilidade dos autovalores terem distribuição ao acaso.

Resultados

Variáveis abióticas

A estatística básica (valores médios e desvio padrão) para todos os parâmetros de qualidade da água (físicos, químicos e nutrientes) medidos neste estudo, foram sumarizados nas figuras 3 e 4 e figuras 8 e 9.

Os níveis de água dos reservatórios estudados foram influenciados por um longo período de estiagem ocorrido em 2014 (figuras 5).

A temperatura da superfície da água dos reservatórios estudados, variou entre 21°C (Chavantes) e 30°C (Ilha Solteira), com temperaturas mais elevadas em março nos dois anos estudados, que corresponde ao período chuvoso (M15 e M16) (Figura 3A).

Em Chavantes e Ilha Solteira foram medidos os menores valores de pH, variando entre 7 e 8. Em Nova Avanhandava foram registrados os maiores valores (9,4) (Figura 3B).

Em Chavantes foram medidos OD acima de 8 mg L⁻¹ em todas as amostragens (Figura 3C). Nova Avanhandava apresentou os maiores gradientes de OD (13 mg L⁻¹), como Ilha Solteira, apresentou pontos amostrais com saturações abaixo de 5 mg L⁻¹. Temporalmente observou-se que os maiores valores de OD foram registrados nas amostragens do período seco (outubro), sobretudo no ano 2015 (O15).

Foram registrados maiores valores de condutividade elétrica da água em Nova Avanhandava atingindo valor máximo de 236,2 µS cm⁻¹ em M15 (Figura 4A). Em Chavantes e Ilha Solteira (com exceção do P5 em M15 e O16) os valores de condutividade estiveram abaixo de 100 µS cm⁻¹. Quanto aos valores de sólidos totais em suspensão (Figura 4B), os maiores valores foram registrados nas fazendas de criação dos reservatórios.

Com exceção de Nova Avanhandava (O15), todos os valores de clorofila α foram inferiores a 10 µg L⁻¹ (Figura 4C).

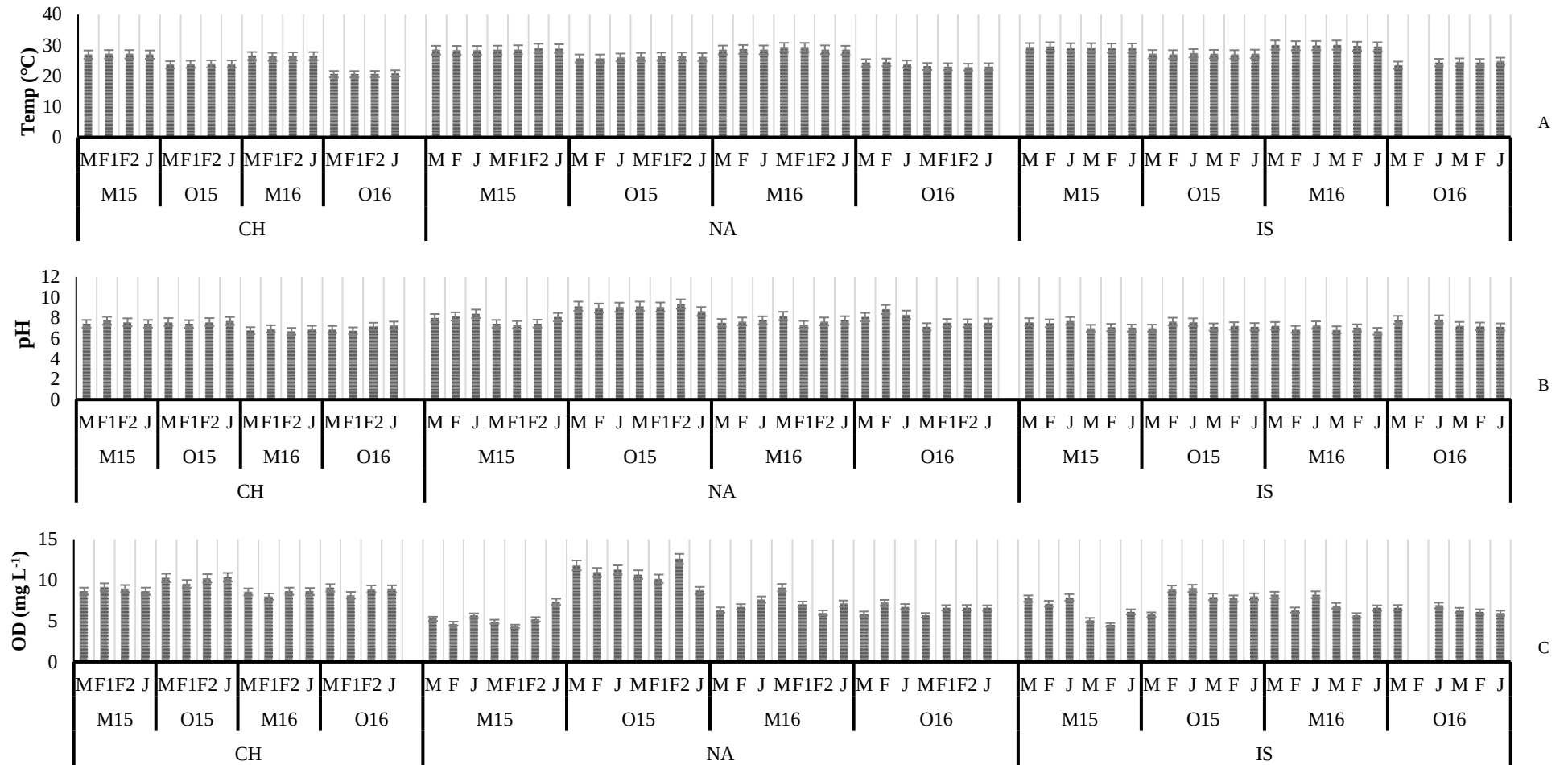


Figura 3: Gráficos dos valores médios e desvios padrão de variáveis físicas e químicas analisadas em cada ponto amostral (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2 e J: jusante) dos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016). [Temp: temperatura (A), pH: potencial hidrogeniônico (B) e OD: oxigênio dissolvido (C)]

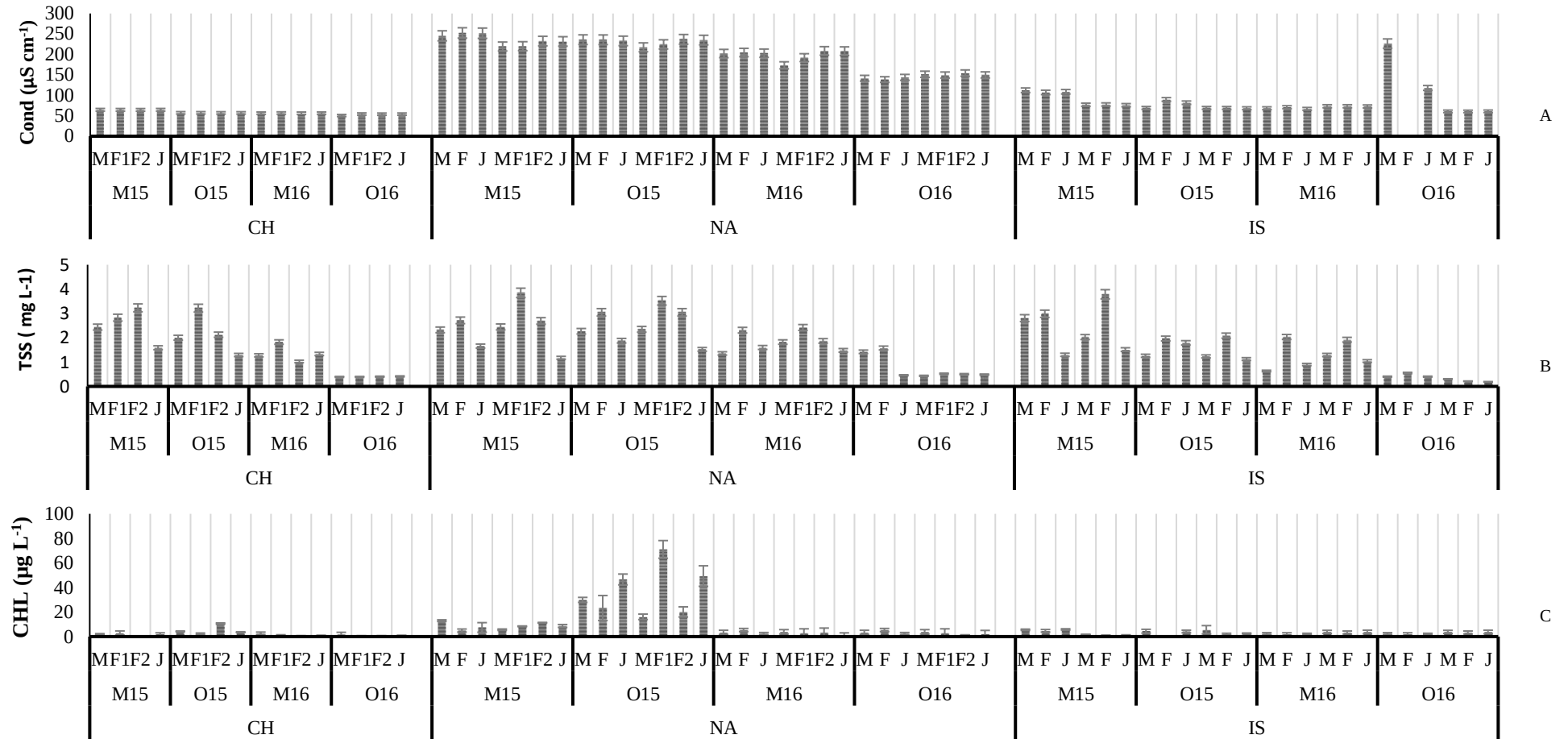


Figura 4: Gráficos dos valores médios e desvios padrão de variáveis físicas e químicas analisadas em cada ponto amostral (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2 e J: jusante) dos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016). [Cond: condutividade elétrica (A), TSS: total de sólidos suspensos (B) e CHL: clorofila a (C)].

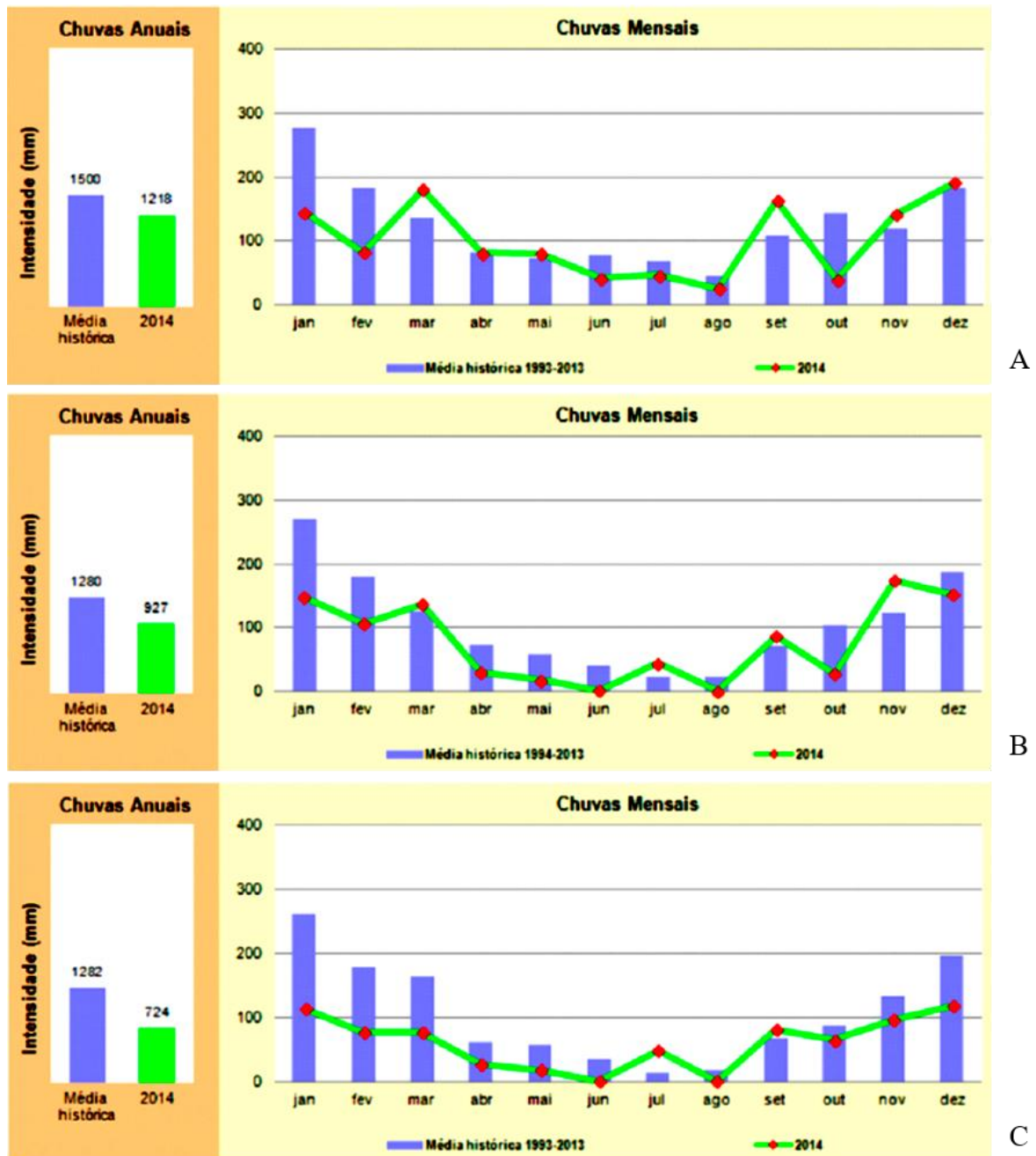


Figura 5: Gráficos de precipitação de 2014 em comparação à média histórica 1993-2013 nas UGRHI 14 Chavantes (A), 19 Baixo Tietê (B) e 18 São José dos Dourados (C), respectivamente. Fonte: CETESB 2015.

Os perfis de temperatura e oxigênio dissolvido no período de março de 2015 à março 2016 dos três reservatórios estão representados nas Figura 6 e 7, respectivamente.

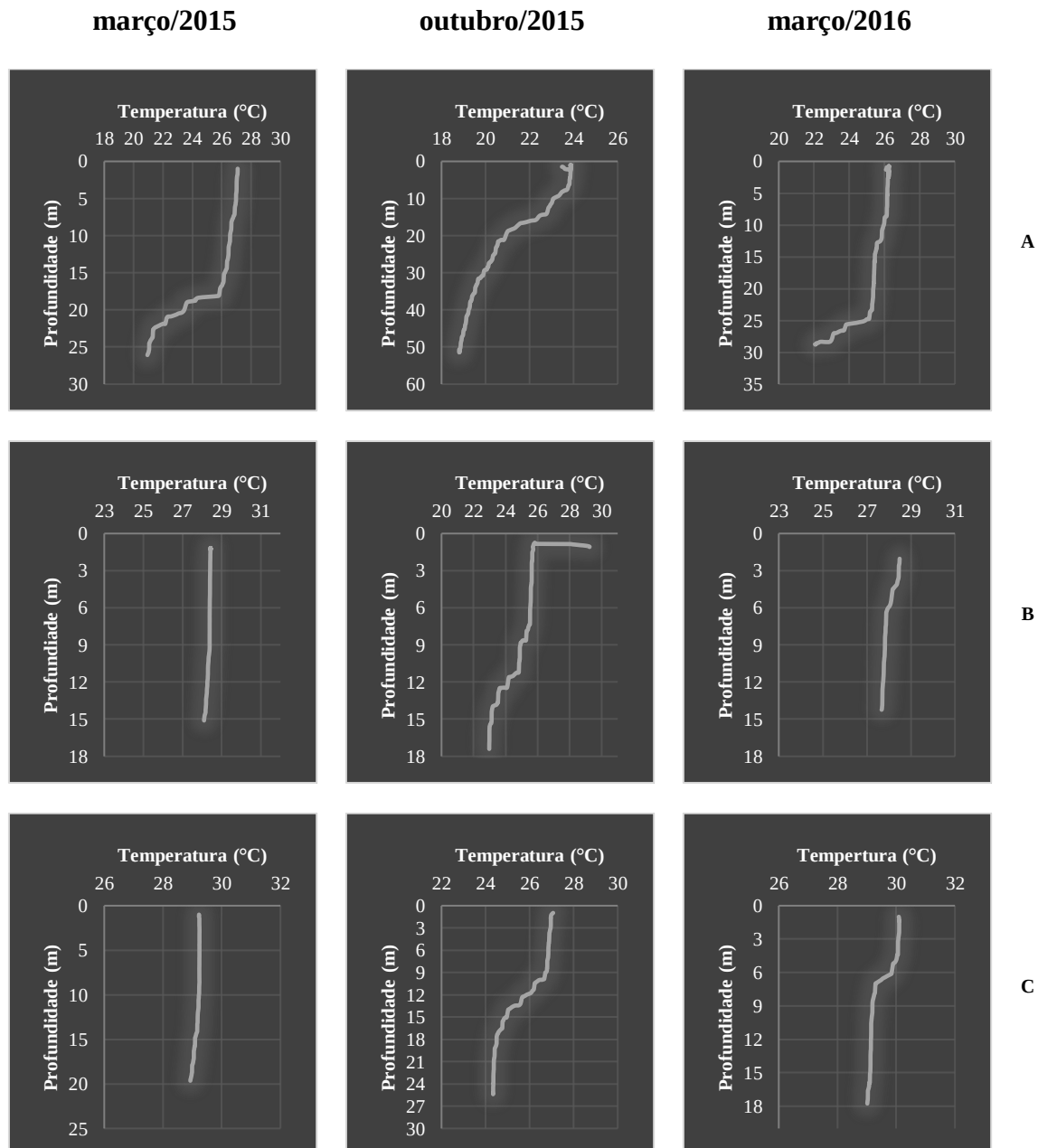


Figura 6: Perfis de temperatura da água (°C) nos três reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) durante o período de março de 2015 (1° coluna), outubro de 2015 (2° coluna) e março de 2016 (3° coluna).

Chavantes apresentou características de sistema meromítico, isto é, sem circulação vertical completa da coluna d'água, apresentando estratificação durante todas as amostragens e com presença de termóclinas múltiplas (Figura 6A). Nova Avanhandava (Figura 6B) e Ilha Solteira (Figura 6C) estiveram desestratificados na primeira amostragem (M15) e estratificados nas demais (O15 e M16).

Houve estratificação química (oxigênio dissolvido) em todas as amostragens (Figura 7A à C).

As concentrações de oxigênio dissolvido estiveram acima de 4 mg/L nos epilímnios dos três reservatórios em todas as amostragens.

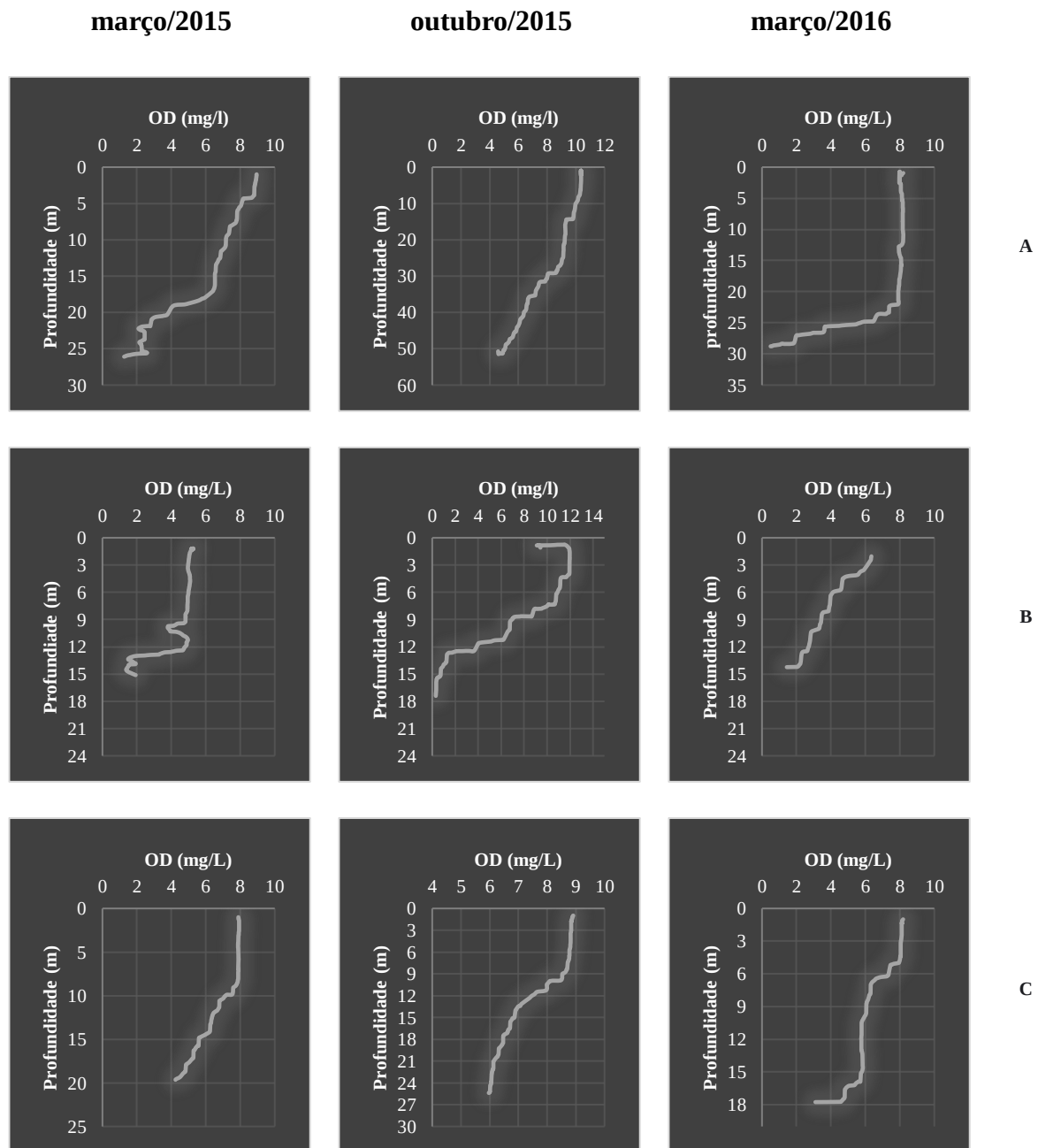


Figura 7: Perfis de oxigênio dissolvido (OD) nos três reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) durante o período de março de 2015 (1º coluna), outubro de 2015 (2º coluna) e março de 2016 (3º coluna).

Foi registrada anóxia do hipolínio em Chavantes (M15) e em Nova Avanhandava (O15).

Em relação aos nutrientes (Figura 8 e 9) foram observadas elevadas concentrações de nitrogênio total e dissolvido, nos três reservatórios, ocorreram principalmente nas amostragens de O15. Já em relação às concentrações de fósforo total e ortofosfato, os maiores valores foram registrados tanto nas amostragens de O15 quanto nas de M16.

Em Chavantes foi registrado o maior valor de $\text{NH}_4\text{-N}$ ($483 \mu\text{.L}^{-1}$) na E1f1 em O15, enquanto que em Nova Avanhandava, foram registrados os maiores valores dos demais nutrientes: $\text{NO}_2\text{-N}$ ($8,8 \mu\text{.L}^{-1}$) na fazenda da E2 em O15, $\text{NO}_3\text{-N}$ ($174 \mu\text{.L}^{-1}$) na fazenda 1 da E3 em O15, NT ($2493 \mu\text{.L}^{-1}$) e $\text{PO}_4\text{-P}$ ($16 \mu\text{.L}^{-1}$) na fazenda 2 da E4 em O15 e PT ($45,5 \mu\text{.L}^{-1}$) na fazenda 2 da E4 em M16.

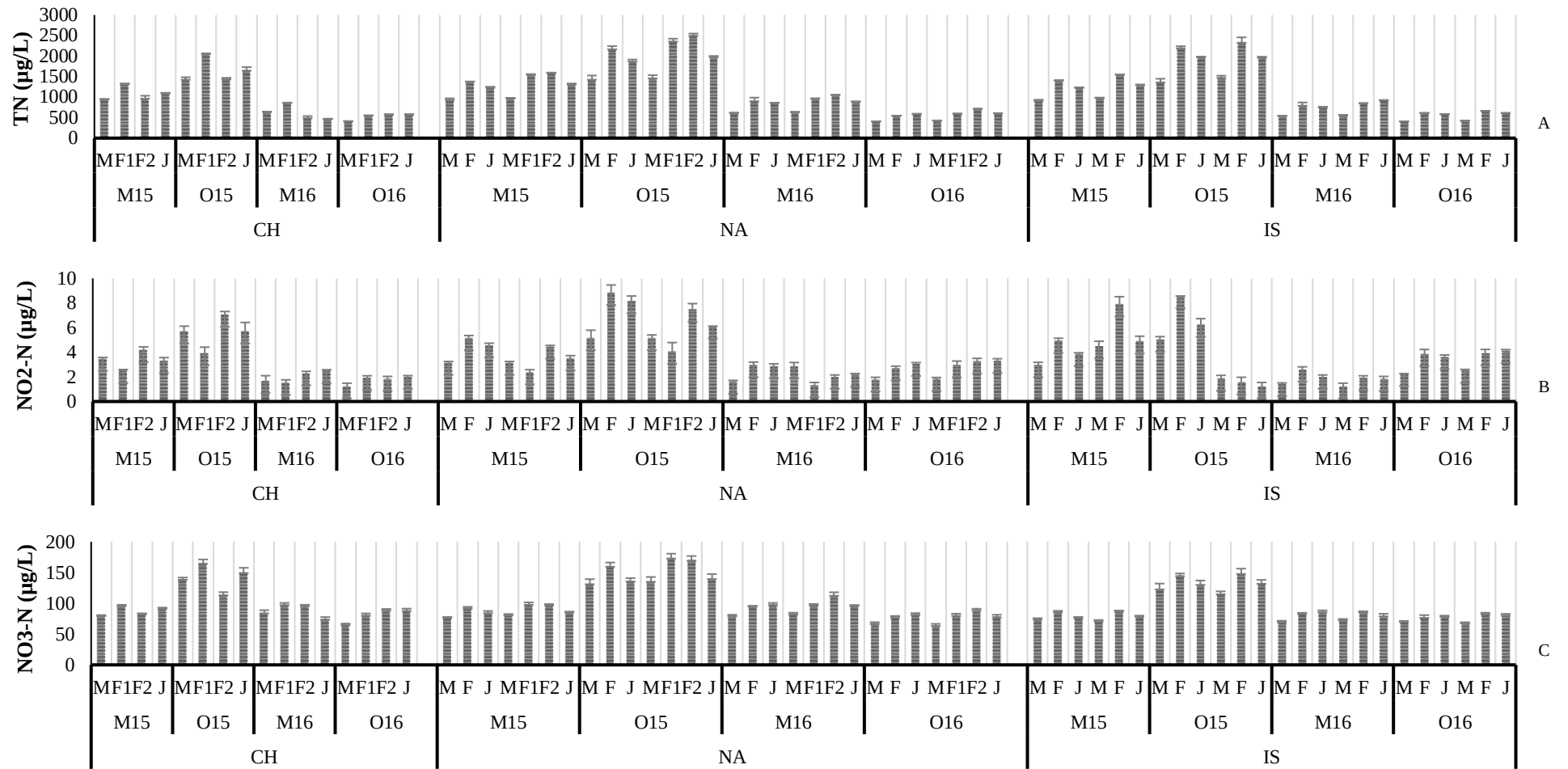


Figura 8: Gráficos dos valores médios e desvios padrão dos nutrientes, analisados durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016) nos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, N.A: Nova Avanhandava e I.S: Ilha Solteira). [$\text{NH}_4\text{-N}$: amônia (A), $\text{NO}_2\text{-N}$: nitrito (B), $\text{NO}_3\text{-N}$: nitrato (C)].

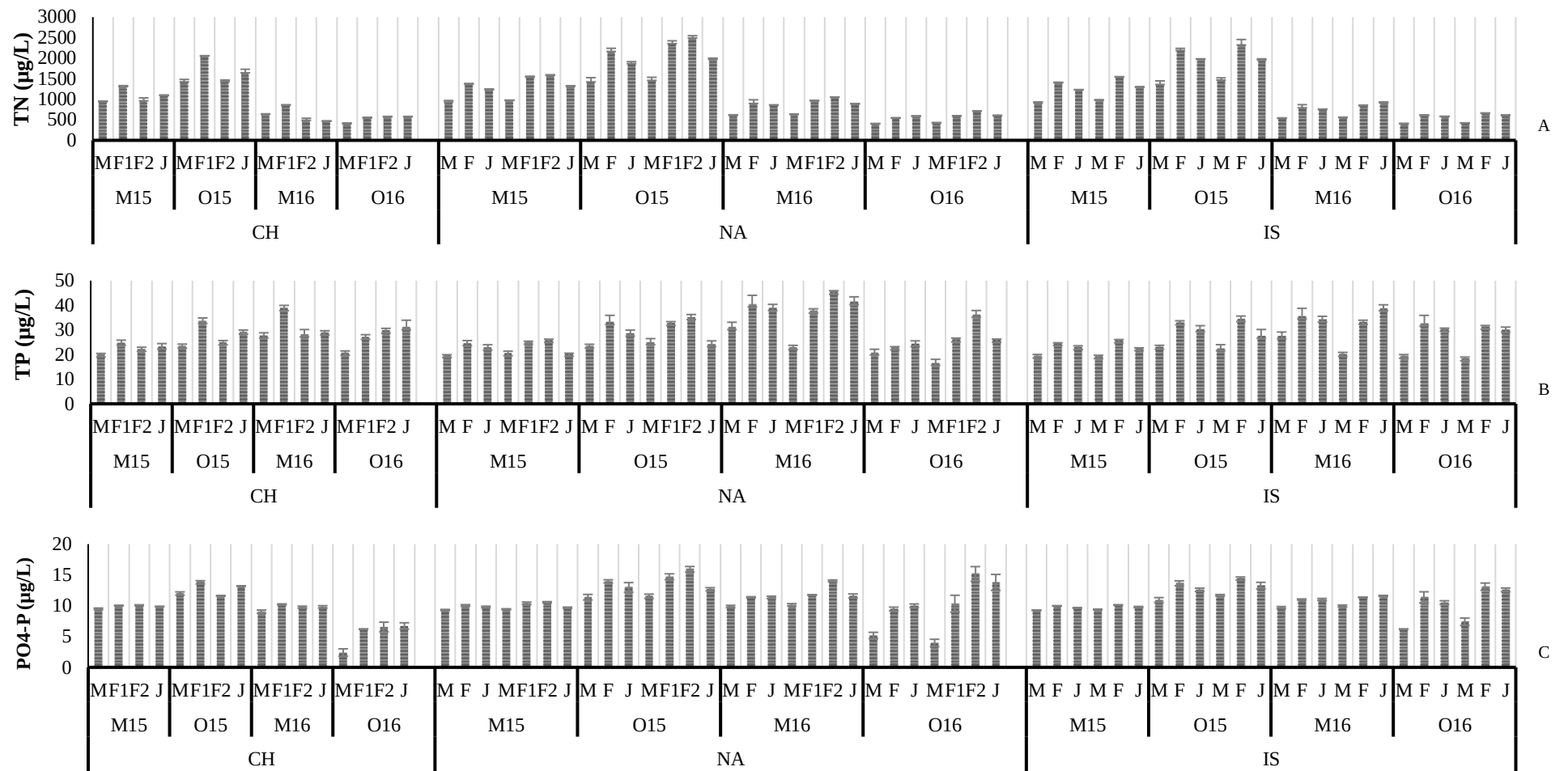


Figura 9: Gráficos dos valores médios e desvios padrão dos nutrientes, analisados durante o período de estudo (M15: março 2015, O15: outubro 2015, M16: março 2016 e O16: outubro 2016) nos três reservatórios com piscicultura em tanques-rede (CH: Chavantes, N.A: Nova Avanhandava e I.S: Ilha Solteira). [NT: nitrogênio total (A), PT: fósforo total (B) e PO₄-P: ortofosfato (C)].

A análise conjunta das variáveis limnológicas pela variação temporal (períodos amostrais) e espacial (estações amostrais) foi descrita na Análise de Componentes Principais (APC) que resumiu a variabilidade dos dados com 47% de aplicabilidade no eixo 1 e 31% no eixo 2 (Figura 10), sendo o teste de randomização significativo para ambos os eixos ($p < 0,001$).

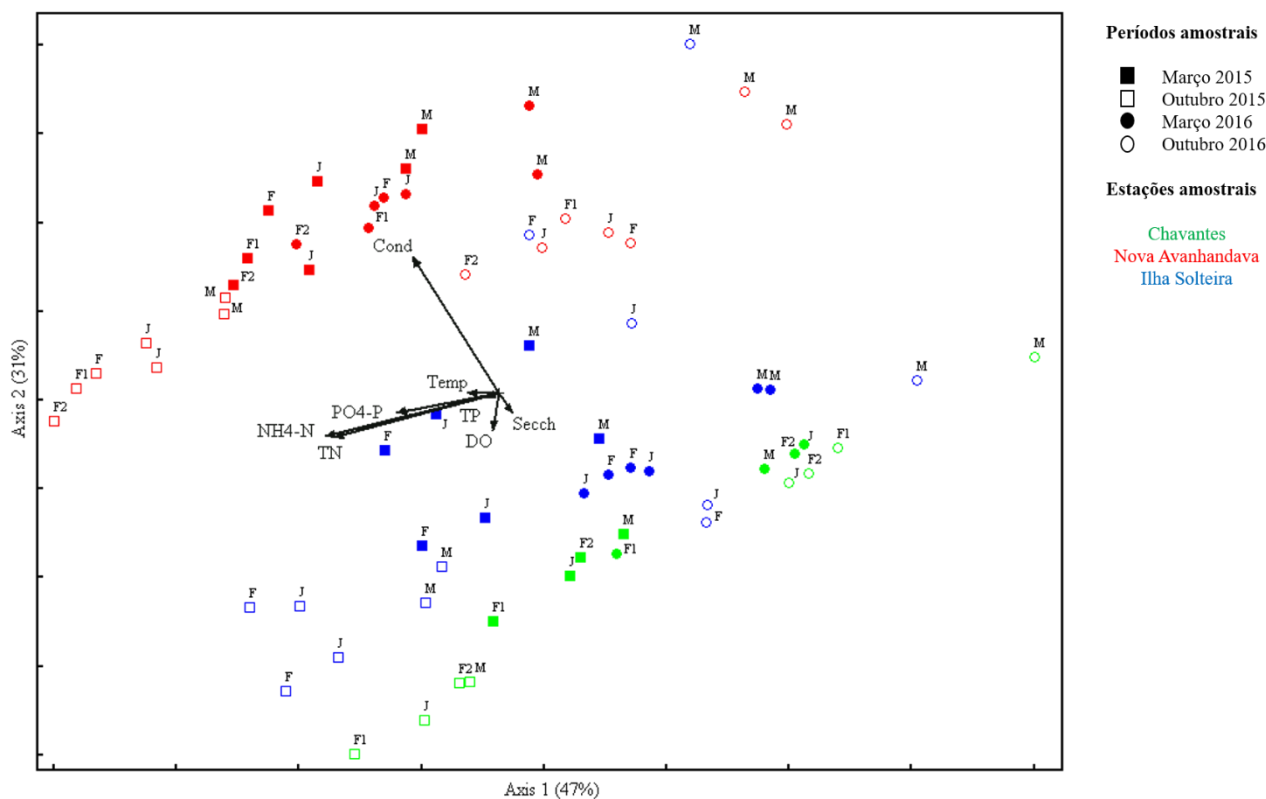


Figura 10: Ordenação pela ACP dos pontos amostrais em função das variáveis limnológicas. As variáveis limnológicas são descritas pelos vetores e os pontos amostrais são dados em código alfanumérico (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2, J: jusante) seguidos de símbolos representando os períodos amostrais (março e outubro de 2015= quadrado, março e outubro de 2016= círculo) e cores representando as estações amostrais (Chavantes= verde, Nova Avanhandava= vermelho e Ilha Solteira= azul). Variáveis ambientais: oxigênio dissolvido (OD), condutividade (Cond), temperatura (Temp), Secchi, nitrogênio total (NT), fósforo total (PT), amônia (NH₄-N) e fosfato (PO₄-P) (tabela 1).

O eixo 1 representa uma variação temporal, cujas unidades amostrais referentes à outubro de 2015 e algumas unidades amostrais referentes à março de 2015 estiveram ordenadas do lado negativo do eixo 1 e associadas aos valores de nitrogênio total, amônia, fosfato e condutividade. Enquanto que no lado positivo associados à transparência estiveram ordenadas as unidades amostrais referentes à março e outubro de 2016 e março de 2015 em Chavantes.

O eixo 2 representa espacialidade separando no lado positivo as estações amostrais de Nova Avanhandava e do lado negativo a maior parte das estações amostrais de Ilha Solteira e Chavantes. Condutividade foi a variável com maior contribuição para a ordenação deste segundo eixo ($r > 0,6$).

Na Tabela 1 estão expressos os valores da Correlação de Pearson para as variáveis limnológicas.

Tabela 1: Valores da Correlação de Pearson entre os vetores das variáveis limnológicas e nutrientes com os eixos 1 e 2 da Análise de Componentes Principais (APC) realizada para os três reservatórios.

Axis	Abreviações	Componentes Principais	
		1	2
Oxigênio dissolvido	OD	-0,170	-0,407
Condutividade	Cond	-0,618	0,780
Temperatura	Temp	-0,375	0,053
Secchi		0,260	-0,296
Nitrogênio total	NT	-0,880	-438
Fósforo total	PT	-0,256	-0,151
Amônia	NH ₄ -N	-0,859	-0,446
Fosfato	PO ₄ -P	-0,678	-0,301
% Total		47,4	30,6

Variáveis biológicas

Foram identificados 240 táxons distribuídos em 14 grupos taxonômicas (Tabela 2). Dentre os 240 táxons identificados, 164 foram em nível específico e 76 em nível genérico.

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continua...

Composição Florística	CH	NA	IS
Cyanobacteria			
<i>Anathece</i> sp.	x	x	x
<i>Aphanocapsa</i> sp.	x		
<i>Aphanocapsa annulata</i> G.B.McGregor		x	
<i>Aphanocapsa conferta</i> (West & G.S.West) Komárková-Legnerová & Cronberg			x
<i>Aphanocapsa delicatissima</i> West & G.S.West	x	x	x
<i>Aphanocapsa elachista</i> West & G.S.West		x	
<i>Aphanocapsa holsatica</i> (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek		x	x
<i>Aphanocapsa incerta</i> (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek		x	x
<i>Aphanothece chlatrata</i> West & G.S.West		x	
<i>Aphanothece</i> sp.		x	x
<i>Aphanothece nidulans</i> P.Richter			
<i>Cyanodictyon</i> sp.	x		

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Cyanobacteria			
<i>Cyanodictyon planctonicum</i> B.A.Mayer			x
<i>Chroococcus planctonicus</i> Bethge		x	x
<i>Chroococcus minimus</i> (Keissler) Lemmermann		x	x
<i>Chroococcus dispersus</i> (Keissler) Lemmermann		x	x
<i>Cyanogranis ferruginea</i> (F.Wawrik) Hindák ex Hindák		x	x
<i>Coelomoron pusillum</i> (Van Goor) Komárek		x	
<i>Coelomoron</i> sp.		x	
<i>Coelomoron tropicalis</i> P.A.C.Senna, A.C.Peres & Komárek		x	
<i>Coelosphaerium evidentermarginatum</i> M.T.de P.Azevedo & C.L.Sant'Anna		x	
<i>Coelosphaerium naegelianum</i> Unger		x	
<i>Gomphosphaeria aponina</i> Kützing		x	
<i>Gomphosphaeria</i> sp.		x	
<i>Lemmermaniella flexa</i> Hindak	x		
<i>Lemmermaniella</i> sp.		x	x
<i>Limnococcus limneticus</i> (Lemmermann) Komárková, Jezberová, O.Komárek & Zapomelová	x	x	x
<i>Merismopedia punctata</i> Meyen			x
<i>Merismopedia warmingiana</i> (Lagerheim) Forti		x	
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann		x	x
<i>Merismopedia trolleri</i> Bachmann		x	
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing	x	x	x
<i>Microcystis brasiliensis</i> (De Azevedo & C.L.Sant' Anna) Rigonato		x	x
<i>Microcystis panniformis</i> Komárek, Komárková-Legnerová, Sant'Anna, M.T.P.Azevedo, & P.A.C.Senna		x	
<i>Microcystis protocystis</i> (Crow) Elenkin		x	x
<i>Rabdoderma lineares</i> Schmidle & Lauterborn			x
<i>Rabdogloea</i> sp.			x
<i>Radiocystis fernandoi</i> Komárek & Komárková-Legnerová		x	
<i>Snowella</i> sp.		x	
<i>Sphaerospermopsis aphanizomenoides</i> (Forti) Zapomelová, Jezberová, Hrouzek, Hisem, Reháková & Komárková		x	
<i>Synechococcus nidulans</i> (Pringsheim) Komárek	x	x	x
<i>Synechococcus rhodobaktron</i> Komárek & Anagnostidis			x
<i>Synechococcus</i> sp.	x	x	x
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauvageau		x	x
<i>Geitlerinema amphibium</i> (C.Agardh ex Gomont) Anagnostidis		x	
<i>Geitlerinema unigranulatum</i> (R.N.Singh) J.Komárek & M.T.P.Azevedo	x	x	x
<i>Pseudanabaena mucicola</i> (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe	x	x	x
<i>Pseudanabaena galeata</i> Böcher	x	x	x
<i>Pseudanabaena</i> sp.	x	x	x
<i>Pseudanabaena catenata</i>		x	

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Cyanobacteria			
<i>Pseudanabaena</i> sp.2		X	
<i>Pseudolyngbya</i> sp.		X	
<i>Phormidium</i> sp.		X	
<i>Planktothrix isothrix</i> (Skuja) Komárek & Komárková		X	
<i>Eucapsis densa</i> M.T.P.Azevedo, Sant'Anna, Senna, Komárek & Komárková			X
<i>Woronichinia</i> sp.		X	X
<i>Woronichinia delicatula</i> (Skuja) Komárek & Hindák		X	
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju		X	
<i>Dolichospermum circinale</i> (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek		X	X
<i>Dolichospermum planctonicum</i> (Brunnthal) Wacklin, L.Hoffmann & Komárek		X	
<i>Raphidiopsis mediterranea</i> Skuja		X	
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i> (Usachev) P.Rajaniemi, Komárek, R.Willame, P. Hrouzek, K.Kastovská, L.Hoffmann & K.Sivonen		X	
<i>Lyngbya limnetica</i> Lemmermann		X	
<i>Leptolyngbya</i> sp.		X	
Chlorophyceae			
<i>Ankistrodesmus arcuatus</i> Korshikov		X	
<i>Ankistrodesmus densus</i> Korshikov		X	
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs			X
<i>Ankistrodesmus</i> sp		X	
<i>Ankyra</i> sp.		X	X
<i>Ankyra ancora</i> (G.M.Smith) Fott			X
<i>Ankyra judayi</i> (G.M.Smith) Fott			X
<i>Ankyra ocellata</i> (Korshikov) Fott			X
<i>Carteria sanpaulensis</i> Skvortzov ex C.E.M.Bicudo		X	
<i>Chlamydomonas planctogloea</i> Skuja			X
<i>Chlamydomonas</i> sp.1	X	X	X
<i>Chlamydomonas</i> sp.2	X		X
<i>Chlamydomonas</i> sp.3		X	X
<i>Chlorella minutissima</i> Fott & Nováková	X	X	X
<i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck]	X	X	X
<i>Chlorella</i> sp. 2		X	
<i>Choricystis</i> sp.		X	
<i>Choricystis minor</i> (Skuja) Fott		X	
<i>Carteria</i> sp. 1			X
<i>Carteria</i> sp.2			X
<i>Carteria multifilis</i> (Fresenius) O.Dill			X
<i>Characium</i> sp.			X
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli in A.Braun		X	X
<i>Coelastrum pseudomicroporum</i> Korshikov		X	

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Chlorophyceae			
<i>Coelastrum polychordum</i> (Korshikov) Hindák		X	
<i>Coelastrum reticulatum</i> (P.A.Dangeard) Senn		X	
<i>Coelastrum</i> sp.		X	
<i>Coenochloris planoconvexa</i> Hindák		X	
<i>Coenocystis</i> sp.		X	
<i>Desmodesmus communis</i> (E.Hegewald) E.Hegewald		X	
<i>Desmodesmus</i> sp.1		X	X
<i>Desmodesmus</i> sp.2		X	
<i>Eutetramorus tetrasporus</i> Komárek	X	X	X
<i>Eutetramorus globosus</i> Walton			X
<i>Eutetramorus planctonicus</i> (Korshikov) Bourrelly			X
<i>Golenkiniopsis longespina</i> (Korshikov) Korshikov		X	
<i>Golenkinia</i> sp.	X	X	
<i>Golenkinia</i> sp.2	X	X	
<i>Hariotina reticulata</i> P.A.Dangeard		X	X
<i>Kirchneriella microscopica</i> Nygaard		X	
<i>Kirchneriella contorta</i>		X	
<i>Kirchneriella irregularis</i> (G.M.Smith) Korshikov		X	
<i>Kirchneriella roselata</i> Hindák		X	
<i>Kirchneriella</i> sp.1			X
<i>Kirchneriella</i> sp.2			X
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korshikov) Hindák	X	X	X
<i>Monoraphidium circinale</i> (Nygaard) Nygaard	X	X	X
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová in Fott	X	X	X
<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berkeley) Komárková-Legnerová	X	X	X
<i>Monoraphidium irregulare</i> (G.M.Smith) Komárková-Legnerová		X	
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková-Legnerová		X	
<i>Monoraphidium tortile</i> (West & G.S.West) Komárková-Legnerová		X	X
<i>Monoraphidium</i> sp. Komárková-Legnerová		X	
<i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda			X
<i>Oedogonium</i> sp.		X	
<i>Palmococcus</i> sp.1		X	
<i>Palmococcus</i> sp.2		X	
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen		X	
<i>Pediastrum tetras</i> (Ehrenberg) Ralfs		X	
<i>Pandorina</i> sp.			X
<i>Palmococcus subcylindricus</i> (Korshikov) I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová, & L.Hoffmann			X
<i>Radiococcus fottii</i> (F.Hindák) I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová, & L.Hoffmann			X
<i>Radiococcus skujae</i> I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová, & L.Hoffmann			X
<i>Radiococcus</i> sp.			X

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Chlorophyceae			
<i>Radiococcus hindakii</i> (J.Komárek) I.Kostikov, T.Darienko, A.Lukesová, & L.Hoffmann		X	
<i>Raphidocelis contorta</i> (Schmidle) Marvan, Komárek & Comas		X	
<i>Radiococcus planctonicus</i> J.W.G.Lund	X	X	X
<i>Scenedesmus brevispina</i> (G.M.Smith) Chodat		X	
<i>Schroederia</i> sp.			X
<i>Schroederia indica</i> Philipose			X
<i>Schroederia spiralis</i> (Printz) Korshikov			X
<i>Selenastrum</i> sp.			X
<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerheim) Chodat		X	
<i>Scenedesmus communis</i> Hegewald, E.		X	
<i>Scenedesmus denticulatus</i> Lagerheim		X	
<i>Scenedesmus linearis</i> Komárek		X	
<i>Scenedesmus quadricauda</i> Chodat		X	
<i>Scenedesmus</i> sp.		X	
<i>Tetraëdron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg			X
<i>Quadrigula</i> sp.			X
Trebouxiophyceae			
<i>Actinastrum aciculare</i> Playfair		X	
<i>Actinastrum hantzschii</i> var. <i>subtile</i> Woloszynska		X	
<i>Actinastrum</i> cf. <i>hantzschii</i> Lagerheim		X	X
<i>Actinastrum</i> sp.1		X	
<i>Actinastrum</i> sp.2		X	
<i>Botryococcus braunii</i> Kützing		X	
<i>Botryococcus protuberans</i> West & G.S.West	X	X	
<i>Crucigenia quadrata</i> Morren		X	
<i>Crucigeniella</i> sp.		X	
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> H.C.Wood		X	
<i>Dictyosphaerium sphagnale</i> Hindák		X	
<i>Dictyosphaerium elegans</i> Bachmann			X
<i>Dictyosphaerium</i> sp.			X
<i>Franceia minúscula</i> Hindák			X
<i>Micractinium</i> sp.		X	
<i>Oocystis lacustris</i> Chodat		X	X
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West		X	
<i>Oocystis</i> sp.1			X
<i>Oocystis</i> sp.2			X
<i>Tetrachlorella alternans</i> (G.M.Smith) Korshikov		X	
Cryptophyceae			
<i>Chroomonas acuta</i> Utermöhl			X
<i>Cryptochrysis pochmanni</i> Huber- Pestalozzi		X	

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Cryptophyceae			
<i>Cryptomonas acuta</i> Butcher	x	x	x
<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A.Castro, C.Bicudo & D.Bicudo	x	x	x
<i>Cryptomonas curvata</i> Ehrenberg	x	x	x
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg			x
<i>Cryptomonas marssonii</i> Skuja	x	x	x
<i>Cryptomonas oblonga</i> Playfair			x
<i>Cryptomonas obovata</i> Czosnowski	x		x
<i>Cryptomonas pyrenoidiphora</i> Geitler	x	x	x
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i> Skuja	x	x	x
<i>Cryptomonas tenuis</i> Pascher	x	x	
<i>Hemiselmis simplex</i> Butcher		x	x
<i>Rhodomonas lacustris</i> Pascher & Ruttner in Pascher	x	x	x
Euglenophyceae			
<i>Phacus</i> sp.			x
<i>Trachelomonas hispida</i> (Perty) F.Stein		x	
<i>Trachelomonas intermedia</i> Dangeard		x	
<i>Trachelomonas kellogii</i> Skvortsov		x	
<i>Trachelomonas oblonga</i> Lemmermann			x
<i>Trachelomonas verrucosa</i> Stokes		x	
<i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg) Ehrenberg		x	
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Svirenko		x	
<i>Trachelomonas</i> sp.1		x	x
<i>Trachelomonas</i> sp.2		x	
<i>Trachelomonas</i> sp.3		x	
Dinophyceae			
<i>Ceratium furca</i> (Ehrenberg) Claparède & Lachmann		x	
<i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans		x	
<i>Ceratium</i> sp.		x	
<i>Gimnodinium</i> sp.		x	
<i>Peridinium gatunense</i> Nygaard		x	
<i>Peridinium</i> sp.	x	x	x
Bacillariophyceae			
<i>Achnantidium</i> sp.		x	
<i>Aulacoseira ambigua</i> (Grunow) Simonsen		x	x
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen		x	
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	x	x	x
<i>Cymbella</i> sp.			x
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	x		x
<i>Discostella stelligera</i> (Cleve & Grunow) Houk & Klee	x	x	x
<i>Fragilaria nanana</i> Lange-Bertalot		x	

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Bacillariophyceae			
<i>Fragilaria ulna</i> (Nitzsch) Lange-Bertalot		X	
<i>Fragilaria</i> sp.1	X	X	X
<i>Fragilaria</i> sp.2	X	X	
<i>Fragilaria</i> sp.3		X	
<i>Gomphonema</i> sp.		X	
<i>Navicula</i> sp.		X	
<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W.Smith		X	
<i>Nitzschia</i> sp.		X	
<i>Pinullaria</i> sp.		X	
<i>Rhizosolenia longiseta</i> O.Zacharias		X	X
<i>Surirella</i> sp.		X	
<i>Stauroneis</i> sp.		X	
<i>Synedra rumpens</i> Kützing		X	
<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère		X	
<i>Urosolenia</i> sp.		X	X
Zygnemophyceae			
<i>Closteriopsis acicularis</i> (Chodat) J.H.Belcher & Swale	X		X
<i>Closterium</i> sp.	X	X	X
<i>Micrasterias truncata</i> Brébisson ex Ralfs		X	
<i>Staurastrum leptocladum</i> Nordstedt		X	X
<i>Staurastrum paradoxum</i> Meyen ex Ralfs			X
<i>Staurastrum tetracerum</i> Ralfs ex Ralfs		X	
<i>Staurastrum</i> sp.		X	
Chrysophyceae			
<i>Dinobryon bavaricum</i> Imhof	X		X
<i>Dinobryon sertularia</i> Ehrenberg		X	
<i>Dinobryon</i> sp.		X	
Synurophyceae			
<i>Mallomonas caudata</i> Iwanoff [Ivanov]		X	X
<i>Mallomonas punctifera</i> Korshikov		X	
<i>Mallomonas</i> sp.1	X		X
<i>Mallomonas</i> sp.2	X		X
Isochrysidaceae			
<i>Chrysidalis peritaphrena</i> J. Schiller		X	X
Klebsormidiophyceae			
<i>Elakatothrix linearis</i> Pascher		X	
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille		X	
Choanoflagellata			
<i>Monosiga varians</i> Skuja		X	
<i>Salpingoeca brevicollis</i> D.de C.E.M.Bicudo & C.E.M.Bicudo		X	

Tabela 2: Lista dos táxons registrados durante o período de estudo e suas respectivas classes taxonômicas nos reservatórios Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) e Ilha Solteira (IS). Continuação...

Composição Florística	CH	NA	IS
Choanoflagellata			
<i>Salpingoeca gracilis</i> H.J.Clark		x	
<i>Salpingoeca</i> sp.			x
Xanthophyceae			
<i>Centritractus</i> sp.		x	

Os grupos mais representativos em relação à riqueza foram Chlorophyceae (33% do total de táxons identificados), seguido por Cyanobacteria e Bacillariophyta que contribuíram, respectivamente, com 27% e 10% (Tabela 3).

Considerando a densidade total fitoplancônica, o maior valor registrado foi 8.507 org mL⁻¹ no reservatório de Nova Avanhandava (P4/F2) (Figura 11B) durante a amostragem de outubro de 2016.

Tanto em Chavantes como em Ilha Solteira (Figura 11A e 11C), Cryptophyceae apresentou maior contribuição em densidade representada principalmente por *Rhodomonas lacustres* enquanto que, em Nova Avanhandava (Figura 11B), Cyanobacteria foi o grupo que mais contribuiu para a densidade total representado principalmente pelas espécies *Limnococcus limneticus*, *Pseudanabaena mucicola*, *Synechococcus nidulans* e *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Tabela 3: Grupos do fitoplâncton registradas nos reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira ao longo dos dois anos consecutivos de estudo (2015 e 2016), com seus respectivos números de táxons, porcentagem de contribuição.

Grupos	Nº	%
Chlorophyceae	80	33
Cyanobacteria	64	27
Bacillariophyta	23	10
Trebouxioephyceae	20	8
Cryptophyceae	14	6
Euglenophyceae	11	5
Zygnemaphyceae	7	3
Dinophyceae	6	2
Choanoflagellata	4	2
Synurophyceae	4	2
Chrysophyceae	3	1
Klebsormidiophyceae	2	1
Isochrysidaceae	1	0
Xanthophyceae	1	0
Total	240	100

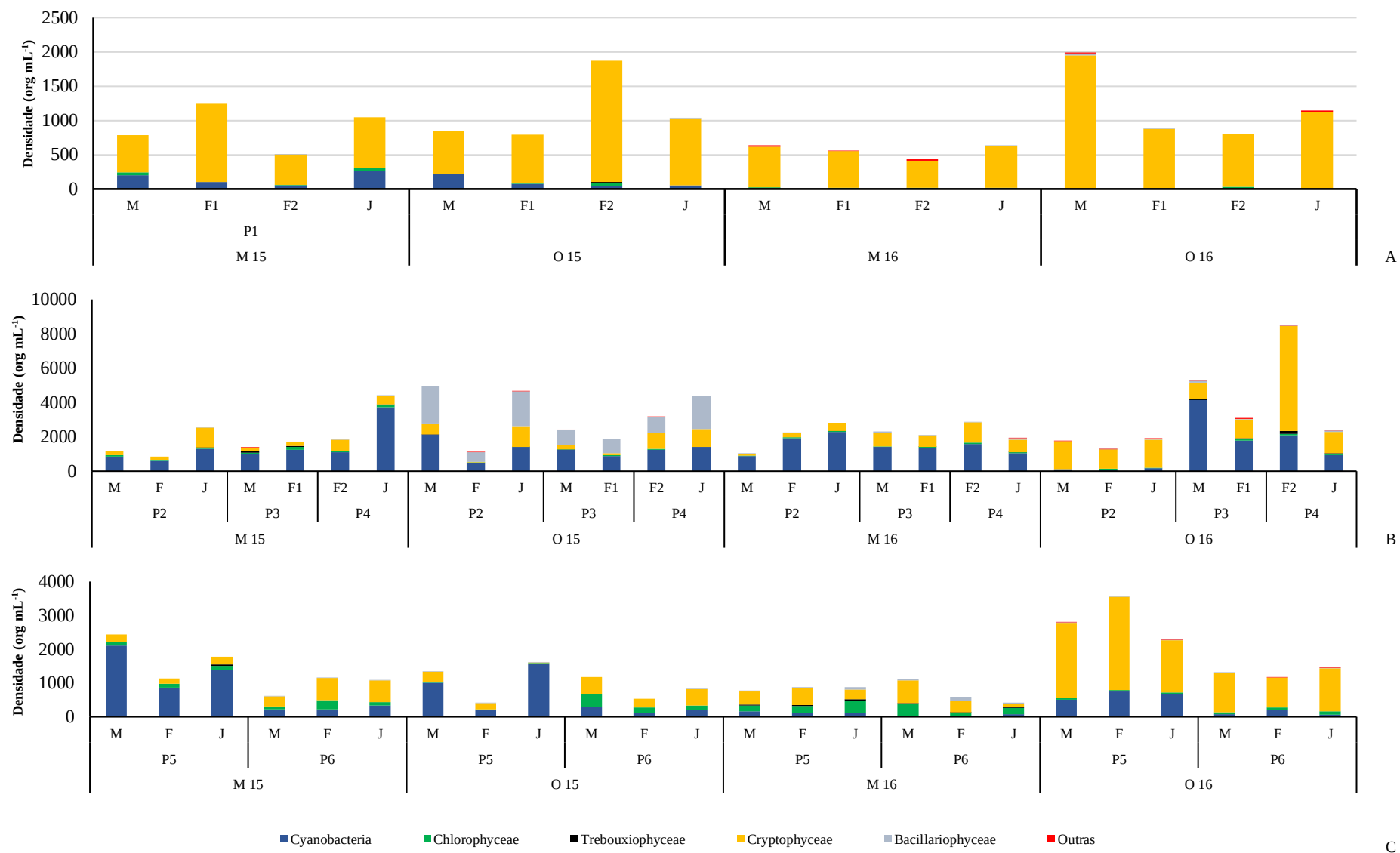


Figura 11: Contribuição das classes fitoplantônicas para a densidade (org mL⁻¹) dos reservatórios estudados Chavantes (A), Nova Avanhandava e Ilha Solteira) nos meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.

Com relação ao biovolume fitoplanctônico, Cyanobacteria foi o grupo que apresentou a maior contribuição para os três reservatórios (Figura 12).

Em Chavantes, *Microcystis aeruginosa*, *Radiococcus planktonicus*, *Botryococcus protuberans*, *Cryptomonas brasiliensis*, *Cryptomonas curvata* e *Rhodomonas lacustres* foram os táxons que contribuíram com o maior valor de biovolume ($7,86 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$) registrado na E1/F2 em outubro de 2015. Em Nova Avanhandava, o maior valor registrado foi $7,85 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$ na E3/M em outubro de 2016 com a contribuição de *M. aeruginosa*, *M. brasiliensis*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*, *Dolichospermum planctonicum*, *Chlamydomonas* sp.1, *B. protuberans*, *Trachelomonas intermedia*, *C. brasiliensis*, *Hemiselmis simplex*, *R. lacustres*, *Cyclotella meneghiniana*, *Discostella stelligera*, *Fragillaria* sp.2, *Navicula* sp. e *Urusolenia* sp. Já em Ilha Solteira os táxons que contribuíram com o maior biovolume ($5,79 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$) registrado S5/F em outubro de 2016 foram *D. circinalis*, *Chroomonas acuta*, *C. brasiliensis*, *C. curvata*, *H. simplex*, *R. lacustres*, *Urusolenia* sp. e *Staurastrum leptocladum*.

Os índices biológicos de Diversidade (H'), e Riqueza estão apresentados na Figura 13. A riqueza específica foi maior nos reservatórios Nova Avanhandava e Ilha Solteira. Em Chavantes foi registrada baixa diversidade ($1 - 2 \text{ bits.ind}^{-1}$). A diversidade em Nova Avanhandava variou entre 0,3 e $3,6 \text{ bits.ind}^{-1}$, e em Ilha Solteira foi estimada a maior diversidade dentre os três reservatórios, com valor máximo de $3,8 \text{ bits.ind}^{-1}$.

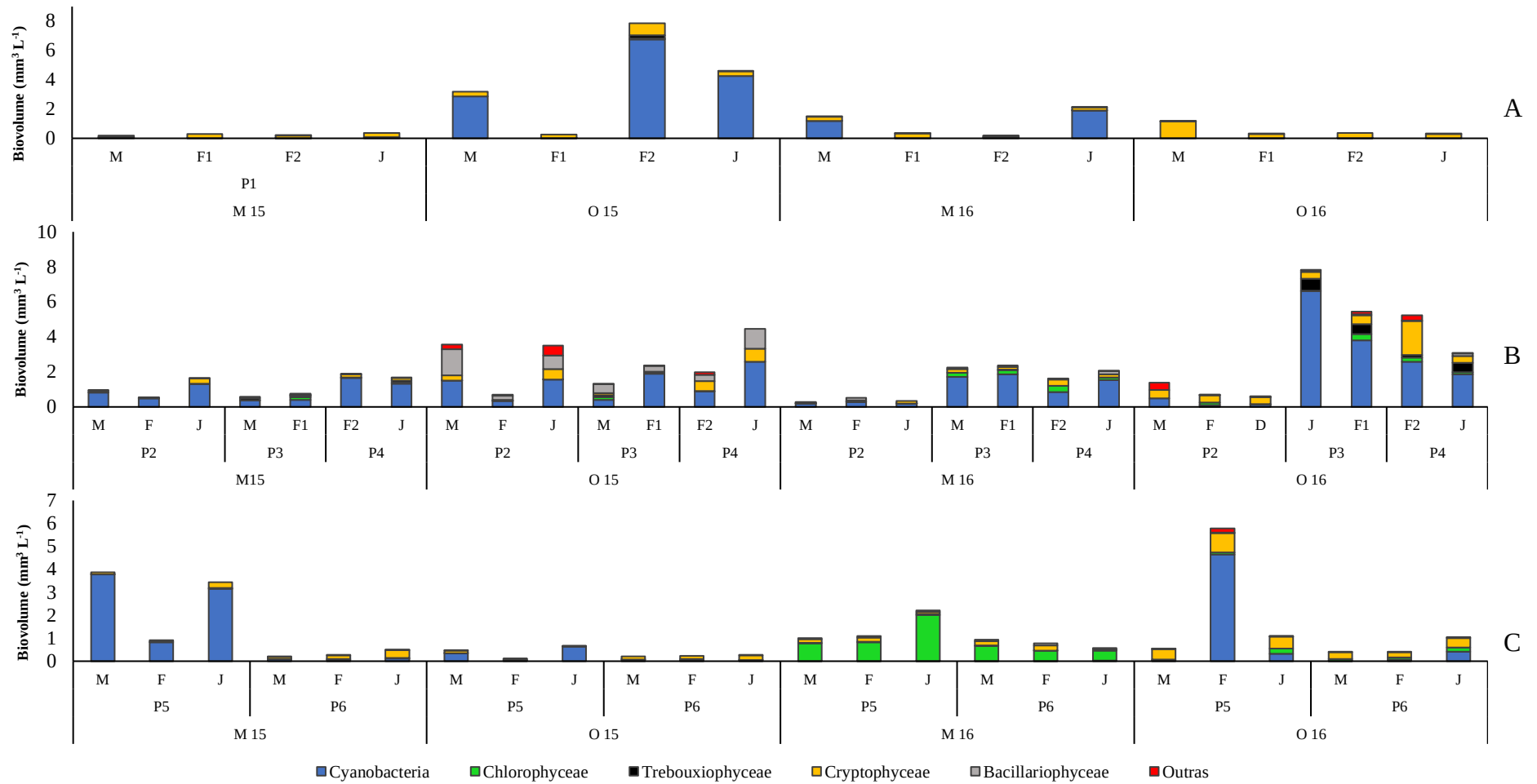


Figura 12: Contribuição em biovolume ($\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$) dos grupos fitoplanctônicos nos reservatórios estudados (A: Chavantes, B: Nova Avanhandava e C: Ilha Solteira) nos meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.

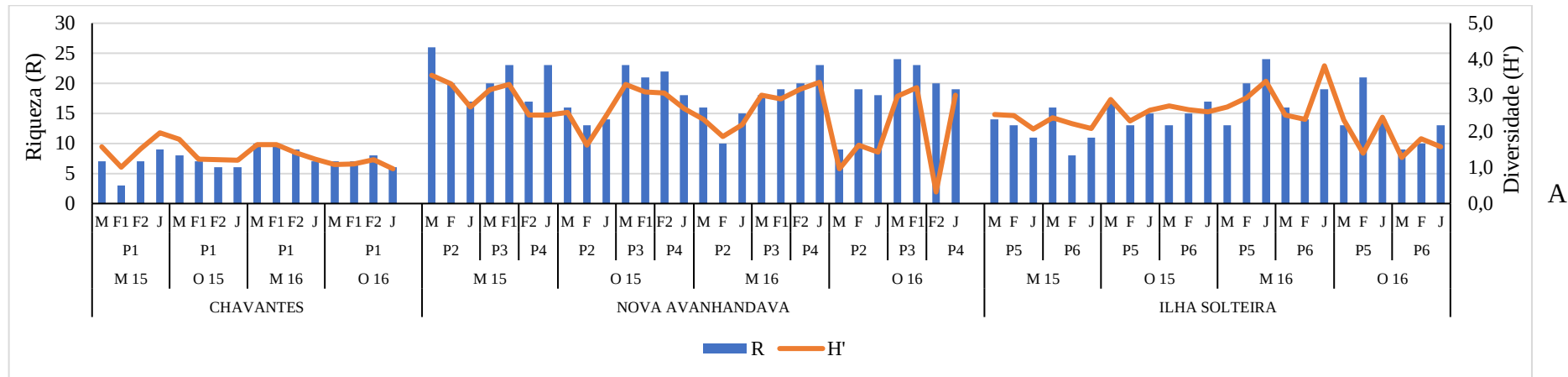


Figura 13: Valores de Riqueza (n) e Diversidade (H') entre as estações de amostragens (M: montante, F: fazenda e J: jusante) nos três reservatórios estudados (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) durante os meses de março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016.

Em Chavantes, 19 táxons foram abundantes e *Microcystis aeruginosa* foi dominante. Em Nova Avanhandava 41 táxons foram abundantes e em Ilha Solteira foram 19. Nenhuma espécie foi dominante nestes reservatórios.

As espécies *Cryptomonas brasiliensis* e *Rhodomonas lacustres* foram abundantes em mais de 90% das amostras de cada reservatório.

As espécies descritoras (tabela 4) da comunidade fitoplanctônica selecionadas com base no biovolume somaram: 97 % (5 táxons) em Chavantes, 87 % (22 táxons) em Nova Avanhandava e 89 % (11 táxons) em Ilha Solteira.

Tabela 4: Espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica, a partir do biovolume ($\text{mm}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$), para cada reservatório estudado (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) com suas respectivas porcentagens de contribuição (%). Continua...

Chavantes	
Espécies Descritoras	%
<i>Microcystis aeruginosa</i>	73
<i>Botryococcus protuberans</i>	1
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	6
<i>Cryptomonas curvata</i>	7
<i>Rhodomonas lacustris</i>	10
Total	97
Nova Avanhandava	
Espécies Descritoras	%
<i>Limnococcus limneticus</i>	3
<i>Coelosphaerium evidenter marginatum</i>	4
<i>Microcystis aeruginosa</i>	5
<i>Microcystis brasiliensis</i>	10
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	10
<i>Sphaerospermopsis afanizomenoides</i>	17
<i>Dolichospermum planctonicum</i>	2
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	3
<i>Geitlerinema amphibium</i>	2
<i>Hariotina reticulata</i>	2
<i>Botryococcus braunii</i>	1
<i>Botryococcus protuberans</i>	2
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	4
<i>Cryptomonas curvata</i>	3
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	1
<i>Rhodomonas lacustris</i>	7
<i>Ceratium furcoides</i>	1
<i>Aulacoseira granulata</i>	1

Tabela 4: Espécies descritoras da comunidade fitoplanctônica, a partir do biovolume ($\text{mm}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$), para cada reservatório estudado (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) com suas respectivas porcentagens de contribuição (%). Continuação.

Nova Avanhandava	
Espécies Descritoras	%
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	1
<i>Fragillaria nanana</i>	6
<i>Ulnaria ulna</i>	1
<i>Staurastrum leptocladum</i>	1
Total	87
Ilha Solteira	
Espécies Descritoras	%
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	2
<i>Limnococcus limneticus</i>	7
<i>Microcystis aeruginosa</i>	4
<i>Microcystis protocystis</i>	1
<i>Microcystis brasiliensis</i>	5
<i>Dolichospermum circinale</i>	35
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	2
<i>Hariotina reticulata</i>	18
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	6
<i>Rhodomonas lacustris</i>	9
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	1
Total	89

Estas espécies descritoras foram classificadas com base nos Grupos Funcionais Baseados em Morfologia - GFBM (Morphological-based Functional Groups - MBFG) de acordo com Kruk *et al.* 2010 (Tabela 5).

De modo geral, as espécies descritoras foram distribuídas em cinco (III, IV, V, VI e VII) dos sete grupos funcionais baseados em morfologia, não havendo desta forma representante para o grupo I e II.

Tabela 5: Distribuição das somas dos biovolumes ($\text{mm}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$) das espécies correspondentes aos Grupo Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) (III, IV, V, VI e VII) para cada reservatório (CH: Chavantes, NA: Nova Avanhandava e IS: Ilha Solteira) no período de estudo (M15: março de 2015, O15: outubro de 2015, M16: março de 2016 e O16: outubro de 2016).

Descrição	G.F.B.M.	CH				NA				IS			
		M15	O15	M16	O16	M15	O15	M16	O16	M15	O15	M16	O16
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	III					0,43	2,54	0,94	1,78				
<i>Sphaerospermopsis aphanizomenoides</i>						0,86		2,16	7,15				
<i>Dolichospermum circinale</i>										5,37			4,07
<i>Dolichospermum planctonicum</i>						0,03	0,11		1,10				
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>							0,11	0,69	0,99				
<i>Geitlerinema amphibium</i>	IV					0,05	1,01						
<i>Hariotina reticulata</i>							0,14	0,90	0,07			4,82	
<i>Staurastrum leptocladum</i>							0,62						
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>		0,25	0,39	0,34	0,47	0,36	0,36	0,36	1,45	0,21	0,09	0,40	0,94
<i>Cryptomonas curvata</i>	V	0,15	0,55	0,19	0,74		0,92		0,54				
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>							0,48	0,06	0,14				
<i>Rhodomonas lacustris</i>		0,51	0,71	0,31	0,80	0,55	0,68	0,75	2,38	0,39	0,34	0,33	1,48
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	VI									0,01	0,03	0,01	0,36
<i>Ceratium furcoides</i>									0,83				
<i>Aulacoseira granulata</i>							0,38	0,18	0,09				
<i>Cyclotella meneghiniana</i>						0,02	0,04	0,34	0,20	0,02	0,05	0,23	0,02
<i>Fragillaria nanana</i>							3,60						
<i>Ulnaria ulna</i>	VII						0,81						
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>										0,38		0,01	0,02
<i>Limnococcus limneticus</i>						1,69	0,10	0,20	0,02	1,20	0,30	0,01	0,29
<i>Coelosphaerium evidentermarginatum</i>						0,10	1,79	0,26					
<i>Microcystis aeruginosa</i>		0,05	13,9	3,11		1,11	0,06		1,49		0,46		0,49
<i>Microcystis protocystis</i>										0,15	0,03		0,20
<i>Microcystis brasiliensis</i>						1,28	2,24	1,52	1,17	0,88	0,10		0,39
<i>Botryococcus braunii</i>						0,08	0,11		0,48				
<i>Botryococcus protuberans</i>			0,22						1,22				

As cinco espécies descritoras de Chavantes foram classificadas apenas em dois grupos: V e VII. Enquanto que Nova Avanhandava e Ilha Solteira tiveram espécies descritoras classificadas em cinco grupos: III, IV, V, VI e VII.

A CCA (figura 14) foi realizada com sete variáveis abióticas e cinco grupos funcionais baseados na morfologia. Os autovalores (tabela 6) para o eixo 1 (0.15) e eixo 2 (0.13) explicaram 21,5 % de variabilidade total dos dados. A correlação espécie-ambiente para o eixo 1 (0.67) e para o eixo 2 (0.71), indicaram relação significativa entre as variáveis ambientais e os cinco grupos GFBM. O teste de randomização de Monte Carlo mostrou que os dois primeiros eixos foram significativos ($p = 0.003$).

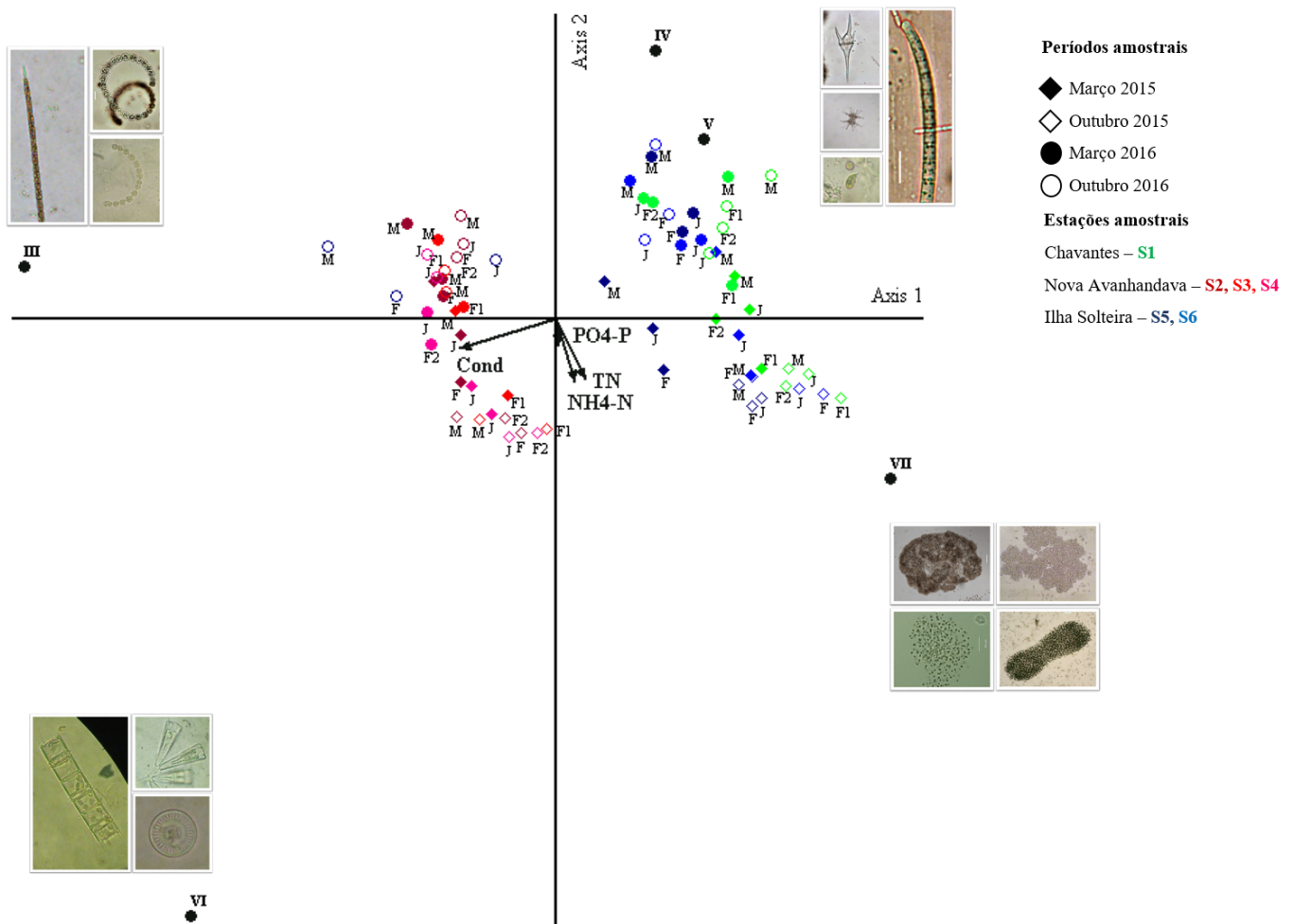


Figura 14: Análise de Correspondência Canônica (ACC) da relação entre os Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) e a variáveis ambientais nos pontos amostrais dos reservatórios avaliados. As variáveis limnológicas são descritas pelos vetores, os GFBM pelos círculos pretos e os pontos amostrais são dados em código alfanumérico (M: montante, F: fazenda, F1: fazenda 1, F2: fazenda 2, J: jusante) seguidos de símbolos representando os períodos amostrais (março e outubro de 2015= losango, março e outubro de 2016: círculo) e cores representando as estações amostrais (Chavantes: verde, Nova Avanhandava: vermelho e Ilha Solteira: azul). Variáveis ambientais: condutividade (Cond), nitrogênio total (NT), amônia (NH₄-N) e fosfato (PO₄-P).

Tabela 6: Síntese dos resultados para os três primeiros eixos da Análise de Correspondência Canônica (ACC) realizada a partir de quatro variáveis ambientais e cinco Grupos Funcionais Baseados na Morfologia (GFBM) considerando os reservatórios Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira. Abreviações: SP: espécie, A: ambiente.

Eixos ACC	1	2	3
Autovalores	0,145	0,125	0,043
Correlação de Pearson SP-A	0,674	0,709	0,326
% variabilidade	11,5	9,9	3,4

Discussão

Os reservatórios apresentaram a mesma classificação trófica, porém diferiram fortemente, tanto na composição taxonômica, na qual Nova Avanhandava registrou maior riqueza de táxons, quanto nos Grupos Funcionais Baseados na Morforlogia (GFBM). Observação semelhante foi feita por Naselli-Flores (2000) que registrou diferença significativa na comunidade fitoplanctônica de lagos mesotróficos da Itália.

Fisicamente, os reservatórios estudados são bem divergentes, estão localizados em diferentes bacias hidrográficas e com distintos tempos de residência e profundidade. Estas diferenças aliadas à atividade de cultivo podem gerar impactos de diferentes intensidades (Guo & Li 2003, Beveridge 2004, Devi *et al.* 2017) para cada reservatório. Além disso, houve em 2014 um importante evento climático caracterizado por um longo período de estiagem no Estados de São Paulo (CETESB 2015) que resultou na diminuição considerável dos níveis de água dos três reservatórios em 2015 (CETESB 2016) e que possivelmente pode ter influenciado na concentração de nutrientes e consequentemente na composição e estrutura da comunidade fitoplanctônica dos três reservatórios durante as amostragens de 2015.

Apesar disso, a análise de componentes principais evidenciou distinções dentre os pontos amostrados (montante, fazenda e jusante) com as áreas de fazenda e jusante ligadas às maiores concentrações de nutrientes sugerindo a influência dos tanques-rede no aporte de nutrientes para o ambiente. Estudos semelhantes que corroboram os resultados obtido quanto às mudanças nas concentrações de variáveis físicas e químicas próximo aos tanques-rede, vem sendo realizados em diferentes países (Guo & Li 2003, Bristow *et al.* 2008, Guo *et al.* 2009, Degefu *et al.* 2011, Syandri *et al.* 2020) assim como no Brasil, tanto nos reservatórios alvo deste estudo (Alves & Baccarin 2005, Ayroza *et al.* 2013, Mallasen *et al.* 2012, Rosini *et al.* 2019) como em outros reservatórios com cultivo de peixes em tanques-rede (Bueno *et al.* 2008, Borges *et al.* 2010, Crispim *et al.* 2013).

No presente estudo as diferentes condições físicas e químicas dos reservatórios refletiram na distribuição espacial e temporal dos organismos fitoplanctônicos e seus biovolumes, representados pelos cinco GFBM (III, IV, V, VI e VII) identificados durante o período.

As espécies do grupo III, tais como *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* e *Dolichospermum planctonicum*, possuem baixa taxa de herbivoria e afundamento que aliado à sua alta S/V e formação de células especializada de resistência e fixação de nitrogênio, as tornam excelentes competidoras apresentando rápida resposta ao estresse em ambientes com baixa disponibilidade de luz e nutrientes. Alguns trabalhos recentes têm reportado o sucesso adaptativo e a dominância deste grupo em ambientes com diferentes graus de trofia (Câmara *et al.* 2015, Bortolini *et al.* 2016, Amorim *et al.* 2019, Zabala Agudelo *et al.* 2019). Os maiores biovolumes de espécies deste grupo em Nova Avanhandava e Ilha Solteira, podem ser explicadas pela menor concentração de nitrogênio amoniacal neste período e corroboradas por Blomqvist *et al.* (1994) que destacam a importância das baixas concentrações deste nutriente para a dominância de cianobactérias filamentosas em detrimento à outras espécies não fixadoras de nitrogênio.

O aumento das precipitações e consequentemente do nível de água em 2016 (CETESB 2015 e 2016) estabeleceu novas condições ambientais nos reservatórios e nesse período os grupos IV e especialmente V, que foi abundante, foram favorecidos. Isto ocorreu por conta do aumento da transparência, assim como da diluição promovida nas concentrações de nutrientes por conta do aumento do nível da água, uma vez que estas condições favorecem o desenvolvimento de espécies destes grupos (Reynolds *et al.* 2002, Kruk *et al.* 2010, Kruk & Segura 2012, Izaguirre *et al.* 2012). As espécies ligadas ao grupo IV não apresentam especializações tais como as do grupo V que dispõem de flagelos, porém ambos (GFBM IV e V) são beneficiados por suas baixas taxas de afundamento como evidenciado por Muñoz-López *et al.* (2017) que apresentaram constante presença do GFBM IV durante seus estudos no Lago Tota na Colômbia. Neste estudo, o GFBM V foi abundante com destaque para as Cryptophyceae *Cryptomonas brasiliensis*, *C. curvata* e *Rhodomonas lacustres*, espécies oportunistas que se favorecem do aumento da transparência e diminuição no teor de nutrientes. Além delas, o GFBM V foi representado pelo dinoflagelado *Ceratium furcoides*, espécie considerada invasora e que teve primeiro registro no reservatório Nova Avanhandava.

O grupo VI composto exclusivamente por diatomáceas foram pouco representativos e registrados apenas em Nova Avanhandava e Ilha Solteira. Por conta da sua alta taxa de afundamento em razão das suas estruturas silicosas e ausência de estruturas de locomoção (Kruk *et al.* 2010) estes organismos necessitam de circulação da água para manterem-se na coluna d'água. Este fato explica a sua ausência do grupo em Chavantes, reservatório profundo e sem circulação completa da coluna d'água impedindo assim a ressuspensão de espécies presentes no sedimento. Geralmente são registrados em lagos turvos e rasos (Izaguirre *et al.* 2012, Bortolini *et al.* 2016, Zabala Agudelo *et al.*

2019) e associados a altas concentrações de nitrato (Mihaljević *et al.*, 2015) características semelhantes a registrada nos reservatórios no período amostrado.

A abundância de espécies do grupo VII nos reservatórios tropicais está geralmente ligada ao enriquecimento do ambiente (Reynolds *et al.* 2002, Kruk *et al.* 2010, Paerl & Otten 2013). Este grupo é formado por espécies de grandes dimensões, baixa S/V, presença de mucilagem, lipídios e aerótopos, características que auxiliam na flutuação e reduzem as perdas por pastejo. No presente estudo, o grupo foi representado por *Aphanocapsa delicatissima*, *Limnococcus limneticus*, *Coelosphaerium evidertermarginatum*, *Microcystis aeruginosa*, *M. protocystis*, *M. brasiliensis*, *Botryococcus braunii* e *B. protuberans*. Este grupo apresenta bom desenvolvimento em ambientes enriquecidos (Paerl & Otten 2013, Bortolini *et al.* 2016, Muñoz-López *et al.* 2016, Oliveira 2019), mas devido as suas características, previamente descritas, apresentam eficiência pela busca de recursos em outras condições ambientais (Kruk & Segura 2012, Zabala Agudelo *et al.* 2019).

Pela ACC foi evidenciada a forte relação entre o grupo VII e as concentrações de amônia, nitrogênio total e fosfato registrados especialmente em áreas de fazenda de Chavantes e Ilha Solteira em 2015. Oliveira (2019) registrou resultado semelhante, apesar da diferente abordagem funcional, no reservatório Barra Bonita onde a espécie *M. aeruginosa* foi dominante assim como no reservatório Chavantes durante o presente estudo. O grupo VII também esteve presente, em baixos biovolumes, em pontos amostrais com baixas concentrações de nutrientes corroborando a sua ocorrência em diferentes ambientes.

Os GFBM estão intimamente ligados às variações do ambiente como disponibilidade de luz, nutrientes e estratificação, que refletem suas tolerâncias e vulnerabilidades garantindo que apenas alguns grupos se estabeleçam em determinadas condições ambientais (Kruk & Segura 2012). Com isso, concluímos que a utilização dos GFBM mostrou-se uma ferramenta útil para monitorar as variações nas condições físicas e de nutrientes de Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira que foram direta e indiretamente influenciados pelas variações no volume de água e refletidos nas associações estabelecidas por cada GFBM.

Referências Bibliográficas

Alves R.C.P. & Baccarin A.E. 2005. Efeito da produção de peixes em tanques-rede sobre sedimentação de material em suspensão e de nutrientes no córrego da Arribada (UHE Nova Avanhandava, baixo rio Tiête, SP). Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata. São Carlos: Rima, 329-347.

- Alves F.R.R., Gama Junior W.A. & Nogueira I.S.** 2014. Planktonic Radilococcaceae Fott ex Komárek of the Tigres Lake system, Britânia, Goiás State, Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 37: 519-530.
- Amorim C.A., Valença C.R., de Moura-Falcão R.H., & do Nascimento Moura A.** 2019. Seasonal variations of morpho-functional phytoplankton groups influence the top-down control of a cladoceran in a tropical hypereutrophic lake. *Aquatic Ecology*, 53:3, 453-464.
- An S.S., Friedel T. & Hegewald E.** 1999. Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 rDNA sequence comparisons. *Plantbiology* 1: 418-428.
- APHA, AWWA and WPCF.** 2005. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 21st ed. Washington, D.C: APHA - American Public Health Association, AWWA - American Water Works Association, and WPCF - Water Pollution Control Federation, 1085p.
- Aquino C.A.N., Bortolini J.C., Favaretto C.C.R., Sebastien N.Y. & Bueno N.C.** 2018. Functional phytoplankton distribution predicts the environmental variability between two subtropical rivers. *Brazilian Journal of Botany*, 41(4), 835-847.
- Ayroza D.M.M.R., Nogueira M.G., da Silva Ayroza L.M., Carvalho E.D., Ferraudo A.S., & Camargo A.F.M.** 2013. Temporal and spatial variability of limnological characteristics in areas under the influence of tilapia cages in the Chavantes Reservoir, Paranapanema River, Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(6), 814-825.
- Beveridge M.C.M.** 2004. Cage Aquaculture, Third ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Bicudo C.E.M. & Menezes M.** 2006. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições. 2 ed. Rima, São Carlos.
- Blomqvist P., Pettersson A., & Hyenstrand P.** 1994. Ammonium-nitrogen-A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen-fixing cyanobacteria in aquatic systems. *Archiv fur Hydrobiologie*, 132(2), 141-164.
- Borges P.A., Train S., Dias J.D., & Bonecker C.C.** 2010. Effects of fish farming on plankton structure in a Brazilian tropical reservoir. *Hydrobiologia*, 649(1), 279-291.
- Bortolini J.C., Moresco G.A., de Paula A.C.M., Jati S., & Rodrigues L.C.** 2016. Functional approach based on morphology as a model of phytoplankton variability in a subtropical floodplain lake: a long-term study. *Hydrobiologia* 767:1, 151-163.
- Bristow R.G., & Hill R.P.** 2008. Hypoxia and metabolism: Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nature Reviews Cancer*, 8(3).
- Buchheim M., Buchheim J., Carlston T., Braband A., Hepperle D., Krienitz L. Hegewald E. & Wolf M.** 2005. Phylogeny of the Hydrodictyaceae (Chlorophyceae): Inferences From rDNA Data. *Journal Phycology* 41: 1039-1054.

- Bueno G.W., Marengoni N.G., Júnior A.C.G., Boscolo W.R., & de Almeida Teixeira R.** 2008. Estado trófico e bioacumulação do fósforo total no cultivo de peixes em tanques-rede na área aquícola do reservatório de Itaipu. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 30(3), 237-243.
- Câmara F.R.A., Rocha O., Pessoa E.K.R., Chellappa S., & Chellappa N.T.** 2015. Morphofunctional changes of phytoplankton community during pluvial anomaly in a tropical reservoir. *Brazilian Journal of Biology*, 75:3, 628-637.
- Casé M., Leca E.E., Leitao E.E., Sant'Anna S.N., Schwamborn R. & Junior, A.T.D** 2008. Plankton community as an indicator of water quality in tropical shrimp culture ponds. *Marine Pollution Bulletin*. v. 56, p. 1343–1352.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.** 2015. Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2014. São Paulo. 540 p. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/aguasinteriores/wpcontent/uploads/sites/12/2013/11/Cetesb_QualidadeAguasSuperficiais2014_ParteI_vers%C3%A3o2015_Web.pdf
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.** 2016. Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2015. São Paulo. 562 p. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>
- Comas A.G.** 1996. Las Chlorococcales dulciacuicolas de Cuba. In: L.K. Hamburg & S. Giessen (Eds.). *Bibliotheca Phycologica*. Stuttgart, Gustav Fisher Verlag.
- Crispim M.C., Araújo K.P.P., & Júnior H.D.N.M.** 2013. Environmental impact analysis of aquaculture in net cages in a Brazilian water reservoir, based in zooplankton communities. *African Journal of Biotechnology*, 12(17).
- Degefu F., Mengistu S. & Schagerl M.** 2011. Influence of fish cage farming on water quality and plankton in fish ponds: A case study in the Rift Valley and North Shoa reservoirs, Ethiopia. *Aquaculture*, 316:1-4, 129-135.
- Devi P.A., Padmavathy P., Aanand S., & Aruljothi K.** 2017. Review on water quality parameters in freshwater cage fish culture. *International Journal of Applied Research*. 3:5, 114-120.
- 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: 137-184.
- Fonseca B.M., Ferragut C., Tucci A., Crossetti L.O., Ferrari F., Bicudo D.C., Sant'Anna C.L., Bicudo C.E.M.** 2014. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes índices tróficos. *Hoehnea* 41: 9-30.
- Gallego I., Davidson T.A., Jeppesen E., Pérez-Martínez C., Sánchez-Castillo P., Juan M., ... & Casas J.J.** 2012. Taxonomic or ecological approaches? Searching for phytoplankton surrogates in

the determination of richness and assemblage composition in ponds. *Ecological Indicators*, 18, 575-585.

Giné H., Bergamin H., Zagatto E.A.G. & Reis B.F. 1980. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, vol. 114, p. 191-197.

Guo L., Li Z. 2003. Effect of nitrogen and phosphorus from fish cage on the communities of shallow lake in middle Yangtze River basin of China. *Aquaculture*, 226, 201-212.

Guo L., Li Z., Xie P., & Ni L. 2009. Assessment effects of cage culture on nitrogen and phosphorus dynamics in relation to fallowing in a shallow lake in China. *Aquaculture International*, 17(3), 229-241.

Hegewald E. 1997. Taxonomy and phylogeny of *Scenedesmus*. *Algae (Korean Journal of Phycology)*12: 235-246.

Hegewald E. 2000. New combinations in the genus *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Scenedesmaceae). *Algological Studies* 96: 1-18.

Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U., Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*. 35: 403-424.

INAG IP. 2011. Manual para a Avaliação da Qualidade Biológica da Água em Lagos e Albufeiras segundo a Directiva Quadro da Água - Protocolo de Amostragem e análise para o Fitoplâncton. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, IP.

Izaguirre I., Sánchez M.L., Schiaffino M.R., O'Farrell I., Huber P., Ferrer N. & Mancini M. 2015. Which environmental factors trigger the dominance of phytoplankton species across a moisture gradient of shallow lakes?. *Hydrobiologia*, 752:1, 47-64.

Komárek J. & Anagnostidis K. 1999. Cyanoprokaryota, Chroococcales, Süßwasserflora Von Mitteleuropa. 19/1 Stuttgart.

Komárek J. & Fott B. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung: Chlorococcales. In: Huber Pestalozzi, G., Heynig, H. & Mollenhauer, D.(eds) des Süwassersflora Band (1). Gustav Fischer, Jena, 1044 p.

Komárek J. & de Paiva Azevedo M.T. 2000. *Geitlerinema unigranulatum*, a common tropical cyanoprokaryote from freshwater reservoirs in Brazil. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 39-52.

Komárek J. & Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner & M. Schagerl (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München, pp. 1-759.

- Komárek J., Kaštovský J. & Jezberová J.** 2011. Phylogenetic and taxonomic delimitation of the cyanobacterial genus *Aphanothece* and description of *Anathece* gen. nov. *European Journal of Phycology* 46: 315-326.
- Komárek J., & Johansen J.R.** 2015. Filamentous cyanobacteria. In *Freshwater Algae of North America* (pp. 135-235). Academic Press.
- Kostikov I., Darienko T., Lukesova A. & Hoffmann L.** (2002). Revision of the classification system of Radiococcaceae Fott ex Koma'rek (except the subfamily Dictyochlorelloideae) (Chlorophyta). *Algological Studies* 104: 23-58.
- Kruk C., Huszar V.L., Peeters E.T., Bonilla S., Costa L., Lürling M. & Scheffer M.** 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater biology*, 55:3, 614-627.
- Kruk C. & Segura A.M.** 2012. The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. In *Phytoplankton responses to human impacts at different scales* (pp. 191-202). Springer, Dordrecht.
- Lamparelli M.C.** 2004. Grau de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento. Tese Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Lund J.W.G., Kipling C. & Lecren E.D.** 1958. The invert microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143-170.
- Mallasen M., de Barros H.P., Traficante D.P., & Camargo A.L.S.** 2012. Influence of a net cage tilapia culture on the water quality of the Nova Avanhandava reservoir, São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 34(3), 289-296.
- Margalef R.** 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica acta*, 1(4), 493-509.
- Margalef R.** 1983. *Limnología* (Vol. 1009). Barcelona: Omega.
- McCune B. & Mefford M.J.** 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6.0. MjM. Software design, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Mihaljević M., Stević F., Špoljarić D. & Pfeiffer T.Ž.** 2015. Spatial Pattern of Phytoplankton Based on the Morphology-Based Functional Approach along a River–Floodplain Gradient. *River research and applications*, 31:2, 228-238.
- Muñoz-López C.L., Aranguren-Riaño N.J. & Duque S.R.** 2017. Functional morphology of phytoplankton in a tropical high mountain lake: Tota Lake (BoyacaColombia). *Revista de Biología Tropical*. 65:2, 669-683.
- Naselli-Flores L.** 2000. Phytoplankton assemblages in twenty-one Sicilian reservoirs: relationships between species composition and environmental factors. *In: The Trophic Spectrum Revisited* (pp. 1-11). Springer, Dordrecht.

- Nush E.A.** 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Hydrobiologic*, vol. 14, p. 14-36.
- Oliveira S.A.** 2019. Dinâmica e estrutura de comunidades fitoplânctônicas em diferentes escalas espaciais como ferramenta de análise da qualidade ecológica de reservatórios dos sistemas Cantareira e do Sorocaba/Médio Tietê (SP, Brasil). São Paulo. 103p.
- Osti J.A.S.** 2013. Características limnológicas e do fitoplâncton de viveiro de criação de tilápia-donilo e de wetlands construídas para o tratamento do efluente. Jaboticabal. 112p.
- Padisák J., Soróczki-Pintér É. & Rezner Z.** 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton—an experimental study. In *Aquatic biodiversity* (pp. 243-257). Springer, Dordrecht.
- Padisák J, Crossetti LO, Naselli-Flores L.** 2009. Use and missue in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1-19.
- Paerl H.W. & Otten T.G.** 2013. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial ecology*. 65:4, 995-1010.
- Reynolds C.S.** 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems. *Ecography*, 3(3), 141-159.
- Reynolds CS, Huszar V, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S.** 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417-428.
- Reynolds C.S.** 2006. The ecology of phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press.
- Rhee G.Y.** 1982. Effects of environmental factors and their interactions on phytoplankton growth. In *Advances in microbial ecology* (pp. 33-74). Springer, Boston, MA.
- Rigonato J., Sant'Anna C.L., Giani A., Azevedo M.T.P., Gama W.A., Viana V.F., ... & Werner V.R.** 2018. Sphaerocavum: a coccoid morphogenus identical to Microcystis in terms of 16S rDNA and ITS sequence phylogenies. *Hydrobiologia*, 811(1), 35-48.
- Rodrigues L.L., Sant'Anna C.L. & Tucci A.** 2010. Chlorophyceae das represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 33: 247-264.
- Rosini E.F., Sant'Anna C.L. & Tucci A.** 2013. Cyanobacteria de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo, Brasil. *Rodriguésia* 64: 399-417.
- Rosini E.F.** 2015. Respostas da comunidade fitoplanctônica à implantação de sistema de piscicultura em tanques-rede no parque aquícola do rio Ponte Pensa, reservatório de Ilha Solteira, SP, Brasil. São Paulo. 187 p.
- Rosini E.F., Tucci A., Carmo C.F.D., & Barros H.P.D.** 2019. Water quality in Ponte Pensa Aquaculture Park, Solteira Island Reservoir, SP, Brazil, where fish are cultivated under great-volume cage system. *Revista Ambiente & Água*, 14(4).

- Salmaso N.** 2003. Life strategies, dominance patterns and mechanisms promoting species coexistence in phytoplankton communities along complex environmental gradients. *Hydrobiologia*, 502(1-3), 13-36.
- Salmaso N, Padisák J.** 2007. Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578: 97-112.
- Sant'Anna C.L.** 1984. Chlorococcales (Chlorophyceae) do Estado de São Paulo, Brasil (No. 67). Lubrecht & Cramer Limited.
- Sant'Anna C.L., Azevedo M.T.P. & Sormus L.** 1989. Fitoplâncton do Lago das Garças, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil: Estudo Taxonômico e Aspectos Ecológicos. *Hoehnea* 16: 89-131.
- Sant'Anna C.L., Azevedo M.T.P., Senna P.A.C., Komárek J. & Komárková J.** 2004. Planktic Cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococcales. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 213-227.
- Silva A.P.C. & Costa I.A.S.D.** 2015. Biomonitoring ecological status of two reservoirs of the Brazilian semi-arid using phytoplankton assemblages (Q index). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 27(1), 1-14.
- Strickland J.D.H. & Parsons T.R.A.** 1960. A manual of sea water analysis. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, vol. 125, p. 1-185.
- Sun J. & Liu D.** 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25: 1331-1346.
- Syandri H., Azrita A., & Mardiah A.** 2020. Water Quality Status and Pollution Waste Load from Floating Net Cages at Maninjau Lake, West Sumatera Indonesia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 430, No. 1, p. 012031). IOP Publishing.
- Tell G., & Conforti V.** 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina.
- 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: 147-175.
- Tucci A., Sant'Ana C.L., Azevedo M.T.P., Malone C.F.S., ... & Santos K.R.S.** 2019. Atlas de Cianobactérias e Microalgas de Águas Continentais Brasileiras. 2º ed. rev. e ampl. São Paulo. 233p.
- Utermöhl H.** 1958. Zur Vervollkommung der quantativen phytoplankton-methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- Valderrama J.C.** 1981. The simultaneous analysis of nitrogen and phosphorus total in natural waters. *Marine Chemistry*, vol. 10, p. 109-122.
- Wacklin P., Hoffmann L. & Komáreck J.** 2009. Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet et Flahault) comb. Nova. *Fottea* 9: 59-64.

Weber C.I. 1973. Plankton. In: National Environmental Research Center Office of Research and Development U. S. Environmental Protection Agency Cincinnati (ed.). Biological field and laboratory methods for measuring the quality of surface water and effluents. p.1-17.

Wetzel R.G. & Likens G.E. 2000. Limnological Analyses. 3 ed. Springer-Verlang, New York.

Zabala-Agudelo A.M., Hernández E., Agudelo D.M., Aguirre N.J. & de Jesús Vélez F. 2019. Variación temporal de la morfología funcional del fitoplancton en una planicie inundable del Caribe Colombiano. Biota Colombiana. 20:2.

Capítulo 2

CYANOBACTERIA AND MICROCYSTINS IN TROPICAL RESERVOIR WITH TILAPICULTURE IN NET CAGES, SOUTHEASTERN OF BRAZIL

Submitted to Aquatic Living Resources

Andréa Sampaio DIAS^{1*}

¹. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica de São Paulo, Av. Miguel Stefano, 3687, 04301-012, São Paulo, Brazil

*Corresponding author: emunah.dias@gmail.com

Abstract - The cultivation of species, such as Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), in net cages, has given international prominence to Brazilian aquaculture. The development of this type of productive activity requires adequate management practices to avoid deterioration of water quality by artificial eutrophication and the release of toxins from toxic cyanobacterial communities. We studied the richness and density of algae and cyanobacteria and quantified the concentration of microcystins (LR, YR and RR) and the results related to some parameters that reflect water quality in the lacustrine compartments in three reservoirs in the State of São Paulo, Brazil: Chavantes, Ilha Solteira and Nova Avanhandava, where there are six farms set up. Samples were collected during four periods in the fish farms of the three reservoirs. Cyanobacteria were the most abundant group. Eight microcystins producing species were present in the sampled fish farms. For limnological analyzes, only the concentrations of total phosphorus and total nitrogen were above the reference

values recommended by Resolution CONAMA 357/2005. The results showed that the highest values of Cyanobacteria density for most of the studied aquaculture areas, mainly in the Nova Avanhandava reservoir, are related to the greater availability of nutrients. As for microcystin, LR was the most common and YR was the least found. In the fish farms of the Chavantes and Ilha Solteira reservoirs, microcystins concentrations were low in all collections. While in the Nova Avanhandava reservoir the microcystins contents were higher, reaching critical values (above $1.60 \mu\text{g L}^{-1}$) that could lead to the intoxication of the cultured fish and compromise fish quality. The occurrence of significant densities of cyanobacteria in the phytoplankton community, especially the potentially toxic ones, may be an indication that there is a need for specific care for each environment regarding the production process to minimize the nutrient supply in the aquaculture areas.

Keywords: Phosphorus / eutrophication / Cyanophyceae / cyanotoxins / net cages

1. INTRODUCTION

The first large Brazilian reservoirs were built with the main purpose of generating energy, but today they aim to meet the multiplicity of uses of surface waters. Among these uses, aquaculture is highlighted as an economic practice of higher growth in recent years through the cultivation of fish in net cages started in the mid-1980s and consolidated in the state of São Paulo at the end of the 1990s with the production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) (Ayrosa et al. 2008). The cultivation of Nile tilapia in net cages has given international prominence to the aquaculture of Brazil, that occupies the 13th position (FAO 2018).

Fish farming can alter the concentrations of phosphorus and nitrogen in the environment and the marked increase of the concentrations of these nutrients can trigger an artificial eutrophication process, contributing to the occurrence of potentially toxic cyanobacteria blooms that can make water from the reservoir unviable for aquaculture production and human consumption (Jieng et al. 2013).

Phytoplankton is one of the main instruments used in the monitoring of water quality in reservoirs, presenting a rapid response in its variation against anthropogenic interferences (Crossetti and Bicudo 2005). Cyanobacteria have been the subject of studies and interest not only in the cosmopolitan distribution of various species (Komárek 2003) and high number of toxic species (Dow and Swoboda 2000, Sant'Anna et al. 2008, Jakubowska and Szelag-Wasielewska 2015), but mainly by the massive growth of populations in eutrophic environments, which represents one of the main problems of water quality in the world (Falconer 2005; Rigosi et al. 2014).

The aquaculture enterprise may be unviable due to the poor quality of water for cultivation and the occurrence of compounds related to eutrophication that can generate off-flavor to fish meat (Boyd 1998; Carmichael and Boyer 2016). There are insufficient studies that evaluate the relationship between water quality and fish culture in Brazilian net cages. Moreover, when it comes to the occurrence of cyanobacteria blooms and toxin production. (Defegu et al. 2011; Sartori and Amancio 2012).

In Brazil, the species *Microcystis aeruginosa* is the main toxic blooms formant in reservoirs (Sant'Anna et al. 2008). This species produces microcystin a hepatotoxin very frequent in bloom and of high toxicity known in the country due to fatal poisoning occurred in Caruaru (Jochimsen et al. 1998; Azevedo et al. 2002). The occurrence of toxic blooms in freshwater bodies threatens the quality and potability of water (Codd 2005; Falconer and Humpage 2005) and promotes increased treatment costs and economic losses in aquaculture environments mainly due to hypoxia (Rodgers 2008).

Therefore, the supervision of physical and chemical variables of water, together with an evaluation of the biological components of the aquatic ecosystem, especially as algae and cyanobacteria, and cyanotoxins are an important tool to preserve the water quality. The development of this type of productive activity requires adequate management practices that aim to minimize the effects caused by the activity and thus avoid alteration of quality by artificial eutrophication and release of toxins by cyanobacteria.

Thus, we had the objective of evaluating the water quality of fish farms in net cages with respect to the presence and abundance of cyanobacteria, as well as the presence and concentration of microcystins in tilapia breeding sites located in the reservoirs of Chavantes, Ilha Solteira, and Nova Avanhandava.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Study area and samplings

Samplings were carried out in March and October of 2015 and in March and October of 2016 in three tilapia farms (*O. niloticus*) in the State of São Paulo (Figure 1): Chavantes Reservoir (23° 07'42 "S and 49° 43'59" W), located between the counties of Chavantes (SP) and Ribeirão Claro (PR), Paranapanema River, Alto Paranapanema Hydrographic Basin, with a sampling (fish farm 1, P1); Nova Avanhandava Reservoir (21° 07'01 "S and 50° 12'06" W), located in the counties of Buritama, Paraná River, Baixo Tietê Basin, with three sampling stations (fish farm 2, 3 and 4 - P2, P3 and P4, respectively); and Ilha Solteira Reservoir (20° 23'00 "S and 51° 22'00" W), located between the counties of Ilha Solteira (SP) and Selvíria (MS), São José dos Dourados River Basin, with two sampling stations (P5 and P6).

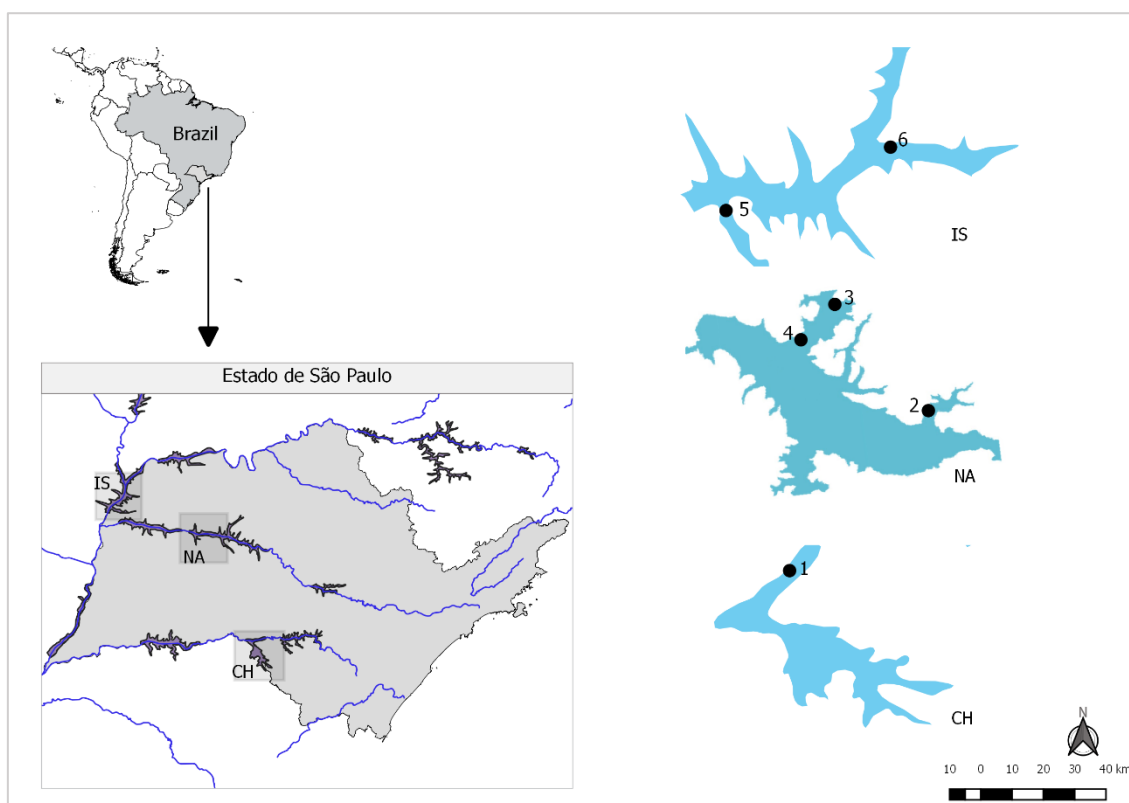


Fig. 1. Location of the studied reservoirs in the state of São Paulo: Chavantes (CH), Nova Avanhandava (NA) and Ilha Solteira (IS) and their respective sampling stations, corresponding to the six fish farms (P1 to P6).

In each fish farm, the samples were obtained in three points: upstream from the fish farm, inside the fish farm and downstream from the fish farm. The fish farm 3 (P3) is located upstream of fish farm 4 (P4) in Nova Avanhandava and, consequently, only an upstream and downstream were sampled for the two fish farms.

The water samples for environmental analysis, microcystins and quantitative assessment of the phytoplankton, specifically cyanobacteria, were collected at 1 meter deep with Van Dorn type sampler. For the environmental variables and detection of microcystins, triplicates ($n = 204$) were performed and the values were presented as means among the fish farms in order to characterize the water in the sampling stations.

2.2 Physical, chemical analyses of water

The variables studied were: total phosphorus (TP) ($\mu\text{g L}^{-1}$) and total nitrogen (TN) ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Valderrama 1981), orthophosphate ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Strickland and Parsons 1960), ammonia ($\mu\text{g L}^{-1}$) (APHA et al. 2005), nitrite ($\mu\text{g L}^{-1}$) and nitrate ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Giné et al. 1980). Phytoplankton biomass was estimated by the concentration of chlorophyll *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$), by the pigment extraction technique described in Nush (1980).

With multiparametric probe (EXO YSI) were obtained *in situ* dissolved oxygen (mg L^{-1}), pH, water temperature ($^{\circ}\text{C}$), electrical conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$) and total dissolved solids (mg L^{-1}). The water transparency (m) was estimated by the disappearance of the Secchi disk. For each reservoir, the Trophic State Index was estimated, according to Lamparelli (2004).

2.3 Phytoplankton analyses

The samples for the taxonomic analysis were collected through horizontal and vertical trawling with plankton net (20 μm) and fixed with formalin (final concentration 4%). The identification of microalgae and cyanobacteria were performed using an optical microscope (Zeiss Axioplan 2) using specific bibliographies for cyanobacteria: Komárek and Anagnostidis 1999, 2005; Komárek et al. 2002; Komárek 2013).

For quantitative analysis, the samples were fixed in acetic Lugol solution (1%). The quantitative analysis was performed according to Utermöhl (1958), in inverted microscope Zeiss Axiovert 25, under x 400 magnification. Sedimentation time of the samples was three hours for each centimeter of the height of the chamber, according to the criterion proposed by Lund *et al.* (1958). The sedimentation chamber used was a 10 mL one. Counting was carried out by means of horizontal and vertical transects and the minimum number of counted fields per sedimentation chamber followed the stabilization curve of the number of species, which was obtained based on new species added to each counted field. The results were expressed as density (org.mL^{-1}). Species richness was considered the total number of taxa found per sample.

2.4 Analysis of microcystin concentration and composition in biomass by HPLC-DAD

For each sample, one liter of water was filtered on individual Whatman GF/C filters (Whatman™, Maidstone, England). Each filter was frozen and thawed three times and extracted in 2.0 mL 75 % Methanol (MeOH). The extracts were incubated in an ultrasonic bath for 15 min, sonicated for 2 min and centrifuged at 10,000 x g for 10 min. Subsequently, the supernatant (1 mL) was evaporated at 50 °C, dissolved in 0.3 mL 75 % MeOH. Before the HPLC analysis, the samples were re-filtered through 0.2 µm Teflon syringe filters into HPLC vials with inserts (Meriluoto and Codd; 2005).

The HPLC consisted of a Shimadzu (Japan) Nexera-XR system equipped with a diode-array detector (DAD), and a column (Shimadzu, 5 µm, C18, 250*4.6 mm) with a pre-column. The mobile phases were 0.05 % aqueous TFA (solvent A) and 0.05 % TFA in acetonitrile (solvent B). The gradient program was: 0 min: 30 % B, 10 min: 35 % B, 40 min: 70 % B, 42 min: 100% B, 46 min: 30 % B, 60 min: stop, with a flow rate of 0.75 mL min⁻¹, and an injection volume of 10 µL per sample. The HPLC was calibrated with microcystin standards (DHI Lab Products, Hørsholm, Denmark), and toxins were quantified at 238 nm peak. Microcystins were detected by their retention times and absorption spectra by diode array detection operated between 200-300 nm. The detection limit of the analysis was approximately 1 ng of microcystin per injection.

2.5 Data analysis

Descriptive statistics were performed: mean and standard deviation of limnological variables. The results were analyzed through multivariate statistical analyzes by PC-ORD version 6.0 for Windows. The correlations of the biotic and abiotic data to determine the environmental variability in relation to the sampled periods (temporal) and to the different sampling stations (spatial) were established through Principal Component Analysis (PCA) from a covariance matrix. Abiotic variables, with the exception of pH, were transformed by "log x +1".

The values of the limnological variables obtained were compared with the reference values established in CONAMA Resolution No. 357/2005, which establishes the classification of water bodies and environmental guidelines for their classification.

3. RESULTS

3.1 Water chemical and physical responses

The reservoirs Nova Avanhandava and Ilha Solteira e Chavantes were classified, as trophic degree, as mesotrophic.

The results obtained from DO, pH, and TDS (Table 1) are within the limits established by CONAMA Resolution 357/2005 and current legislation in Brazil for Special Sweet Waters that are destined to aquaculture supply and practice. The water temperature (Table 1) was higher in March than in October. The conductivity values were higher in Nova Avanhandava (Table 1).

Table 1. Morphometric characteristics and surface area values, maximum depth and residence time for each reservoir and averages and standard deviation of the physical and chemical variables studied for the three reservoirs during the study period (March and October 2015 and March and October 2016). *Adapted from CETESB (2017) and Neto et al. (2015).

Characteristics		Chavantes	Nova Avanhandava	Ilha Solteira
Surface area (Km ²)*		428	210	1195
Maximum depth (m)*		89	30	24
Residence time (days)*		352	46	47
Dissolved oxygen (mg L ⁻¹)	M 15	8,8±0,24	5,3±0,98	6,4±1,39
	O 15	10,1±0,37	10,9±1,22	7,9±1,16
	M 16	8,5±0,32	7,1±1,01	6,9±1,02
	O 16	8,8±0,41	6,5±0,53	5,3±2,63
Water temperature (°C)	M 15	27,0±0,06	28,6±0,27	29,3±0,14
	O 15	23,8±0,12	26,1±0,26	27,2±0,13
	M 16	26,4±0,10	28,7±0,39	29,8±0,22
	O 16	20,6±0,12	23,5±0,67	20,2±9,93
pH	M 15	7,5±0,13	7,8±0,42	7,3±0,32
	O 15	7,6±0,12	9,1±0,22	7,3±0,26
	M 16	6,8±0,11	7,7±0,26	6,98±0,23
	O 16	7,0±0,25	7,8±0,58	6,2±3,05
Conductivity (µS cm ⁻¹)	M 15	64,5±0,09	236,2±13,97	93,1±17,90
	O 15	57,1±0,11	231,2±7,43	74,6±9,11
	M 16	56,5±0,17	198,8±12,48	70,9±2,73
	O 16	53,2±1,72	147,0±5,72	87,8±77,52
Total dissolved solids (mg L ⁻¹)	M 15	42,0±0	153,7±9,08	60,5±11,91
	O 15	37,0±0	150,1±4,84	48,3±5,78
	M 16	37,0±0	128,3±8,01	46,0±2,09
	O 16	34,5±1	95,4±3,55	57,0±50,37

In terms of nutrient concentration, a trend of higher values were observed in the year 2015 (Figure 2).

Total nitrogen and total phosphorus showed higher concentrations during the samplings of October (2015) and March (2016), respectively. The maximum value (TN= 2.493 µg L⁻¹; TP= 45 µg L⁻¹), for nutrients, were recorded in Nova Avanhandava (Figure 2 and 3).

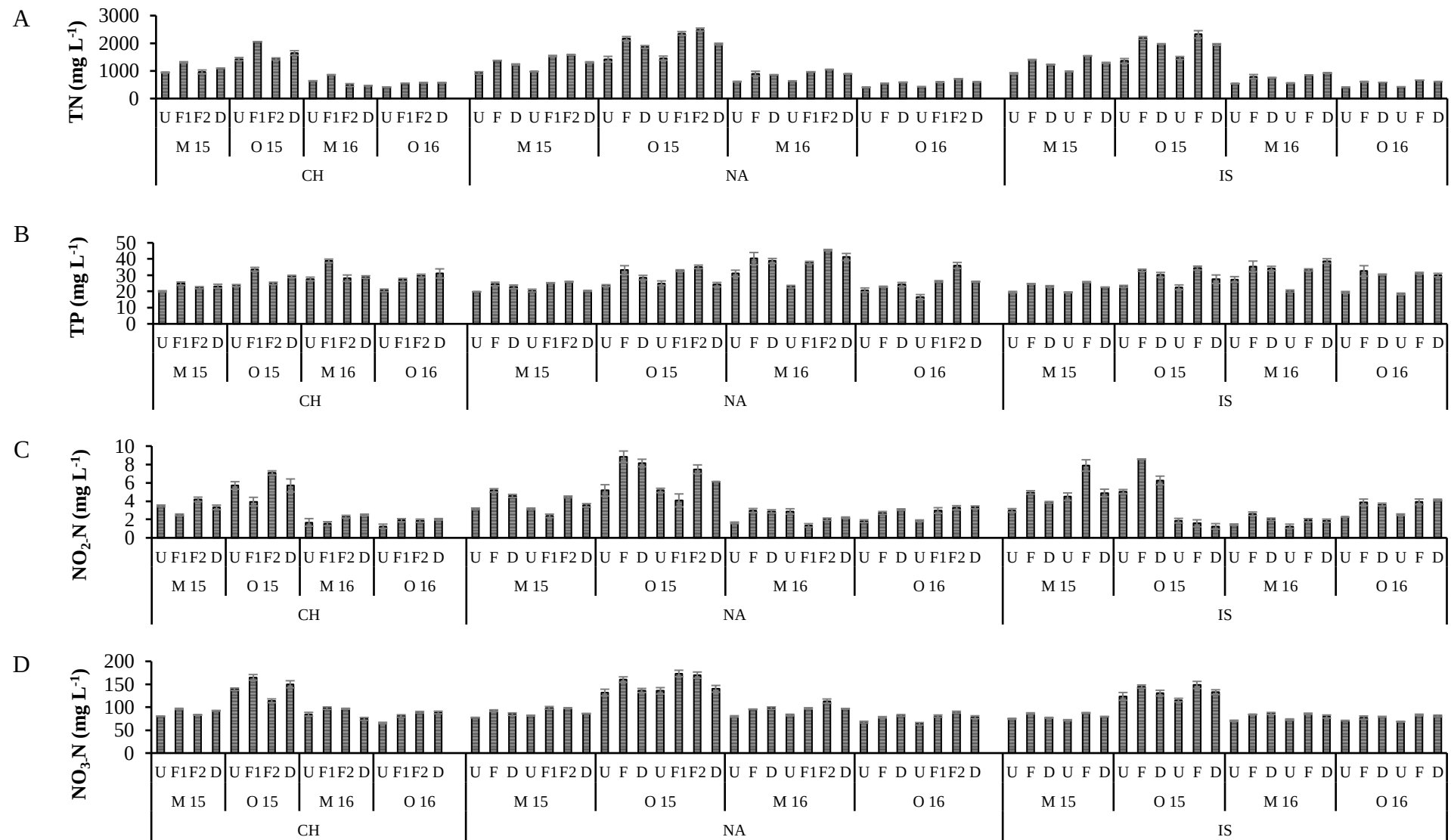


Fig. 2. Mean values and standard deviation of the total and dissolved nutrients at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the three sampled reservoirs (CH: Chavantes, NA: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16 respectively). (A) TN: total nitrogen, (B) TP: total phosphorus, (C) NO₂-N: nitrite and (D) NO₃-N: nitrate.

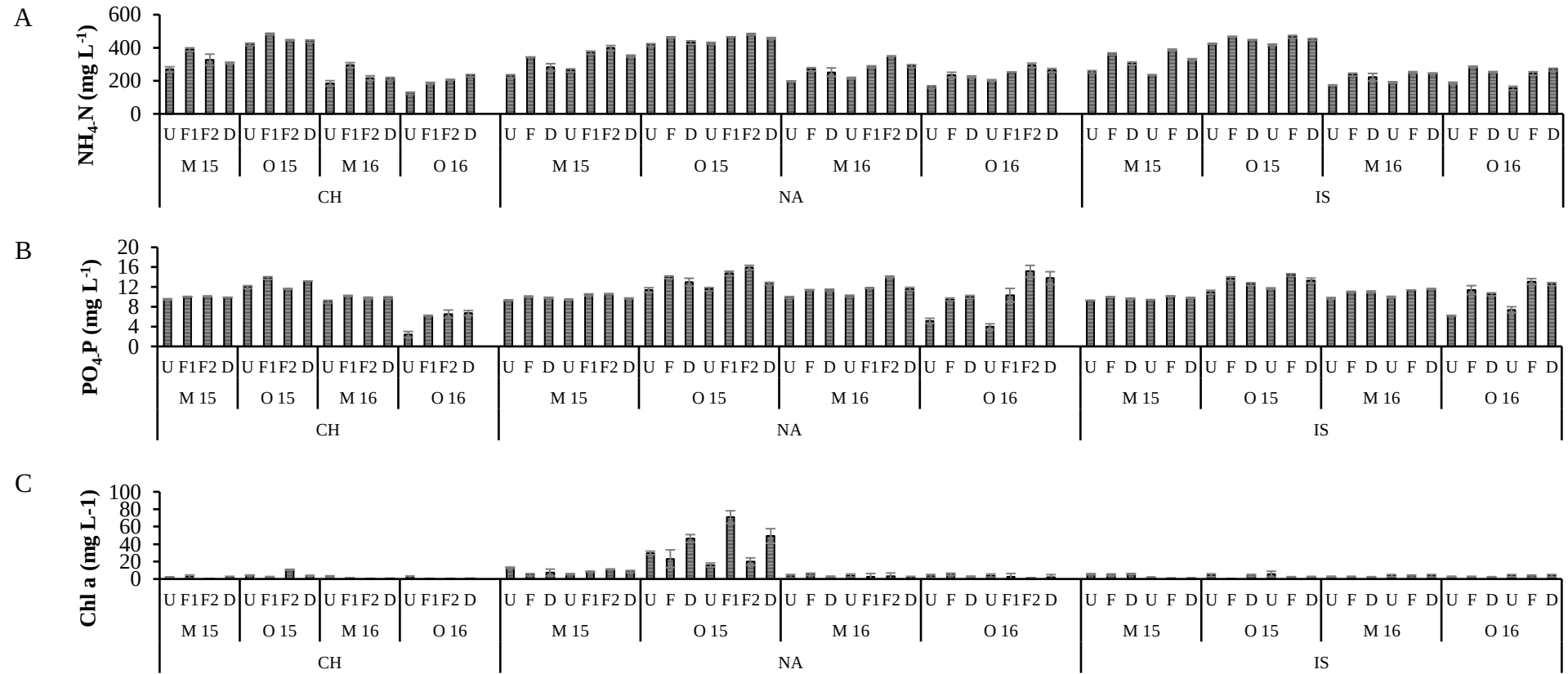


Fig. 3. Mean values and standard deviation of the total and dissolved nutrients at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the three sampled reservoirs (CH: Chavantes, NA: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16 respectively). (A) $\text{NH}_4\text{-N}$: ammonia, (B) $\text{PO}_4\text{-P}$: orthophosphate and (C) Chl: chlorophyll *a*.

Nitrite, nitrate, ammonia, and orthophosphate were higher in October 2015 in Nova Avanhandava (6.43, 150, 449 and 13 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively) (Figure 2 and 3). In this reservoir, chlorophyll *a* concentrations (Figure 3) were higher than those of the other reservoirs in the two surveys in 2015, exceeding the limit of 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ established by CONAMA Resolution N° 357/05 in P2 (upstream) and P3-P4 (farm 2) in March and reaching the maximum value of 71,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ in October (P3-P4).

The combined analysis of the results, described by Principal Component Analysis (PCA) (Figure 4), summarized the variability of limnological data with 85% explicability on axis 1, and the randomization test was only significant for axis 1 ($p = 0,0001$). Table 2 shows the Pearson correlation values for the limnological variables.

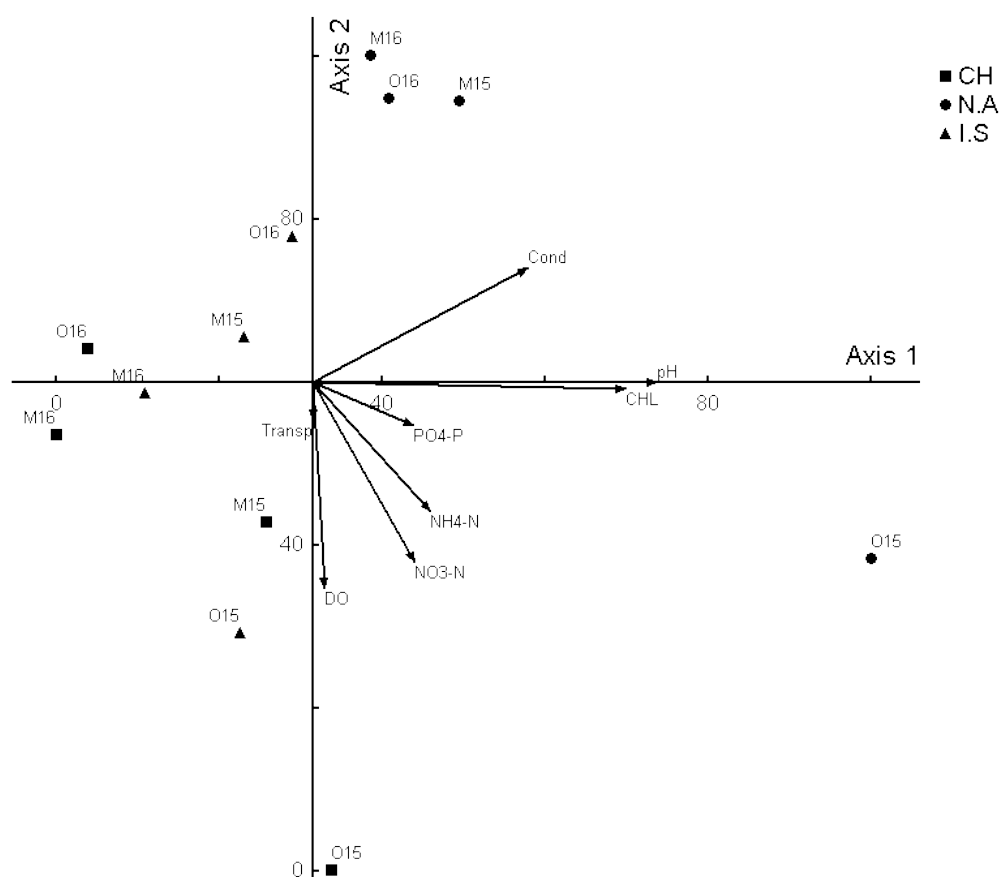


Fig. 4. Biplot ordering by the PCA between the sampling stations in the periods of March and October of 2015 and March and October of 2016 and the limnological variables. The letters and numbers that accompany the symbols of the sampling stations refer respectively to the initials of the month and year of collection (Example: M15 corresponds to March 2015). The abbreviations of the limnological variables are presented in Table 2.

Table 2. Pearson correlation values between the limnological and nutrient variables vectors with axes 1 and 2 of the Principal Component Analysis (PCA) performed for the three reservoirs.

Axis	Abbreviations	Main components	
		1	2
pH		0,992	0,005
Dissolved Oxygen	DO	0,190	-0,767
Conductivity	Cond	0,786	0,574
Nitrate	NO ₃ -N	0,539	-0,718
Ammonia	NH ₄ -N	0,580	-0,610
Orthophosphate	PO ₄ -P	0,538	-0,354
Chlorophyll <i>a</i>	CHL	0,946	-0,142
Transparency	Transp	-0,006	-0,331
% Total		85,11	7,11

Nova Avanhandava stood out as the experimental unit with the highest concentration of nutrients in relation to the others, and all the samplings related to it were located on the positive side of axis 1. The pH, chlorophyll *a* and conductivity variables were the ones that best characterized the difference between the seasons sampled.

3.2 Phytoplankton community and Cyanobacteria

A total of 156 phytoplankton taxa were identified. Chlorophyceae presented higher richness (54 taxa), followed by Cyanobacteria (45 taxa). Quantitative analyses showed Cyanobacteria as one of the most abundant classes.

The densities of cyanobacteria in relation to the other phytoplanktonic classes (figure 5) were higher in March (2015 and 2016) and lower in October (2015 and 2016) samplings. The highest density values for both cyanobacteria and other phytoplanktonic classes were recorded at Nova Avanhandava stations (P2 and P3-P4).

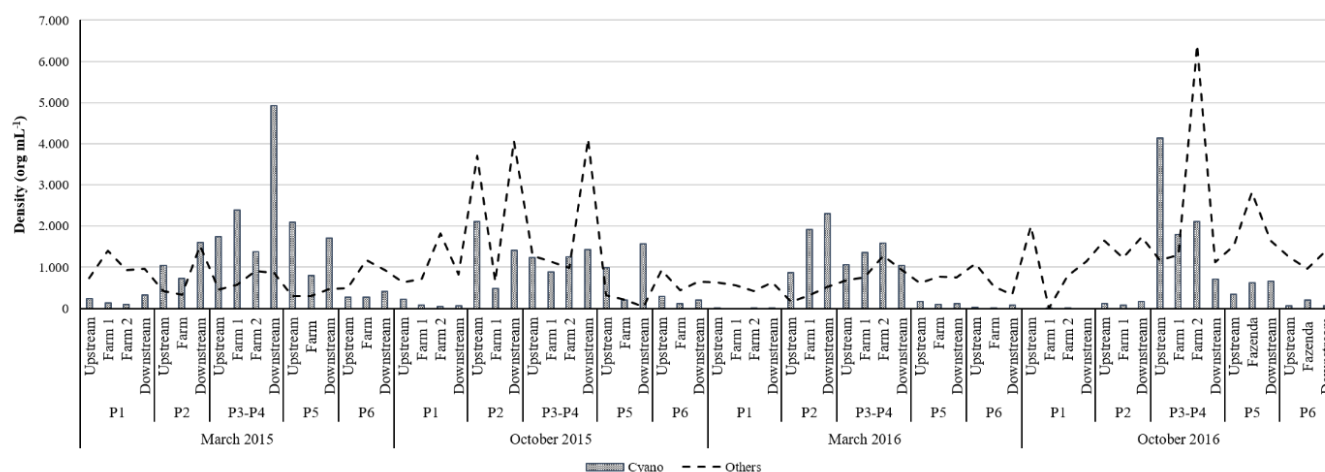


Fig. 5. Temporal variation of the density (org mL^{-1}) of cyanobacteria compared to the density of the other phytoplanktonic classes recorded at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhanda; F5 e F6: Ilha Solteira) in March and October 2015 (M15 and O15 respectively) and March and October 2016 (M16 and O16 respectively).

A total of 14 species of cyanobacteria (Table 3) with potential to synthesize different toxin were registered in the fish farms, among which seven produce microcystins: *Dolichospermum circinalis*, *D. planctonicum*, *Microcystis aeruginosa*, *M. protocystis*, *Planktothrix isothrix*, *Radiocystis fernandoi* and *Synechocystis aquatilis* (Figure 6).

Table 3. Toxic species of Cyanobacteria occurred at the three reservoirs (Chavantes, Nova Avanhandava e Ilha Solteira) during the study period.

Species	Toxins
<i>Aphanocapsa delicatissima</i> West & G.S.West	Nodularin
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützinger) Kützinger	Microcystin
<i>M. protocystis</i> W.B.Crow	Microcystin
<i>Radiocystis fernandoi</i> Komárek & Komárková-Legnerová	Microcystin
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauvageau	Microcystin
<i>Synechococcus nidulans</i> (Pringsheim) Komárek	Unknow
<i>Cyanodictyon planctonicum</i> B.A.Mayer	Nodularin
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann	Nodularin
<i>Geitlerinema amphibium</i> (C.Agardh ex Gomont) Anagnostidis	Unknow
<i>Geitlerinema unigranulatum</i> (R.N.Singh) J.Komárek & M.T.P.Azevedo	Unknow
<i>Planktothrix isothrix</i> (Skuja) Komárek & Komárková	Microcystin
<i>Dolichospermum circinalis</i> (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek	Microcystin, Anatoxin-a (S), Gonyautoxin
<i>Dolichospermum planctonicum</i> (Brunnthal) Wacklin, L.Hoffmann & Komárek	Microcystin
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju	Saxitoxin

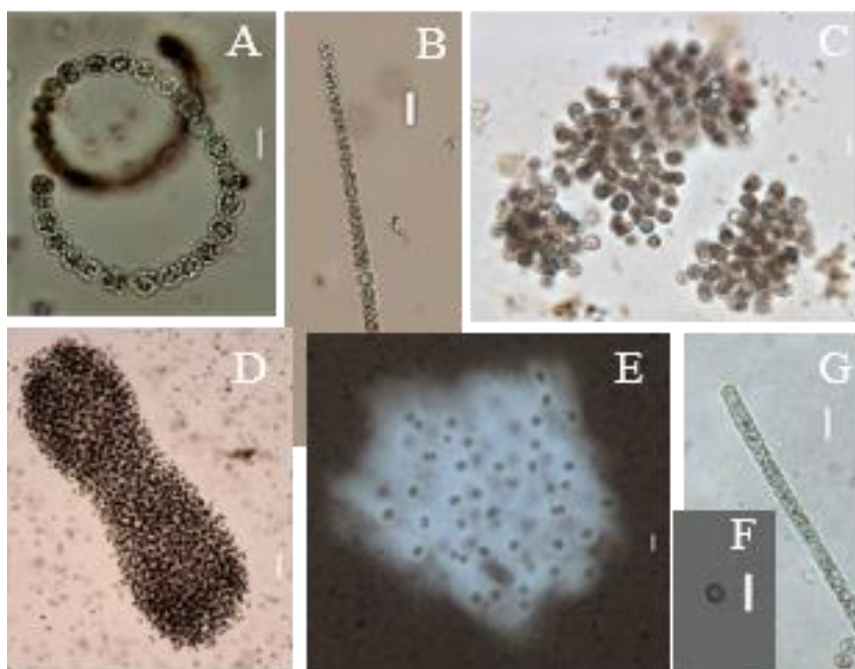


Fig. 6. Cyanobacterias producing microcystins found in sample stations. A. *Dolichospermum circinalis*, B. *D. planctonicum*, C. *Radiocystis fernandoi*, D. *Microcystis aeruginosa*, E. *M. protocystis*, F. *Synechocystis aquatilis*, and G. *Planktothrix isothrix*.

Among the microcystins producers, *M. aeruginosa* was recorded in the three reservoirs, except for the March / 2016 sampling, when its occurrence was only in Chavantes (P1) with densities lower than 100 org mL^{-1} (Figure 7). *Microcystis protocystis* was recorded in all samples of Nova Avanhandava. *Radiocystis fernandoi* occurred only in two samples (M15 and O16) both in Nova Avanhandava and presented the highest density ($1.641 \text{ org mL}^{-1}$) among the microcystins producing species. *Synechocystis aquatilis* as well as *P. isothrix* were not registered in Chavantes. The two species of the genus *Dolichospermum* were recorded in Chavantes and Ilha Solteira.

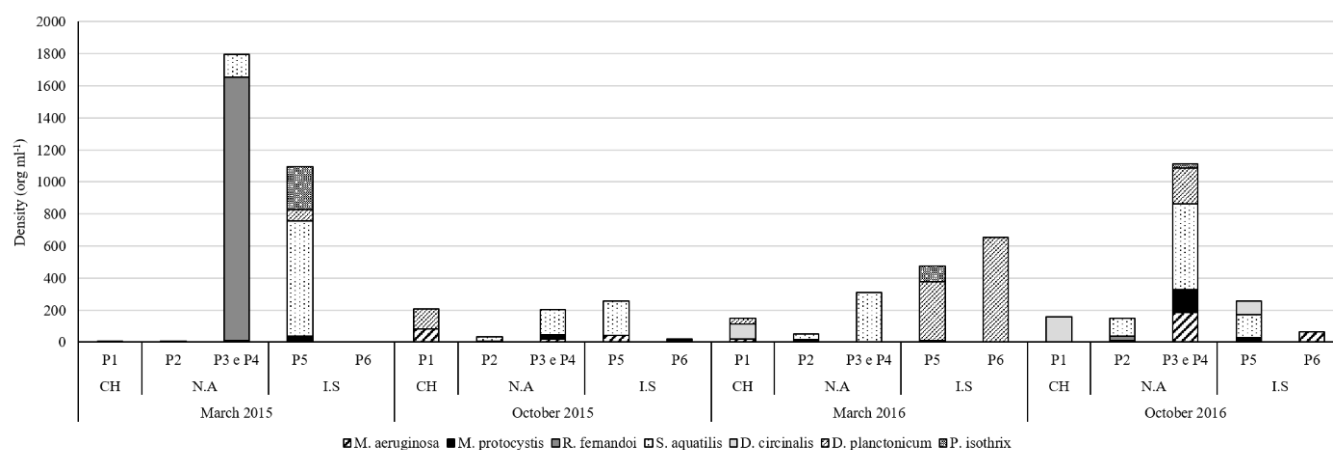


Fig. 7. Density of the seven species of cyanobacteria producing microcystins registered at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhandava; F5 e F6: Ilha Solteira) in March and October 2015 and March and October 2016.

3.3 Composition and concentration of microcystin

The variation of the microcystin concentration and its composition (LR, RR, and YR) was evaluated in the six fish farms in the samplings of October 2015 and March and October of 2016 (Figure 8).

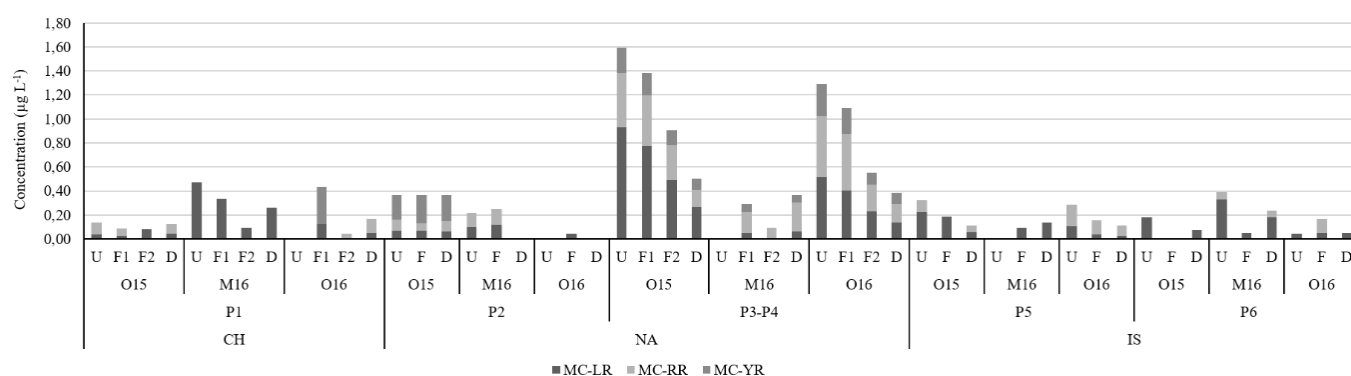


Fig. 8. Concentration of microcystins (LR, RR and YR) at the sampling stations (U: upstream, F: farm and D: downstream) of the fish farm sampled (F1: Chavantes; F2, F3 e F4: Nova Avanhandava; F5 e F6: Ilha Solteira) in October 2015 and March and October 2016.

Microcystins were detected in phytoplankton of all fish farms and in all samples. The mean concentrations of individual microcystin (MC) variants ranged from 0.03 $\mu\text{g L}^{-1}$ to 0.93 $\mu\text{g L}^{-1}$. MC-LR and MC-RR were the most common type of microcystin except for fish stain 2 in October 2015, where MC-YR was the dominant MC. The highest total concentrations of MC were measured in October 2015 and October 2016 upstream 3 (total of 1.59 and 1.29 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively) and in fish culture 3 (total of 1.38 and 1.10 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively). In October of 2015, the fish farms 2, 3 and 4 presented higher concentrations of MC when compared to the other samplings.

4. DISCUSSION

The availability of nutrients in the water column, especially N and P, regulates the composition and phytoplankton biomass and the increase of this availability has been suggested as an influencer of the dominance of cyanobacteria (Diaz et al. 2001; Mowe et al. 2015).

In spite of the spatial variability, the nutrients tended to present higher concentrations in the cultivate areas and downstream than in the upstream of fish farms. In TN and TP, some of these values were higher than the limit allowed by Conama and the N / P ratio was higher than 10 in all seasons, indicating phosphorus as a limiting factor as described in the literature (Smith 1986; Thomann and Mueller 1987).

Similar results that report the trend of increase in phosphorus concentration in areas with fish farms were observed by Alves and Baccarim (2005) in Nova Avanhandava, by Mallasen et al. (2012) in Ilha Solteira and by Neto et al. (2015) in the Chavantes reservoir. This influence of the net cages in the physical and chemical conditions of water has been observed in several reservoirs in Brazil, as well as in other regions of the world (Diaz et al. 2001; Degefu et al. 2011; Zhang et al. 2015; Miranda et al. 2016; Rosini et al. 2016).

Phosphorus in continental aquatic environments is in low quantities and in the form of phosphate from natural and/or artificial allochthonous sources (An and Kim 2003; Guo and Li 2003; Araripe et al. 2006). The results found to suggest the influence of the net cages on the availability of

this nutrient since the highest concentrations were observed in farms of culture and downstream of them. Likewise, the high values of total nitrogen in these same areas may be related to the intensity of the culture and storage density since, in waters for fish farming, the N is available mainly by the metabolism of the fish (Araripe et al. 2006; Américo et al. 2013).

It was also observed that in the samplings of October of 2015 the upstream areas showed high TN values, being able to express the effect of nutrient input from farming and urbanization around the reservoir and the drainage basin.

The water conductivity averages may reflect the trophic state of the reservoirs and the possible influence of the anthropogenic impacts. The high values of conductivity in Nova Avanhandava (above 100 mS cm) suggest an impacted environment or with signs of impacts originating from the basin (CETESB 2016 and 2017).

Cyanobacteria were one of the most abundant classes and the increase in density was inversely proportional to that of the other classes, especially in Nova Avanhandava. Smith (1986) observed that cyanobacteria are disadvantaged at high TN/TP ratio, however it was observed in this study that although the TN/TP ratio was high (> 16.07), there was an increase in cyanobacteria density, some of which are considered descriptors of systems. The dominance or codominance of the Cyanobacteria class at certain points suggests the influence of other factors such as the increase in retention time, luminous intensity, high temperature (Soares et al. 2013; Mowe et al. 2015).

The occurrence of toxic cyanobacterial species in Brazilian reservoirs has increased in frequency, intensity and geographic distribution, causing considerable losses in the economic and social spheres (Magalhães et. al. 2001; Sant'Anna et. al. 2008). The vast majority of genera cited as potentially toxic are found in supply reservoirs and multiple uses. In the case of fish farming, the presence of these species in the reservoir can compromise the quality of the water causing fish intoxication and mortality.

Although *M. aeruginosa* and *M. protocystis* densities were low throughout the studied period when compared to other cyanobacteria species, the genus *Microcystis*, due to its great ecological

importance (development of blooms) and public health (production of hepatotoxins known as microcystins) is one of the most studied cyanobacteria (Falconer 2005; Kankaanpää 2005). In addition, *Microcystis* comprises exclusively planktonic species, widely distributed, occurring in different fresh or brackish water systems (Komárek et al. 2002). Aguiar and Azevedo (1998), Bittencourt-Oliveira (2000) and Sant'Anna and Azevedo (2000) have already highlighted the importance of the genus *Microcystis* in relation to the occurrence of toxin blooms and production in Brazilian aquatic environments, including fish farms (Azevedo et al. 2002; Lombardo et al. 2006).

In Brazil, the species *M. aeruginosa*, *M. panniformis*, and *M. protocystis* are quite common and bloom-forming (Sant'Anna e Azevedo 2000; Komárek et al. 2002). Species of this genus have been responsible for more than 65% of cases of intoxication of humans and animals. In addition, several species may cause unpleasant taste and odor (Cybis et al. 2006).

Microcystins have been detected in fish farming water all over the world: in Vietnam (Duong et al. 2014), Serbia (Drobac et al. 2016), China (Greer et al. 2017) and Brazil (Schlüter et al. 2018). The reference value for MC-LR concentrations in drinking water in Brazil is $1 \mu\text{g L}^{-1}$, as recommended by WHO worldwide (WHO, 1998).

In October 2015, in the upstream of fish farm 3, the MC-LR concentration almost reached this value, but the total MC concentrations were above $1 \mu\text{g L}^{-1}$ both upstream 3 and in fish farm 3, while fish farm 4 had a concentration just below $1 \mu\text{g L}^{-1}$. In October 2016, the same occurred, the total MC concentrations were above $1 \mu\text{g L}^{-1}$ both upstream 3 and in fish farm 3. Although oftentimes found in low concentrations the microcystins can transfer through food webs, potentially increasing the risk of exposure to people who eat fish from affected waters. Have been found a positive relationship between intracellular microcystin in water samples and microcystin in fish tissues (Flores et al. 2018). Increasing reports of the bioaccumulation of cyanotoxins in seafood have taken to concern that human exposure through this route may be underestimated (Greer et al. 2017).

5. FINAL CONSIDERATIONS

Of the 45 species of cyanobacteria identified, about 32% of them are mentioned in the literature as toxic and 12% are potentially microcystin producers. Three types of microcystins (LR, RR, and YR) were extracted from the biomass concentrated in fish farms 2, 3 and 4, present in Nova Avanhandava (Low Tietê Basin), where the highest concentrations of nitrogen and phosphorus were recorded among the three reservoirs studied. Nova Avanhandava was classified as mesotrophic.

The results suggest the influence of the tilapiculture activity on the availability of the nutrients since the highest concentrations were observed in the fish farms and downstream of them, favoring the development of the cyanobacteria.

The dominance or codominance of cyanobacteria in upstream areas was only observed in Ilha Solteira (March 2015) and Nova Avanhandava (October 2015 and 2016) fish farms, suggesting the influence of factors other than the nutrients from breeding such as light intensity, temperature, thermal stratification.

The expansion of net cages ventures in these reservoirs should only happen after previous studies of support capacity for the system, maintaining monthly monitoring of water quality, cyanobacteria, and microcystins.

6. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES for funding the Doctorate degree of the first author and FAPESP (grant 2013/50504-5) for funding the IMPCON project. AO C.F.Carmo pelas atividades em campo.

7. REFERENCES

Aguiar D.G., Azevedo S.M.F.O., 1998, Effect of different nutrient concentrations on growth and hepatotoxin production by *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria). *Internationale*

Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie Verhandlungen. 26(4), 1657-1658.

Alves R.C.P., Baccharin A.E., 2005, Efeito da produção de peixes em tanques-rede sobre sedimentação de material em suspensão e de nutrientes no córrego da Arribada (UHE Nova Avanhandava, baixo rio Tiête, SP). In: Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata. São Carlos, Rima, 329-347.

Américo J.H.P., Torres N.H., Machado, A.A., de Carvalho, S.L., 2013, Piscicultura em tanques-rede: impactos e consequências na qualidade da água. Revista Científica ANAP Brasil, 6(7).

An K.G., Kim D.S., 2003, Response of reservoir water quality to nutrient inputs from streams and in-lake fish farms. Water, air, and soil pollution, 149(1-4), 27-49.

APHA, AWWA, and WPCF, 2005, Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 21st ed. Washington, D.C: APHA - American Public Health Association, AWWA - American Water Works Association, and WPCF - Water Pollution Control Federation, p. 1085.

Araripe M.N.B.A., Segundo L.F.F., Lopes J.B., Araripe H.G.A., 2006, Efeito do cultivo de peixes em tanques-rede sobre o aporte de fósforo para o ambiente. Revista Científica de Produção Animal, 01(02).

Ayrosa D.M.M.R., Furlaneto F.P.B., Ayrosa L.M.S., 2008, Regularização de projetos de piscicultura no estado de São Paulo. Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária, 1, 33-41.

Azevedo S.M., Carmichael W.W., Jochimsen E.M., Rinehart K.L., Lau S., Shaw G.R., Eaglesham G.K., 2002, Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru—Brazil. Toxicology, 181, 441-446.

Bittencourt-Oliveira M.C., 2000, Development of *Microcystis aeruginosa* (KUTZ.) KUTZ.(Cyanophyceae/Cyanobacteria) under cultivation and its taxonomic implications. Archiv für Hydrobiologie-Supplementband Only, 134, 29-38.

Boyd C.E., Tucker C.S., 1998, Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA.

- Carmichael W.W., Boyer G.L., 2016, Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. *Harmful algae*, 54, 194-212.
- CETESB (São Paulo), 2016, Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2016. Parte 1: águas doces, Série Relatórios / CETESB, ISSN 0103-4103, São Paulo, 562 p, <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>.
- _____ (São Paulo), 2017, Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2017. Série Relatórios / CETESB, ISSN 0103-4103, São Paulo, 287 p, <http://aguasinteriores.cetesb.sp.gov.br/publicacoes-e-relatorios/>. ISBN 978-85-9467-018-2.
- Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S., 2005, Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharmacol*, 203, p. 264-272.
- CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente, resolução nº 357, de 17 de março de 2005.
- Crossetti L.O., Bicudo C.E.D.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(1), 71-85.
- Cybis L.F., Bendati M.M., Maizonave C.M., Werner V.R., Domingues C.D., 2006, Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em mananciais de abastecimento público: caso da represa Lomba do Sabão e Lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro, ABES, 16-24.
- Degefu F., Mengistu S. Schagerl M., 2011, Influence of fish cage farming on water quality and plankton in fish ponds: a case study in the Rift Valley and North Shoa reservoirs, Ethiopia. *Aquaculture*, 316, 129-135.
- Diaz M.M., Temporetti P.F., Pedrozo F.L., 2001, Response of phytoplankton to enrichment from cage fish farm waste in Alicura Reservoir (Patagônia, Argentina). *Lakes & Reservoirs, Researcher and Mangement*, 6, 151-158.
- Dow C.S., Swoboda U.K., 2000, Cyanotoxins. In: *The ecology of Cyanobacteria* Springer, Dordrecht, 613-632.

- Drobac D., Tokodi N., Lujć J., Marinović Z., Subakov-Simić G., Dulić T., Svirčev, Z., 2016, Cyanobacteria and cyanotoxins in fishponds and their effects on fish tissue. *Harmful Algae*, 55, 66-76.
- Duong T.T., Jähnichen S., Le T.P.Q., Ho C.T., Hoang T.K., Nguyen T.K., Vu T.N. and Dang, D.K., 2014, The occurrence of cyanobacteria and microcystins in the Hoan Kiem Lake and the Nui Coc reservoir (North Vietnam). *Environmental earth sciences*, 71(5), pp. 2419-2427.
- Falconer I.R., 2005, Is there a human health hazard from microcystins in the drinking water supply?. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 33(1), 64-71.
- Falconer I.R., Humpage A.R., 2005, Health Risk Assessment of Cyanobacterial (Blue-green Algal) Toxins in Drinking Water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2(1), 43-50.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2018, The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, pp. 227.
- Flores N.M., Miller T.R., Stockwell J.D., 2018, A global analysis of the relationship between concentrations of microcystins in water and fish. *Frontiers in Marine Science*, 5, 30.
- Giné H., Bergamin H., Zagatto E.A.G., and Reis B.F., 1980, Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, vol. 114, p. 191-197.
- Greer B., Maul R., Campbell K., Elliott C.T., 2017, Detection of freshwater cyanotoxins and measurement of masked microcystins in tilapia from Southeast Asian aquaculture farms. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 409(16), 4057-4069.
- Guo L., Li Z., 2003, Effect of nitrogen and phosphorus from fish cage on the communities of shallow lake in middle Yangtze River basin of China. *Aquaculture*, 226, 201-212.
- Jakubowska N., Szelać-Wasielewska E., 2015, Toxic picoplanktonic cyanobacteria. *Marine drugs*, 13(3), 1497-1518.

- Jieng Z., Liao Y., Liu J., Shou L., Chen Q., Yan X., Zhu G., Zeng J., 2013, Effects of fish farming on phytoplankton community under the thermal stress caused by a power plant in a eutrophic, semienclosed bay: Induce toxic dinoflagellate (*Prorocentrum minimum*) blooms in cold seasons. *Mar. Pollut. Bull.* 76, 315–324.
- Jochimsen E.M., Carmichael W.W., An J.S., Cardo D.M., Cookson S.T., Holmes C.E.M., Antunes M.B.C., Melo-Filho D.A., Lyra T.M., Barreto V.S.T., Azevedo S.M.F.O. and Jarvis W.R., 1998, Liver failure and death following exposure to microcystins toxins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine.* v. 338, 873-888.
- Kankaanpää H.T., Holliday J., Schröder H., Goddard T.J., von Fister R., Carmichael W.W., 2005, Cyanobacteria and prawn farming in northern New South Wales, Australia—a case study on cyanobacteria diversity and hepatotoxin bioaccumulation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203(3), 243-256.
- Komárek J., 2003, Coccoid and colonial cyanobacteria. *Freshwater Algae of North America, Ecology and Classification*, Academic Press, New York, NY, 59-116.
- Komárek J., 2013, Cyanoprokaryota. 3. Heterocytous genera. In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. & Schagerl M. (eds), *Süßwasserflora von Mitteleuropa/Freshwater flora of Central Europe*, Springer Spektrum Berlin, Heidelberg, p. 1130.
- Komárek J. and Anagnostidis K., 1999, Cyanoprokaryota. 1. Teil Chroococcales. In: H. Ettl, G. Gärtner, H. Heying & D. Möllenhauer (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 1-548.
- Komárek J. and Anagnostidis K., 2005, Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner & M. Schagerl (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München, pp. 1-759.
- Komárek J., Azevedo M.T.P., Legnerová J.K., Sant'Anna C.L. and Senna P.A.C., 2002, Two common *Microcystis* species (Chroococcales, Cyanobacteria) from tropical America, including *M. panniformis* sp.nov. *Cryptogamie Algologie* 23:159-177.

- Lombardo M., Pinto F.C.R., Vieira J.M.S., Honda R.Y., Pimenta A.M., Bemquerer M.P., Kiyota S., 2006, Isolation and structural characterization of microcystin-LR and three minor oligopeptides simultaneously produced by *Radiocystis fernandoi* (Chroococcales, Cyanobacteria): A Brazilian toxic cyanobacterium. *Toxicon*, 47(5), 560-566.
- Lund J.W.G., Kipling C., and Lecren E.D., 1958, The invert microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11:143-170.
- Magalhães V.F., Soares R.M., Azevedo S.M.F.O., 2001, Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon*, Austrália, 39, 1077-1085.
- Mallasen M., Barros H.P., Traficante D.P., Camargo A.L.S., 2012, Influence of a net cage tilapia culture on the water quality of the Nova Avanhandava reservoir, São Paulo State, Brazil. *Acta Sci. Biol. Sci.*, 34, 289–296.
- Meriluoto J. and Codd G.A., 2005, *TOXIC: Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. Åbo, Finland: Åbo Akademi University Press.
- Miranda T.O., Lima H.S., Galon B., Veronez A.C., Moretti M.S., Roper J.J., Gomes L.C., 2016, Changes in water quality and the phytoplankton community associated with tilapia cage farming in tropical lakes. *Aquat. Living Resour.*, 29, 403.
- Mowe M.A., Mitrovic S.M., Lim R.P., Furey A., Yeo, D.C., 2015, Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. *Journal of Limnology*.
- Neto R.M., Nocko H.R., Ostrensky A., 2015, Environmental characterization and impacts of fish farming in the cascade reservoirs of the Paranapanema River, Brazil. *Aquaculture Environment Interactions*, 6, 255-272.
- Nush E.A., 1980, Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Hydrobiologia*, vol. 14, p. 14-36.

- Rigosi A., Carey C.C., Ibeling, B.W., Brookes, J.D., 2014, The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. *Limnology and Oceanography*, 59(1), 99-114.
- Rodgers J.H.Jr., 2008, Algal toxins in pond aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center. Publication N°. 4605.
- Rosini E.F., Tucci A., do Carmo C.F., Rojas N.E.T., de Barros H.P., Mallasen, M., 2016, Changes in phytoplankton spatial and temporal dynamics in a Brazilian tropical oligotrophic reservoir after net cage installation. *Brazilian Journal of Botany*, 39(2), 569-581.
- Sant'Anna C.L., Azevedo M.D.P., 2000, Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia*, 71(3-4), 359-386.
- Sant'Anna C.L., Azevedo M.T.D.P., Werner V.R., Dogo C.R., Rios F.R., de Carvalho L.R., 2008, Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. *Algological studies*, 126(1), 251-265.
- Sartori A.G.O., Amancio R.D., 2012, Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança alimentar e nutricional*, 19(2), 83-93.
- Schlüter L., David G.S., Jørgensen N.O., Podduturi R., Tucci A., Dias A.S. and da Silva R.J., 2018, Characterization of phytoplankton by pigment analysis and the detection of toxic cyanobacteria in reservoirs with aquaculture production. *Aquaculture Environment Interactions*, 10, p. 35-48.
- Smith V.H., 1986, Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green algae in lake phytoplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(1), 148-153.
- Soares M.C.S., Huszar V.L., Miranda M.N., Mello M.M., Roland F., Lüring M., 2013, Cyanobacterial dominance in Brazil: distribution and environmental preferences. *Hydrobiologia*, 717(1), 1-12.
- Strickland J.D.H. and Parsons T.R.A., 1960, A manual of seawater analysis. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, vol. 125, p. 1-185.

- Thomann R.V., Mueller J.A., a Mueller J., 1987, Principles of surface water quality modeling and control. New York, Harper & Row, 12, p. 644).
- Toledo Jr. A.P., Talarico M., Chinez S.J. and Agudo E.G.A, 1983, Aplicação de modelos simplificados para a avaliação de processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais, Camboriú, Anais do 12º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental.
- Utermöhl H., 1958, Zur Vervollkommung der quantativen phytoplankton-methodik. Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 9: 1-38.
- Valderrama J.C., 1981, The simultaneous analysis of nitrogen and phosphorus total in natural waters. Marine Chemistry, vol. 10, p. 109-122.
- WHO 1998. The World Health Report. 1998. Life in the 21st Century - A Vision for All. WHO, Geneva. 241 pp.
- Zhang Y., Bleeker A., Liu J., 2015, Nutrient discharge from China's aquaculture industry and associated environmental impacts. Environmental Research Letters, 10(4), 045002.

Capítulo 3

***Ceratium furcoides* (Levander) Langhans: first record in Nova Avanhandava reservoir,
Southeast Brazil ¹**

Artigo aceito para a Revista Hoehnea
<http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-74/2019>

Andréa Sampaio Dias² & Andréa Tucci²

ABSTRACT - (*Ceratium furcoides* (Levander) Langhans: first record in Nova Avanhandava reservoir, Southeast Brazil.). This is the first record of *Ceratium furcoides* in the Nova Avanhandava reservoir, São Paulo, whose samples were collected in three stations (S1, S2, S3) in March and October of the years 2015 and 2016. Physico-chemical analyzes of the water were performed. The reservoir was classified, according to the TSI, as mesotrophic. The first record of the species occurred in October 2015 at S3 and, the following year, the dispersion for the other stations was verified. The highest density of the species (28 org mL⁻¹) was recorded in October 2016. Similar values were documented in Furnas (MG) and Ilha Solteira (SP). The low density values of *C. furcoides* and the presence of phytoplankton groups with higher densities (Cyanobacteria and Cryptophyceae) suggest that the colonization of the species is at an early stage. Thus, studies about dispersion, dynamics, and interaction of *C. furcoides* with phytoplankton and the potential impacts on aquatic communities are essential to understand the responses of this species to environmental conditions.

Keywords: adaptative strategies, bioinvasion, mesotrophic, net cages

¹ Part of the Doctoral Thesis of the first Author

² Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Avenida Miguel Stéfano, 3687, 04101-902 São Paulo, SP, Brazil
Corresponding author: emunah.dias@gmail.com

RESUMO - (*Ceratium furcoides* (Levander) Langhans: primeiro registro no reservatório Nova Avanhandava, Sudeste do Brasil). Trata-se do primeiro registro de *Ceratium furcoides* no reservatório Nova Avanhandava, São Paulo, cuja as amostras foram coletadas em três estações (E1, E2, E3) em março e outubro dos anos de 2015 e 2016. Análises físico-químicas da água foram realizadas. O reservatório foi classificado, de acordo com o cálculo do IET como mesotrófico. O primeiro registro da espécie ocorreu em outubro de 2015 na E3 e, no ano seguinte, verificou-se a dispersão para as outras estações. A maior densidade da espécie (28 org mL^{-1}) foi registrada em outubro de 2016. Valores semelhantes foram documentados em Furnas (MG) e Ilha Solteira (SP). Os baixos valores de densidade de *C. furcoides* e a presença de grupos fitoplanctônicos com densidades superiores (Cyanobacteria e Cryptophyceae), sugerem que a colonização da espécie está no início. Assim, estudos sobre a dispersão, dinâmica e interação de *C. furcoides* com o fitoplâncton e os potenciais impactos sobre as comunidades aquáticas são essenciais para entender as respostas desta espécie às condições ambientais.

Palavras-chave: bioinvasão, estratégias adaptativas, mesotrófico, tanques-rede

Introduction

Reservoirs are habitats prone to bioinvasion, especially for ease of dispersion through the flow of water. The invasion of microscopic alien species in these environments is still poorly understood, and it is not possible to accurately estimate what impacts such species would promote to communities, including phytoplankton (Kastovsky *et al.* 2010, Silva *et al.* 2012). However, based on studies of invasion of alien species in other environments, it is possible to predict that the establishment of an invasive species may result in changes in species composition, diversity, and dominance, and in primary production (Elbrächter 1999, Ricciardi & Kipp 2008, Souza *et al.* 2009, Vitule & Prodocimo 2012).

Species of the genus *Ceratium* are considered invasive in continental aquatic environments of South America (Silva *et al.* 2012, Pereira *et al.* 2013, Cavalcante *et al.* 2016, Crossetti *et al.* 2019).

The species *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans demonstrates easy adaptation to different temperatures, trophies and physical and chemical conditions of the water thus presenting rapid dispersal and establishment in tropical reservoirs, including Brazilian ones, whose records of the species have been frequent (Santos-Wisniewski *et al.* 2007, Matsumura-Tundisi *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2011, Cavalcante *et al.* 2013, Jati *et al.* 2014, Nishimura *et al.* 2015, Oliveira *et al.* 2016, Rosini *et al.* 2016, Campanelli *et al.* 2017, Silva *et al.* 2018, Roriz *et al.* 2019).

The increase in the density of *C. furcoides* and the formation of blooms in tropical reservoirs is mainly associated with the availability of nutrients (Matsumura-Tundisi *et al.* 2010, Silva *et al.* 2012). In this way, reservoirs that receive external loads of nutrients or where intensive activities are carried out, such as the creation of fish in net cages, become environments conducive to the mass development of the species in question. In this context, the aim of this work was to document the first occurrence of *Ceratium furcoides* in the Nova Avanhandava reservoir, one of the three main centers of the fish farm in State of São Paulo.

Materials and Methods

Ceratium furcoides (Levander) Langhans was identified from phytoplankton sampling carried out during the development of a doctorate degree project in which three reservoirs from the State of São Paulo with fish farms were sampled: Chavantes, Nova Avanhandava, and Ilha Solteira. In this study, we documented the first record of the species in Nova Avanhandava Reservoir.

Study area - The reservoir of the Nova Avanhandava Hydroelectric Plant (21°07'01" S and 50°12'06" W) is located in Buritama city and is in Baixo Tietê Basin (figure 1). It presents an area of 210 km², a maximum depth of 30 m and residence time of 46 days. Nova Avanhandava is the penultimate reservoir of a system of consecutive lakes, with the reservoirs of Promissão upstream of it and Três Irmãos downstream.

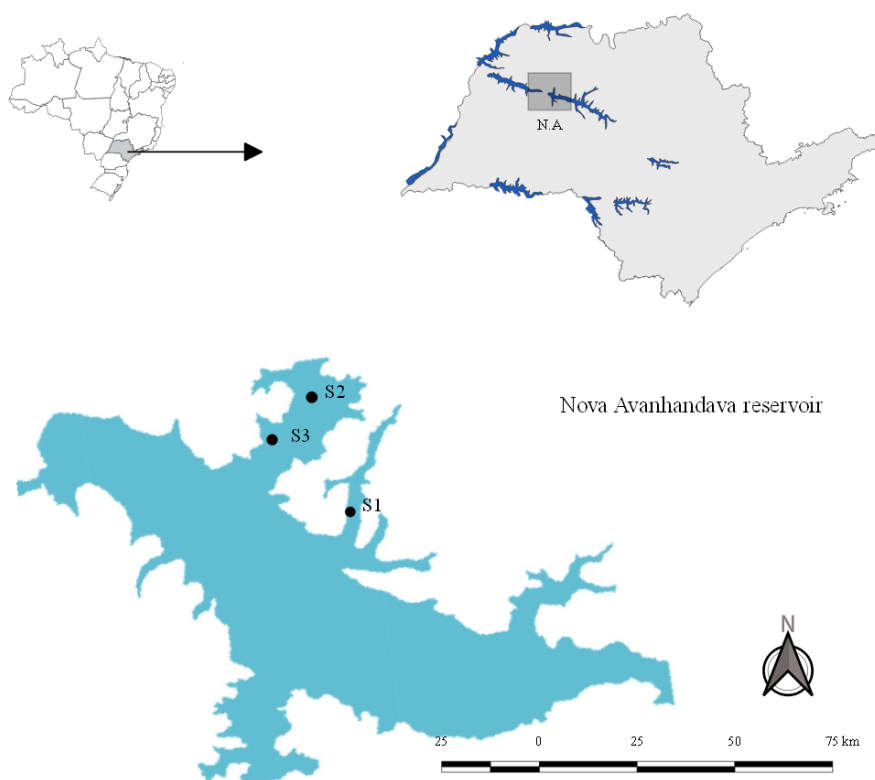


Figure 1. Location of São Paulo State and Nova Avanhandava reservoir (N.A). In detail, the map of Nova Avanhandava reservoir showing the location of the three samplings stations (S1, S2, and S3).

Samplings were carried out in the subsurface of the water column in March and October of 2015 and of 2016 in three sampling stations (S1, S2 and S3) corresponding to the three different fish farms (f) of creation and their respective upstream areas (u) and downstream (d) ($n = 28$). S2 is located upstream of S3 and, consequently, only upstream and downstream were sampled for the two stations. *In situ* measurements of dissolved oxygen (mg L^{-1}), pH, water temperature ($^{\circ}\text{C}$) and electrical conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$) were carried out by the EXO YSI multi-parameter probe. The water transparency (m) was estimated by the disappearance of the Secchi disk. (Esteves 2011). The concentrations of total phosphorus ($\mu\text{g L}^{-1}$) and total nitrogen ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Valderrama 1981), orthophosphate ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Strickland & Parsons 1960), ammonium ion ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Apha *et al.* 2005), nitrite ($\mu\text{g L}^{-1}$) e nitrate ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Giné *et al.* 1980) were determined. The Trophic State Index (TSI) was calculated according to Lamparelli (2004).

For the phytoplankton taxonomic study, the samples were obtained with 20 μm mesh plankton net and fixed *in situ* with formaldehyde in the final concentration of 4 to 5%. The phytoplankton community was identified using an optical microscope with a capture camera, specialized bibliography and measurements were obtained with the aid of the Axio Vision 4.8 program. The identification of the *Ceratium furcoides* species (n= 25) was performed according to Santos-Wieniewski *et al.* (2007) and Cavalcante *et al.* (2013).

Samples referring to the first records of *C. furcoides* in the Nova Avanhandava reservoir are deposited in the collection of Herbário Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo of the Institute de Botânica of São Paulo State.

Samples for quantitative analysis were collected with a Van Dorn bottle and fixed *in situ* with 1% Lugol solution. The count of the phytoplanktonic community and consequently of the populations of *Ceratium furcoides* was carried out by the method of Utermöhl (1958). The results of the densities were expressed in org mL^{-1} and the biomass was estimated by calculating the biovolume based on the work of Hillebrand *et al.* (1999) and Fonseca *et al.* (2014).

Descriptive statistics were performed: mean and standard deviation of limnological variables and nutrients.

Results

Nova Avanhandava presented at the sampling stations, high conductivity, neutral pH and temperature ranging between 23°C and 29 °C. As for the trophic level, the seasons were classified as mesotrophic in all samples (mean TSI: 59). The mean values of the physical, chemical and nutrient variables recorded at the sampling stations are presented in Table 1 and 2.

Tabela 1: Mean, minimum and maximum values of the physical (WT: Water Temperature, Turb.: Turbidity) and chemical variables (DO: Dissolved Oxygen, Cond.: Conductivity, pH, Chl α : Chlorophyll- α) measured at the three samplings stations.

		WT (°C)	DO (mg L⁻¹)	pH	Cond. (μS cm⁻¹)	Transp. (m)	Turb. (UNT)	Chl-α (μg L⁻¹)
S1	Mean (n = 12)	27	8	8	207	2	4	12
	Min	24	5	8	139	1	3	2
	Max	29	12	9	253	4	7	47
S2	Mean (n = 8)	27	7	8	193	2	2	14
	Min	23	4	7	150	1	1	3
	Max	29	11	9	225	2	4	71
S3	Mean (n = 8)	27	8	8	207	3	2	12
	Min	23	5	7	150	1	1	1
	Max	29	13	9	237	5	3	49

Tabela 2: Mean values and standard deviation of nutrients concentrations for the samplings stations in Nova Avanhandava reservoir, recorded in March and October 2015, and March and October 2016.

	Total N (μg L⁻¹)	Nitrite (μg L⁻¹)	Nitrate (μg L⁻¹)	Ammonium (μg L⁻¹)	Total P (μg L⁻¹)	Ortofosfate (μg L⁻¹)
S1	1074 $\pm$ 550,6	4,2 $\pm$ 2,3	99 $\pm$ 28,7	292 $\pm$ 98,3	27,7 $\pm$ 6,9	10,4 $\pm$ 2,2
S2	1117,4 $\pm$ 638,8	2,9 $\pm$ 1,2	101,8 $\pm$ 35,8	209,9 $\pm$ 98,4	25,9 $\pm$ 6,7	10,3 $\pm$ 3,0
S3	1325,8 $\pm$ 656,1	4,1 $\pm$ 1,9	108,9 $\pm$ 31,3	360,3 $\pm$ 80,0	31,8 $\pm$ 9,0	12,9 $\pm$ 2,2

During the study period, we identified 156 taxa distributed in 12 taxonomic groups: Cyanobacteria (33 taxa), Chlorophyceae (33 taxa), Cryptophyceae (nine taxa), Bacillariophyceae (six taxa), Euglenophyceae (6 taxa), Trebouxiophyceae (6 taxa), Coscinodiscophyceae (4 taxa), Chrysophyceae (four taxa), Zygnemophyceae (four taxa), Dinophyceae (two taxa), Choanoflagellata (one taxa), Klebsormidiophyceae (one taxa).

Ceratium furcoides (Levander) Langhans (1925). Published in: Langhans, V.H. (1925). Gemischte Populationen von *Ceratium hirundella* (O.F.M) schrank und ihre Deutung. Archiv für Protistenkunde 52: 585-602. Figure 2.

Basionym - *C. hirundinella* var. *furcoides* Levander

Cells slightly fusiform, flattened dorsiventrally, 46-58 µm wide, 185-274 µm in length, reticulated plates. The epitheca is conical with a long horn formed above the cingulum, with four apical plates (1', 2', 3' and 4'). The hypovalve is large and small, with two or three posterior horns of varied sizes formed by antapical plates (1''' and 2'''). Chloroplasts are oval-shaped and numerous. Planktonic habit.

Comments - Some specimens presented morphological variation characterized by the third horn, which makes them similar to *C. hirundinella*, however, Bourrelly (1970) points out that variations in the number and size of horns are linked to environmental changes such as temperature. Thus, the confirmation of the *C. furcoides* populations was carried out observing that the fourth apical plate (4') does not reach the apex of the epitheca.

Material examined - BRAZIL. São Paulo: Zacarias, Nova Avanhandava reservoir, 11-III-2016, A.Dias s.n. (SP470024); idem, 03-X-2015, A.Dias s.n. (SP470025); idem, 03-X-2015, A.Dias s.n. (SP470026); idem, 05-X-2016, A.Dias & A.Tucci s.n. (SP470027); idem, 05-X-2016, A.Dias & A.Tucci s.n. (SP470028).

Distribution - They occur from oligotrophic lakes and reservoirs to eutrophic ones. There are records of the species on all continents. (Guiry 2019). In Brazil, there are records in almost all regions, except for the Northern Region (Flora do Brasil 2020 - under construction, Silva *et al.* 2018).



Figure 2. Specimens of *Ceratium furcoides* found in Nova Avanhandava reservoir (S2) (SP470024 and SP470025): a. ventral view; b. dorsal view; c e d. lateral views.

The first occurrence of populations of *C. furcoides* in the Nova Avanhandava reservoir occurred in October 2015 (S2u) and remained in the other samples: March 2016 (S1u) e October 2016 (S1u, S2f1, S3f2). The density and biovolume of *C. furcoides* were low in comparison to the other organisms of the phytoplankton community recorded together, being the highest values (density: 28 org mL⁻¹; biovolume: 0,442 mm³ L⁻¹) for the species registered upstream of S1 (u), in October 2016 (figure 3 a and b).

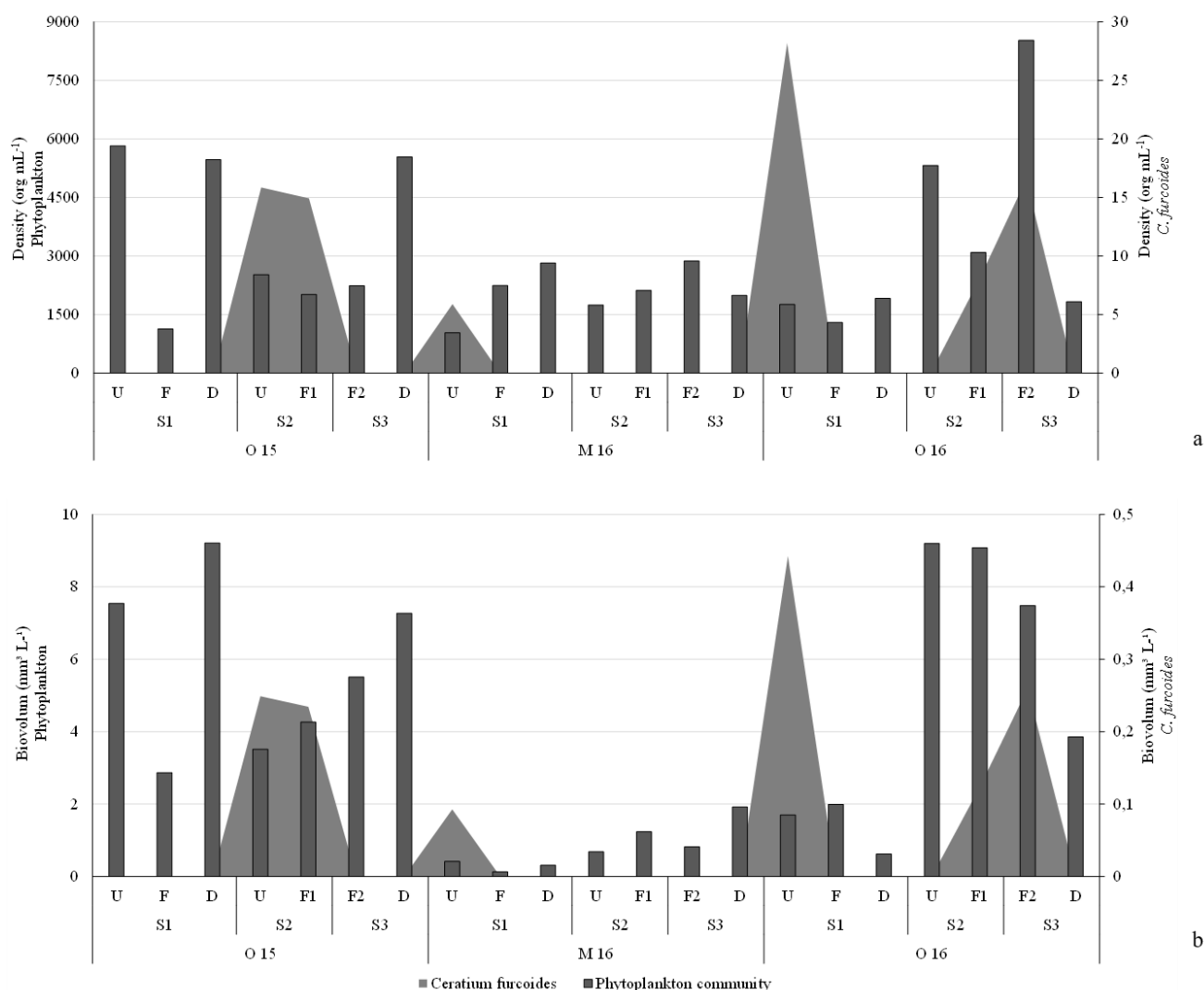


Figure 3. Total density (org mL^{-1}) (a.) and biovolume ($\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$) (b.) of the *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans in compared to phytoplanktonic classes at the six samplings stations (upstream: U, fish farm: F and downstream: D) during the period of 2015 and 2016. On the left, scale of the phytoplankton community (bars graph). On the right, scale of the species *Ceratium furcoides* (area graph).

Discussion

Since its first occurrence of *Ceratium furcoides* in 2007 on Furnas reservoir in Minas Gerais, 13 new studies have been published, whose results document the dispersion of the species to all regions of Brazil, except the Northern Region (Santos-Wisniewski 2007, Matsumura-Tundisi *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2011, Pires *et al.* 2012, Cavalcante *et al.* 2013, Cassol *et al.* 2014, Jati *et al.*

2014, Moreira *et al.* 2015, Nishimura *et al.* 2015, Cavalcante *et al.* 2016, Silva *et al.* 2018, Crossetti *et al.*, 2019, Roriz *et al.* 2019). In the State of São Paulo, the specie has been registered on the reservoirs: Billings (Matsumura-Tundisi *et al.* 2010), Barra Bonita, Itupararanga and Mirinheirinho (Pires *et al.* 2012), Billings and Guarapiranga (Nishimura *et al.*, 2015), Jaguari e Jacaré (Hackbart *et al.*, 2015), Ilha Solteira (Rosini *et al.*, 2016), Lago das Garças (Crossetti *et al.*, 2019). This work is the first record of the occurrence of the species for the Nova Avanhandava reservoir in the State of São Paulo, Southeastern Region.

The records of *C. furcoides* in such distinct aquatic environments demonstrate the great ecophysiological plasticity of the species. In addition, *Ceratium* presents important adaptive strategies for the development and establishment in tropical reservoirs such as encystment (resistance to sedimentation, dispersion capacity, population survival), mobility and low predation by zooplankton (Hickel 1988, Pollinger 1988, Xie *et al.* 1998, Cavalcante *et al.* 2016).

We do not have results that indicate concretely how the species was introduced into the reservoir in question, but we considered a passive dispersion of cysts or specimens from Barra Bonita reservoir, whose species had previously been recorded by Pires *et al.* (2012), carried by the water flow of the central body of the reservoir where the endorheic river Tietê flows. However, other forms of dispersal should also be considered: transport of specimens or their form of resistance attached to birds and aquatic insects moving between reservoirs or by anthropic intervention, as mentioned by Kristiansen (1996) and Meichtry *et al.* (2014) or consider *Ceratium* propagules already existing in the sediment, but which only now did they become available for invasion (Reynolds 1996, Rengefors *et al.* 2004, Padisák 2010).

The literature indicates that some limnological variables are essential in the establishment of populations of *C. furcoides*. Thus, it has been observed the dominance of dinoflagellates, including the *Ceratium* genus in mesotrophic conditions (Periotto *et al.* 2007, Santos-Wisniewskis *et al.* 2007, Silva *et al.* 2018) and development of *C. furcoides* between 10° e 25°C (Cassol *et al.* 2014, Cavalcante

et al. 2016) and recurrence of the species in environments with high transparency associated with lower stability of the water column and also at high concentrations of ammonia and nitrite.

New Avanhandava is one of the three largest fish farming centers of São Paulo and as well as all economic activity fish farming is likely to cause pollution in the environment. In this case, the continuous and pronounced nutrient discharge from fish feeds and metabolism effectively alter the phytoplankton community, favoring the development of certain groups over the decrease of others, as well as favoring the establishment of invasive species (Mack *et al.* 2000, Degefu *et al.* 2011).

In this study, the maximum value of density and biovolume of *C. furcoides* was, respectively, 28 org mL⁻¹ and 0,442 mm³ L⁻¹ recorded in S1(Oct/16). Density values are extremely low compared to densities in other São Paulo reservoirs recorded by Matsumura-Tundisi *et al.* (2010) (535 ind.mL⁻¹) on the Taquacetuba arm at the Billings dam or by Hackbart *et al.* (2015) on Jaguari dam (131.954,0 ind.mL⁻¹) and low biomass compared to the records of Nishimura *et al.* (2015) on Billings dam (5,7 mm³ L⁻¹) and on Guarapiranga (2,6 mm³ L⁻¹), of Rosini *et al.* (2016) on Ilha Solteira (15,698 mm³ L⁻¹) and of Crossetti *et al.* (2019) on Lago das Garças (12,3 µg L⁻¹).

Based on the limnological and phytoplankton community results obtained and based on reports in the literature of limnological conditions of the others Brazilian environments in which *C. furcoides* has been registered, it can be said that Nova Avanhandava has environmental conditions favorable to the adaptive success of the species since both the maximum density and the peaks above 15 org mL⁻¹ of *C. furcoides* recorded in Oct/15 (u and f1 of S1) and Oct/16 (u S1 and f2 S3) were associated with high values of electrical conductivity and at temperatures of 24° C and high dissolved inorganic nitrogen values, principally in the fish farm areas. However, the low density and biovolume values, as well as the absence of *C. furcoides* in other sampled compartments, suggest that the colonization of the species is at an early stage.

At first, were not observed changes of phytoplankton due to the presence of *C. furcoides* on this aquatic environment, it was found that other phytoplankton groups (Cyanobacteria and

Cryptophyceae) showed high densities / biovolumes compared to *C. furcoides*, which corroborates the hypothesis that the species is in the process of colonization of the reservoir, establishing competition with the other species for nutrients due to its migration capacity vertical in the water column (Stephaniak *et al.* 2007, Cassol *et al.* 2014, Moreira *et al.* 2015, Almanza *et al.* 2016).

Punctual records in different environments and some possible equivocal identifications of *Ceratium* species may be underestimating the invasion of the species in the Brazilian territory since the species demonstrate a great capacity of dispersion and adaptation to different conditions. Thus, a greater number of studies in aquatic environments with similar limnological conditions and consequently their sediments (to verify the presence of cysts) could indicate if *C. furcoides* is already dispersed but not yet registered. From our results, we can suggest more specific studies in the Nova Avanhandava reservoir that establish the dispersion forms of *Ceratium furcoides* as well as studies that identify the closest aquatic environments that are favorable to the bioinvasion of the species and later studies to understand the relationships with the other groups of phytoplanktonic algae in addition to evaluating the consequences of establishing the species for the ecosystem.

Acknowledgments - The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, for funding the Doctorate degree of the first Aauthor; to thank the FAPESP (grant 2013/50504-5), for funding the IMPCON Thematic Project of which the Doctoral Project was part, and all integrants of IMPCON group, especially the coordinator Reinaldo José da Silva.

Literature cited

Almanza, V., Bicudo, C. E. M., Parra, O. & Urrutia, R. 2016. Características morfológicas y limnológicas de las floraciones de *Ceratium furcoides* (Dinophyta) en un lago somero de Chile Central. *Limnetica* 35(1): 253-268.

- APHA, Awwa. WEF.** 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington, D.C: APHA - American Public Health Association, AWWA - American Water Works Association, and WPCF - Water Pollution Control Federation, Estados Unidos.
- Bourrelly, P.** 1970. Les Algues D'eau Douce. Initiation à la Systématique. Tome III: Les Algues bleues et rouges, Les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines. Paris VI: Boubée & Cie. France.
- Campanelli, L. C., Tundisi, J. G., Abe, D. S., Sidagis-Galli, C., & Matsumura-Tundisi, T.** 2017. Record of the occurrence of dinoflagellate *Ceratium furcoides* in a fish farming lake located in the countryside of São Carlos (SP, Brazil). Brazilian Journal of Biology 77(2): 426-427.
- Cassol, A. P. V., Pereira Filho, W., Oliveira, M. A., Domingues, A. L., Correa, F. S. & Buriol, G. A.** 2014. First record of a bloom of the invasive species *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 in Rio Grande do Sul state, Brazil. Brazilian Journal of Biology 74: 515–517.
- Cavalcante, K. P., Zanotelli, J. C., Müller, C. C., Scherer, K. D., Frizzo, J. K., Ludwig, T. A. V., & de Souza Cardoso, L.** 2013. First record of expansive *Ceratium* Schrank, 1793 species (Dinophyceae) in Southern Brazil, with notes on their dispersive patterns in Brazilian environments. Check List 9(4): 862-866.
- Cavalcante, K. P., de Souza Cardoso, L., Sussella, R., & Becker, V.** 2016. Towards a comprehension of *Ceratium* (Dinophyceae) invasion in Brazilian freshwaters: autecology of *C. furcoides* in subtropical reservoirs. Hydrobiologia 771(1): 265-280.
- Crossetti, L. O., de Campos Bicudo, D., Bini, L. M., Dala-Corte, R. B., Ferragut, C., & de Mattos Bicudo, C. E.** 2019. Phytoplankton species interactions and invasion by *Ceratium furcoides* are influenced by extreme drought and water-hyacinth removal in a shallow tropical reservoir. Hydrobiologia 831(1): 71-85.
- Degefu, F., Mengistu, S., & Schagerl, M.** 2011. Influence of fish cage farming on water quality and plankton in fish ponds: A case study in the Rift Valley and North Shoa reservoirs, Ethiopia. Aquaculture. 316(1-4): 129-135.
- Elbrächter, M.** 1999: Exotic flagellates of coastal North Sea waters. Helgol. Meeresunt

52: 235–242.

Esteves, F.A. 2011. Fundamentos de Limnologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência. Rio de Janeiro.

Flora do Brasil 2020 (em construção). Dinophyceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB124330> (last accessed: 14-V-2019).

Fonseca, B. M., Ferragut, C., Tucci, A., Crossetti, L. O., Ferrari, F., Bicudo, D. D. C., ... & Bicudo, C. E. D. M. 2014. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. *Hoehnea* 41(1): 9-30.

Giné, M. F., Zagatto, E. A. G., & Reis, B. F. 1980. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta* 114: 191-197.

Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2019. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland. Galway. Disponível em <http://www.algaebase.org>. (last accessed: 14-V-2019).

Hackbart, V. C. S., Marques, A. R. P., Kida, B. M. S., Tolussi, C. E., Negri, D. D. B., Martins, I. A., ... & Silva, S. C. D. 2015. Avaliação expedita da heterogeneidade espacial horizontal intra e inter reservatórios do sistema Cantareira (represas Jaguari e Jacarei, São Paulo). *Ecologia de reservatórios e interfaces*. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 96-108.

Heaney, S. I. & J. F. Talling. 1980. Dynamic aspects of dinoflagellate distribution patterns in a small productive lake. *Journal of Ecology* 68: 75–94.

Hickel, B. 1988. Sexual reproduction and life cycle of *Ceratium furcoides* (Dinophyceae) in situ in the lake Plubsee (F.R.). *Hydrobiologia* 161: 41–48.

Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollingher, U., & Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35(2): 403-424.

Jati, S., Rodrigues, L. C., Bortolini, J. C., Paula, A. C. M., Moresco, G. A., Reis, L. M., ... & Train, S. 2014. First record of the occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans (Dinophyceae) in the Upper Paraná River Floodplain (PR/MS), Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 74(3): 235-236.

- Kastovsky, J., Hauer, T., Mares, J., Krautova, M., Besta, T., Komarek, J., Desortova, B., Hetesa, J., Hindakova, A., Houk, V., Janecek, E., Kopp, R., Marvan, P., Pummann, P., Skacelova, O. & Zapomelova, E.** 2010. A review of the alien and expansive species of freshwater cyanobacteria and algae, a case study from the Czech Republic. *Biological Invasions* 12(10): 3599-3625.
- Kristiansen, J.** 1996. Dispersal of freshwater algae – a review. *Hydrobiologia* 336: 151 – 157.
- Lamparelli, M. C.** 2004. Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Langhans, V.H.** 1925. Gemischte Populationen von *Ceratium hirundella* (O.F.M) schrank und ihre Deutung. *Archiv für Protistenkunde* 52: 585-602.
- Mack, R. N.** 2000. Cultivation fosters plant naturalization by reducing environmental stochasticity. *Biological Invasions*, 2(2): 111-122.
- Matsumura-Tundisi, T., Tundisi, J. G., Luzia, A. P., & Degani, R. M.** 2010. Occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 bloom at the Billings Reservoir, São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 70(3): 825–829.
- Meichtry, N. Z., Boltovskoy, A., Rojas, C. C. & Rodriguez, R. M.** 2014. Primer registro del dinoflagelado invasor *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 en la Argentina y su distribución en el área de influencia del Embalse Yacyretá (río Paraná, Argentina-Paraguay). *Limnetica* 33(1): 153-160.
- Moreira, R.A., Rocha, O., Santos, R.M., Laudares-Silva, R., Dias, E.S. & Eskinazi-Sant'Anna, EM.** 2015. First record of *Ceratium furcoides* (Dinophyta), an invasive species, in a temporary high-altitude lake in the Iron Quadrangle (MG, Southeast Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 75(1): 98-103.
- Nishimura, P. Y., Pompêo, M., & Moschini-Carlos, V.** 2015. Invasive dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans in two linked tropical reservoirs. In: Pompêo, M., Moschini-Carlos, V., Nishimura, P. Y., Silva, S.C. & López Doval, J.C.[Eds.]. *Ecologia de reservatórios e interfaces*. Instituto de Biociências, USP, SP, pp. 132-142.

- Oliveira, F.H.P.C., Macêdo, I.M.E., Moreira, C.H.P., Shinohara, N.K.S., Lira, O.O. and Ramalho, W.P.** 2016. Occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 (Dinophyceae: Ceratiaceae) in two reservoirs of the Capibaribe watershed located in Semiarid region. *Revista GEAMA* 6(1): 25-33.
- Oliveira, H. S., Moura, A., & Cordeiro-Araújo, M.** 2011. First record of *Ceratium* Schrank, 1973 (Dinophyceae: Ceratiaceae) in freshwater ecosystems in the semiarid region of Brazil. *Check List* 7(5): 626-628.
- Pereira, H.M., Ferrier, S., Walters, M., Geller, G.N., ... & Wegmann, M.** 2013. Essential Biodiversity Variables. *Science* 339: 277–278.
- Periotto, M., Prósperi, C., Daga, C. & Rincón, A.** 2007. Estudio de *Ceratium hirundinella* en El Embalse La Quebrada, Córdoba, Argentina. *In: International Congress on Development Environment and Natural Resources: Multi-level and Multi-scale Sustainability*. Cochabamba, Bolívia.
- Pires, D.A., Carvalho, M. C., Morandini, M. & Lamparelli, M. C.** 2012. Ocorrência de *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 em Reservatórios do Estado de São Paulo, SP–Brasil. Available at: Anais do XIV Congresso Brasileiro de Ficologia <<http://www.sbfic.org.br/cbfic2012/ocs-2.3.4/index.php/xivcbfic/congresso/paper/view/29>> (last accessed 15-VII-2015).
- Pollinger, U.** 1988. Freshwater armored dinoflagellates: growth, reproduction strategies, and population dynamics. *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. 134-174.
- Ricciardi, A., & Kipp, R.** 2008. Predicting the number of ecologically harmful exotic species in an aquatic system. *Diversity and Distributions* 14(2): 374-380.
- Roriz, P. D. R. C., Batista, B. D., & Fonseca, B. M.** 2019. Primeiro registro da espécie invasora *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 (Dinophyceae) no lago Paranoá, Distrito Federal. *Oecologia Australis*.
- Rosini, E. F., Tucci, A., do Carmo, C. F., Rojas, N. E. T., de Barros, H. P., & Mallasen, M.** 2016. Changes in phytoplankton spatial and temporal dynamics in a Brazilian tropical oligotrophic reservoir after net cage installation. *Brazilian Journal of Botany* 39(2): 569-581.

- Santos-Wisniewski, M. J., L. C. Silva, I. C. Leone, R. Laudares-Silva & O. Rocha.** 2007. First record of the occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925, an invasive species in the hydroelectricity power plant Furnas Reservoir, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 67(4): 791–793.
- Silva, L. C. D., Leone, I. C., Santos-Wisniewski, M. J. D., Peret, A. C., & Rocha, O.** 2012. Invasion of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 at tropical reservoir and its relation to environmental variables. *Biota Neotropica* 12(2): 93-100.
- Silva, W. J., Nogueira, I. S., Melo-Magalhães, E. M. M., Benício, S. H. M., Pessoa, S. M., & Menezes, M.** 2018. Expansion of invasive *Ceratium furcoides* (Dinophyta) toward north-central Brazil: new records in tropical environments. *Acta Limnologica Brasiliensia* 30.
- Souza, R. C. C. L. D., Calazans, S. H., & Silva, E. P.** 2009. Impacto das espécies invasoras no ambiente aquático. *Ciência e Cultura* 61(1): 35-41.
- Stephaniak, K., Goldyn, R. & Kowalczywska-Madura, K.** 2007. Changes of summer phytoplankton communities in Lake Swarzedzkie in the 2000-2003 period. *International Journal of Oceanography and Hydrobiology* 36(1): 77-85.
- Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R.** 1960. A Manual of Sea Water Analysis: With Special Reference to the More Common Micronutrients and to Particulate Organic Material (No. 125). Fisheries Research Board of Canada.
- Taniwaki, R. H.** 2012. A comunidade perifítica e suas relações com a qualidade da água no reservatório de Itupararanga (SP, Brasil).
- Toledo, A. P. D., Talarico, M., Chinez, S. J., Agudo, E. G., & de Saneamento Ambiental, C. D. T.** 1983. Aplicação de modelos simplificados para avaliação do processo da eutrofização em lagos reservatórios tropicais. *In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Cetesb.* pp. 1-34.

- Utermöhl.** 1958. Zur vervollkommnung der quantative phyto-plankton-methodik. Mitteilungen aus Institut Verhein Lim-nologie 9:1–38. [For perfection of the quantitative phyto-plankton methodology.
- Valderrama, J. C.** 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10(2): 109-122.
- Vitule, J. R. S., & Prodocimo, V.** 2012. Introdução de espécies não nativas e invasões biológicas. *Estudos de Biologia* 34(83).
- Xie, P., T. Iwakuma & K. Fujii.** 1998. Changes in the structure of a zooplankton community during a *Ceratium* (Dinoflagellate) bloom in a eutrophic fishless pond. *Journal of Plankton Research* 20: 1663–1678.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A avaliação das características limnológicas nos compartimentos lacustres (montante, fazenda e jusante) destacou que há influência direta dos tanques-rede na qualidade da água dos reservatórios ao serem verificadas maiores concentrações de nutrientes e solutos nas áreas de fazenda de criação e à jusante delas;
- Os reservatórios, embora apresentando a mesma classificação trófica, foram completamente distintos quanto a comunidade fitoplanctônica (composição taxonômica, riqueza e diversidade), Chavantes apresentou baixa riqueza e diversidade e a comunidade foi representada principalmente pelo grupo das Cryptophyceae. Nova Avanhandava teve a maior riqueza, diversidade moderada e com maior contribuição de Cianobactérias. Enquanto que Ilha solteira, apresentou elevada riqueza, a maior diversidade e maior contribuição para a comunidade do grupo das Cryptophyceae;
- A variação temporal na estrutura da comunidade planctônica mostrou-se ligada as variáveis limnológicas que por sua vez foram influenciadas pela precipitação (estiagem) no período de estudo. Esta influência ficou clara ao verificar-se a presença (em Chavantes) ou densidades mais elevadas (em Nova Avanhandava e Ilha Solteira) de cianobactérias no ano de 2015;
- A utilização dos GFBM demonstrou com eficiência a sensibilidade da comunidade fitoplanctônica às condições abióticas de cada sistema;
- As espécies *Dolichospermum circinalis*, *D. planctonicum*, *Microcystis aeruginosa*, *M. protocystis*, *Planktothrix isothrix*, *Radiocystis fernandoi* e *Synechocystis aquatilis* citadas na literatura como produtoras de microcistinas foram registradas nos reservatórios;
- A elevada densidade de cianobactérias, em especial a sua abundância no reservatório Nova Avanhandava, refletiu em altas concentrações de microcistinas neste reservatório.

RECOMENDAÇÕES

- Estudos prévios de capacidade de suporte dos reservatórios, devem ser realizados antes da introdução de novos empreendimentos de tanques-rede, afim de manter o balanço ecológico dos reservatórios e garantir seus usos múltiplos.
- Também recomendamos que seja realizado o monitoramento mensal da qualidade da água, cianobactérias e microcistinas nos reservatórios com tanques-rede.
- Para o reservatório Nova Avandava nós recomendamos o acompanhamento sanitário da qualidade do pescado, em virtude dos elevados valores de microcistinas detectados na água.

ANEXO

Vol. 10: 35–48, 2018
<https://doi.org/10.3354/aei00256>

AQUACULTURE ENVIRONMENT INTERACTIONS
 Aquacult Environ Interact

Published February 7



Characterization of phytoplankton by pigment analysis and the detection of toxic cyanobacteria in reservoirs with aquaculture production

Louise Schlüter^{1,*}, Gianmarco S. David², Niels O. G. Jørgensen³, Raju Podduturi³,
 Andréa Tucci⁴, Andréa S. Dias⁴, Reinaldo José da Silva⁵

¹Environment and Toxicology, DHI, 2970 Hørsholm, Denmark

²São Paulo State Agribusiness Agency Technology at Jau, 17201-970, Brazil

³Section of Microbial Ecology and Biotechnology, Department of Plant and Environmental Sciences,
 University of Copenhagen, 1871 Frederiksberg, Denmark

⁴Ecology Department, Botanical Institute, 04301-902, São Paulo, Brazil

⁵UNESP Campus Botucatu, Institute of Biosciences, Parasitology Department, 18618-689 Botucatu, SP, Brazil



Characterization of phytoplankton by pigment analysis and the detection of toxic cyanobacteria in reservoirs with aquaculture production

Louise Schlüter^{1,*}, Gianmarco S. David², Niels O. G. Jørgensen³, Raju Podduturi³,
Andréa Tucci⁴, Andréa S. Dias⁴, Reinaldo José da Silva⁵

¹Environment and Toxicology, DHI, 2970 Hørsholm, Denmark

²São Paulo State Agribusiness Agency Technology at Jau, 17201-970, Brazil

³Section of Microbial Ecology and Biotechnology, Department of Plant and Environmental Sciences,
University of Copenhagen, 1871 Frederiksberg, Denmark

⁴Ficology Department, Botanical Institute, 04301-902, São Paulo, Brazil

⁵UNESP Campus Botucatu, Institute of Biosciences, Parasitology Department, 18618-689 Botucatu, SP, Brazil

ABSTRACT: The intensified use of water bodies and reservoirs for aquaculture production has increased the need for monitoring and early warning of toxins from cyanobacteria. To minimize effects from toxins, simple and fast analytical monitoring methods are crucial. Here, the content of pigments and microcystins in 14 different strains of cyanobacteria cultured under different growth conditions was investigated to determine the influence of light and nutrient starvation on pigment/chlorophyll *a* (chl *a*) ratios. The obtained pigment/chl *a* ratios were applied in the software CHEMTAX to calculate the biomass of toxic cyanobacteria, as well as other phytoplankton groups. CHEMTAX ratios from the laboratory cultures were applied to water samples collected during 4 sampling periods at 6 fish farms in different reservoirs in São Paulo State, Brazil. Cyanobacteria generally dominated in all reservoirs in all sampling periods and constituted on average 44 to 66 % of the average phytoplankton biomass. The concentrations of microcystins were significantly correlated with the chl *a* concentrations of cyanobacteria and showed that the pigment method can be used to detect microcystin-producing cyanobacteria in these Brazilian reservoirs. When the concentration of cyanobacteria in the reservoirs was above 4 µg chl *a* l⁻¹, microcystins were always detected. Our results show that pigment analysis can be used to provide fast and reliable results for the early warning, the presence and potential risk of toxic cyanobacteria in fresh-water reservoirs used for aquaculture.

KEY WORDS: Microcystins · Pigment analysis · Cyanobacteria · Phytoplankton composition · HPLC · Fish farm

INTRODUCTION

Cyanobacteria are widely distributed and can form dense blooms in lakes and reservoirs in both temperate, subtropical, and tropical regions (Willén et al. 2011). Many species of cyanobacteria produce toxic compounds, which have been shown to cause serious

health hazards for humans, livestock, and wildlife (Briand et al. 2003, Malbrouck & Kestemont 2006). Current knowledge on harmful blooms of cyanobacteria and climate change suggests that future eutrophication is likely to enhance the magnitude and frequency of these events (O'Neil et al. 2012). Aquaculture is a fast growing food sector, and

*Corresponding author: lsc@dhigroup.com

blooms of cyanobacteria may be the consequence of aquaculture production, since fish excreta and unassimilated feed can introduce eutrophic or hypereutrophic conditions into intensively operated fish farms (Smith et al. 2008). Many species of cyanobacteria are known to produce toxins. Among identified toxins are hepatotoxins (e.g. microcystins and nodularins), cytotoxins (e.g. cylindrospermopsin), neurotoxins (e.g. anatoxins and paralytic shellfish poisoning [PSP] toxins), dermatotoxins, tumor promoters, irritant toxins, etc. (Smith et al. 2008). The hepatotoxins in particular remain in the flesh of aquatic animals for weeks after intake (Eriksson et al. 1989, Soares et al. 2004, Smith & Haney 2006). Microcystins are toxic to fish by inhibiting protein phosphatases, leading to oxidative stress, reduced growth rates, and tumor promotion (Malbrouck & Kestemont 2006, Smith et al. 2008). Although fish accumulate microcystin mainly in the liver, they also accumulate it in muscle tissue and viscera, which is a risk to humans who eat the fish (Magalhães et al. 2001, Soares et al. 2004). In some cases, the dietary intake values of microcystins in fish have been found to be above the limits determined by international legislations (Hauser-Davis et al. 2015, Gurbuz et al. 2016). In humans, microcystin may also promote cancer due to chronic exposure to low microcystin concentrations in drinking water and probably also from eating fish (Ueno et al. 1996, Zhou et al. 2002). In aquaculture production, microcystins are reported to cause fish mortality after the ingestion of cyanobacteria (Smith et al. 2008). Due to the intensified use of lakes and rivers for aquaculture production, there is a growing need for simple, yet accurate and precise analytical methods for monitoring the extent and species composition of algal blooms and for predicting the risk of toxic cyanobacteria.

The co-occurrence of different cyanobacterial species producing different toxins in lakes and reservoirs makes the prediction of toxin occurrence difficult. However, microcystins appear to contribute to more than 90 % of the cyanotoxins detected in northern and middle European waters (Spoof et al. 2010), and microcystins also appear to be dominant toxins in many other parts of the world (Willén et al. 2011, Sant'Anna et al. 2008). Microcystins consist of 3 dominant toxin variants: the arginine-containing microcystins (MC)-RR, MC-YR, and MC-LR, with different degrees of methylation (Spoof et al. 2010). Many methods have been developed to detect microcystins, including the protein phosphatase inhibition assay, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), polymerase chain reaction (PCR), and various high

performance liquid chromatography (HPLC) methods (Meriluoto et al. 2017). Among these methods, HPLC is the most commonly used analytical method, since it is fast and can detect several different microcystins at a detection limit well below the $1 \mu\text{g l}^{-1}$ limit for microcystins in drinking water published by the World Health Organization (WHO 1998).

Phytoplankton pigment analyses is a complementary method to traditional microscopy and is widely used in determining the composition and biomass of phytoplankton groups in both marine and in freshwater (Roy et al. 2011). Diagnostic pigments for specific algal groups, e.g. in natural waters, can be detected and quantified by HPLC at a low detection limit. The composition and chlorophyll *a* (chl *a*) biomasses of the algal classes can be calculated using, for example, the CHEMTAX program (Mackey et al. 1996, Wright et al. 1996). With this approach, cyanobacteria can be identified and quantified by their specific pigments in freshwater (Schlüter et al. 2006, 2016, Descy 2017).

The concentration of carotenoids and chl *a* in phytoplankton are influenced by irradiance and nutrient limitation, and photosynthetically active pigments co-vary with chl *a* under conditions of changing irradiance, while light protecting pigments generally increase in relation to chl *a* during periods of increasing light and/or nutrient starvation (Schlüter et al. 2006). In the present study, the content of pigments and microcystins in several different strains of cyanobacteria cultured under different growth conditions was investigated using HPLC, to determine the influence of different light intensities and nutrient starvation on pigment/chl *a* ratios and on the toxin content. Pigment/chl *a* ratios were tested using the CHEMTAX program to calculate the biomass (as chl *a*) of cyanobacteria and other phytoplankton groups to evaluate the method for determining presence of toxic cyanobacteria at 6 fish farms in different Brazilian freshwater reservoirs. We hypothesized that, for the early warning of toxic cyanobacteria in freshwater reservoirs used for aquaculture, pigment analyses can provide fast and reliable results on the presence of cyanobacteria, and the method can be used to identify the risk of toxic cyanobacteria.

MATERIALS AND METHODS

Development of pigment/chl *a* ratios

A total of 14 strains of cyanobacteria were selected for the culture experiment: *Microcystis aeruginosa*

(National Institute for Environmental Studies, Japan) NIES-107, *M. aeruginosa* (Scandinavian Culture Collection [SCCAP], Denmark) K-0540, *Microcystis* sp. (Pasteur Culture Collection [PCC], France) PCC-7820, *M. botrys* (SCCAP) K-0967, *Microcystis* sp. (isolated from the Brazilian reservoirs), *Dolichospermum circinale* (SCCAP) K-1333, *D. lemmermannii* (SCCAP) K-0544, *Planktothrix* cf. *agardhii* (synonymous *Oscillatoria agardhii*) (SCCAP) K-0546, *P. rubescens* (synonymous *O. rubescens*) (SCCAP) K-0569, *Planktothrix* sp. 327/2 (Helsinki University Culture Collection, Finland), *Pseudanabaena* sp. (SCCAP) K-1230, *Cylindrospermopsis raciborskii* (isolated in Denmark), *Pseudanabaena* sp. (isolated from the Brazilian reservoirs), and *Radiocystis* sp. (isolated from the Brazilian reservoirs).

Cultures were grown at 3 different light intensities using Pope fluorescent tubes: low (LL), medium (ML) and high light (HL) as described in Schlüter et al. (2006). Briefly, the light intensity at LL, ML, and HL was 4, 125, and 275 $\mu\text{mol E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively. Cultures were maintained as semi-continuous batch cultures by daily replacing up to 50% of the algae culture with fresh medium to reach the initial cell density. Cultures were grown for 4 d to ensure acclimation to the given light intensity, and were harvested by filtering replicate 50 to 150 ml subsamples on Whatman GF/C filters that were frozen instantly in liquid nitrogen. In order to test the effect of nutrient limitation, the ML cultures were not diluted until cell division ended (stationary growth, SG), at which point samples were also filtered. Samples for pigment analyses and microcystin analyses were extracted and analysed as described in the 'Pigment analysis' section.

Sampling in reservoirs with fish farms

Four sampling campaigns were carried out at fish farms with Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in 3 reservoirs, built for water storage for hydroelectric power plants, in southeastern Brazil: Chavantes (1 farm, F1 with 2 farm areas, 1a and 1b; 23°08' 33.9" S, 49°34' 24.7" W), Ilha Solteira (2 farms: F5 and F6; 20°18' 46.2" S, 51°10' 24.0" W), and Nova Avanhandava (3 farms: F2, F3, and F4; 21°08' 24.0" S, 50°08' 20.5" W) (Fig. 1). Two seasons were sampled twice: the beginning of spring and early autumn on the following dates: 30 October to 6 November 2014; 9 to 14 March 2015; 28 September to 3 October 2015; and 7 to 12 March 2016. Samples were taken at 3 points: upstream of the fish farms, inside the fish farms, and downstream of the fish farms, at a depth of 1 m using a Van Dorn water sampler. Farm F3 is located upstream to fish farm F4 in Nova Avanhandava, and consequently only one upstream and one downstream sample were taken for the 2 fish farms (i.e. F3+F4). For microscopic counting, the samples were preserved in acetic Lugol aqueous solution (1%). For pigment and microcystin analyses, subsamples were filtered on Whatman GF/F filters, immediately frozen in liquid nitrogen, and kept frozen until analysis by HPLC as described in the 'Pigment analysis' section.

Microscopy

Quantitative analysis of phytoplankton followed the Utermöhl (1958) method using an inverted microscope and sedimentation chambers of 10 or 25 ml, de-

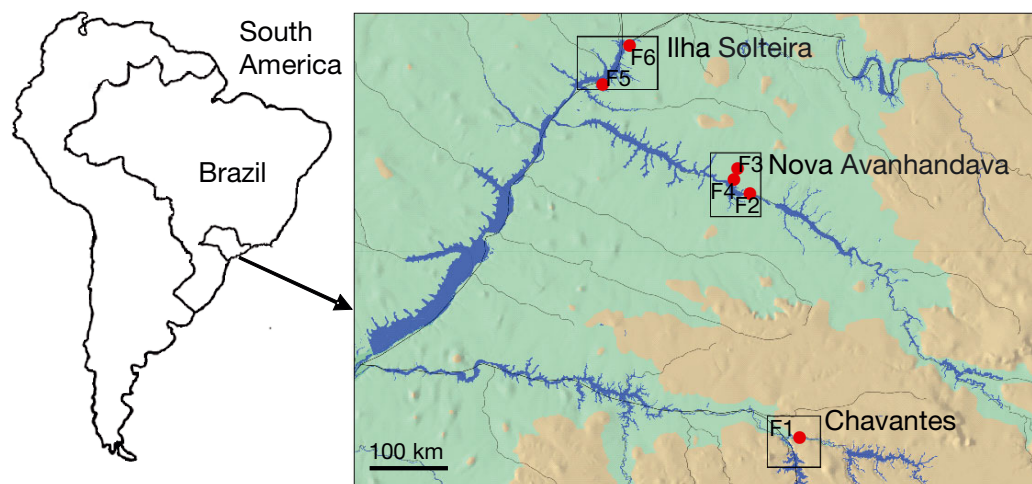


Fig. 1. Location of the reservoirs with the fish farms (red dots, F1–F6) in the main rivers of the upper Paraná basin, Brazil

pending on the phytoplankton density in each sample. Sedimentation time was 4 h cm^{-1} (Lund et al. 1958). A counting limit was established through the species-rarefying curve and until reaching 100 individuals of the most common species. Phytoplankton was identified according to Bicudo & Menezes (2017), Sant'Anna et al. (1989), Tucci et al. (2006) and references therein. Each cell, filament or colony was regarded as one individual and estimated as organisms ($\text{org.}) \text{ ml}^{-1}$ following UNESCO (2010) guidelines.

Pigment analysis

Filters for pigment analysis were extracted in 3 ml 95 % acetone with vitamin E acetate as an internal standard. The filters were sonicated in an ice-cool sonication bath for 10 min, extracted further at 4°C for 20 h and mixed using a vortex mixer for 10 s. The filters and cell debris were filtered from the extracts into HPLC vials using disposable syringes and $0.2 \mu\text{m}$ Teflon syringe filters. Pigment analyses were carried out according to Schlüter et al. (2016) using the Van Heukelem & Thomas (2001) method, but with an adjusted pump gradient to optimise the pigment resolution. More than 30 different phytoplankton carotenoids and chlorophylls can be detected. The HPLC was a Shimadzu LC-10ADVP HPLC system composed of one pump (LC-10ADVP), a photodiode array detector (SPD-M10AVP), a SCL-10ADVP system controller with Lab Solution software, a temperature controlled auto sampler (SIL-10ADVP) (set at 4°C), a column oven (CTO-10ASVP), and a degasser (ERC 3415a). The HPLC system was calibrated using pigment standards from DHI Lab Products. Peak identities were routinely confirmed by online photo diode array analysis.

Toxin analysis

Filters for toxin analyses were thawed and frozen 3 times, excess water was drained briefly between absorbing paper, and extracted in 1.0 ml 75 % methanol (MeOH) with vitamin E acetate as an internal standard to adjust for residual water in the filter and solvent evaporation. The filters were sonicated on ice with a Sonics VCX 750W sonicator in pulse mode at a 40 % duty cycle for 1 min with a 4-element probe allowing simultaneous sonication of 4 samples. This step was repeated 3 times; the sonicator was cleaned in 75 % MeOH and dried in between each sonication. After each sonication step, the extracts were centrifuged at $10\,000 \times g$ for 10 min, the supernatants

(0.6 ml) were withdrawn, and 0.6 ml extraction solvent was added. The combined supernatants (1.8 ml in total) were evaporated to dryness at 60°C in a stream of nitrogen, dissolved in 0.4 ml 75 % MeOH, and finally re-filtered through $0.2 \mu\text{m}$ Teflon syringe filters into HPLC vials. The HPLC was a Shimadzu LC-10ADVP system with 2 pumps (LC-10AS), an auto sampler (set at 4°C), and a column oven (set at 40°C). The column was a Synergy, $4 \mu\text{m}$ Fusion-RP Phenomenex, $150 \times 4.6 \text{ mm}$ with a pre-column. The mobile phases were 0.05 % aqueous trifluoro-acetic acid (TFA) (solvent A) and 0.05 % TFA in acetonitrile (solvent B). The gradient program was as follows: 0 min, 25 % B; 5 min, 60 % B; 10.5 min, 100 % B; 15 min, 100 % B; 16 min, 25 % B; 23 min, stop; with a flow rate of 1.3 ml min^{-1} and an injection volume of $50 \mu\text{l}$. The internal standard eluted after about 15 min and did not co-elute with the microcystins. The HPLC was calibrated using microcystin standards from DHI Lab Products, and toxins were quantified at 238 nm. Microcystins were detected by their retention times and absorption spectra by diode array detection operated between 200 and 300 nm. The internal standard was analysed 4 times for each set of extracted filters and was used to correct the variation in extraction solvent volumes due to the extracting procedure.

The biomass in units of chl *a* of the individual phytoplankton groups detected by the pigments was calculated by CHEMTAX v.1.95 (Mackey et al. 1996). The dataset of the natural samples was divided into 2 groups: samples with chl *a* $> 10 \mu\text{g l}^{-1}$ ($n = 25$) and samples with chl *a* $< 10 \mu\text{g l}^{-1}$ ($n = 42$).

The initial pigment/chl *a* ratios used in the CHEMTAX program were from ML-treated cyanobacteria (see Table 1). ML pigment ratios were chosen as a compromise, since the samples were taken in 1 m depth, where light is reduced but usually not limiting for phytoplankton. ML ratios for the other phytoplankton groups developed for mesotrophic/eutrophic lakes were from Schlüter et al. (2006).

RESULTS

Pigment/chl *a* ratios in cultures

Chl *a*, zeaxanthin, myxoxanthophyll 2, and β -carotene were present in all cultured strains while echinenone, canthaxanthin, and β -cryptoxanthin were present in most strains (Table 1). Furthermore, oscillaxanthin, aphanizophyll, nostoxanthin, caloxanthin, and myxoxanthophyll 1 were occasionally present. The ratios of the different pigments to chl *a* were

Table 1. Average (n = 2) pigment/chl *a* ratios in the different species of cyanobacteria (strain codes added in parentheses, where applicable) grown in low light (LL), medium light (ML), high light (HL), or stationary growth (SG). syn.: synonymous. (*) trace amounts

Strain Condition	Oscilla- xanthin	Aphani- zophyll	Nosto- xanthin	Calo- xanthin	Myxo- xantho- phyll 1	Myxo- xantho- phyll 2	Zea- xanthin	Cantha- xanthin	β-crypto- xanthin	Echi- nenone	β-carotene
<i>Dolichospermum circinale</i> (syn. <i>Anabaena circinalis</i>) (K-1333)											
LL	0.004	0.087				0.030	0.000	0.003		0.038	0.086
ML	0.027	0.260				0.093	0.000	0.029		0.067	0.060
HL	0.044	0.371				0.123	0.003	0.012		0.042	0.055
SG	0.020	0.233				0.057	0.000	0.030		0.066	0.051
<i>Dolichospermum lemmermannii</i> (syn. <i>Anabaena lemmermannii</i>) (K-0544)											
LL	0.001	0.019				0.004		0.018		0.042	0.052
ML	0.013	0.188				0.073		0.060		0.071	0.062
HL	0.005	0.077				0.027		0.057		0.066	0.048
SG	0.005	0.076				0.016		0.101		0.088	0.061
<i>Planktothrix</i> sp. (327/2)											
LL	0.004				0.014	0.041	0.168		*	0.026	0.213
ML	0.018				0.099	0.103	0.422		*	0.040	0.314
HL	0.032				0.186	0.202	0.825		*	0.042	0.497
SG	0.002				0.047	0.135	0.527		*	0.068	0.345
<i>Planktothrix</i> cf. <i>agardhii</i> (syn. <i>Oscillatoria agardhii</i>) (K-0546)											
LL	0.038					0.146	0.104		*	0.052	0.181
ML	0.149					0.467	0.224		*	0.098	0.274
HL	0.160					0.414	0.134		*	0.081	0.231
SG	0.242					0.781	0.395		*	0.180	0.354
<i>Planktothrix rubescens</i> (syn. <i>Oscillatoria rubescens</i>) (K-0569)											
LL	0.030					0.115	0.134		*	0.102	0.237
ML	0.128					0.414	0.332		*	0.155	0.301
HL	0.629					1.399	0.721		*	0.196	0.310
SG	0.217					0.623	0.491		*	0.180	0.272
<i>Pseudanabaena</i> sp. (K-1230)											
LL	0.013					0.007	0.262		*	0.003	0.126
ML	0.059					0.030	0.525		*	0.009	0.147
HL	0.097					0.045	0.649		*	0.012	0.157
SG	0.075					0.035	0.671		*	0.016	0.163
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>											
LL		0.406				0.039	0.003	0.008	*	0.126	0.095
ML		0.803				0.098	0.003	0.012	*	0.178	0.115
HL		1.028				0.134	0.002	0.019	*	0.166	0.104
SG		1.054				0.088	0.003	0.012	*	0.241	0.116
<i>Radiocystis</i> sp., isolated in Brazilian reservoirs											
LL						0.084	0.255	0.001	*	0.041	0.142
ML						0.343	0.497	0.003	*	0.041	0.169
HL						0.351	0.558	0.007	*	0.030	0.161
SG						0.391	0.444	0.015	*	0.104	0.261
<i>Pseudanabaena</i> sp., isolated in Brazilian reservoirs											
LL						0.002	0.731	*	*		0.122
ML						0.003	1.389	*	*		0.128
HL						0.001	1.651	*	*		0.135
SG						0.029	1.537	*	*		0.138
<i>Microcystis botrys</i> (K-0967)											
LL			0.017	0.027		0.069	0.027	0.003		0.065	0.149
ML			0.090	0.068		0.290	0.074	0.013		0.077	0.238
HL			0.065	0.068		0.381	0.124	0.019		0.076	0.281
SG			0.020	0.058		0.069	0.111	0.005		0.067	0.273
<i>Microcystis aeruginosa</i> (NIES-107)											
LL						0.085	0.128	0.019	*	0.038	0.087
ML						0.297	0.256	0.038	*	0.063	0.098
HL						0.323	0.304	0.053	*	0.028	0.098
SG						0.472	0.428	0.033	*	0.112	0.202

Continued on next page

Table 1 (continued)

Strain Condition	Oscilla-xanthin	Aphani-zophyll	Nosto-xanthin	Calo-xanthin	Myxo-xantho-phyll 1	Myxo-xantho-phyll 2	Zea-xanthin	Cantha-xanthin	β-crypto-xanthin	Echi-nenone	β-carotene
<i>Microcystis</i> sp. (PCC-7820)											
LL				0.068		0.144	0.134	0.033	*	0.033	0.126
ML				0.162		0.458	0.346	0.077	*	0.049	0.121
HL				0.124		0.480	0.316	0.084	*	0.044	0.078
SG				0.203		0.602	0.188	0.032	*	0.075	0.082
<i>Microcystis aeruginosa</i> (K-0540)											
LL	0.006					0.100	0.114	0.015	*	0.035	0.127
ML	0.038					0.353	0.276	0.038	*	0.067	0.139
HL	0.044					0.385	0.318	0.057	*	0.080	0.175
SG	0.075					0.041	0.669	0.000	*	0.019	0.167
<i>Microcystis</i> sp., isolated in Brazilian reservoirs											
LL						0.075	0.177		*	0.039	0.109
ML						0.215	0.165		*	0.028	0.114
HL						0.207	0.328		*	0.046	0.112
SG						0.031	0.079		*	0.034	0.089

affected by light intensity and most ratios increased from LL to HL, although some of the pigment ratios were relatively constant or even decreased at increased light, e.g. β -carotene/chl *a* in *Dolichospermum circinale* and *Microcystis aeruginosa* PCC-7820 (Table 1). The pigment/chl *a* ratios of cultures, which had turned into SG phase, were generally within the range of ratios in the light treatment, but occasionally higher than those found for HL-treated cultures (Table 1).

Toxin content in cultures

In total, 5 of the cultured strains produced microcystins at concentrations above the detection limit of approx. $0.02 \mu\text{g l}^{-1}$: *Planktothrix* cf. *agardhii* K-0546, *P. rubescens* K-0569, *Microcystis aeruginosa* NIES-107, *Microcystis* sp. PCC-7820, and the *Microcystis* sp. isolate from the Brazilian reservoirs. Eight different microcystins were detected: MC-LR, MC-YR, MC-RR, demethylated (DM) MC-LR, DM MC-RR, MC-LY, MC-LF and MC-LW. The density of the cultures varied slightly, and the concentration of the different microcystins is depicted in relation to chl *a* in order to compare the content of microcystins of the different strains (Fig. 2). MC-LR was the only toxin produced by all 5 strains. The relative content of microcystins generally increased from LL to HL and a further increase was seen for most microcystins in strains, which had turned into SG phase except for *Microcystis* sp. isolated from the Brazilian reservoirs, and for some of the MCs produced by *Microcystis* sp. PCC-7820.

Phytoplankton in the reservoirs determined by pigments

The pigment analyses of the natural samples revealed the presence of cyanobacteria detected by myxoxanthophyll 2, echinenone, and canthaxanthin in most samples, always zeaxanthin, and occasionally aphanizophyll and myxoxanthophyll 1. Chlorophytes (including euglenophytes) were detected by chl *b*, lutein, violaxanthin, and in most samples neoxanthin, and cryptophytes were revealed by alloxanthin. Fucoxanthin, chl *c*₁, and chl *c*₂ showed the presence of diatoms and possibly chrysophytes, while peridinin and 19'-hexanoyloxyfucoxanthin were occasionally detected in low concentrations showing some presence of dinoflagellates and haptophytes, respectively. The results from microscopy (see below) generally confirmed the presence of these groups. The zeaxanthin concentrations were relatively high in the reservoirs and myxoxanthophyll 2/zeaxanthin, echinenone/zeaxanthin, and canthaxanthin/zeaxanthin ratios were 0.28, 0.14, and 0.02 (average of all samples). The same ratios calculated for the cultured strains were generally much higher; on average up to 2.01, 0.30, and 0.11, respectively (calculated from Table 1), which indicated that zeaxanthin-containing cyanobacteria without myxoxanthophyll, echinenone, and canthaxanthin, e.g. *Synechococcus* sp. (Schlüter et al. 2006, Descy 2017), were present in the reservoirs. Consequently, 7 phytoplankton groups were identified and loaded into the CHEMTAX program: cyanobacteria with echinenone, myxoxanthophyll 1, and zeaxanthin,

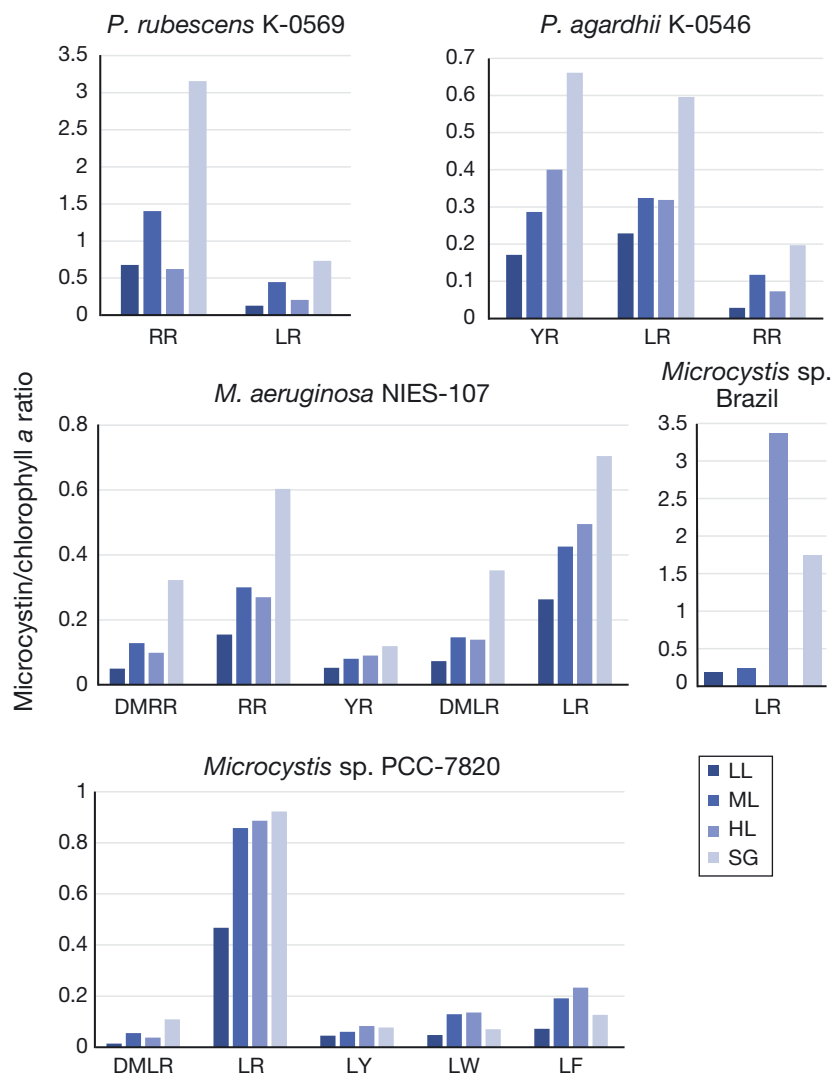


Fig. 2. Content of the different microcystins (LR, RR, YR, DMRR, DMLR, LY, LW, and LF; see 'Toxin content in cultures' for details) identified in the cultured strains of cyanobacteria (*P.*: *Planktothrix*; *M.*: *Microcystis*) in relation to chlorophyll *a* (growth conditions: LL: low light; ML: medium light; HL: high light; SG: stationary growth)

which were mostly filamentous/colony-forming, and another group of cyanobacteria with zeaxanthin only, which were mostly coccoid/pico-sized.

Fish farms F1, F5, and F6 had a chl *a* biomass of <10 µg chl *a* l⁻¹ at all samplings, on average 3.6, 3.1, and 4.1 µg chl *a* l⁻¹, respectively. Fish farms F2 and F3+F4 had markedly higher average chl *a* concentrations of 25.6 and 22.2 µg chl *a* l⁻¹, respectively, partly due to 2 diatom blooms in the spring of 2015 (Fig. 3). The CHEMTAX calculations showed that cyanobacteria generally dominated in all reservoirs during all seasons, except during the diatom spring bloom in F2 and F3+F4 (Fig. 3). However, in F6, chlorophytes tended to dominate when the total biomass was low-

est in spring 2014 and autumn 2015. Cyanobacteria constituted on average 44% of the phytoplankton chl *a* biomass in F6 in all seasons (Table 2). In the remaining reservoirs, cyanobacteria constituted 62 to 65% of the chl *a* biomass (Table 2). If we disregard the diatom blooms, which seemed to be superimposed on the phytoplankton populations in spring 2015, cyanobacteria were on average 74 and 71% of the phytoplankton chl *a* biomass in F2 and F3+F4, respectively, which had the highest phytoplankton abundances. Regression analysis showed that cyanobacteria chl *a* biomass was significantly correlated with total chl *a* ($r = 0.38$, $p < 0.01$). Apart from cyanobacteria, chlorophytes and cryptophytes were also generally always present and constituted an important fraction of the phytoplankton populations, particularly in the reservoirs with lower chl *a* concentrations. Dinoflagellates and haptophytes never attained significant biomasses in any of the reservoirs (Fig. 3).

Microscopy identification of phytoplankton in the reservoirs

The microscopy cell counting supported the findings that cyanobacteria in general were present at all samplings and reached high numbers of organisms, especially in F2, F3+F4, and F5 (Fig. 4). Beside the genera isolated from the reservoirs, more than 40 different species of cyanobacteria were identified including most of the cultured species, e.g. *M. aeruginosa*, *Planktothrix* sp., and *Cylindrospermopsis raciborskii*. Cryptophytes were generally also present in quite high numbers, especially in F1 and F6 (Fig. 4), with 2 species dominating: *Cryptomonas brasiliensis* and *Rhodomonas lacustris*. Furthermore, chlorophytes (including Zygnematophyceae, Euglenophyceae, and Trebouxiophyceae) were present in all reservoirs with more than 50 species identified, but the numbers of the individual species were often low. As found using the pigment method, diatoms were present in large numbers in spring 2015 in F2 and F3+F4

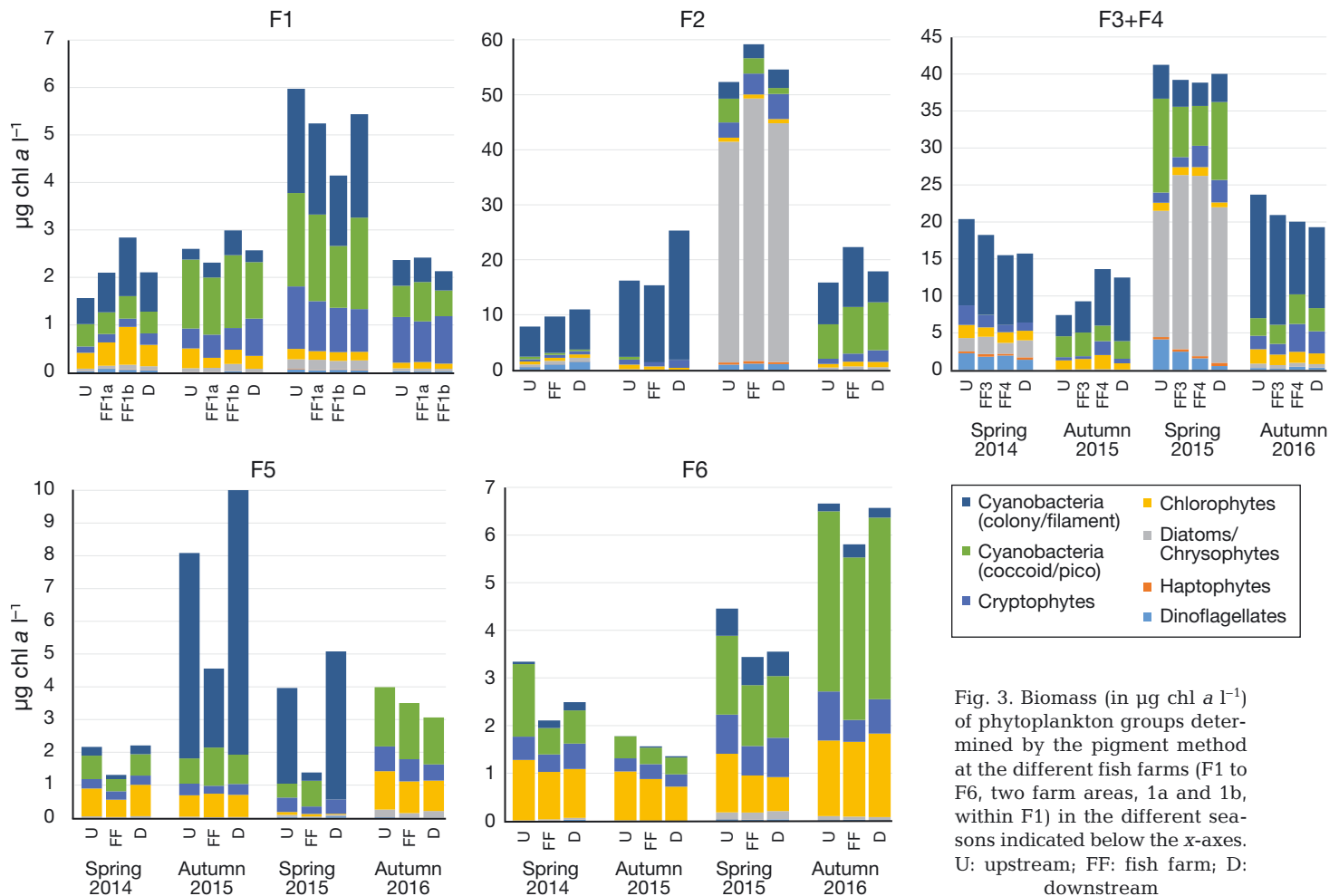


Fig. 3. Biomass (in $\mu\text{g chl a l}^{-1}$) of phytoplankton groups determined by the pigment method at the different fish farms (F1 to F6, two farm areas, 1a and 1b, within F1) in the different seasons indicated below the x-axes. U: upstream; FF: fish farm; D: downstream

(Fig. 4) where *Fragilaria* sp. dominated. The chl *a* biomasses determined by the pigment method of cyanobacteria (sum of filamentous/colony forming and coccoid/pico-sized cyanobacteria), cryptophytes, chlorophytes, and diatoms were significantly correlated with the organism numbers of the respective groups counted in the microscope ($r = 0.52$, $p < 0.001$; $r = 0.46$, $p < 0.001$; $r = 0.38$, $p < 0.01$; and $r = 0.86$, $p < 0.001$, respectively).

Effect of fish farms on phytoplankton communities and toxin composition

The fish farms affected the phytoplankton biomasses (determined by the pigment method) differently. In some sampling periods, total phytoplankton biomass was higher upstream, declined inside the fish farms and then increased downstream. This was observed for F5 in both autumn and spring 2015 and by both pigment analysis and microscopy (Figs. 3 & 4), where particularly the colony forming/filamen-

tous cyanobacteria decreased inside the fish farms. In fact, cyanobacteria were found to decrease inside the fish farms in most samplings (Table 2). However, statistical analyses (t -test, paired samples) showed that the fish farms did not have a significant impact on the biomass nor the organism numbers of any of the phytoplankton groups (data not shown).

Microcystins were detected in all the reservoirs. MC-LR was typically the most abundant toxin and was present in all samples where microcystins were detected. An exception was fish farms F3+F4, where MC-RR was dominant in autumn 2016 (Fig. 5). In addition, MC-YR was generally also present. The total concentrations of microcystins were significantly correlated with the total chl *a* concentration of cyanobacteria ($r = 0.73$, $p < 0.01$; Fig. 6). Furthermore, the total concentrations of microcystins were significantly correlated with the chl *a* biomasses of the filamentous/colony forming cyanobacteria ($r = 0.70$, $p < 0.01$), and with the biomasses of coccoid/pico-sized cyanobacteria, although with a weaker correlation ($r = 0.26$, $p = 0.039$).

Table 2. Percentage of cyanobacteria (both filamentous/colony forming and coccoid/pico-sized) in relation to the total phytoplankton chl *a* biomass at the different fish farms (F1 to F6; two farm areas, 1a and 1b, within F1 given as 'Fish farm' and 'F1-1b', respectively). –: not applicable; na: not available

Season	F1	F2	F3+F4	F5	F6	Average
Spring 2014						
Upstream	65	76	57	45	47	58
Fish farm	62	72	59	38	34	53
F1-1b	60	–	60	–	–	60
Downstream	61	69	59	41	35	53
Autumn 2015						
Upstream	64	89	77	87	26	69
Fish farm	66	91	80	79	24	68
F1-1b	69	–	71	–	–	70
Downstream	56	93	88	90	28	71
Spring 2015						
Upstream	70	14	42	84	50	52
Fish farm	71	9	27	75	54	47
F1-1b	67	–	22	–	–	45
Downstream	75	8	36	89	51	52
Autumn 2016						
Upstream	51	87	81	45	59	65
Fish farm	56	87	83	47	64	67
F1-1b	45	–	69	–	–	57
Downstream	na	80	73	49	61	66
Average	62	65	62	64	44	60

DISCUSSION

Cyanobacteria in Brazilian water reservoirs

The most common freshwater bloom-forming cyanobacteria genera in Brazil are *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, and *Cylindrospermopsis* (de Carvalho et al. 2008). Among these, toxic cyanobacteria have been shown to be represented by more than 30 species (Sant'Anna et al. 2008). Many of these toxic species were detected in the different reservoirs with fish farms in the present study. Besides the 3 cyanobacteria isolated in the reservoirs (*Radiocystis* sp., *Pseudanabaena* sp., and *Microcystis* sp.; Table 1), all the cultured genera were detected in the reservoirs.

Pigments for chemotaxonomic analysis

Ideally, pigment ratios for the CHEMTAX program for calculating the chl *a* biomasses of the individual groups should be obtained from cultures collected at the study site (Higgins et al. 2011). Because of this, pigment/chl *a* ratios were determined here for both known cyanobacterial genera in the Brazilian reser-

voirs (which were isolated and cultured) as well as for the new isolates from reservoirs (Table 1), since cyanobacteria were overall the most abundant group in the reservoirs. The pigment content and pigment/chl *a* ratios of the cultured cyanobacteria were within the range of earlier studies of other species of freshwater cyanobacteria (Schlüter et al. 2006, Lauridsen et al. 2011). Pigment/chl *a* ratios were affected by the growth conditions, especially light intensity. The ratios increased from low to high light (Table 1) and confirm that the carotenoids of cyanobacteria are part of the light protection of the photosynthetic apparatus in the cells (Takaichi & Mochimaru 2007, Mehnert et al. 2012). Apart from β -carotene and zeaxanthin, all pigments identified in the different strains of cyanobacteria are diagnostic pigments specific to cyanobacteria: echinenone, canthaxanthin, myxoxanthophyll 1 and 2 (2 myxol glycosides, where the sugar moieties have not been determined; Takaichi & Mochimaru 2007), aphanizophyll, etc. (Table 1). For chemotaxonomy, these specific pigments are valuable since determination of the presence of cyanobacteria based on the pigment compositions becomes conclusive.

Echinenone and myxoxanthophyll 2 are the most important pigments for detecting cyanobacteria in freshwater, because they occur in all the cultured cyanobacteria and are universally detected in many other species of cyanobacteria (Goodwin 1980, Rowan 1989, Roy et al. 2011). However, the coccoid/pico-sized cyanobacteria (e.g. *Synechococcus* sp.) only contain zeaxanthin (Schlüter et al. 2006, Descy 2017). When coccoid/pico-sized cyanobacteria are abundant, the zeaxanthin concentration may dominate the cyano-pigment composition and indicate a high abundance of these cyanobacteria, as found in the present study. Especially in F1 and F6, when chl *a* biomasses were low, these cyanobacteria constituted an important fraction of the cyanobacteria.

Pigment analysis versus microscopy for characterization of phytoplankton communities

The abundance of cyanobacteria and other phytoplankton groups, determined by the pigment method, correlated significantly with organism number per volume determined by microscopy. However, each cyanobacteria colony/filament was counted as a single organism, despite the fact that chains and colonies were often present, and therefore chl *a* biomasses and organism numbers will not necessarily correlate. The results from the 2 methods in Figs. 3 & 4

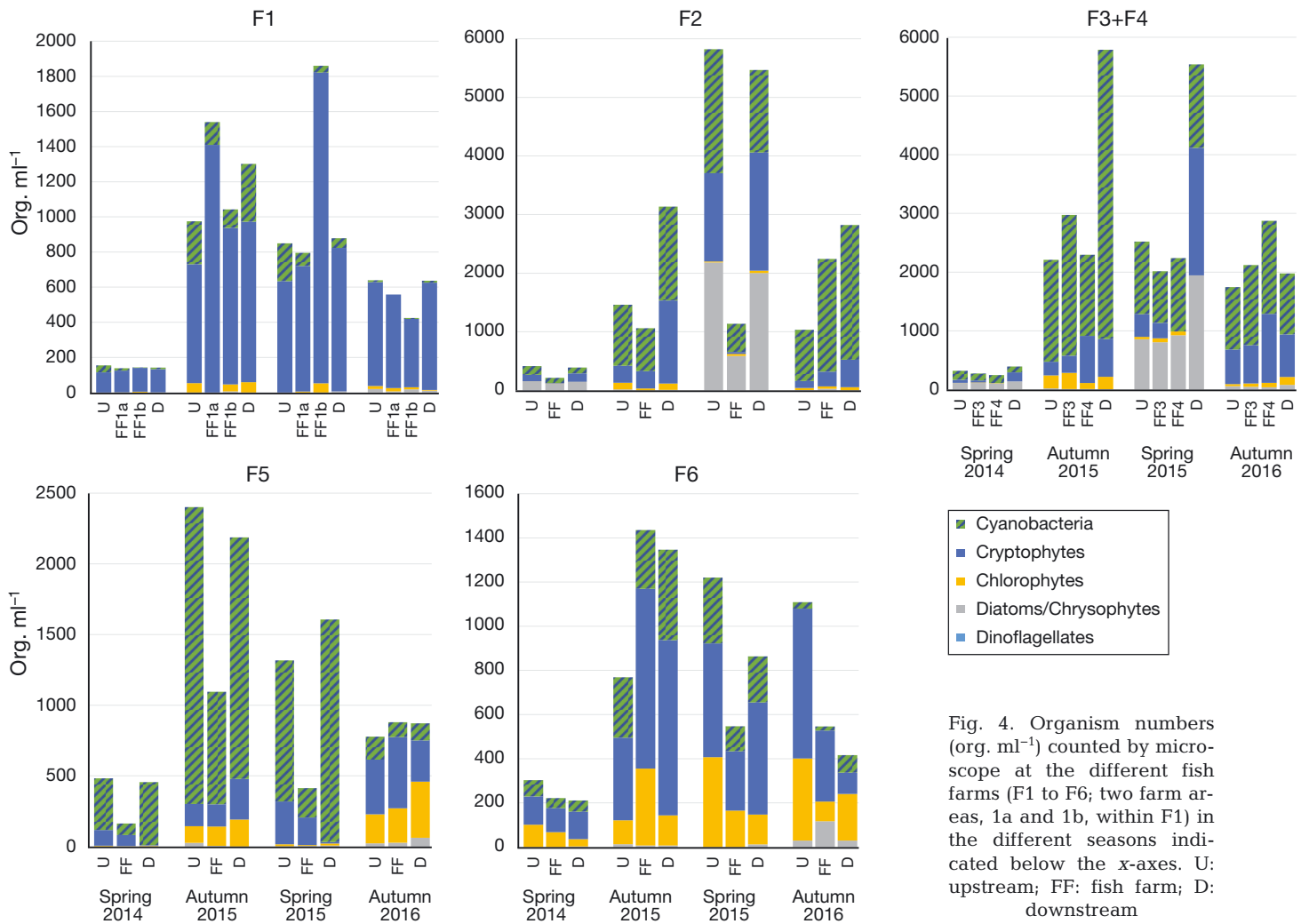


Fig. 4. Organism numbers (org. ml⁻¹) counted by microscope at the different fish farms (F1 to F6; two farm areas, 1a and 1b, within F1) in the different seasons indicated below the x-axes. U: upstream; FF: fish farm; D: downstream

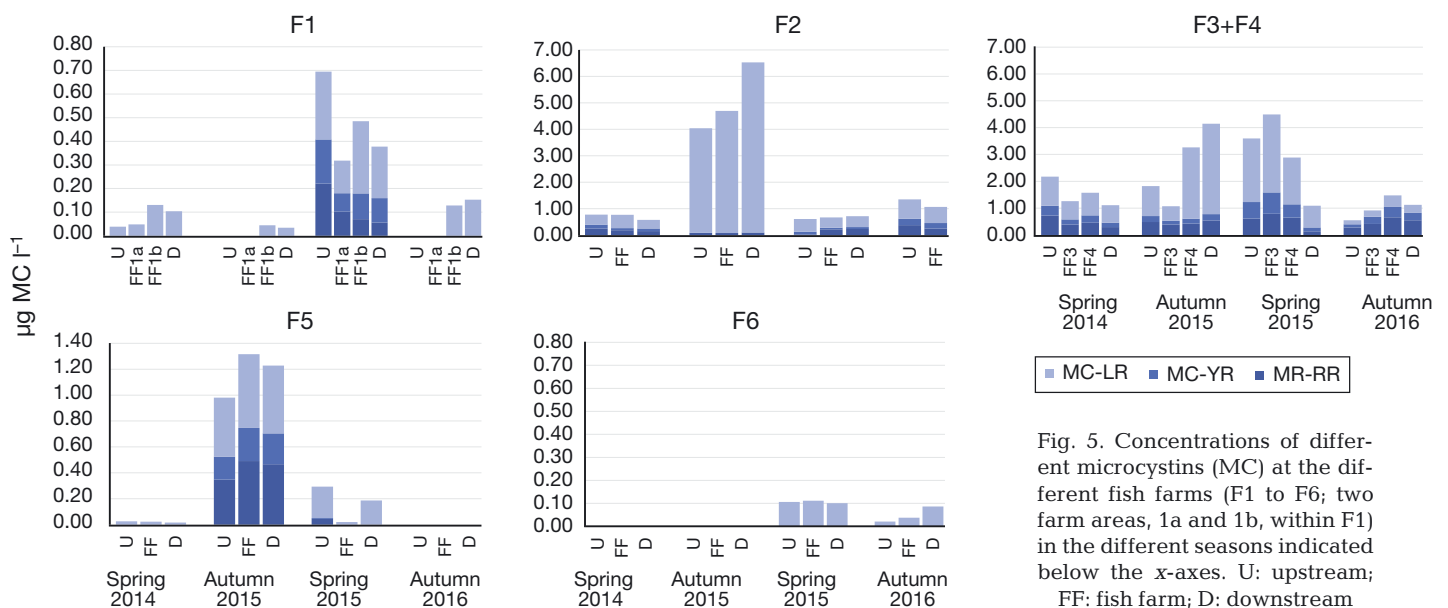


Fig. 5. Concentrations of different microcystins (MC) at the different fish farms (F1 to F6; two farm areas, 1a and 1b, within F1) in the different seasons indicated below the x-axes. U: upstream; FF: fish farm; D: downstream

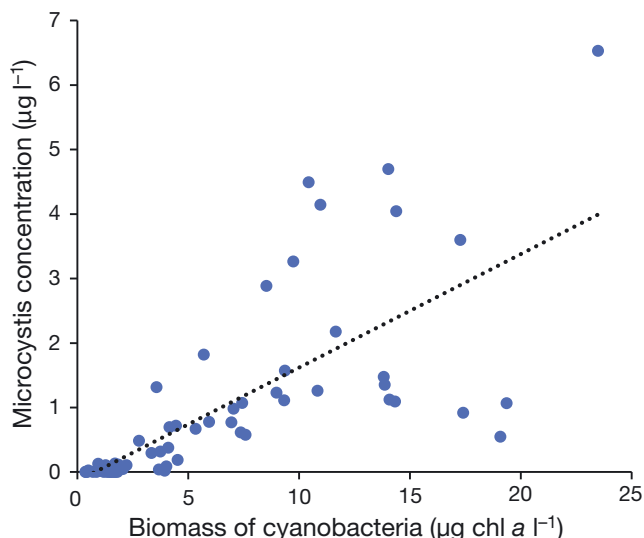


Fig. 6. Total microcystin concentration as function of total biomass of cyanobacteria (filamentous/colony forming and coccoid/pico-sized cyanobacteria) in $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$

occasionally became uncoupled due to the inconsistent relationship between organism numbers and chl *a* for the different groups. Cryptophytes determined by microscopy seemed to be the largest group, especially in the 2 reservoirs with low chl *a* (F1 and F6), when determined by microscopy (Fig. 4). The 2 dominating species in these reservoirs, *Cryptomonas brasiliensis* and *Rhodomonas lacustris*, are single cells of a relatively small size, 6 to 10 μm , which have been found to dominate in turbulent and oligotrophic environments of other Brazilian reservoirs (Rosini et al. 2016). Furthermore, the most abundant diatom (*Fragilaria* sp.) found in F2 and F3+F4 forms colonies of many cells, which caused a discrepancy in organism numbers and chl *a* biomass of the diatoms (Figs. 3 & 4).

Unlike microscopy, pigment analyses by HPLC have the advantage of being fast and reproducible, and taxonomical expertise is not required. Furthermore, all phytoplankton cells, including the pico-sized cells that cannot be identified using standard microscopy methods (e.g. inverted microscopy as applied in the present study), are included by the pigment method (Zapata 2005). Because small and overlooked species may be ignored by microscopy, actual species diversity may be more accurately determined by pigment analysis. This was confirmed by analysis of phytoplankton species in more than 40 lakes, where a higher Shannon's diversity index was determined by pigment analyses than by microscopy counting (Schlüter et al. 2016). An additional advan-

tage of the pigment method is that rare species in low densities can be identified but may be overlooked by microscopy. In the present study, minor concentrations of diagnostic pigments from haptophytes and dinoflagellates, 19'-hexanoyloxy-fucoxanthin and peridinin, were occasionally detected using the pigment method, showing that few cells from these groups were present (Fig. 3), but they were not detected in the smaller volume examined under the microscope.

Identification of single species by pigment analysis

Typically, the HPLC method is considered applicable for determining only groups or classes of phytoplankton, but in a few cases the method has been used to determine presence of species. For example, the toxic species of cyanobacteria in the Baltic Sea, *Nodularia spumigena*, contains a rare and unique pigment, 4-keto-myxoxanthophyll, which can be used as a diagnostic pigment for the early warning of blooms of this cyanobacterium in the Baltic Sea (Schlüter et al. 2004). Likewise, the pigment gyroxanthin-diester has been shown to be a useful diagnostic pigment for the toxic dinoflagellate *Karenia brevis* forming large blooms in coastal areas (Millie et al. 1997, Örnólfsson et al. 2003). In the present study, both the microcystin-producing and the non-microcystin-producing strains of cyanobacteria contained the pigments myxoxanthophyll 2 and echinenone, as well as other cyanobacteria pigments, but none of these diagnostic pigments were found to indicate presence of microcystins.

Cyanobacterial dominance in phytoplankton in the Brazilian reservoirs

In eutrophic temperate lakes, cyanobacteria usually dominate the phytoplankton community (Watson et al. 1997, Søndergaard et al. 2005), and this seems to be even more pronounced in subtropical and tropical areas, where bloom-forming cyanobacteria can proceed at relatively lower nutrient input rates and concentrations (Kosten et al. 2012, Pearl & Paul 2012). In the studied Brazilian reservoirs, cyanobacteria constituted an increasing abundance of the phytoplankton populations at increasing chl *a* biomass (Table 2, Fig. 3); up to 75% of the chl *a* biomass in F2 and F3+F4 could be related to cyanobacteria, if disregarding the diatom blooms encountered in spring 2015. The abundance of cyanobacteria co-

varied with the concentration of microcystin in the water, as confirmed by the positive correlation between concentrations of chl *a* and microcystins (Fig. 6) showing that with an increasing abundance of cyanobacteria, the risk of toxin-producing cyanobacteria increases. Furthermore, our pigment analyses indicated that the microcystin concentrations could be ascribed mainly to the filamentous/colony-forming cyanobacteria in the reservoirs.

Cyanobacterial toxins versus fish health

Total phytoplankton biomasses, and especially the biomasses of the filamentous/colony forming cyanobacteria in the reservoirs, were often higher upstream, then declined inside the fish farms, and frequently increased again downstream (Fig. 3). A decline inside the fish farms indicates that the fish intendedly or unintendedly grazed on phytoplankton, i.e. phytoplankton accidentally consumed with fish feed pellets (Smith et al. 2008). Tilapia is a planktivorous species that has been shown to inevitably ingest microcystin when microcystin-producing cyanobacteria are present; the microcystins tend to accumulate in the liver, viscera, and muscle tissue of the fish (Magalhães et al. 2001, Mohamed et al. 2003, Zhao et al. 2006). Several studies have reported accumulation of the hepatotoxin in edible tissues at levels that exceed WHO guidelines for tolerable daily intake of $0.04 \mu\text{g kg}^{-1}$ body weight d^{-1} (WHO 1998), assuming that 100 to 300 g of fresh weight tissue is consumed. This suggests that human intoxication is plausible (Smith et al. 2008).

Tilapia feeding on natural phytoplankton have been shown to accumulate microcystin in liver and muscle tissue even at concentrations below $1 \mu\text{g l}^{-1}$ (Deblois et al. 2008). In the present reservoirs, concentrations of microcystin frequently exceeded this concentration (up to $6.5 \mu\text{g l}^{-1}$ was found in F2 and F3+F4), suggesting that tilapia in the farms potentially accumulated microcystin. However, statistical tests showed that the cyanobacterial biomass was not reduced during passage of water in the farms, suggesting absence or minor intake of cyanobacteria by tilapia (Table 2). This was supported by lack of declining concentrations of microcystin downstream of the farms (Fig. 5). The actual concentrations of microcystin and other cyanotoxins in the fish were not determined in this study. It is possible that because the fish were fed in the cages, the intake of cyanotoxins in the farms may have been low, but that would require further analyses.

Microcystin production by cultures

Five of the cyanobacteria cultured produced different microcystins (Fig. 2), and MC-LR, which is the most common microcystin (Dawson 1998), was always present. Besides MC-LR, the most common microcystins detected were MC-RR and MC-YR at 14 different locations in Finland (Spoof et al. 2003), which agrees with the findings in the present study. Several of the cultured species did not produce microcystins, although they have previously been reported to produce microcystin, e.g. *Dolichospermum circinale*, *Microcystis botrys* and *M. aeruginosa* (Sant'Anna et al. 2008). For *Microcystis*, this observation may reflect that natural populations can include phenotypically identical toxic and non-toxic genotypes (Kurmayer et al. 2002, Ouellette et al. 2006). Light intensity may also control the toxin production. For example, Kaebernick et al. (2000) found increased levels of microcystin transcripts under illumination with $>31 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. This light dependence of microcystin production was confirmed in the present study, where the relative amount of microcystins (MC/chl *a*) generally increased from LL (approx. $4 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to HL (Fig. 2). When the growth turned into the SG phase due to nutrient limitation, MCs/chl *a* were often higher than when nutrients were not limiting, indicating that the microcystin production is also controlled by nutritional conditions. This is supported by previous observations, although contradictory results on the influence of nutrients on microcystin production have been reported (Neilan et al. 2013, Boopathi & Ki 2014), and shows that the toxin production is difficult to predict and is influenced by many factors.

Early warning of toxic cyanobacteria

There is an increasing need to detect presence of toxin-producing cyanobacteria at an early stage (Codd et al. 2005). Here, the significant relationship between microcystins and the chl *a* biomass of cyanobacteria showed that the pigment method could detect toxic cyanobacteria in the Brazilian reservoirs. At low chl *a* levels and when the phytoplankton populations were diverse and pigments showed that chlorophytes and cryptophytes comprised a relatively large part of the phytoplankton, the concentrations of microcystin were generally low. When the chl *a* biomass of cyanobacteria exceeded $4 \mu\text{g l}^{-1}$, microcystins were always present, and at approx. $6 \mu\text{g cyanobacterial chl } a \text{ l}^{-1}$ the concentra-

tion of microcystins exceeded $1 \mu\text{g l}^{-1}$ (WHO limit for the content of MC-LR in drinking water; WHO 1998). This microcystin concentration corresponds to a total chl *a* concentration of approx. $12 \mu\text{g l}^{-1}$ (calculated from the regression of total chl *a* as function of chl *a* of cyanobacteria). This is close to the level of $10 \mu\text{g chl a l}^{-1}$, which the WHO has proposed as the level for the low probability of adverse health effects from contact with, or ingestion or inhalation of cyanobacteria. Moderate, high, and very high risk levels are 10 to 50, 50 to 5000, and $>5000 \mu\text{g chl a l}^{-1}$, respectively (Chorus & Bartram 1999).

In the reservoirs, cyanobacteria did not always dominate at high chl *a* concentrations, and diatoms were responsible for the instances where chl *a* reached around $50 \mu\text{g chl a l}^{-1}$. Hence, pigment analyses provided additional and valuable information on the potential risk of toxic cyanobacteria. For early warning of toxic cyanobacteria in freshwater reservoirs, for example used for aquaculture production, pigment analyses can provide fast and reliable results on the presence of cyanobacteria and help predict emerging incidents of toxic cyanobacteria in the water.

Acknowledgements. This work was funded by The Danish Council for Strategic Research (IMPCON project; grant 3050-00008A) and FAPESP (grant 2013/50504-5). Merete Allerup is thanked for skillful technical assistance and we are grateful to Jennifer Oakley for linguistic corrections.

LITERATURE CITED

- Bicudo CEM, Menezes M (2017) Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições, 3rd edn. Rima, São Carlos
- Boopathi T, Ki JS (2014) Impact of environmental factors on the regulation of cyanotoxin production. *Toxins* 6: 1951–1978
- Briand JF, Jacquet S, Bernard C, Humbert JF (2003) Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vet Res* 34:361–377
- Chorus I, Bartram J (eds) (1999) Toxic cyanobacteria in water. E & FN Spon, London
- Codd GA, Morrison LF, Metcalf JS (2005) Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharmacol* 203:264–272
- de Carvalho LR, Pipole F, Werner VR, Laughinghouse IV and others (2008) A toxic cyanobacterial bloom in an urban coastal lake, Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Braz J Microbiol* 39:761–769
- Dawson RM (1998) The toxicology of microcystins. *Toxicon* 36:953–962
- Deblois CP, Aranda-Rodriguez R, Giani A, Bird DF (2008) Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. *Toxicon* 51: 435–448
- Descy JP (2017) Estimation of cyanobacteria biomass by marker pigment analysis. In: Meriluoto J, Spoof L, Codd GA (eds) Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. John Wiley & Sons, Chichester, p 342–349
- Eriksson JE, Meriluoto JAO, Lindholm T (1989) Accumulation of a peptide toxin from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii* in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Hydrobiologia* 183:211–216
- Goodwin TW (1980) The biochemistry of the carotenoids, 2nd edn. Vol 1: Plants. Chapman and Hall, London
- Gurbuz F, Uzunmehmetoğlu OY, Diler O, Metcalf JS, Codd GA (2016) Occurrence of microcystins in water, bloom, sediment and fish from a public water supply. *Sci Total Environ* 562:860–868
- Hauser-Davis RA, Lavradas RT, Lavandier RC, Rojas EGA, Guarino AWS, Zioli RL (2015) Accumulation and toxic effects of microcystin in tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an eutrophic Brazilian Lagoon. *Ecotoxicol Environ Saf* 112:132–136
- Higgins WH, Wright SW, Schlüter L (2011) Quantitative interpretation of chemotaxonomic pigment data. In: Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G (eds) Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography. Cambridge University Press, Cambridge, p 257–313
- Kaebernick M, Neilan BA, Börner T, Dittmann E (2000) Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Appl Environ Microbiol* 66: 3387–3392
- Kosten S, Huszar V, Bécares E, Costa L and others (2012) Warmer climate boosts cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Glob Change Biol* 18:118–126
- Kurmayer R, Dittmann E, Fastner J, Chorus I (2002) Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* spp. in Lake Wannsee (Berlin, Germany). *Microb Ecol* 43:107–118
- Lauridsen TL, Schlüter L, Johansson LS (2011) Determining algal assemblages in oligotrophic lakes and streams: comparing information from newly developed pigment/chlorophyll *a* ratios with direct microscopy. *Freshw Biol* 56:1638–1651
- Lund JWG, Kipling C, Legren ED (1958) The invert microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170
- Mackey MD, Mackey DJ, Higgins HW, Wright SW (1996) CHEMTAX—a program for estimating class abundance from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 144:265–283
- Magalhães VF, Soares RM, Azevedo SMFO (2001) Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon* 39:1077–1085
- Malbrouck C, Kestemont P (2006) Effects of microcystins on fish. *Environ Toxicol Chem* 25:72–86
- Mehnert G, Rücker J, Nicklisch A, Leunert F, Wiedner C (2012) Effects of thermal acclimation and photoacclimation on lipophilic pigments in an invasive and a native cyanobacterium of temperate regions. *Eur J Phycol* 47: 182–192
- Meriluoto J, Spoof L, Codd GA (eds) (2017) Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. John Wiley & Sons, Chichester
- Millie DF, Schofield OM, Kirkpatrick GJ, Johnsen G, Tester PA, Vinyard BT (1997) Detection of harmful algal blooms using photopigments and absorption signatures: a case

- study of the Florida red tide dinoflagellate, *Gymnodinium breve*. *Limnol Oceanogr* 42:1240–1251
- ✦ Mohamed ZA, Carmichael WW, Hussein AA (2003) Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom. *Environ Toxicol* 18:137–141
- ✦ Neilan BA, Pearson LA, Muenchhoff J, Moffitt MC, Dittmann E (2013) Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environ Microbiol* 15:1239–1253
- ✦ O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ (2012) The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14: 313–334
- ✦ Örnólfsson EB, Pinckney JL, Tester PA (2003) Quantification of the relative abundance of the toxic dinoflagellate, *Karenia brevis* (Dinophyta), using unique photopigments. *J Phycol* 39:449–457
- ✦ Ouellette AJA, Handy SM, Wilhelm SW (2006) Toxic microcystis is widespread in Lake Erie: PCR detection of toxin genes and molecular characterization of associated cyanobacterial communities. *Microb Ecol* 51:154–165
- ✦ Paerl HW, Paul VJ (2012) Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Wat Res* 46: 1349–1363
- ✦ Rosini EF, Tucci A, do Carmo CF, Rojas NET, de Barros HP, Mallasen M (2016) Changes in phytoplankton spatial and temporal dynamics in a Brazilian tropical oligotrophic reservoir after net cage installation. *Braz J Bot* 39: 569–581
- Rowan KS (1989) Photosynthetic pigments of algae. Cambridge University Press, Cambridge
- Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G (2011) Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography. Cambridge University Press, Cambridge
- Sant'Anna CL, Azevedo MTP, Sormus L (1989) Fitoplâncton do Lago das Garças, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil: estudo taxonômico e aspectos ecológicos. *Hoehnea* 16:89–131
- ✦ Sant'Anna CL, Azevedo MTP, Werner VR, Dogo CR, Rios FR, de Carvalho LR (2008) Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil. *Algol Stud* 126:251–265
- ✦ Schlüter L, Garde K, Kaas H (2004) Detection of the toxic cyanobacteria *Nodularia spumigena* by means of a 4-keto-myxoxanthophyll-like pigment in the Baltic Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 275:69–78
- ✦ Schlüter L, Lauridsen TL, Krogh G, Jørgensen T (2006) Identification and quantification of phytoplankton groups in lakes using new pigment ratios—a comparison between pigment analysis by HPLC and microscopy. *Freshw Biol* 51:1474–1485
- ✦ Schlüter L, Behl S, Striebel M, Stibor H (2016) Comparing microscopic counts and pigment analyses in 46 phytoplankton communities from lakes of different trophic state. *Freshw Biol* 61:1627–1639
- ✦ Smith JL, Haney JF (2006) Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin, in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). *Toxicon* 48: 580–589
- ✦ Smith JL, Boyer GL, Zimba PV (2008) A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: impact and management alternatives in aquaculture. *Aquaculture* 280:5–20
- ✦ Soares RM, Magalhaes VF, Azevedo SM (2004) Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. *Aquat Toxicol* 70:1–10
- Søndergaard M, Jeppesen E, Jensen JP, Amsinck SL (2005) Water Framework Directive: ecological classification of Danish lakes. *J Appl Ecol* 42:616–629
- ✦ Spoo L, Vesterkvist P, Lindholm T, Meriluoto J (2003) Screening for cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularin in environmental water samples by reverse-phase liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1020: 105–119
- ✦ Spoo L, Neffling MR, Meriluoto J (2010) Fast separation of microcystins and nodularins on narrow bore reversed-phase columns coupled to a conventional HPLC system. *Toxicon* 55:954–964
- ✦ Takaichi S, Mochimaru M (2007) Carotenoids and carotenogenesis in cyanobacteria: unique ketocarotenoids and carotenoid glycosides. *Cell Mol Life Sci* 64:2607–2619
- Tucci A, Sant'Anna CL, Gentil RC, Azevedo MTP (2006) Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. *Hoehnea* 33:147–175
- ✦ Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, and others (1996) Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 17: 1317–1321
- UNESCO (2010) Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis. IOC Manuals and Guides, No. 55. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris
- Utermöhl H (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt Int Ver Theor Angew Limnol* 9:1–38
- ✦ Van Heukelem L, Thomas CS (2001) Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *J Chromatogr A* 910:31–49
- ✦ Watson SB, McCauley E, Dowing JA (1997) Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of different nutrient status. *Limnol Oceanogr* 42: 487–495
- WHO (World Health Organization) (1998) Guidelines for drinking-water quality, 2nd edn, addendum to Vol 2. Health criteria and other supporting information. WHO, Geneva
- ✦ Willén W, Ahlgren G, Tilahun G, Spoo L, Neffling M, Meriluoto J (2011) Cyanotoxin production in seven Ethiopian Rift Valley lakes. *Inland Waters* 1:81–91
- ✦ Wright SW, Thomas DP, Marchant HJ, Higgins HW, Mackey MD, Mackey DJ (1996) Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the 'CHEMTAX' matrix factorisation program. *Mar Ecol Prog Ser* 144:285–298
- Zapata M (2005) Recent advances in pigment analysis as applied to picophytoplankton. *Vie Milieu* 55:233–248
- ✦ Zhao M, Xie S, Zhu X, Yang Y, Gan N, Song L (2006) Effect of dietary cyanobacteria on growth and accumulation of microcystins in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 261:960–966
- ✦ Zhou L, Yu H, Chen K (2002) Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomed Environ Sci* 15:166–171